

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

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

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

Chuyên ngành: Nội khoa

Mã số: 9720107

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

Người hướng dẫn khoa học:

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do tôi thực hiện. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận án này là trung thực, không sao chép và chưa từng được công bố trong bất cứ công trình nào khác.

Tác giả luận án

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn

đã tạo điều kiện thuận lợi và giúp đỡ rất nhiều trong thời gian tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đặc biệt sâu sắc tới

là người đã trực tiếp định hướng, chỉ bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập đến khi hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn

đã giúp chúng tôi trong việc phân tích các mẫu bệnh phẩm và hóa mô miễn dịch.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc, bạn bè đồng nghiệp tại Bệnh viện K đã giúp tôi thu thập số liệu nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn các Thầy, Cô trong Hội đồng chấm luận án các cấp đã đóng góp những ý kiến quý báu để tôi có thể hoàn thiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn tất cả các bạn bè, đồng nghiệp đã giúp đỡ tôi trong thời gian học tập, cảm ơn tất cả những người bệnh gắn bó và tin tưởng tôi trong suốt quá trình nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin cảm ơn sâu sắc tới những người thân trong gia đình đã động viên, tạo điều kiện tốt nhất để tôi đi học và có thể hoàn thiện luận án này!

# MỤC LỤC

**Trang**

TRANG PHỤ BÌA	
LỜI CAM ĐOAN	
LỜI CẢM ƠN	
MỤC LỤC	
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	
DANH MỤC HÌNH	
DANH MỤC BIỂU ĐỒ	
DANH MỤC BẢNG	
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Dịch tễ học ung thư dạ dày.....	3
1.1.1. Dịch tễ ung thư dạ dày trên thế giới.....	3
1.1.2. Dịch tễ ung thư dạ dày tại Việt Nam.....	3
1.1.3. Các yếu tố nguy cơ gây ung thư dạ dày.....	4
1.2. Đặc điểm lâm sàng của ung thư dạ dày.....	6
1.3. Đặc điểm xét nghiệm và chẩn đoán hình ảnh của ung thư dạ dày.....	8
1.3.1. Xét nghiệm.....	8
1.3.2. Chẩn đoán hình ảnh.....	10
1.4. Đặc điểm giải phẫu bệnh và phân loại ung thư dạ dày.....	13
1.4.1. Phân loại đại thể ung thư dạ dày.....	13
1.4.2. Phân loại vi thể ung thư dạ dày.....	14
1.5. Ứng dụng hóa mô miễn dịch trong UTDD.....	16
1.5.1. Nguyên lý của phương pháp hóa mô miễn dịch.....	16
1.5.2. Các kỹ thuật nhuộm miễn dịch enzyme.....	20
1.5.3. Chất định vị trong mô trên HMMD.....	21

1.5.4. Phương pháp nhuộm HMMD .....	21
1.5.5. Đánh giá kết quả nhuộm .....	22
1.5.6. Ý nghĩa của HMMD .....	22
1.6. Ứng dụng của ALDH trong UTDD .....	23
1.6.1. Họ gen Aldehyde dehydrogenase .....	23
1.6.2. Cơ chế hoạt động của đột biến gen ALDH .....	25
1.6.3. Biểu lộ của ALDH ở bệnh nhân ung thư dạ dày .....	26
1.6.4. Vai trò ALDH trong bảo vệ các tế bào ung thư.....	27
1.6.5. Vai trò ALDH trong kháng trị .....	28
1.7. Ứng dụng của KRAS trong UTDD .....	28
1.7.1. Gen KRAS .....	28
1.7.2. Cơ chế hoạt động của đột biến gen KRAS .....	29
1.7.3. Biểu lộ của KRAS trong ung thư dạ dày .....	31
1.7.4. Vai trò KRAS trong di căn ung thư dạ dày .....	31
1.7.5. Vai trò KRAS trong kháng trị.....	35
1.8. Tình hình nghiên cứu về ALDH, KRAS ở bệnh nhân UTDD .....	36
1.8.1. Nghiên cứu trong nước .....	36
1.8.2. Nghiên cứu ngoài nước.....	37
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>39</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	39
2.1.1 Tiêu chuẩn chọn.....	39
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	39
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	39
2.2.1. Phương pháp và thiết kế nghiên cứu .....	39
2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu và cách chọn mẫu .....	39
2.2.3. Phương tiện nghiên cứu .....	40
2.2.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu.....	41

2.2.5. Định nghĩa, giải thích các biến số, chỉ số .....	42
2.2.6. Phương pháp thu thập số liệu .....	54
2.2.7. Xử lý số liệu.....	60
2.2.8. Đạo đức trong nghiên cứu .....	60
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....	62
3.1. 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 .....	62
3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học của bệnh nhân ..	62
3.1.2. Sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch ALDH, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày .....	70
3.2. 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.....	77
3.2.1. Mối liên quan giữa ALDH với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng.....	77
3.2.2. Mối liên quan giữa KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng .....	82
3.2.3. Liên quan giữa sự đồng biểu lộ của ALDH, KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng .....	86
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	90
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 .....	90
4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và mô bệnh học.....	90
4.1.2. Sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch ALDH, KRAS.....	99
4.2. Mối liên quan giữa ALDH, KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng.....	103

4.2.1. Mối liên quan giữa ALDH với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng .....	103
4.2.2. Mối liên quan giữa KRAS với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng .....	111
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 .....	117
KẾT LUẬN .....	119
DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	



## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>TT</b>	<b>Phân viết tắt</b>	<b>Phân viết đầy đủ</b>
1.	AFP	Alpha feto protein
2.	ALDH	Aldehyde dehydrogenase
3.	BN	Bệnh nhân
4.	BV	Bệnh viện
5.	CA	Carbohydrate antigen
6.	CEA	Carcinoembryonic antigen
7.	CT	Computed Tomography (Chụp cắt lớp vi tính)
8.	CSC	Cancer Stem Cell (Tế bào gốc ung thư)
9.	ECL	Entero Chromaphile Like
10.	EGFR	Epidemal growth factor receptor (Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu mô)
11.	EMT	Epithelial-to-Mesenchymal Transition (Chuyển dịch biểu mô trung mô)
12.	HE	Hematoxylin – Eosin
13.	HMMD	Hóa mô miễn dịch
14.	IARC	International Agency for Research on Cancer (Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế)
15.	KN	Kháng nguyên
16.	KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
17.	KT	Kháng thể
18.	MBH	Mô bệnh học
19.	MRI	Magnetic resonance imaging (Chụp cộng hưởng từ)

20. OS Overall survival  
(Thời gian sống toàn bộ)
21. PET Positron emission tomography  
(Chụp cắt lớp phát xạ positron)
22. RFS Recurrence free survival  
(Thời gian sống không tiến triển bệnh)
23. SPECT Single photon emission computed tomography  
(Chụp cắt lớp bằng bức xạ đơn photon)
24. TNM Tumor, Node, Metastasis  
(U, hạch, di căn)
25. TBGUT Tế bào gốc ung thư
26. UTDD Ung thư dạ dày
27. WHO World Health Organization  
(Tổ chức Y tế thế giới)

## DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
Hình 1.1.	Hình ảnh tổn thương đại thể của ung thư dạ dày .....	13
Hình 1.2.	ALDH và nhóm oxy hoạt động trong tác nhân gây ung thư.....	24
Hình 1.3.	ALDH và ung thư dạ dày .....	26
Hình 1.4.	Chức năng của ALDH trong UTDD .....	27
Hình 1.5.	Hoạt động của protein RAS .....	30
Hình 1.6.	KRAS gây di căn phổi từ ung thư dạ dày .....	33
Hình 2.1.	Máy cắt Microtome Leica RM 2245.....	41
Hình 2.2.	Phân loại UTDD theo Borrmann .....	44
Hình 2.3.	Phân loại UTDD theo Lauren .....	45
Hình 2.4.	UTDD thể biệt hóa thấp.....	48
Hình 2.5.	UTDD thể biệt hóa vừa .....	48
Hình 2.6.	UTDD thể biệt hóa cao .....	48
Hình 2.7.	Hình ảnh biểu lộ ALDH từ mức 0-3 sau nhuộm HMMD.....	51
Hình 2.8.	Hình ảnh biểu lộ KRAS sau nhuộm HE và nhuộm HMMD .....	52
Hình 3.1.	Mô u không biểu lộ ALDH.....	73
Hình 3.2.	Mô u biểu lộ ALDH 1+.....	73
Hình 3.3.	Mô u biểu lộ ALDH 2+.....	74
Hình 3.4.	Mô u biểu lộ ALDH 3+.....	74
Hình 3.5.	Mô u không biểu lộ KRAS .....	75
Hình 3.6.	Mô u biểu lộ KRAS 1+ .....	75
Hình 3.7.	Mô u biểu lộ KRAS 2+ .....	76
Hình 3.8.	Mô u biểu lộ KRAS 3+ .....	76
Hình 3.9.	Mô u đồng biểu lộ ALDH 3+, KRAS 3+ .....	77

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

<b>Biểu đồ</b>	<b>Tên biểu đồ</b>	<b>Trang</b>
Biểu đồ 3.1.	Tỷ lệ về giới tính .....	62
Biểu đồ 3.2.	Tỷ lệ các nhóm tuổi .....	63
Biểu đồ 3.3.	Tỷ lệ biểu lộ ALDH.....	70
Biểu đồ 3.4.	Tỷ lệ biểu lộ KRAS .....	71

## DANH MỤC BẢNG

<b>Bảng</b>	<b>Tên bảng</b>	<b>Trang</b>
Bảng 2.1.	Các giai đoạn TNM UTDD .....	49
Bảng 2.2.	Giai đoạn bệnh UTDD.....	50
Bảng 2.3.	Bảng đánh giá mức độ biểu lộ của KRAS.....	52
Bảng 3.1.	Phân bố đối tượng theo nhóm tuổi .....	62
Bảng 3.2.	Phân bố nhóm tuổi theo giới.....	63
Bảng 3.3.	Tiền sử bản thân và thói quen sinh hoạt .....	64
Bảng 3.4.	Lý do đến khám bệnh .....	64
Bảng 3.5.	Triệu chứng lâm sàng .....	65
Bảng 3.6.	Đặc điểm vị trí tổn thương trên nội soi dạ dày .....	65
Bảng 3.7.	Đặc điểm hình thái khối u theo phân loại Borrmann .....	66
Bảng 3.8.	Phân loại mô bệnh học theo Lauren .....	66
Bảng 3.9.	Phân loại mô bệnh học theo WHO .....	67
Bảng 3.10.	Phân loại độ biệt hoá theo WHO .....	67
Bảng 3.11.	Mức độ xâm lấn vào thành dạ dày của UTDD .....	68
Bảng 3.12.	Tình trạng di căn hạch .....	68
Bảng 3.13.	Tình trạng di căn xa .....	69
Bảng 3.14.	Phân loại giai đoạn UTDD .....	69
Bảng 3.15.	Sự biểu lộ ALDH trong UTDD .....	70
Bảng 3.16.	Sự biểu lộ KRAS trong UTDD.....	71
Bảng 3.17.	Liên quan giữa biểu lộ ALDH và KRAS trong UTDD.....	72
Bảng 3.18.	Tỷ lệ đồng biểu lộ của ALDH và KRAS trong UTDD .....	72
Bảng 3.19.	Sự biểu lộ của ALDH theo nhóm tuổi.....	77
Bảng 3.20.	Sự biểu lộ của ALDH theo giới.....	78
Bảng 3.21.	Sự biểu lộ của ALDH theo triệu chứng lâm sàng .....	78
Bảng 3.22.	Sự biểu lộ của ALDH theo vị trí khối u .....	79

Bảng 3.23. Sự biểu lộ của ALDH theo Borrmann .....	79
Bảng 3.24. Sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học Lauren .....	80
Bảng 3.25. Sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học WHO .....	80
Bảng 3.26. Sự biểu lộ của ALDH theo độ biệt hóa .....	81
Bảng 3.27. Sự biểu lộ của ALDH theo giai đoạn bệnh.....	81
Bảng 3.28. Sự biểu lộ của KRAS theo nhóm tuổi .....	82
Bảng 3.29. Sự biểu lộ của KRAS theo giới .....	82
Bảng 3.30. Sự biểu lộ của KRAS theo triệu chứng lâm sàng.....	83
Bảng 3.31. Sự biểu lộ của KRAS theo vị trí khối u.....	83
Bảng 3.32. Sự biểu lộ của KRAS theo Borrmann .....	84
Bảng 3.33. Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học Lauren.....	84
Bảng 3.34. Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học WHO.....	85
Bảng 3.35. Sự biểu lộ của KRAS theo độ biệt hóa.....	85
Bảng 3.36. Sự biểu lộ của KRAS theo giai đoạn bệnh.....	86
Bảng 3.37. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo triệu chứng lâm sàng.....	86
Bảng 3.38. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo vị trí khối u .....	87
Bảng 3.39. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo Borrmann .....	87
Bảng 3.40. Sự đồng biểu lộ của 2 dấu ấn theo MBH Lauren .....	88
Bảng 3.41. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo đặc điểm MBH WHO ....	88
Bảng 3.42. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa .....	89
Bảng 3.43. Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo giai đoạn bệnh.....	89
Bảng 4.1. So sánh triệu chứng toàn thân và cơ năng giữa các nghiên cứu.....	93

## 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 [46].

Ngày nay, y học hiện đại đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán, điều trị ung thư dạ dày. Với những ca bệnh được phát hiện sớm ở giai đoạn cửa sổ can thiệp nội soi, khối u nhỏ trên bề mặt, tế bào u biệt hóa cao, thì cắt hết niêm mạc qua nội soi có tỷ lệ sống thêm sau 5 năm tới trên 90%. Song, những trường hợp ung thư dạ dày ở giai đoạn tiến triển, ngay cả khi điều trị đúng phác đồ thì tỷ lệ sống thêm 5 năm chỉ 28%. Các liệu pháp đa hóa trị là cần thiết ở những bệnh nhân này, nhưng chúng chỉ cải thiện tiên lượng ở một số ít trường hợp và người bệnh thường chịu nhiều tác dụng phụ trong quá trình điều trị dẫn tới giảm chất lượng cuộc sống, đặc biệt là ung thư dạ dày tiến triển và di căn [25].

Trong khoảng 2 thập niên trở lại đây, bằng các kỹ thuật nghiên cứu ở cấp độ tế bào và sinh học phân tử, trong đó có kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch, người ta đã xác định được một số yếu tố phân tử có liên quan đến quá trình sinh trưởng và phát triển của ung thư dạ dày. Trong các yếu tố phân tử đã được xác định thì sự biểu lộ của Aldehyde dehydrogenase và KRAS (Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog) được biết đến như những dấu ấn quan trọng tham gia vào quá trình hình thành, phát triển và di căn của ung thư [104].

Aldehyde dehydrogenase là một enzyme thực hiện chức năng thải độc cho tế bào và đóng vai trò trung gian đối với các quá trình phân chia, biệt hóa tế bào. Các nghiên cứu gần đây chứng minh, Aldehyde dehydrogenase có vai trò trong việc hình thành và phát triển khối u cũng như sự kháng thuốc của tế bào ung thư. Tuy nhiên, những hiểu biết về vai trò của enzyme này đối với sự tiến triển cũng như

sự di căn của ung thư dạ dày vẫn còn hạn chế. Chính vì vậy, cần thiết có những nghiên cứu để làm sáng tỏ hơn về kiểu khối u bị ảnh hưởng cũng như những đồng phân có liên quan và cơ chế của Aldehyde dehydrogenase trong tác động tới quá trình di căn để đạt được hiệu quả đích của enzyme quan trọng này [63].

Bên cạnh đó, KRAS được biết đến như một gen đặc biệt quan trọng trong con đường tín hiệu ung thư liên quan đến thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu mô EGFR (Epidermal growth factor receptor). Rất nhiều các đột biến trên gen KRAS đã được phát hiện trong các loại ung thư khác nhau, trong đó có ung thư dạ dày. Đột biến gen gây ung thư KRAS có tính đa dạng về vị trí, kiểu dạng và đã được chứng minh gây kháng thuốc điều trị đích. Kết quả cho thấy, đột biến KRAS được phát hiện ở 44,2% ung thư đại tràng; 37,1% ung thư trực tràng và không có ở ung thư dạ dày [115]. Đột biến trên gen KRAS cũng được chỉ là ảnh hưởng đến sự biểu hiện của protein này trong tế bào ung thư. Tuy nhiên, 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.

Nghiên cứu về hai dấu ấn này tạo ra cơ sở để phát triển liệu pháp điều trị cũng như xác định các yếu tố tiên lượng ở người bệnh UTDD. Tại Việt Nam 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 nghiên cứu đề tài: *“Nghiên cứu sự biểu lộ và mối liên quan của các dấu ấn miễn dịch Aldehyde dehydrogenase, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày”*. 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.*



## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Dịch tễ học ung thư dạ dày

##### 1.1.1. Dịch tễ ung thư dạ dày trên thế giới

Mặc dù, tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong đã giảm trong những thập kỷ qua, ung thư dạ dày vẫn là một trong những thách thức sức khỏe chính trên toàn 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. Khoảng 1,1 triệu ca ung thư dạ dày mới được chẩn đoán trong năm 2020 (chiếm 5,6% tổng số ca ung thư). Khoảng 75% tổng số ca mắc mới và tất cả các trường hợp tử vong do ung thư dạ dày được báo cáo ở châu Á. Ung thư dạ dày là một trong những khối u ác tính nguy hiểm nhất, với tỷ lệ sống sót sau 5 năm là khoảng 28%. Nghiên cứu sâu hơn về các yếu tố rủi ro có thể giúp xác định các cơ hội khác nhau để phòng ngừa hiệu quả hơn. Các chương trình sàng lọc ung thư dạ dày đã được thực hiện ở một số quốc gia dành cho những người có nguy cơ cao. Nhìn chung, do tính xâm lấn cao và tính không đồng nhất của nó, ung thư dạ dày vẫn là một vấn đề sức khỏe toàn cầu nghiêm trọng [46].

##### 1.1.2. Dịch tễ ung thư dạ dày tại Việt Nam

Tại Việt Nam, ung thư phổ biến ở nam giới gồm ung thư gan, ung thư phổi, ung thư dạ dày, ung thư đại trực tràng, ung thư tiền liệt tuyến (tất cả loại ung thư này chiếm khoảng 65,8% tổng các loại ung thư). Ở nữ giới, các bệnh ung thư phổ biến gồm ung thư vú, phổi, đại trực tràng, dạ dày, gan (tất cả loại ung thư này chiếm khoảng 59,4% tổng các loại ung thư). Chung cho cả 2 giới các loại ung thư phổ biến là ung thư gan, phổi, vú, dạ dày và đại trực tràng.

Việt Nam nằm trong khu vực có tỷ lệ mắc UTDD mới tương đối cao. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyen T, P. số ca ung thư ước tính năm 2018 ở

Việt Nam là 164.671 (nam giới chiếm 55%), số ca tử vong là 114.871, trong đó nguyên nhân gây tử vong do UTDD là 15.065 ca, chiếm 13,1% [79].

### **1.1.3. Các yếu tố nguy cơ gây ung thư dạ dày**

Có một số yếu tố nguy cơ gây ung thư dạ dày đã được chứng minh rõ ràng: Nhiễm vi khuẩn *Helicobacter pylori*, yếu tố chế độ ăn uống, thuốc lá, béo phì và bức xạ. Cho đến nay, cách quan trọng nhất để ngăn ngừa ung thư dạ dày là giảm tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ, cũng như sàng lọc và phát hiện sớm.

#### **1.1.3.1. Nhiễm *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)**

Vào năm 1983 Marshall và Warren phân lập được vi khuẩn *H. pylori* từ các mảnh sinh thiết biểu mô dạ dày. *H. pylori* là vi khuẩn gram âm, kỵ khí, có hình xoắn nhẹ. Nhiễm *H. pylori* gặp khoảng 60% dân số trên thế giới. Các nghiên cứu tiếp sau đó đã chứng minh được nó có khả năng gây tổn thương niêm mạc dạ dày, gây viêm dạ dày theo từng mức độ và dần dần dẫn đến di sản, loạn sản rồi đến UTDD. Khả năng gây ung thư của nó phụ thuộc vào các yếu tố liên quan đến vi khuẩn - vật chủ. Sự hiểu biết về đặc điểm sinh học của vi khuẩn *H. pylori* mang lại hiệu quả tích cực trong việc quản lý, dự phòng UTDD [21]. *H. pylori* liên quan đến tiến triển của UTDD như kích thích gây đợt cấp của viêm mạn tính làm cho biểu mô niêm mạc dạ dày bị thay đổi dẫn đến thay đổi yếu tố vi môi trường như tăng các gốc tự do gây tổn thương DNA. *H. pylori* còn ảnh hưởng đến gen do làm thay đổi quá trình methyl hóa gen kìm hãm ung thư như E-cadherin [124].

Ung thư dạ dày loại biệt hóa trải qua những thay đổi về hình thái sau khi tiết trừ *H. pylori* và những thay đổi trên bề mặt niêm mạc của khối u thành dạng không phải ung thư gây khó khăn cho chẩn đoán trên nội soi. Trong khi đó, mức độ ác tính của UTDD loại không biệt hóa, bao gồm cả khả năng tăng sinh và tỷ lệ tiến triển, được báo cáo là cao hơn so với những người không nhiễm [100].

Diệt *H. pylori* càng sớm thì nguy cơ sinh ung thư càng giảm. Nguy cơ này ban đầu là tiềm ẩn, càng ngày càng gia tăng theo cấp số nhân. Do đó, hiệu quả tổng thể của việc diệt trừ *H. pylori* về mặt phòng ngừa ung thư được cho là phụ thuộc vào thời điểm loại bỏ bệnh trong chuỗi tiến triển [24].

#### 1.1.3.2. Hút thuốc lá

Hút thuốc lá là một yếu tố nguy cơ làm tăng tỷ suất mắc UTDD cũng như một số loại ung thư khác [22]. Những người hút thuốc lá có nguy cơ mắc UTDD cao hơn những người không hút thuốc lá là 1,6 lần. Trong một nghiên cứu ở quần thể lớn tại châu Âu cho thấy có 17,6% UTDD là do hút thuốc lá [57]. Những người bỏ thuốc lá giảm nguy cơ mắc UTDD sau 10 năm cai thuốc. Trong một phân tích tổng hợp gồm 42 nghiên cứu cho thấy ở những người hút thuốc, nguy cơ UTDD tăng xấp xỉ 1,53 lần cao hơn ở nam giới so với ở nữ [29].

#### 1.1.3.3. Chế độ ăn uống

- Sử dụng rượu: Có mối liên quan giữa mức độ sử dụng rượu với UTDD [39]. Một phân tích gộp có kết quả ước tính nguy cơ UTDD của người uống rượu so với người không uống rượu là 1:10. Nguy cơ UTDD tăng lên ở những người uống rượu so với những người không uống rượu, với mối liên quan mạnh nhất được quan sát thấy ở những người uống nhiều hơn bốn ly mỗi ngày là 1,37 [30].

- Cà phê: Mối quan hệ giữa tiêu thụ cà phê và UTDD đã từng là một chủ đề nghiên cứu, nhưng các phát hiện lại trái ngược nhau. Một phân tích tổng hợp báo cáo rằng tiêu thụ cà phê có liên quan đến sự phát triển của UTDD. Ngược lại, hai phân tích gộp không tìm thấy mối liên quan với nguy cơ UTDD. Tuy nhiên, các yếu tố gây nhiễu như tuổi tác, chủng tộc, uống rượu, uống trà và hút thuốc, cũng như sự khác biệt về phương pháp pha chế cà phê có thể ảnh hưởng đến nồng độ của các hợp chất có thể gây ra UTDD [82].

- Các hợp chất Nitroso: Thực phẩm bảo quản hun khói, các sản phẩm thịt đã qua xử lý, thực phẩm muối hoặc thực phẩm được làm khô bằng cách bổ sung mạch nha trong quá trình lên men bia và rượu whisky đều có chứa nitrosamine. Thịt đã qua chế biến chứa nhiều nitrat và nitrit. Khi nitrat và nitrit phản ứng với axit amin trong dạ dày, các hợp chất N-nitroso nội sinh được hình thành. Sự hình thành các hợp chất N-nitroso, nitrat và nitrit sử dụng trong thực phẩm chế biến có thể gây UTDD [86].

- Béo phì: Các phân tích tổng hợp trước đây cho thấy béo phì là một yếu tố nguy cơ dẫn đến UTDD, mặc dù tác động của béo phì đối với UTDD thấp hơn so với các bệnh ung thư khác như ung thư đại tràng và ung thư vú [40].

#### *1.1.3.4. Yếu tố di truyền*

Đánh giá nguy cơ ung thư di truyền có thể là một công cụ mạnh mẽ để xác định các biến thể gen gây bệnh trong các gia đình, giúp sàng lọc những cá nhân có nguy cơ cao bị UTDD. Việc xác định các cá nhân nguy cơ cao đó cho phép tầm soát ung thư phù hợp và cắt dạ dày có khả năng giảm nguy cơ để giảm tỷ lệ mắc và tử vong [95].

Một số nghiên cứu cho thấy người có nhóm máu A hay bị UTDD hơn các nhóm máu O, B, AB. Trong các bệnh nhân UTDD có khoảng 20% bệnh nhân có nhóm máu A. Tuy nhiên, nguy cơ về nhóm máu dễ mắc UTDD khó có thể dự phòng cấp I được nhưng cũng có thể có tác dụng trong việc dự phòng cấp II, đó là ưu tiên sàng lọc cho những đối tượng có nguy cơ cao [121].

## **1.2. Đặc điểm lâm sàng của ung thư dạ dày**

UTDD cũng có những triệu chứng chung như các bệnh lý ung thư đường tiêu hóa khác và cũng có những triệu chứng riêng. Các dấu hiệu lâm sàng ở hai giai đoạn sớm và tiến triển biểu hiện khác nhau. Trong giai đoạn sớm bệnh nhân chưa biểu hiện rõ rệt, còn trong giai đoạn muộn thì các dấu hiệu rất điển hình. Do vậy, cần chú ý những dấu hiệu mà bệnh nhân phải đến khám.

Chẩn đoán sớm UTDD thường rất khó vì có tới trên 80% bệnh nhân UTDD hầu như không có triệu chứng gì hoặc triệu chứng rất mơ hồ. Tùy theo các hình thái, vị trí tổn thương tái phát mà có triệu chứng khác nhau [52].

+ Mệt mỏi, chán ăn là những triệu chứng sớm trong UTDD.

+ Gầy sút: Là triệu chứng chung của các bệnh nhân ung thư.

+ Nôn: Trong UTDD nôn là bệnh cảnh của hẹp môn vị. Trong UTDD tiên phát, triệu chứng nôn khi bệnh nhân có hẹp miệng nối, viêm mạn tính miệng nối gây hẹp phần dạ dày còn lại làm thức ăn ứ đọng như bệnh cảnh hẹp môn vị.

+ Đau bụng: Trong ung thư, khối u tái phát gây chèn ép, xâm lấn đường mật, tụy hay di căn vào hệ thống thần kinh... gây đau. Lúc đầu có thể đau tức, cảm giác đau âm ỉ nhưng giai đoạn cuối của ung thư bệnh nhân rất đau.

+ Vàng da, tắc mật: Nguyên nhân có thể do ung thư tái phát tại gan hay đường mật, nhưng chủ yếu vẫn là do tái phát ở hạch liên quan vùng rốn gan, đầu tụy gây chèn ép vào đường mật (gồm các nhóm hạch 5, 8, 12, 13).

+ Nuốt nghẹn: Xuất hiện khi có tổn thương tại tâm vị và thực quản. Các tổn thương ung thư tại tâm, thân vị phải cắt dạ dày toàn bộ hay cắt dạ dày dưới tâm vị thì tỷ lệ tái phát tại miệng nối cao.

+ Xuất huyết tiêu hóa: Nôn ra máu hay đi ngoài phân đen. Tuy nhiên có những trường hợp chảy máu từ quai tới nội soi khó thăm khám được.

+ Sờ thấy khối u ở bụng.

+ Tắc ruột: Trong UTDD tái phát thì bệnh cảnh tắc ruột ít gặp hơn, thường do tổ chức ung thư di căn toàn bộ phúc mạc, thành ruột, gây tắc thành từng đoạn nhỏ. Tiên lượng cực kỳ xấu.

+ Bụng có dịch: Khi bụng có dịch là ung thư giai đoạn cuối, không còn chỉ định can thiệp nữa. Dịch ổ bụng là triệu chứng phổ biến nhất gợi ý di căn phúc mạc.

### **1.3. Đặc điểm xét nghiệm và chẩn đoán hình ảnh của ung thư dạ dày**

#### **1.3.1. Xét nghiệm**

##### *1.1.3.1. Các xét nghiệm cơ bản*

Trong UTDD có thiếu máu mạn tính do sự hấp thu vitamin B12 kém, kèm theo sự chảy máu từ các khối u dạng loét sùi. Các xét nghiệm chức năng gan, thận giúp chúng ta cân nhắc lựa chọn các phác đồ điều trị cho bệnh nhân.

##### *1.1.3.2. Dấu ấn sinh học của ung thư dạ dày*

Chẩn đoán xác định và điều trị ở giai đoạn đầu có thể cải thiện đáng kể tiên lượng của bệnh ung thư dạ dày. Tuy nhiên, cho đến nay, không có dấu ấn sinh học lý tưởng nào được xác định để sàng lọc sớm ung thư dạ dày. Các dấu ấn sinh học protein cũng đã được sử dụng làm chất chỉ điểm khối u dạ dày trong chẩn đoán, tiên lượng và sàng lọc tái phát sau điều trị. Các chất chỉ điểm khối u được sử dụng phổ biến nhất để chẩn đoán ung thư dạ dày là CA72-4 huyết thanh, alpha-fetoprotein và CA125. Tuy nhiên, cả độ đặc hiệu và độ nhạy của chúng đều thấp. Mặc dù, CEA và CA19-9 được sử dụng rộng rãi nhất trong thực hành lâm sàng, nhưng chúng được sử dụng làm dấu hiệu tiên lượng, vì chúng đã được chứng minh là không thành công trong chẩn đoán ung thư dạ dày sớm [127], [43].

Xét nghiệm kết hợp các dấu ấn nhằm mục đích tăng khả năng chẩn đoán. Các đề xuất bao gồm sự kết hợp của CEA, CA19-9 và CA72-4 với thymidine kinase 1 (TK1), một dấu ấn sinh học của sự tăng sinh tế bào và sự kết hợp của CEA, CA72-4, yếu tố hoại tử khối u (TNF) và interleukin 6 và 8 (IL-6 và IL-8), có thể làm tăng đáng kể độ nhạy và độ đặc hiệu [34]. Sự kết hợp theo dõi cùng lúc CEA, CA 19-9 làm tăng thêm khả năng phát hiện sớm ung thư tái phát sau mổ cắt dạ dày do ung thư. Đã có nhiều nghiên cứu về ý nghĩa của sự kết hợp này, nhưng vẫn còn tồn tại nhiều tranh cãi [69], [102].

Đối với các dấu ấn sinh học đặc hiệu cho dạ dày, sự kết hợp của các

kháng thể PGI, PGII, PGI/PGII, G-17 và IgG chống lại *Helicobacter pylori* đã được chứng minh là có khả năng phân tầng những người có nguy cơ cao mắc ung thư dạ dày, cũng như sự kết hợp của yếu tố gia đình trefoil 3 và pepsinogen [34].

Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, việc điều hòa lại các protein P08493, Q9H939, A0A087WTY6, A0A0G2JMC9, P14207, Q86UD1 và Q8NBP7 cũng như điều hòa giảm P00441, P16157, P62979 và A0A2R8Y7X9 có thể phân biệt giữa bệnh nhân ung thư dạ dày giai đoạn đầu và người khỏe mạnh [127].

Những tiến bộ kỹ thuật trong sinh học phân tử trong những năm gần đây đã giúp xác định các gen gây ung thư có thể được sử dụng làm dấu ấn chẩn đoán sớm UTDD [77]. Ví dụ, sự biểu lộ quá mức của XPG/ERCC5 và stanniocalcin có liên quan đến sự phát triển và tiến triển của ung thư dạ dày, do đó chúng được đề xuất làm dấu ấn chẩn đoán và tiên lượng trong bệnh này.

Gastrokine 1 (GKN1) là một dấu ấn sinh học khả dĩ khác. Nó bảo vệ, chống lại ung thư dạ dày nên sự biểu lộ ở mức độ thấp có thể được coi là một chỉ báo về nguy cơ gây bệnh cao hơn.

6 gen methyl hóa chuyên biệt và nhạy cảm nhất đối với ung thư dạ dày là adam23, mint25, gdnf, prdm5, mlf1, một số gen bị methyl hóa cao hơn bình thường ở ung thư giai đoạn đầu [27].

Các dấu ấn sinh học tiềm năng có thể phát hiện được trong sinh thiết lỏng như tế bào khối u tuần hoàn, RNA dài không mã hóa (lncRNA), DNA không có tế bào (cfDNA), microRNA và exosome tiết lộ nhiều thông tin liên quan đến dự đoán sớm và kết quả cho bệnh nhân UTDD [53].

Trong những năm gần đây, nghiên cứu về các dấu ấn hóa mô miễn dịch như PD-L1 và HER2 để phát triển liệu pháp điều trị nhắm trúng đích có nhiều kết quả khả quan, mở ra hướng điều trị mới cho bệnh nhân UTDD [25].

### **1.3.2. Chẩn đoán hình ảnh**

#### *1.3.2.1. Siêu âm*

Siêu âm hiện nay đã trở thành một phương pháp chẩn đoán thường quy ở tất cả các cơ sở y tế [122]. Tuy nhiên, siêu âm B-mode thông thường ít có giá trị chẩn đoán ung thư dạ dày nhưng có thể xác định tình trạng di căn gan và dịch, hạch ổ bụng, phần nào giúp phẫu thuật viên xác định trước chiến lược phẫu thuật cho bệnh nhân [88].

#### *1.3.2.2. Nội soi và siêu âm nội soi*

Với sự tiến bộ về phương tiện kỹ thuật, nội soi giúp phát hiện các tổn thương trên bề mặt lòng ống tiêu hóa ngày càng chi tiết hơn. Thêm nữa soi dạ dày có thể sinh thiết làm giải phẫu bệnh để chẩn đoán các thể UTDD [71]. Tại Nhật Bản nhờ có nội soi dạ dày ống mềm kết hợp sinh thiết đã nâng tỉ lệ UTDD sớm được chẩn đoán từ 9,7% (giai đoạn 1956-1965) lên trên 40% ở thời điểm hiện tại, các nước phương Tây tỉ lệ này dao động từ 10-20%. Các nghiên cứu cho thấy, tỉ lệ chẩn đoán UTDD chính xác bằng nội soi từ 61-76%, khi kết hợp sinh thiết tỉ lệ này đạt 90%. Vị trí và số lượng mẫu sinh thiết là rất quan trọng. Vị trí hay gặp ung thư nhất là bờ tổn thương.

Có thể làm tăng khả năng phát hiện UTDD khi nội soi sinh thiết bằng các kỹ thuật nhuộm màu như nghiệm pháp Tetracyclin, tiêm xanh Methylene vào khối u, nhuộm Indigocarmin. Những năm gần đây, nội soi phóng đại có tăng cường hình ảnh giúp ích rất nhiều trong chẩn đoán UTDD [116]. Hình ảnh mạch máu và mô phóng đại là những phát hiện tiêu biểu có thể quan sát được ở niêm mạc dạ dày bằng nội soi phóng đại tăng cường hình ảnh. Nội soi phóng đại hình ảnh đặc biệt hữu ích trong chẩn đoán ung thư dạ dày giai đoạn sớm [33], [117].

Hiện nay, siêu âm nội soi có vai trò lớn hơn trong chẩn đoán UTDD, nhất là khi khối u xâm lấn tới lớp dưới niêm mạc hoặc sâu hơn [38]. Siêu âm nội soi còn có thể phát hiện di căn hạch và các cơ quan lân cận quanh dạ dày



góp phần vào đánh giá tình trạng di căn [55]. Ngoài ra, siêu âm nội soi còn có giá trị trong điều trị UTDD ở giai đoạn sớm [87].

#### 1.3.2.3. CT (Computed Tomography)

Hiện nay, nhờ tiến bộ trong ngành chẩn đoán hình ảnh, CT-Scan ngày càng được ứng dụng rộng rãi để chẩn đoán UTDD. Các hình ảnh CT- Scan của UTDD giúp xác định vị trí tổn thương, sự xâm lấn các cơ quan lân cận, đánh giá tình trạng di căn gan, hạch và các cơ quan khác trong ổ bụng [120]. Với máy CT-Scan đa lát cắt chất lượng cao, các bác sĩ chẩn đoán hình ảnh giàu kinh nghiệm có thể phát hiện được hạch  $\geq 5\text{mm}$ . Tuy nhiên hạn chế của CT - Scan là không thể đánh giá sự xâm lấn của tổn thương theo chiều sâu cũng như chẩn đoán chính xác tổn thương nhỏ dưới 5mm.

CT trở thành phương tiện chẩn đoán hình ảnh hàng đầu, cần thiết để theo dõi, đánh giá tái phát sau mổ cắt dạ dày. Với sự phát triển của công nghệ chụp cắt lớp vi tính, vai trò của CT trở nên quan trọng để phát hiện sự tái phát ung thư và tình trạng đáp ứng với điều trị hóa chất sau phẫu thuật [70]. Khi đánh giá kết quả chụp CT, chúng ta cũng tìm các tổn thương: Tái phát tại chỗ (miệng nối, phần dạ dày còn lại, vùng lân cận, vết mổ), hạch ổ bụng, nhân di căn phúc mạc, di căn xa [61].

#### 1.3.2.4. SPECT CT, PET CT

Nguyên lý ghi hình bằng máy SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) gần giống với CT nhưng khác là chùm bức xạ photon được phát ra từ trong cơ thể do phân tử đồng vị phóng xạ được đưa vào nơi cần chụp ảnh và chùm bức xạ phát ra được ghi nhận đồng thời bởi hệ detector vây quanh bệnh nhân. SPECT là kỹ thuật ghi hình bằng y học hạt nhân thường được áp dụng để chẩn đoán các bệnh thần kinh, tim mạch, gan mật, tiêu hóa, tuyến giáp, xạ hình toàn thân phát hiện các khối u. Ngoài những ứng dụng chẩn đoán hình ảnh thông thường, với hình ảnh SPECT, người thầy thuốc có thể tìm thấy những tổn thương, biến đổi bất thường rất nhỏ trong cơ

thể. Do đó ảnh SPECT giúp phát hiện bệnh ung thư tái phát và di căn trước các phương pháp khác như siêu âm, CT, MRI [126].

PET-Scan rất có giá trị trong việc đánh giá giai đoạn bệnh và đặc biệt phát hiện các ổ tái phát, di căn rất nhỏ ngay cả khi các phương tiện chẩn đoán khác chưa thể phát hiện được [31]. Tuy nhiên, giá thành cao nên nó chỉ mới được sử dụng ở một số cơ sở y tế lớn.

Gần đây đã có nghiên cứu lâm sàng về hình ảnh SPECT 99mTc-3PRGD2 cho các tổn thương khối u, bao gồm chẩn đoán và chẩn đoán phân biệt các khối u ở các bộ phận cơ thể khác nhau, đánh giá di căn và đánh giá hiệu quả điều trị các khối u ở đường tiêu hóa. Tuy nhiên, triển vọng ứng dụng lâm sàng trong tương lai của SPECT 99mTc-3PRGD2 vẫn cần được nghiên cứu thêm [112].

Đặc biệt, với sự xuất hiện của vật liệu nano, các phương thức hình ảnh khác nhau có thể được tích hợp vào một nền tảng duy nhất và các liệu pháp kết hợp chống lại tế bào ung thư dạ dày đã được thiết lập. Hơn nữa, sự phát triển của các chiến lược trị liệu với khả năng chẩn đoán và điều trị đồng thời được thúc đẩy bởi các hạt nano đa chức năng [62].

#### *1.3.2.5. MRI*

Trong lịch sử, vai trò của chụp cộng hưởng từ (MRI) trong ung thư dạ dày còn hạn chế, nhưng với những cải tiến kỹ thuật liên tục, MRI đã trở thành một kỹ thuật hình ảnh hiệu quả hơn đối với các khối u ác tính đường tiêu hóa [125]. Độ chính xác của MRI đối với giai đoạn T và N của ung thư dạ dày tương tự như EUS và CT, làm cho MRI trở thành một giải pháp thay thế phù hợp cho các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác. Có bằng chứng hạn chế về hiệu suất của MRI đối với giai đoạn M của ung thư dạ dày, nhưng MRI được sử dụng rộng rãi để chẩn đoán di căn gan và cho thấy tiềm năng chẩn đoán di căn phúc mạc. Các nghiên cứu thử nghiệm gần đây cho thấy, việc

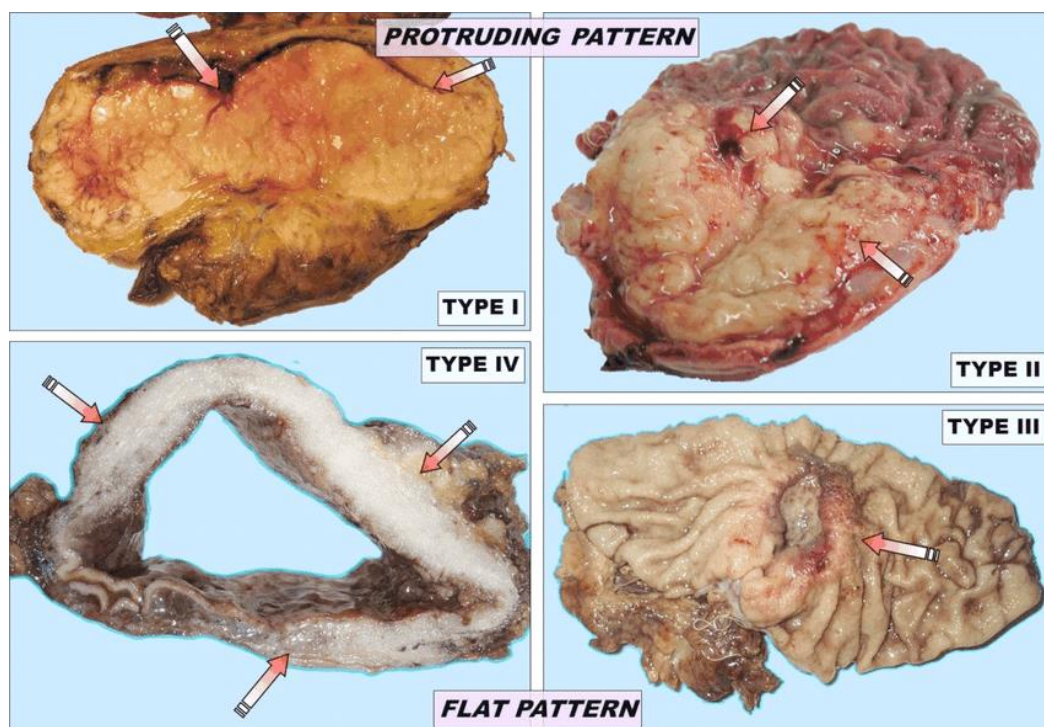
đánh giá đáp ứng điều trị cũng như phát hiện di căn hạch bạch huyết và bệnh hệ thống có thể được hưởng lợi từ MRI chức năng [17], [35].

#### 1.4. Đặc điểm giải phẫu bệnh và phân loại ung thư dạ dày

Qua nội soi tiên hành sinh thiết để làm xét nghiệm mô bệnh học là phương pháp không thể thiếu trong chẩn đoán UTDD, được coi là tiêu chuẩn vàng giúp chẩn đoán xác định. Dạ dày là một tạng hình ống, lệch tâm, nằm giữa thực quản và tá tràng. Thành dạ dày gồm 4 lớp tổ chức: Niêm mạc, dưới niêm mạc, cơ niêm, thanh mạc.

##### 1.4.1. Phân loại đại thể ung thư dạ dày

Đại thể của UTDD có rất nhiều phân loại khác nhau như là theo Stout, Rubbin, trong đó phân loại của Hiệp hội Nội soi tiêu hóa Nhật Bản 1962 được bổ sung chỉnh lý các năm 1995, 2011 và hiện nay phân loại theo Borrmann được nhiều quốc gia sử dụng.



**Hình 1.1.** Hình ảnh tổn thương đại thể của ung thư dạ dày

\* Nguồn: theo Paun, I. (2015) [83]

#### *1.4.1.1. Phân loại của Borrmann [108]:*

Dựa trên hình ảnh đại thể, Borrmann chia UTDD thành 4 typ. Kiểu phân loại này thường được áp dụng cho các trường hợp UTDD tiến triển. Bác sĩ nội soi, phẫu thuật viên sử dụng rộng rãi phân loại này vì đơn giản và dễ nhận biết.

#### *1.4.1.2. Phân loại của Hội nghiên cứu về UTDD Nhật Bản (năm 2011)*

Phân loại của Hội nghiên cứu về UTDD Nhật Bản (năm 2011) cũng chia UTDD thành 4 thể với hình ảnh đại thể tương tự như phân loại Borrmann, nhưng sử dụng thuật ngữ khác [50]:

- Typ I (thể lồi): Tổ chức ung thư lồi lên trên niêm mạc, có hình nấm, hình giống polyp, chạm vào dễ chảy máu.

- Typ II (thể phẳng hay thể bẹt): Gồm 3 phân typ như sau:

- + IIa (phẳng gồ): Tổ chức ung thư phát triển gồ cao hơn niêm mạc xung quanh. Typ I và Typ IIa được phân biệt với nhau dựa trên độ dày tổn thương: Typ I có độ dày trên hai lần và typ IIa có độ dày dưới hai lần niêm mạc bình thường.

- + IIb (phẳng dẹt): Tổ chức ung thư phát triển tạo thành mảng chắc không nổi cao hơn niêm mạc dạ dày.

- + IIc (phẳng lõm): Tổ chức ung thư hơi lõm xuống thấp hơn so với niêm mạc xung quanh, đôi khi có thể hoại tử, xuất tiết.

- Typ III (dạng loét): Tổn thương có độ sâu rõ rệt. Ung thư dạng loét thường nông, bờ gồ ghề, bản, niêm mạc quanh ổ loét không đều, các nếp niêm mạc có thể tập trung, riêng rẽ hay cắt cụt.

- Typ IV: Dạng thâm nhiễm lan tỏa.

#### **1.4.2. Phân loại vi thể ung thư dạ dày**

Cũng như nhiều loại ung thư khác, phân loại mô bệnh học UTDD là vấn đề phức tạp. Do đó có nhiều hệ thống phân loại đã được đề nghị và đến nay

vẫn đang cùng tồn tại. Điều đó gây không ít khó khăn trong thực hành cũng như trong việc đánh giá tiên lượng, lựa chọn phương pháp điều trị và trao đổi thông tin giữa các cơ sở với nhau. Trong đó, các phân loại được sử dụng rộng rãi hơn cả là phân loại của Lauren (1965), phân loại của Hội nghiên cứu về UTDD Nhật Bản (2011), phân loại của WHO (2010 và 2019). Ngoài ra còn một số phân loại của các tác giả khác như phân loại của Ming, của Mulligan, của Vienna...

#### *1.4.2.1. Phân loại của Lauren: UTDD được chia thành 3 typ [23]:*

- Typ ruột: Bao gồm các tuyến loại ruột tân sản, giống như UTBM tuyến đại tràng, u phát triển dính liền nhau theo kiểu "lan rộng". Tế bào u thường chứa không bào nhầy ở cực ngọn, có thể có cả chất nhầy trong lòng tuyến.

- Typ lan toả: Thường không tạo thành tuyến, mà phân tán trong các lớp của thành dạ dày tạo thành những đám tế bào hay riêng lẻ từng tế bào. Mô đệm xơ hoá nhiều làm thành dạ dày dày lên rõ. UTBM tế bào nhầy theo phân loại của Tổ chức Y tế thế giới thuộc typ này.

- Typ hỗn hợp: Gồm hỗn hợp hai typ trên.

Phân loại UTDD của Lauren được các nhà dịch tễ học dễ chấp nhận do hệ thống phân loại này có ý nghĩa trong phẫu thuật và đánh giá tiên lượng bệnh.

#### *1.4.2.2. Phân loại ung thư biểu mô dạ dày của Tổ chức Y tế thế giới (WHO - năm 2010) [18]:*

- Ung thư biểu mô tuyến (Loại thường gặp):

- + Ung thư biểu mô tuyến nhú.
- + Ung thư biểu mô tuyến ống.
- + Ung thư biểu mô tuyến nhầy.
- + Ung thư biểu mô tế bào nhầy.
- + Ung thư biểu mô kém kết dính.

- Ung thư biểu mô hỗn hợp (Loại không thường gặp):
  - + Ung thư biểu mô tuyến vảy.
  - + Ung thư biểu mô tế bào vảy.
  - + Ung thư biểu mô tuyến dạng gan.
  - + Ung thư biểu mô với mô đệm dạng lympho.
  - + Ung thư biểu mô tuyến-thần kinh nội tiết hỗn hợp.
  - + Ung thư biểu mô tế bào thành.
  - + Ung thư biểu mô dạng sarcoma.
  - + Ung thư biểu mô biểu bì nhày.
  - + Ung thư không biệt hóa.
  - + Ung thư biểu mô tế bào lớn kiểu hình dạng cơ vân.
  - + Ung thư biểu mô đa hình.

## **1.5. Ứng dụng hóa mô miễn dịch trong UTDD**

### **1.5.1. Nguyên lý của phương pháp hóa mô miễn dịch**

#### *1.5.1.1. Khái niệm:*

Hóa mô miễn dịch là một kỹ thuật nhuộm đặc biệt, sử dụng kháng thể (KT) đặc hiệu để xác định sự hiện diện của các kháng nguyên (KN) tương ứng trên các lát cắt mô học hoặc trên các loại tế bào có trong mô [78].

#### *1.5.1.2. Nguyên tắc:*

- Cho KT đặc hiệu lên mô, nếu trong mô có KN sẽ có phản ứng kết hợp KN - KT. Có 2 cách quan sát phức hợp này:
  - + Miễn dịch huỳnh quang: KT được gắn với một chất phát huỳnh quang (quan sát kết quả dưới kính hiển vi huỳnh quang).
  - + Miễn dịch enzyme: KT được gắn với một vài loại enzyme, enzyme này xúc tác cho một phản ứng hóa học để chuyển một chất không màu thành một chất có màu (quan sát được dưới kính hiển vi quang học).
- Kháng nguyên: Các KN thường là các protein, một số khác là

carbohydrate, có thể từ ngoài cơ thể vào (vi khuẩn, độc tố, virus,...) hoặc từ trong cơ thể (các tơ trung gian, các thụ thể hormon, các protein là sản phẩm của đột biến gen...có thể hiện diện ở bào tương, màng tế bào hoặc nhân) [94].

Quyết định KN (epitope) là một phần nhỏ của KN, nơi tiếp xúc với KT. Một KN có thể có vài epitope, mỗi epitope được nhận biết bởi một KT riêng biệt. Trong quy trình nhuộm HMMD, cần bộc lộ epitope trước khi cho tiếp xúc với KT.

- Kháng thể: Là các protein nhận biết và kết nối với KN đặc hiệu, được sản xuất từ sự đáp ứng với biểu hiện của KN. Mỗi KT có ít nhất hai vị trí kết nối KN. KT chủ yếu là IgG, tiếp đến là IgM. KT kết hợp trực tiếp với KN gọi là KT thứ nhất. Tùy theo cách sản xuất, có 2 loại KT [94]:

+ Kháng thể đa dòng: Được sản xuất bằng cách gây miễn dịch ở động vật với KN đặc hiệu. Động vật đáp ứng miễn dịch và tạo ra kháng huyết thanh bao gồm nhiều loại KT đặc hiệu và không đặc hiệu. Sau đó KT được làm tinh khiết (loại bỏ các KT không cần thiết). KT đa dòng có thể kết hợp với nhiều vị trí của một KN nên độ nhạy cao, tăng khả năng phát hiện. Tuy nhiên KT đa dòng có thể chứa các KT phản ứng không đặc hiệu với các KN nên có khuynh hướng nhuộm nền cao.

+ Kháng thể đơn dòng: Được sản xuất bằng kỹ thuật u lai, phối hợp khả năng tạo KT đặc hiệu từ tương bào với lympho bào B ở lách động vật được gây miễn dịch, hình thành nhiều dòng tế bào u lai sản xuất ra KT đặc hiệu. Các tế bào này được lựa chọn và nhân giống trong môi trường nuôi cấy tế bào. KT đơn dòng được sản xuất ra từ một dòng của tế bào u lai nên rất tinh khiết, chỉ phản ứng với một loại quyết định KN. Tuy nhiên, vì KT đơn dòng chỉ phản ứng với một vị trí đặc hiệu chứ không phải toàn bộ KN nên ít nhạy hơn so với KT đa dòng. Hơn nữa, một số KT đơn dòng chỉ phản ứng được trên tiêu bản cắt lạnh.

Cấu trúc của KT có hình chữ Y với 4 chuỗi protein, gồm 2 chuỗi nhẹ và 2 chuỗi nặng. KT có hai vùng:

+ Vùng thay đổi (Fab): Hai phân đầu của nhánh chữ Y chứa vị trí kết nối KN.

+ Vùng ổn định (Fc): Phần gốc của chữ Y, đây là vùng rất quan trọng vì có thể kết nối với bộ thể hay các tế bào.

- Hệ thống nhận biết: Vì các phức hợp KN - KT không quan sát thấy được dưới kính hiển vi quang học nên cần một hệ thống để hiển thị vị trí có phản ứng KN-KT. Hệ thống này gồm 2 phần: KT thứ 2 (KT bắc cầu) và hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết (gồm enzyme, các phân tử phát hiện, chất kết nối và chất màu).

+ Kháng thể thứ hai (KT bắc cầu, KT kết nối): Là KT phản ứng đặc hiệu với KT thứ nhất sau khi KT này đã gắn với KN. Nó phản ứng với phân tử globulin miễn dịch huyết thanh của động vật mà đã sản xuất KT thứ nhất. KT thứ hai thường được gắn biotin và được coi như kit phát hiện chung.

+ Các enzyme: Enzyme là một protein gây ra sự thay đổi hoá học của các chất khác nhưng bản thân nó không thay đổi, enzyme đóng vai trò như chất chỉ điểm. Trong kỹ thuật HMMD, enzyme cần phải đảm bảo được các điều kiện sau:

- Phải tạo ra một sản phẩm phản ứng mà không thể hoà tan, màu rõ ràng, kết tủa trực tiếp tại sản phẩm đó.

- Phải được bền vững ở nhiệt độ phòng, có thể sản xuất hàng loạt và duy trì hầu hết các hoạt động của nó sau khi đã kết nối.

Chỉ có một vài loại enzyme đáp ứng được những nhu cầu trên, hai loại enzyme được sử dụng rộng rãi do sản xuất dễ và giá thành thấp là peroxylase, được chiết xuất từ rễ cây Cải ngựa và phosphatase kiềm (Alkaline phosphatase), chiết xuất từ *E.coli* hoặc từ đại tràng.



+ Các phân tử phát hiện: Protein A, biotin và avidin là những phân tử phát hiện. Các IgG hoặc những đoạn của nó phải ở dạng đã được tinh chế. Sự kết nối tốt chỉ có thể đạt được khi đoạn phân tử IgG lấy từ huyết thanh được sử dụng như một chất khởi động. Cần lưu ý, các KT không được lẫn với các protein, các peptid hoặc những chất khác có chứa nhóm amino [23].

+ Chất kết nối: Những chất này phải có hai chức năng:

- Có thể phản ứng với enzyme.
- Phản ứng đồng thời hoặc tiếp theo với phân tử phát hiện để hình thành cầu nối giữa các kháng thể.

Sự kết nối hoá học gây nên bởi cầu nối này phải không bị thay đổi và không bị phá huỷ bởi các hoạt động của enzyme và của kháng thể. Càng giữ cho hoạt động sinh học của các thành phần này tốt thì quá trình kết nối càng được thực hiện tốt [65].

+ Chất tạo hợp chất màu: Dùng để tạo ra một sản phẩm màu tại vị trí kết hợp KN-KT mà có thể quan sát được trên kính hiển vi quang học. Phản ứng này cũng để chứng minh sự có mặt của enzyme. Hiện nay, các phòng xét nghiệm HMMD thường sử dụng diaminobenzidine (DAB), loại này tạo ra một sản phẩm màu nâu, bền vững trong nhiều năm. Ngoài ra, người ta còn sử dụng 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC), tạo ra sản phẩm màu đỏ mà không bị nhầm với sắc tố melanin, vì vậy AEC hay được dùng trong các bệnh của da. AEC hay bị hoà tan trong các dung môi của mô, vì thế phải cần một số vật liệu đặc biệt cho việc gắn. Mặt khác, sản phẩm màu của AEC không bền vững, dễ bị phai màu theo thời gian và nó cũng là một chất có thể gây ung thư nên AEC ít được sử dụng hơn DAB. Hiện nay cũng có một số chất tạo màu đưa ra những sản phẩm phản ứng màu khác như chloronaphthol để tạo ra sản phẩm màu xanh [23].

### ***1.5.2. Các kỹ thuật nhuộm miễn dịch enzyme***

- Miễn dịch enzyme trực tiếp: KN mô kết hợp với KT thứ nhất có gắn enzyme, phương pháp này đơn giản, nhanh, có tính đặc hiệu nhưng ít nhạy do thiếu hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết.

- Miễn dịch enzyme gián tiếp (phương pháp cầu nối): Gồm KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai (kháng Ig loài của KT thứ nhất) gắn với hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết.

Hiện nay có nhiều phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch tùy thuộc vào điều kiện của các phòng xét nghiệm Giải phẫu bệnh và sự quen dùng của các kỹ thuật viên, trong đó phương pháp miễn dịch enzyme gián tiếp tỏ ra có nhiều ưu điểm hơn so với phương pháp gắn trực tiếp [65]:

+ Có thể dùng nhiều loại KT thứ nhất khác nhau.

+ Hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết chỉ gắn với KT thứ hai và có thể tạo ra nhiều vị trí gắn phức hợp nhận biết trên KT thứ hai.

+ KT thứ nhất thường được pha loãng hơn, do đó giảm nhuộm nền hơn.

- Các phương pháp thường dùng là:

+ Phương pháp enzyme chống enzyme (Peroxydase-antiperoxydase): KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp enzyme chống enzyme (peroxydase - antiperoxydase).

+ Phương pháp cầu nối Avidin-Biotin (Avidin-Biotin conjugate), (phương pháp ABC): KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp Avidin, Biotin và peroxydase.

+ Phương pháp cầu nối Biotin-streptavidin: KN mô + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn phức hợp Biotin, Streptavidin và peroxydase.

+ Phương pháp phosphatase kiềm - kháng phosphatase kiềm (Alkaline phosphatase - antialkaline phosphatase) (phương pháp APAAP).

Thực tế cho thấy rằng với những ưu đặc thì nhuộm bằng phương pháp

ABC có độ nhạy cao hơn, ít gây nhuộm nền hơn so với các phương pháp khác. Phương pháp APAAP hay dùng với các tiêu bản máu hoặc dịch tân.

### ***1.5.3. Chất định vị trong mô trên HMMD***

- Chất đó đã tinh chế sẵn dưới dạng kháng nguyên tương đối thuần khiết (để sản xuất kháng thể đặc hiệu).

- Sự bảo toàn (ít nhất một phần) của chất kháng nguyên muốn định vị trong quá trình thao tác kỹ thuật mô học và HMMD.

Khi hai điều trên được tôn trọng, kỹ thuật HMMD có thể được thực hiện có hiệu quả.

### ***1.5.4. Phương pháp nhuộm HMMD***

- Vật liệu kháng nguyên (KN) có mặt trong một mô và đặc biệt hơn trong một lát cắt mô phản ứng đặc hiệu với một kháng thể (KT) chống lại nó. Phản ứng miễn dịch này gây một lắng đọng của một KT đặc hiệu trên vùng mô có KN. Kháng thể này được gắn với một enzyme, ban đầu người ta gắn với phosphatase acid, nhưng sự kết gắn này khó và không ổn định. Hiện nay, người ta gắn với peroxydase ổn định hơn và có thể bảo quản lâu hơn ở 40°C [51].

- Trong kỹ thuật miễn dịch enzyme avidin - biotin, ái lực cao giữa avidin với biotin được sử dụng để ghép cặp peroxidase đánh dấu với kháng thể thứ nhất. Mục đích của nó là bộc lộ vị trí KN (epitope), vì vậy người ta gọi bước này là “bộc lộ KN” hoặc “phục hồi KN”. Kỹ thuật này có thể là làm phân hủy nhiều loại enzyme tiêu protein. Việc xử lý bằng lò vi sóng hoặc cho tiếp xúc với tác động kết hợp của nhiệt và áp suất trong các dụng cụ áp suất sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật này [44], [109].

Hóa mô miễn dịch đã thay thế nhiều KT thường quy và ở chừng mực nhất định, đã có nhiều áp dụng chẩn đoán trên kính hiển vi điện tử. Tuy thế, giống như các kỹ thuật khác, cũng có nhiều sai số, đó là hoạt động của

peroxydase nội sinh và nhuộm nên. Để loại bỏ các yếu tố này, có hai điều quan trọng là khử hoạt động của peroxydase nội sinh bằng hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) và pha loãng KT ở nồng độ loãng tối ưu nhất. Cần tiến hành các kỹ thuật một cách tỉ mỉ, kiểm tra thường xuyên hoạt động kháng thể, chứng âm và chứng dương [111].

#### **1.5.5. Đánh giá kết quả nhuộm**

- Điều kiện đọc kết quả:

+ Phải có tiêu bản chứng âm (trong quá trình nhuộm bỏ qua giai đoạn KT thứ nhất) và chứng dương (nhuộm kèm với tiêu bản mô đã biết chắc chắn là dương tính), có thể dùng chứng dương ngay trong tiêu bản nhuộm, được gọi là nội chứng [99].

+ Phải đối chiếu với tiêu bản nhuộm HE để biết vùng cần đọc kết quả là vùng nào.

+ Biết rõ vị trí KN cần xác định ở nhân, bào tương hay màng tế bào.

- Đọc kết quả [54]:

+ Âm tính: Chỉ có màu xanh của nhân.

+ Dương tính: Màu vàng nâu (nếu dùng màu DAB), màu đỏ (nếu dùng màu AEC), màu xanh (nếu dùng màu chloronaphthol).

#### **1.5.6. Ý nghĩa của HMMD**

- Các tế bào có hình thái kém biệt hóa hoặc không biệt hóa, quá sản hoặc tân sản. Việc xác định nguồn gốc mô học thay đổi tùy loại tế bào và mô.

- Số lượng các thành phần tế bào trong quá trình phát triển của bệnh. Mối tương quan giữa tỷ lệ các tế bào mang một loại KN nào đó có thể có quan hệ với sự tiến triển của bệnh. Tỷ lệ các tế bào u mang các KN nhất định có thể dự báo các bệnh khác nhau, đồng thời cho phép chẩn đoán chính xác bệnh và các tác nhân nhiễm khuẩn.

- Nồng độ thực tế của các KN trong tế bào u có thể dự đoán độ ác tính

của u đó cũng như dự đoán sự đáp ứng của tế bào u với điều trị.

- Xác định vị trí của các KN và sự phân bố của nó trong tế bào và tổ chức, từ đó cung cấp các tiêu chuẩn mới cho chẩn đoán và đánh giá bệnh một cách chính xác hơn.

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

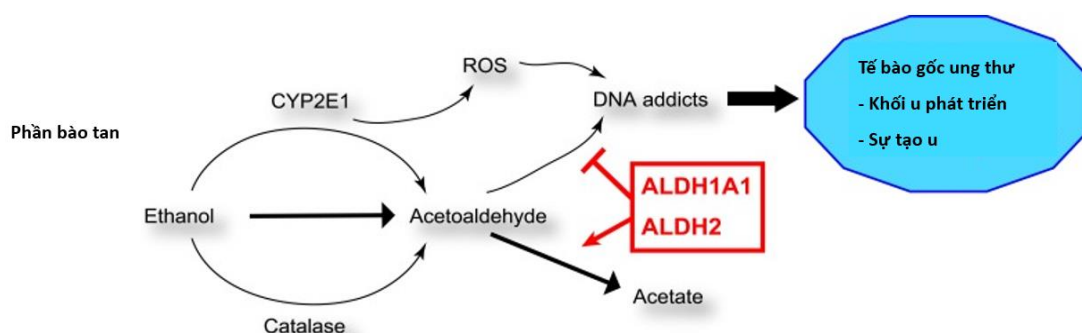
### **1.6.1. Họ gen Aldehyde dehydrogenase**

Aldehyde dehydrogenase là một enzyme có tác dụng xúc tác phản ứng chuyển acetaldehyde (ACH) thành acetate, làm loại bỏ chất độc aldehyde ảnh hưởng đến cơ thể. ALDH có tác dụng oxy hóa hơn 90% ACH được tạo ra từ phản ứng chuyển hóa đầu tiên của ethanol. ALDH được biểu lộ 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 [123].

Ở người, có ít nhất 4 lớp ALDH isozyme đã được phát hiện. Các isoenzyme của ALDH có 2 lớp chính là ALDH1, enzyme tìm thấy trong bào tương tế bào và được mã hoá bởi gen ALDH1A1, và ALDH2, enzyme tìm thấy trong ty thể, được mã hoá bởi gen ALDH2 [73].

Gen *ALDH1A1* có kích thước khoảng 52kb nằm trên nhiễm sắc thể số 9 còn gen *ALDH2* có kích thước khoảng 43 kb nằm trên nhiễm sắc thể số 12. Cả hai gen đều có cấu trúc tương tự nhau bao gồm 13 exon. Thêm vào đó, các protein tương ứng của 2 gen này có trình tự giống nhau tới 70% và cấu trúc không gian cũng tương tự nhau. Gen *ALDH2* được mã hóa bởi gen đa hình thái được nghiên cứu nhiều và biết rõ hơn cả. *ALDH2* mã hóa cho enzyme ALDH2 của ty thể. Gen này nằm trên nhiễm sắc thể số 12, nhánh dài, vùng 2, băng 4 (12q24). Hay nói cách khác là gen *ALDH2* nằm ở cánh dài nhiễm sắc thể số 12, vị trí 24.2 (12q24.2). Chính xác hơn, vị trí của gen *ALDH2* là từ cặp nucleotide 111, 766, 886 đến cặp nucleotide 111, 809, 984 trên NST số 12.

Các nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh rằng hiện tượng đa hình đơn mã hóa cho enzyme ALDH2 liên quan đến nhiều loại hình ung thư [28].



**Hình 1.2.** ALDH và nhóm oxy hoạt động trong tác nhân gây ung thư

\* Nguồn: theo Tomita, H. (2016) [101]

Một điểm đột biến điểm trong gen *ALDH2* dẫn đến hoạt động bị thiếu của enzyme ty thể chuyển hóa ACH và dẫn đến tình trạng phơi nhiễm ACH cục bộ có mối liên quan mật thiết tới ung thư đường tiêu hóa trên. ACH gây rối loạn hàng rào bảo vệ của các chất chống oxy hóa và tạo ra gốc oxy phản ứng (ROS-Reactive Oxygen Species). ROS sẽ ức chế sự sửa chữa và methyl hóa của DNA hình thành nên DNA và protein “nghiện” thúc đẩy gây ung thư và sự phát triển khối u. ACH chủ yếu được chuyển hóa thành acetate nhờ *ALDH2* và *ALDH1A1*. Hoạt động của ALDH yêu cầu duy trì nồng độ thấp của nhóm oxy hoạt động và có tác dụng ngăn chặn tế bào ung thư chết theo chương trình. Nhóm oxy hoạt động và chất phản ứng của aldehyde có liên quan chặt chẽ với tế bào gốc ung thư cũng như sự phát triển khối u và sinh ung thư. Tuy nhiên, mối liên hệ về cơ chế giữa ALDH với ROS ở tế bào gốc và tế bào gốc ung thư cần có thêm những nghiên cứu trong tương lai [110].

Acetaldehyde là một chất gây đột biến gen, genotoxin và gây tổn hại DNA và bằng chứng đầy đủ về khả năng gây ung thư của ACH đã thu được trong thực nghiệm ở động vật. Nghiên cứu đã chứng minh nồng độ cao của chất gây đột biến acetaldehyd-DNA ở người nghiện rượu có hoạt tính dị hợp

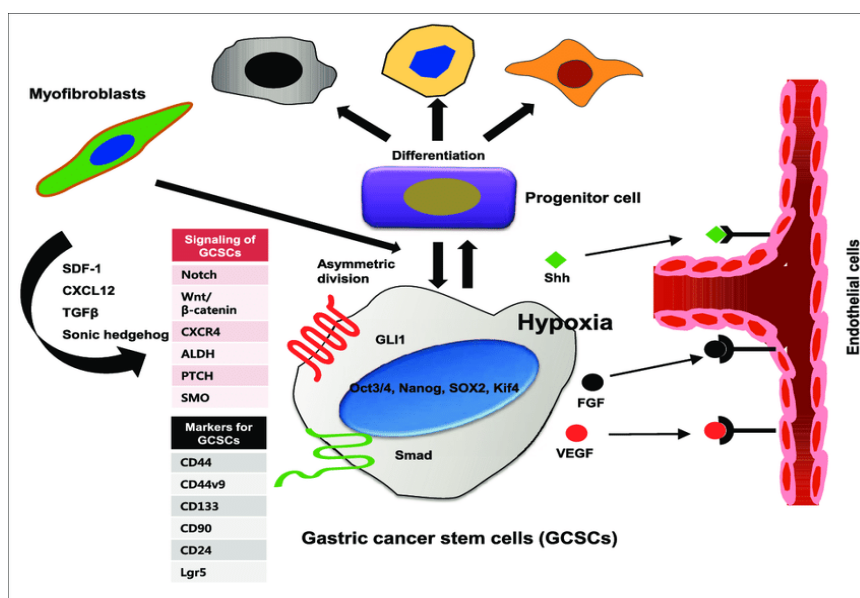
từ *ALDH2*. Sự hình thành các chất tác động lên DNA có thể giải thích bởi tác dụng gây độc gen của ACH [13], [72]. Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC) của WHO đã đưa ra bằng chứng trên người rằng nguyên nhân dẫn đến ung thư thực quản ở người là do thiếu *ALDH2* chuyển hóa ACH. Phân loại ethanol trong đồ uống có cồn là chất gây ung thư nhóm 1 vào năm 2007 và ACH liên quan với việc tiêu thụ rượu là chất gây ung thư nhóm 1 trong năm 2009 [89].

Do đó, các đối tượng thiếu *ALDH2* có nồng độ rượu gấp từ hai đến ba lần ở nước bọt và năm đến sáu lần ở dịch dạ dày có nồng độ ACH cao hơn so với những người có enzyme *ALDH2* hoạt động. Song song với việc tăng phơi nhiễm ACH cục bộ, nguy cơ ung thư miệng, hầu họng, thực quản và UTDD cao hơn rất nhiều ở người uống rượu thiếu *ALDH2* so với người có enzyme *ALDH2* hoạt động.

### **1.6.2. Cơ chế hoạt động của đột biến gen *ALDH***

Các enzyme chuyển hóa ACH chịu trách nhiệm đáng kể cho chuyển hóa rượu đầu tiên ở dạ dày. Niêm mạc dạ dày cũng chứa các enzyme Aldehyde dehydrogenase có hoạt tính cao gấp 2,2 lần so với thực quản và khoảng 13% ở gan [32]. Sự đóng góp của các hệ thống chuyển hóa ethanol khác nhau để điều chỉnh nồng độ ACH của dịch dạ dày có rượu cho đến nay là chưa rõ ràng. Ở những người dạ dày có acid bình thường và enzyme *ALDH2* hoạt động, lượng rượu nội bào 0,5 g/kg làm tăng nhẹ nồng độ ACH của dịch dạ dày từ mức 0 đến đỉnh trung bình là 10,4  $\mu\text{M}$ . Tuy nhiên, ở những người thiếu *ALDH2*, nồng độ ACH có thể rất cao gây đột biến (trung bình 47,1  $\mu\text{M}$ ) đã được quan sát [30]. Mức độ ACH cao nhất ở dạ dày (trung bình 63,9  $\mu\text{M}$ , từ 32,0-96,7  $\mu\text{M}$ ) được tìm thấy ở những cá nhân thiếu *ALDH2* sau 7 ngày điều trị bằng thuốc ức chế acid (rabeprazole 10 mg b.i.d.) [67]. Sự gia tăng đáng kể nồng độ ACH trong dịch dạ dày do rượu gây ra ở bệnh nhân hypochlorhydric

và achlorhydric, đặc biệt là những người thiếu ALDH2, cung cấp bằng chứng mạnh mẽ cho khả năng gây ung thư tại chỗ của ACH.



**Hình 1.3.** ALDH và ung thư dạ dày

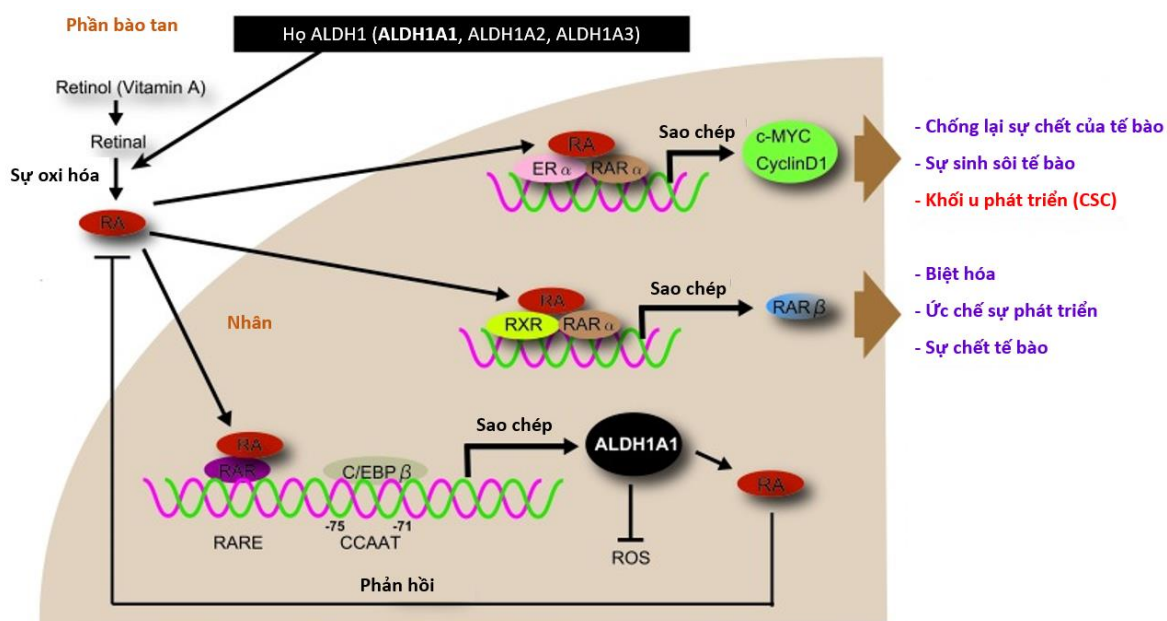
\* Nguồn: theo Lee, D. H. (2017) [58]

### 1.6.3. Biểu lộ của ALDH ở bệnh nhân ung thư dạ dày

Có một số nghiên cứu về mối liên quan có thể có giữa thiếu ALDH2 và UTDD. Nguy cơ mắc ung thư dạ dày tương đối cao ở những người nghiện rượu nặng thiếu ALDH2 đã được báo cáo [33]. Một nghiên cứu ở Nhật Bản trên 45 người nghiện rượu bị UTDD và 281 chứng cho thấy nguy cơ UTDD tăng đáng kể trong số người nghiện rượu thiếu ALDH2, bị viêm dạ dày teo nặng (CAG). OR cho những người có viêm dạ dày nặng kết hợp với thiếu ALDH2 là 39,2 so với 17,6 đối với những người chỉ có viêm dạ dày và 9,7 đối với những người bị thiếu ALDH2 đơn thuần.

Đột biến ALDH2 kiểu châu Á gần như không có ở châu Âu. Một số đột biến gen ALDH2 khác có thể liên quan đến tăng ACH và nguy cơ ung thư ở người da trắng.





**Hình 1.4.** Chức năng của ALDH trong UTDD

\* Nguồn: theo Tomita, H. (2016)[102]

Trong số 19 enzyme ALDH ở con người được biết đến, chỉ có ba isozyme ALDH, ALDH1A1, ALDH2 và ALDH3A1 đã được nghiên cứu liên quan đến thuốc ức chế. Đây là các enzyme liên quan đến chuyển hóa rượu (ALDH2) và thuốc chống ung thư như cyclophosphamide và procarbazine (ALDH1A1 và ALDH3A1) [35].

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

Có nhiều bằng chứng về vai trò của ALDH trong việc 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 [2].

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

ALDH là enzyme 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 xạ trị [129].

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

### **1.7.1. Gen KRAS**

Họ gen *RAS* gồm 3 loại *HRAS*, *KRAS*, *NRAS* (Harvey-RAS, Kirsten-RAS và Neuroblastoma-RAS). *RAS* là gen có khả năng sinh ung thư nằm ở nhiễm sắc thể 12, 6 và 1. Gen *RAS* có hoạt động GTPase nội tại; nó mã hóa các protein liên kết các nucleotide guanine, có chức năng điều hòa đường truyền tín hiệu phân bào. Khi gen *RAS* bị đột biến, nó mất khả năng kiểm soát sự phân bào, làm cho tế bào phân chia quá mức dẫn đến ung thư. Nhiều nghiên cứu cho thấy khoảng 50% các u tuyến kích thước hơn 1cm và những ung thư biểu mô sớm có đột biến gen *RAS* khi xét nghiệm. Các gen *RAS* không đột biến hay còn gọi là “tự nhiên” và đột biến các gen *RAS* và được gọi là *RAS* đột biến. Quyết định hóa trị phối hợp các thuốc điều trị đích khi bệnh nhân ở giai đoạn muộn thường dựa vào tình trạng gen *RAS* tự nhiên hay đột biến [45].

Khoảng 30% các ca ung thư ở người có sự tham gia của gen *RAS*. *KRAS* và *HRAS* đã được phát hiện trong các nghiên cứu tiến hành về virus gây ung thư. Oncogenes retrovirus liên quan đến gen virus sarcoma murine (virus

Kirsten rat sarcoma và Harvey rat sarcoma) đã được phát hiện vào năm 1982. Hai gen gây ung thư này tương tự như *KRAS* ở người. Đột biến *KRAS* chiếm khoảng 85% tổng số đột biến *RAS* ở khối u ở người, *NRAS* khoảng 11% đến 15% và *HRAS* chiếm khoảng 1% [75], [56].

*KRAS* (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogen homolog) là một gen nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 12, với kích thước 46148 cặp base, bắt đầu từ vị trí base thứ 25357723 đến vị trí base thứ 25403870. Gen *KRAS* cấu tạo gồm 6 exon, trong đó exon 2, 3, 4 chứa thông tin di truyền quy định đặc điểm của tế bào [14].

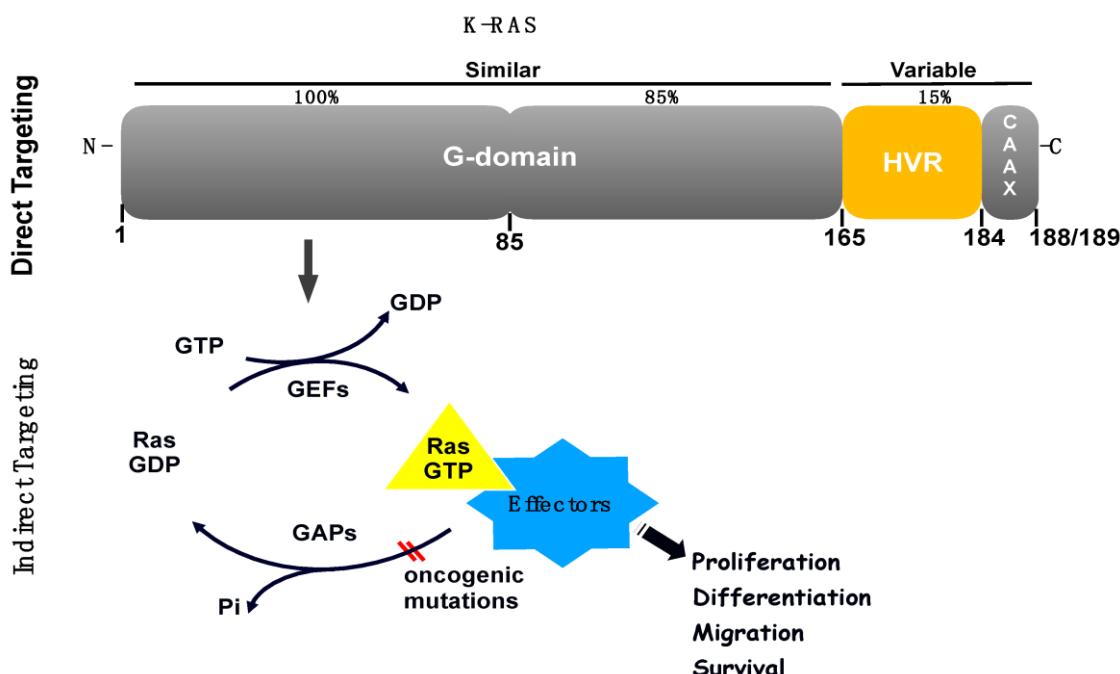
Các đột biến gen liên quan đến tình trạng kháng thuốc nằm ở các codon 12, 13 trên exon 2. Dạng đột biến hay gặp nhất là đột biến thay thế G>A và đột biến chuyển cặp G>T. Xuất hiện của đột biến tại codon 12, 13 trên exon 2 gây ra sự kháng với các thuốc điều trị trúng đích EGFR như panitumumab và cetuximab. Vì vậy, các thuốc panitumumab và cetuximab chỉ được chỉ định khi gen *KRAS* không mang đột biến [48].

### **1.7.2. Cơ chế hoạt động của đột biến gen *KRAS***

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. 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 protein *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 [92].

Đột biến *KRAS* đã được tìm thấy trong nhiều bệnh ung thư ở người. Trong ung thư đại tràng có đột biến *KRAS*, đột biến exon 3 dự đoán tiên lượng xấu nhất, trong khi đột biến exon 4 dự đoán tiên lượng tốt nhất. Trong số các bệnh nhân đột biến *KRAS* exon 2, codon 13 đột biến dự đoán tiên lượng xấu hơn đột biến codon 12. Các đột biến của các exon *KRAS* khác nhau nên được phân tích riêng [37]. Chúng làm cho protein phức hợp RAS-GTP đề kháng với sự thủy phân của GTPase, dẫn đến sự hoạt động *KRAS*-GTP tăng quá mức, 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 thời gian sống của tế bào dẫn đến chuyển dạng ung thư [94].



**Hình 1.5.** Hoạt động của protein RAS

\* Nguồn: theo Aran, V. (2019) [11]

### ***1.7.3. Biểu lộ của KRAS trong ung thư dạ dày***

Báo cáo đầu tiên về đột biến KRAS trong UTDD công bố năm 1986. Các nghiên cứu này đã mô tả sự hiện diện của một alen KRAS đột biến đơn cùng với khuếch đại 30-50 lần của các alen KRAS khác. Kể từ đó, 64 nghiên cứu (tính đến năm 2015) đã báo cáo về tỷ lệ đột biến KRAS trong UTDD. Tỷ lệ mắc trung bình chung của đột biến KRAS ở UTDD là 6,5% (dao động từ 0-29%) [42].

Một số nghiên cứu đã bổ sung vai trò của sự khuếch đại gen hoặc/và sự biểu lộ quá mức của KRAS trong ung thư bên cạnh vai trò của đột biến KRAS. Đáng chú ý, các nghiên cứu chỉ ra rằng sự khuếch đại KRAS trong một số trường hợp ung thư dạ dày còn cao hơn so với đột biến [85].

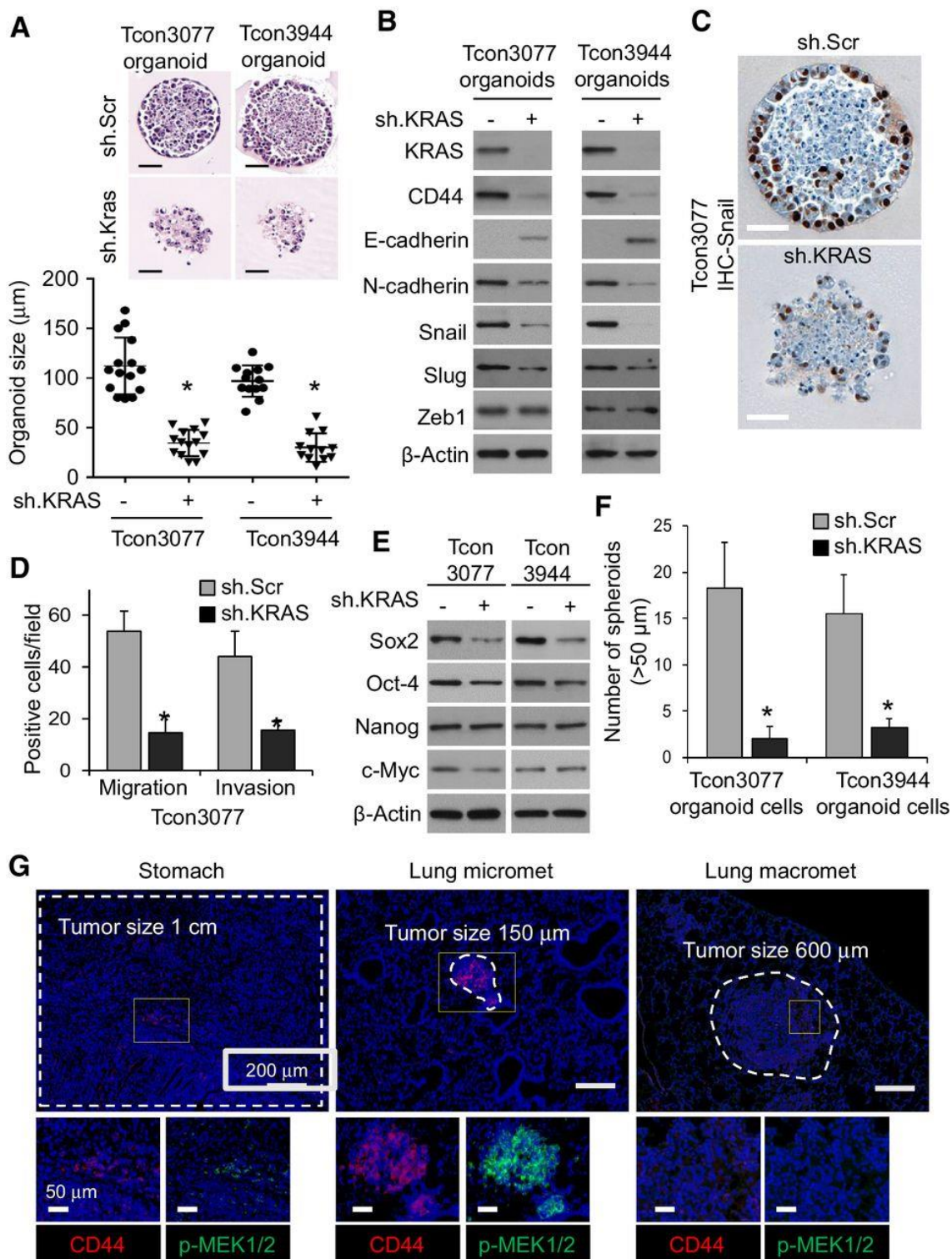
### ***1.7.4. Vai trò KRAS trong di căn ung thư dạ dày***

Các gen mã hóa các protein trong con đường 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 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 [120].

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 (TBGUT). TBGUT - sự tồn tại của nó 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 TBGUT và tế bào khối u có thể là do những thay đổi do chương trình EMT gây ra. Mô hình TBGUT có thể giải thích những thay đổi dẫn đến sự đa dạng về kiểu hình trong các tế bào khối u và dẫn đến kháng hóa trị. Vì hầu hết các hóa trị liệu thông thường không loại bỏ được TBGUT một cách đáng tin cậy, các chiến lược điều trị nhắm vào các tế bào này sẽ vừa đảo ngược tình trạng kháng hóa trị vừa ngăn ngừa tái phát. Một số bằng chứng liên kết tín hiệu RTK-RAS với EMT và TBGUT đến từ Yoon và các đồng nghiệp, những người đã điều trị  $Runx3^{-/-}$   $p53^{-/-}$  tế bào biểu mô dạ dày ở chuột bằng TGF $\beta$ 1 để tạo ra EMT và nhận thấy sự gia tăng trong dấu hiệu biểu lộ gen EGFR/Ras. Việc bổ sung EGF hoặc gia tăng mức độ biểu lộ của KRAS đã dẫn đến sự hình thành khối và khuần lạc trong môi trường thạch mềm. Điều đó chứng tỏ rằng, con đường EGFR/Ras có liên quan đến việc thúc đẩy EMT để tạo TBGUT. Mặc dù, vai trò của con đường RTK-RAS trong EMT và TBGUT 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 [120].

Nếu TBGUT dạ dày là nguồn di căn, Yoon, C. và cộng sự đã lập luận rằng số lượng TBGUT phải cao hơn trong các di căn vi mô so với các khối u nguyên phát hoặc di căn vĩ mô. Do đó, Yoon, C. đã kiểm tra các khối u dạ dày nguyên phát, di căn phổi vi thể và di căn phổi đại thể từ chuột Tcon để tìm biểu hiện của dấu hiệu TBGUT dạ dày CD44 và phát hiện ra rằng số lượng tế bào biểu hiện CD44 trong di căn phổi vi thể cao hơn 2,8 lần so với các khối u dạ dày nguyên phát và cao hơn 5,4 lần so với di căn phổi vĩ mô. Tác giả cũng tìm thấy mức MEK phosphoryl hóa cao hơn, mục tiêu cuối của KRAS, trong di căn phổi so với khối u nguyên phát. Những dữ liệu này cho thấy rằng, KRAS gây ung thư, thúc đẩy sự di căn trong mô hình ung thư biểu mô tuyến dạ dày [120].



**Hình 1.6.** *KRAS* gây di căn phổi từ ung thư dạ dày

\* Nguồn: theo Yoon, C. (2019) [120]

Mặc dù, mối quan hệ giữa kích hoạt KRAS và chức năng TBGUT chưa được nghiên cứu rộng rãi trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày, nhưng đã có một số nghiên cứu về các khối u đường tiêu hóa khác. Trong ung thư đại trực tràng, Blaj và các đồng nghiệp đã phát hiện ra rằng, hoạt động MAPK cao thúc đẩy EMT và đánh dấu một quần thể tế bào đang phát triển [16]. Ngoài ra, trong bệnh ung thư đại trực tràng, Moon và các đồng nghiệp đã chỉ ra trong các tế bào mang APC bị đột biến, KRAS gây ung thư làm tăng biểu hiện của các dấu hiệu TBGUT (CD44, CD133 và CD166), sự hình thành khối u và kích thước của mảnh ghép ngoại lai. Trong TBGUT tuyến tụy, sự ức chế KRAS dẫn đến điều chỉnh giảm tín hiệu JNK và mất khả năng tự đổi mới và hình thành khối u [81]. Trong nghiên cứu này, Yoon, C. đã sử dụng sự hình thành và biểu hiện khối u của CD44 làm phương tiện xác định TBGUT biểu mô tuyến dạ dày. Các tế bào ung thư biểu mô tuyến dạ dày hoặc tế bào CD44 (+) này đã tăng kích hoạt con đường KRAS khi được đo bằng cách liên kết với RAF và quá trình phosphoryl hóa MEK và ERK. Chúng cũng có sự biểu lộ cao của yếu tố tế bào gốc Slug cùng với sự hình thành khuẩn lạc tăng lên trong môi trường thạch mềm. Ức chế KRAS trong các tế bào ung thư biểu mô tuyến dạ dày bằng cách sử dụng ức chế shRNA hoặc MEK đã chặn các kiểu hình TBGUT bao gồm hình thành hình cầu, hình thành khuẩn lạc mềm và kháng hóa trị. Do đó, hoạt động KRAS có thể là một con đường phổ biến hỗ trợ chức năng TBGUT trong ung thư đường tiêu hóa.

Vì RAS GTPase bao gồm KRAS khó điều trị nhắm đích, nên Yoon, C. đã ức chế con đường KRAS bằng cách sử dụng chất ức chế MEK. Một số chất ức chế MEK bao gồm trametinib, cobimetinib và binimetinib hiện đã được FDA phê duyệt để sử dụng cho những bệnh nhân bị u ác tính đột biến BRAF. Chất ức chế MEK được sử dụng trong nghiên cứu này, PD0325901, hiện đang được thử nghiệm lâm sàng cho những bệnh nhân có nhiều khối u



rắn khác nhau. Tác dụng ức chế của PD0325901 đối với sự hình thành khối u, sự hình thành khuẩn lạc thạch mềm, biểu hiện protein EMT, sự di cư và sự xâm lấn tương tự như tác dụng của KRAS do shRNA không chế. Kết quả của Yoon, C. cũng đề xuất một chiến lược tiềm năng cho các liệu pháp nhắm đích ức chế con đường RTK-RAS đối với một nhóm bệnh nhân bị ung thư biểu mô tuyến dạ dày. Ức chế con đường RTK-RAS chỉ có thể có hiệu quả đối với một nhóm nhỏ ung thư biểu mô tuyến dạ dày có hoạt tính RTK-RAS cao. Phát hiện của Yoon, C. rằng những bệnh nhân có mức độ CD44 trong khối u tăng lên và tăng kích hoạt con đường RAS có tỷ lệ sống sót giảm hơn đáng kể sau khi cắt bỏ khối u cho thấy đây có thể là một phân nhóm trong đó nhắm mục tiêu vào con đường RTK-RAS sẽ có lợi nhất [120]. Nghiên cứu này cung cấp cơ sở lý luận để nghiên cứu các chất ức chế con đường KRAS để ngăn chặn sự di căn và đảo ngược tình trạng kháng hóa trị trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày.

#### ***1.7.5. 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 chủ 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 [42].

Ở ung thư đại trực tràng, đột biến KRAS và đột biến *BRAF* được biết đến là những yếu tố dự đoán đáp ứng kém với các thuốc nhắm đích EGFR, chẳng hạn như cetuximab và panitumumab và sàng lọc đột biến RAS/BRAF hiện là một phần của chẩn đoán lâm sàng thông thường. Ngược lại, giá trị tiên lượng 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 tiên phát, KRAS đã báo cáo độ nhạy cảm với các thuốc nhắm đích EGFR. Các nhà điều tra khác báo cáo rằng, cả hai dòng tế bào UTDD đột biến và UTDD tiên phát 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 hiện EGFR [42].

## **1.8. Tình hình nghiên cứu về ALDH, KRAS ở bệnh nhân UTDD**

### **1.8.1. Nghiên cứu trong nước**

Ung thư dạ dày là bệnh phổ biến tại Việt Nam, chẩn đoán bệnh ở giai đoạn sớm đã có thể thực hiện được ở nhiều cơ sở y tế, tuy nhiên do nhiều lí do mà số lượng bệnh nhân đến viện khi bệnh đã ở giai đoạn muộn vẫn nhiều. Cho đến nay đã có nhiều nghiên cứu về UTDD khá công phu ở nhiều chuyên ngành như dịch tễ, sinh học phân tử, nội khoa, ngoại khoa nhưng mới chỉ có nghiên cứu của Nguyễn Khắc Tấn đề cập đến đặc điểm hóa mô miễn dịch ở bệnh nhân UTDD [7]. Kết quả nghiên cứu rất mới này cho thấy tỷ lệ biểu lộ ALDH là 62,6% trong số 107 bệnh nhân UTDD. Sau khi phân tích thì tác giả thấy sự biểu lộ ALDH đồng thời với HER2, CD44 có tỷ lệ cao hơn ở typ ruột theo phân loại bệnh học Lauren và ở typ tuyến nhầy theo phân loại bệnh học của WHO với  $p < 0,05$  [7].

### ***1.8.2. Nghiên cứu ngoài nước***

ALDH không chỉ có vai trò trong sinh lý và trong sự phân chia, biệt hóa tế bào ung thư mà còn kiểm soát sự tồn tại của khối u thông qua bất hoạt trực tiếp, hoặc gián tiếp các yếu tố ngoại sinh cũng như tăng cường khả năng đáp ứng chống oxy hóa [36]. Người ta đã nhấn mạnh nhiều đến các thành viên ALDH1A1 và ALDH1A3 của họ ALDH1 của các Enzyme tế bào cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp RA. ALDH1A1 và ALDH1A3 điều chỉnh chức năng tế bào ở cả tế bào gốc bình thường và tế bào gốc khởi phát khối u, thúc đẩy sự phát triển của khối u để kháng lại thuốc điều trị và bức xạ [104].

Trong những năm gần đây, các thụ thể của yếu tố sinh trưởng, các chất ức chế tyrosine kinase (EGFR-TKI) đã được sử dụng như một liệu pháp tiềm năng trong việc ức chế sự sinh trưởng của các tế bào ung thư. EGFR-TKI có thể ức chế quá trình phân chia thông qua ngăn chặn EGFR hoạt hóa trong con đường tín hiệu tyrosine kinase, một trong những con đường được quan sát thấy chủ yếu ở nhiều dạng ung thư [64]. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu gần đây, Gkoutakos, A. và cộng sự chỉ ra rằng, khả năng chống chịu với EGFR-TKI của các tế bào ung thư phổi liên quan tới mức độ sự chuyển hóa của ALDH1A1 [36].

Tỷ lệ mắc KRAS trung vị tương tự trong các nghiên cứu phương Đông và phương Tây (Đông: 6%, từ 0-20%; Tây 7,5%, từ 0-29%). Tương tự như vậy, nghiên cứu đa trung tâm quốc tế lớn nhất báo cáo tỷ lệ đột biến KRAS tổng thể là 4,2%, không khác biệt giữa phương Đông và phương Tây (Anh 6%, Nhật Bản 4%, Singapore 2%). Trong số 36 nghiên cứu báo cáo vị trí của đột biến ở KRAS, 154 đột biến được tìm thấy ở codon 12, 66 đột biến ở codon 13, sáu đột biến ở codon 61. Một nghiên cứu khác cũng xác định một KRAS đột biến ở codon 12 và hai đột biến KRAS ở codon 13 [42].

Trước đây Yoon, C. và cộng sự đã chỉ ra rằng, KRAS gây ung thư có thể làm tăng khối u dạ dày và di căn trong mô hình chuột biến đổi gen. Trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày do mất Cdh1 và Trp53 trong tế bào thành dạ dày, 69% chuột phát triển ung thư biểu mô tuyến dạ dày lan tỏa đã di căn đến các hạch bạch huyết sau 1 năm. Kết hợp điều đó với KRAS gây ung thư (KRASG12D) đã làm tăng sự xâm nhập của sự phát triển ung thư biểu mô tuyến dạ dày lên 100% và giảm tỷ lệ sống còn 76 ngày. Ở những con chuột này, cả khối u nguyên phát ở ruột và khối u lan tỏa đều được quan sát thấy khắp dạ dày, cũng như di căn hạch bạch huyết, phổi và gan. Khi chuột Tcon được điều trị bằng chất ức chế MEK bắt đầu từ 4 tuần tuổi, tỷ lệ sống trung bình tăng từ 76 lên 95 ngày [120].

Cho đến nay, việc sử dụng các thuốc kháng EGFR (cetuximab và panitumumab) trong các thử nghiệm UTDD di căn giai đoạn III ở bệnh nhân cho thấy không có sự khác biệt hoặc khả năng sống sót kém hơn so với nhóm đối chứng. Trong thử nghiệm REAL3, tình trạng đột biến KRAS không dự đoán khả năng kháng panitumumab ở UTDD [42]. Nghiên cứu của Fu, X. H. nhận thấy tần suất đột biến KRAS, BRAF và PIK3CA ở bệnh nhân UTDD lần lượt là 4,1%, 1,2% và 3,5%. Trong đó, tác giả thấy rằng KRAS G12V là một yếu tố tiên lượng xấu đối với bệnh nhân ung thư dạ dày [32].

Do tỷ lệ mắc phải của UTDD ngày càng tăng, đặc biệt là ở phương Tây và dường như đột biến gen KRAS có khả năng kháng cao với hóa trị liệu tiêu chuẩn, liệu pháp nhắm đích EGFR trong UTDD có thể là một phương pháp điều trị đầy hứa hẹn được lựa chọn trong tương lai [42].

## CHƯƠNG 2

### 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 khoa Ngoại tổng hợp, 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 [96].
- Bệnh nhân được điều trị phẫu thuật triệt căn (bao gồm cắt dạ dày bán phần và vét hạch tiêu chuẩn).
- 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

##### 2.2.1. Phương pháp và thiết kế nghiên cứu

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

##### 2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu và cách chọn mẫu

- Cỡ mẫu: Áp dụng công thức ước tính cỡ mẫu [5]:

$$n = \frac{Z_{(1-\alpha/2)}^2 p(1-p)}{d^2}$$

-  $Z^2_{(1-\alpha/2)}$ : hệ số giới hạn tin cậy, chọn mức tin cậy 95%  $\rightarrow Z^2_{(1-\alpha/2)}=1,96$

- d: Mức chính xác nghiên cứu (cho phép đến 0,1).

- p: Là ước đoán tham số chưa biết của quần thể. Ở đây là tỷ lệ bệnh nhân UTDD có biểu lộ Aldehyde dehydrogenase hoặc KRAS dương tính vì mục tiêu chính trong nghiên cứu này là xác định tỷ lệ biểu lộ các dấu ấn trên ở bệnh nhân UTDD. Nghiên cứu của Wang, L. (2022) thì tỷ lệ biểu lộ ALDH trong các mẫu mô UTDD là 43,9%, do đó cỡ mẫu  $n = 1,96^2 \times 0,439 \times (1 - 0,439) / 0,01 = 94,6$  bệnh nhân [107].

Li, M. thực hiện một nghiên cứu về hoá mô miễn dịch đã chỉ ra rằng, KRAS biểu lộ trên bệnh nhân ung thư dạ dày với tỷ lệ là 61,8% [60]. Cỡ mẫu  $n = 1,96^2 \times 0,618 \times (1 - 0,618) / 0,01 = 84$  bệnh nhân.

Tính chung cỡ mẫu cho cả hai dấu ấn ALDH và KRAS trong nghiên cứu này là  $n = 95$ . Trong thời điểm từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 5 năm 2020, có 103 bệnh nhân phù hợp với tiêu chuẩn và chúng tôi lấy trọn số bệnh nhân này đưa vào nghiên cứu.

### **2.2.3. Phương tiện nghiên cứu**

- Máy chụp CT 32 dãy Brivo CT385 của hãng GE Healthcare (Hoa Kỳ), đặt tại khoa Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện K.

- Máy nội soi dạ dày Olympus (Nhật Bản) tại khoa Thăm dò chức năng, Bệnh viện K.

- Các kháng thể, kháng thể đơn dòng dùng cho phân tích các dấu ấn tiên lượng 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.



**Hình 2.1.** Máy cắt Microtome Leica RM 2245

(\* Nguồn: Phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp)

#### **2.2.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu**

- Giới.
- Tuổi.
- Tiền sử bản thân; Thói quen sinh hoạt.
- Lý do đến khám: Đau thượng vị, xuất huyết tiêu hóa, sút cân, nóng rát thượng vị, ợ hơi, ợ chua, buồn nôn, nôn, khó nuốt, các triệu chứng khác.
- Triệu chứng lâm sàng: Đau thượng vị, sút cân, chán ăn, buồn nôn, nôn, xuất huyết tiêu hóa, khó nuốt, thiếu máu, mệt mỏi.
- Vị trí u: Thân vị, bờ cong lớn, bờ cong nhỏ, hang vị, môn vị.
- Đặc điểm hình thái khối u theo phân loại Borrmann: Dạng polyp, dạng nấm, dạng loét, dạng thâm nhiễm.

- Phân loại mô bệnh học theo Lauren: Thể ruột, thể lan toả, thể hỗn hợp.
- Phân loại mô bệnh học theo WHO: Ung thư biểu mô tuyến nhú, ung thư biểu mô tuyến ống, ung thư biểu mô tuyến nhày, ung thư biểu mô tế bào nhân, ung thư biểu mô tế bào vảy, loại khác.
- Phân loại độ biệt hoá theo WHO: Biệt hóa thấp, biệt hóa vừa, biệt hóa cao, không phân loại.
- Phân loại TNM của UTDD: Mức độ xâm lấn, tình trạng hạch, tình trạng di căn xa.
- Phân loại giai đoạn UTDD: Giai đoạn I, giai đoạn II, giai đoạn III, giai đoạn IV.
- Sự biểu lộ của dấu ấn miễn dịch ALDH: Âm tính, dương tính.
- Sự biểu lộ của dấu ấn miễn dịch KRAS: Âm tính, dương tính.

### **2.2.5. Định nghĩa, giải thích các biến số, chỉ số**

*2.2.5.1. 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.*

- *Đặc điểm chung của bệnh nhân*
- + Chỉ số nhân trắc:
  - Phân bố UTDD ở hai giới: Nam và nữ.
  - Phân bố UTDD ở các nhóm tuổi: <50, 50-59, 60-69, ≥ 70.
- + Lí do đến viện khám: Đau bụng thượng vị, chán ăn, sút cân (Giảm ≥ 5 % trọng lượng cơ thể so với lúc chưa bị ung thư) [105], buồn nôn, nôn ra máu và/hoặc đi ngoài phân đen, khó nuốt, thiếu máu, mệt mỏi.
- + Triệu chứng lâm sàng:
  - Các triệu chứng cơ năng: Đau bụng thượng vị, chán ăn, sút cân (Giảm ≥ 5 % trọng lượng cơ thể so với lúc chưa bị ung thư) [105], buồn nôn, nôn ra máu và/hoặc đi ngoài phân đen, khó nuốt, thiếu máu, mệt mỏi.



- Các triệu chứng toàn thân: Thiếu máu, vàng da, vàng mắt, hạch thượng đòn to.

- Các triệu chứng thực thể: Cổ trướng, có khối/mảng cứng thượng vị.

- + Tiền sử bản thân: Đau thượng vị, viêm dạ dày, loét dạ dày, phẫu thuật cắt dạ dày (Đã có kết quả khám bệnh tại các cơ sở y tế được cấp phép của cơ quan quản lý y tế).

- + Tiền sử sinh hoạt: Hút thuốc (Hút từ 1 điếu thuốc trở lên/ngày, liên tục trong ít nhất 1 tháng) [29], uống rượu (Uống rượu trung bình 47g/ngày, liên tục trong ít nhất 6 tháng) [30], tiếp xúc kim loại nặng (Tiếp xúc với kim loại nặng thời gian từ 1 năm trở lên).

- *Chỉ số cận lâm sàng*

- + Đặc điểm hình ảnh nội soi: Xác định vị trí tổn thương UTDD (Tâm vị, phình vị, bờ cong lớn, bờ cong nhỏ, thân vị, hang vị, môn vị).

- + Hình thái khối u theo Borrmann [108]:

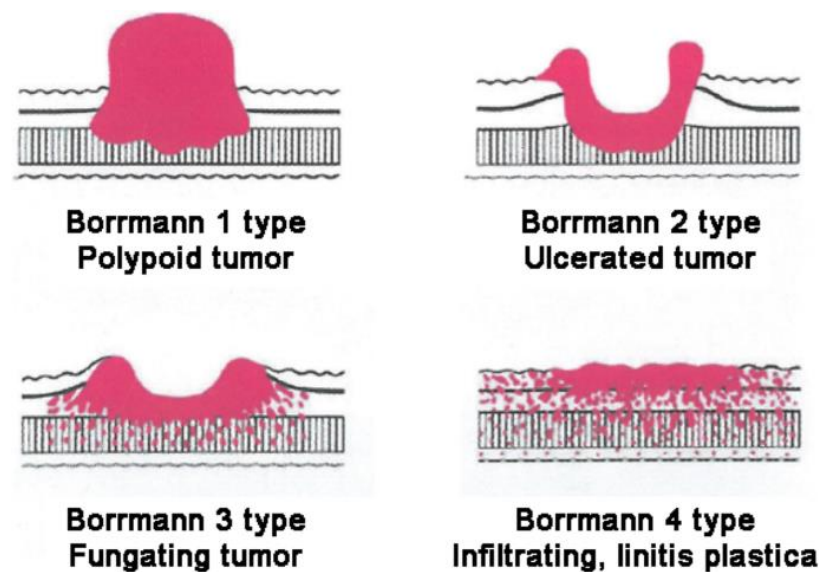
- Borrmann typ I (Dạng polyp): Dạng polypoid (dạng lồi), UTDD tiến triển Borrmann typ I thường hay gặp ở thân vị, có thể gặp ở tâm vị và hang vị. Với hình ảnh điển hình trên nội soi là tổn thương ung thư lồi vào trong lòng dạ dày, thường trên bề mặt không có loét.

- Borrmann typ II (Dạng nấm): Là dạng khối có loét, đặc điểm tổn thương là bờ ổ loét có ranh giới rõ với niêm mạc xung quanh. Đáy ổ loét gồm có tế bào ung thư hoại tử, tổ chức hạt và các nốt tân tạo. Bề mặt vùng tổn thương xung quanh ổ loét có thể thấy bất thường xung huyết đỏ.

- Borrmann typ III (Dạng loét): Dạng loét có thâm nhiễm với bờ nhám nhở, thường gặp trên nội soi. Đôi khi khó có thể phân biệt được tổn thương Borrmann typ II hay Borrmann typ III. Khi ổ loét tròn có độ sâu có khác biệt rõ với vùng thâm nhiễm thì xếp vào Borrmann typ II, còn ổ loét nông, bờ không rõ, thâm nhiễm thì xếp Borrmann typ III.

- Borrmann typ IV (Dạng thâm nhiễm): Năm 1926, Borrmann định

nghĩa UTDD lan tỏa không có loét, không có ranh giới rõ ràng ngay cả trên bệnh phẩm sau phẫu thuật là UTDD tiến triển Borrmann typ IV. Trong trường hợp ngay cả UTDD có loét, tổn thương ung thư thâm nhiễm lan tỏa rộng cần được xem xét xếp loại như UTDD tiến triển Borrmann typ IV. Dạng thâm nhiễm lan tỏa rất dễ bỏ sót, trên nội soi có thể quan sát thấy các nếp niêm mạc phì đại, dạ dày cứng, giảm hoặc mất nhu động, bơm hơi thì thường dạ dày không giãn ra. Cần đánh giá kỹ lưỡng và sinh thiết ở những vị trí có loét hoặc trợt, trong nhiều trường hợp sinh thiết có thể âm tính mặc dù đã sinh thiết nhiều lần. Trong trường hợp nghi ngờ UTDD tiến triển Borrmann typ IV nên phối hợp thêm các phương pháp chẩn đoán khác để tránh bỏ sót tổn thương có thể dẫn đến di căn phức tạp. Đến giai đoạn muộn thì điều trị hay không đều không có kết quả.



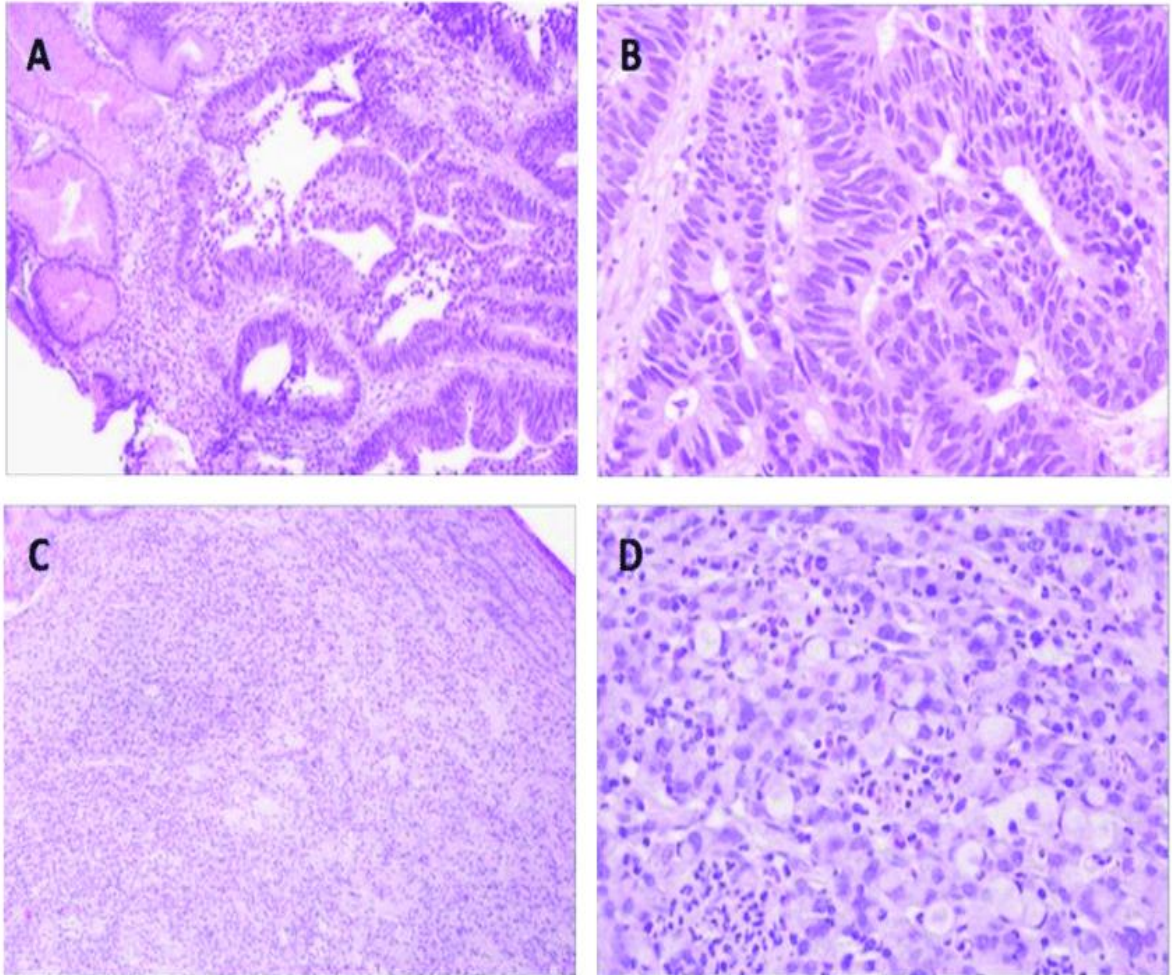
**Hình 2.2.** Phân loại UTDD theo Borrmann

\* Nguồn: Theo Society of Gastric Cancer of China Anti-Cancer (2022) [97]

+ Đặc điểm mô bệnh học theo phân loại của Lauren [66], gồm:

- Thở ruột: Gồm những tế bào u kết dính tạo ra cấu trúc ống tuyến tương tự như tuyến ruột.

- Thể lan tỏa: Gồm tế bào dạng nhũ hoặc những tế bào rải rác trong chất căn bản mô đệm, không có bằng chứng tạo tuyến, không có tính kết dính.
- Thể hỗn hợp: kết hợp 2 thể mô bệnh học trên.



A,B: thể ruột; C,D: thể lan tỏa

**Hình 2.3.** Phân loại UTDD theo Lauren

\* Nguồn: theo Bermúdez, A. (2021) [15]

+ Đặc điểm mô bệnh học theo phân loại của WHO năm 2010 [18], gồm:

- Ung thư biểu mô tuyến:

Ung thư biểu mô tuyến nhú (Papillary adenocarcinoma): Các tế bào u sắp xếp thành cấu trúc tuyến nhú chia nhánh với trục liên kết phát triển vào trong lòng tuyến. Tế bào u có hình trụ hoặc vuông, có thể thấy biểu hiện đa

hình thái về mặt tế bào và nhân nhưng thường là tương đối đều nhau. Mô đệm, tùy từng trường hợp có xâm nhập các tế bào viêm cấp và mạn tính.

Ung thư biểu mô tuyến ống (Tubular adenocarcinoma): Các tế bào u sắp xếp tạo thành hình tuyến ống, tùy theo diện cắt, có thể là hình tròn hoặc bầu dục với kích thước khác nhau, lòng tuyến có thể giãn rộng thành nang. Tế bào u hình trụ hoặc vuông, khi tuyến giãn rộng chứa nhày, tế bào u trở nên thấp dẹt. Mức độ không điển hình của tế bào có thể từ thấp đến cao. Ở biến thể biệt hóa thấp đôi khi còn được gọi là ung thư thể đặc. Quanh các tuyến ung thư thường có mô liên kết bao bọc. U có mô đệm lympho nhiều được gọi là ung thư biểu mô thể tủy hoặc ung thư biểu mô với mô đệm dạng lympho. Mức độ tạo mô liên kết xơ thường dễ thấy và thay đổi.

*Ung thư tuyến ống được phân làm ba mức độ:*

Biệt hóa cao: Các tuyến hình thành rõ (hơn 95% khối u có cấu trúc tuyến), lòng tuyến rộng dễ nhận biết.

Biệt hóa vừa: Không điển hình về cấu trúc và tế bào tương đối rõ rệt. Lòng tuyến tương đối hẹp, nhân tế bào tương đối lớn, tỷ lệ nhân trên bào tương tăng vừa hoặc rõ, chỉ số nhân chia tăng (các tuyến từ 50-95%).

Biệt hóa thấp: Các tuyến không đều (các tuyến từ 49% hay ít hơn), lòng tuyến hẹp khó nhận ra hoặc tế bào u phân tán hoặc tập trung thành đám, có thể gọi cấu trúc nang (acinar) có thể có chất nhày. Tế bào đa hình thái, nhân lớn, tăng chỉ số nhân chia.

- Ung thư biểu mô tuyến nhày (Mucinous adenocarcinoma): Mô ung thư có một lượng lớn chất nhày, chất này chứa đầy trong lòng tuyến làm cho lòng tuyến giãn rộng và tràn vào mô đệm. Có trường hợp không có hình tuyến rõ rệt, tế bào u tập trung thành từng đám hay thành dải hình vòng cung, tất cả như boi trong bể chất nhày.

- Ung thư biểu mô tế bào nhẫn (Signet-ring cell carcinoma): Tế bào ung thư có thể tụ tập thành đám, nhưng thường tách rời nhau và phân tán trong bể

chất nhày do tế bào chế ra. Tế bào u căng tròn, chất nhày đẩy lệch nhân về một phía trông giống như chiếc nhẫn.

+ Ung thư biểu mô ít gặp gồm:

- Ung thư tế bào tuyến vảy (Adenosquamous carcinoma): Hiếm gặp, cấu trúc gồm mô tuyến và mô tế bào vảy. Tuyến do các tế bào hình trụ hoặc hình vuông sắp xếp tạo thành. Mô tế bào vảy quay quanh các tuyến gồm nhiều hàng lớp.

- Ung thư tế bào vảy (Squamous cell carcinoma): Ít gặp ở dạ dày, tế bào u tập trung thành đám, giống biểu mô nát của biểu bì. U hay gặp ở tâm vị khu vực thực quản, nhưng cũng có thể thấy ở hang vị, môn vị.

+ Ung thư biểu mô tế bào nhỏ (Small cell carcinoma).

+ Ung thư biểu mô 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:

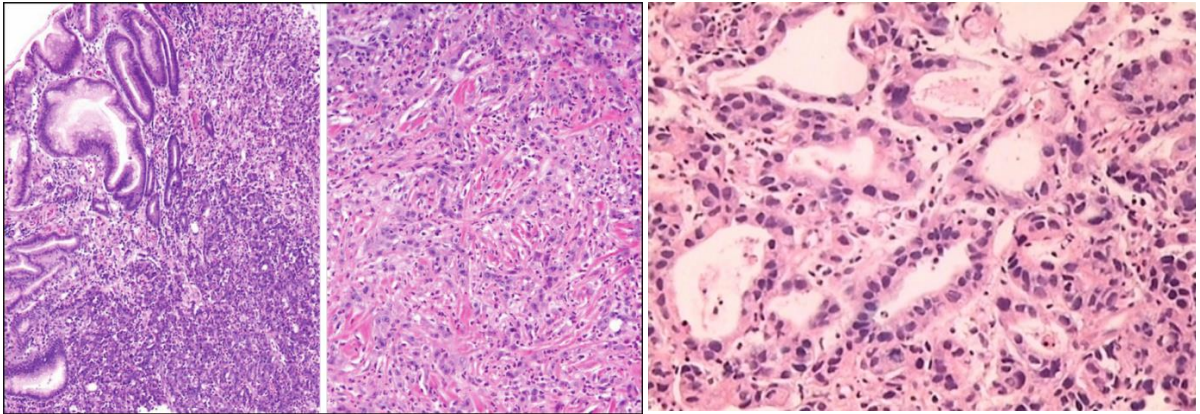
+ Ung thư biểu mô tuyến (Ung thư biểu mô tuyến nhú và ung thư biểu mô tuyến ống) được phân làm ba mức độ biệt hóa:

- Thể biệt hóa thấp: Gồm các cấu trúc hình tuyến không rõ ràng không đồng đều.

- Thể biệt hoá vừa: Là dạng trung gian giữa biệt hóa cao và biệt hóa thấp.

- Thể biệt hóa cao: Gồm các cấu trúc tuyến điển hình giống với biểu mô ruột dị sản.

+ Ung thư biểu mô khác không phân loại biệt hóa.



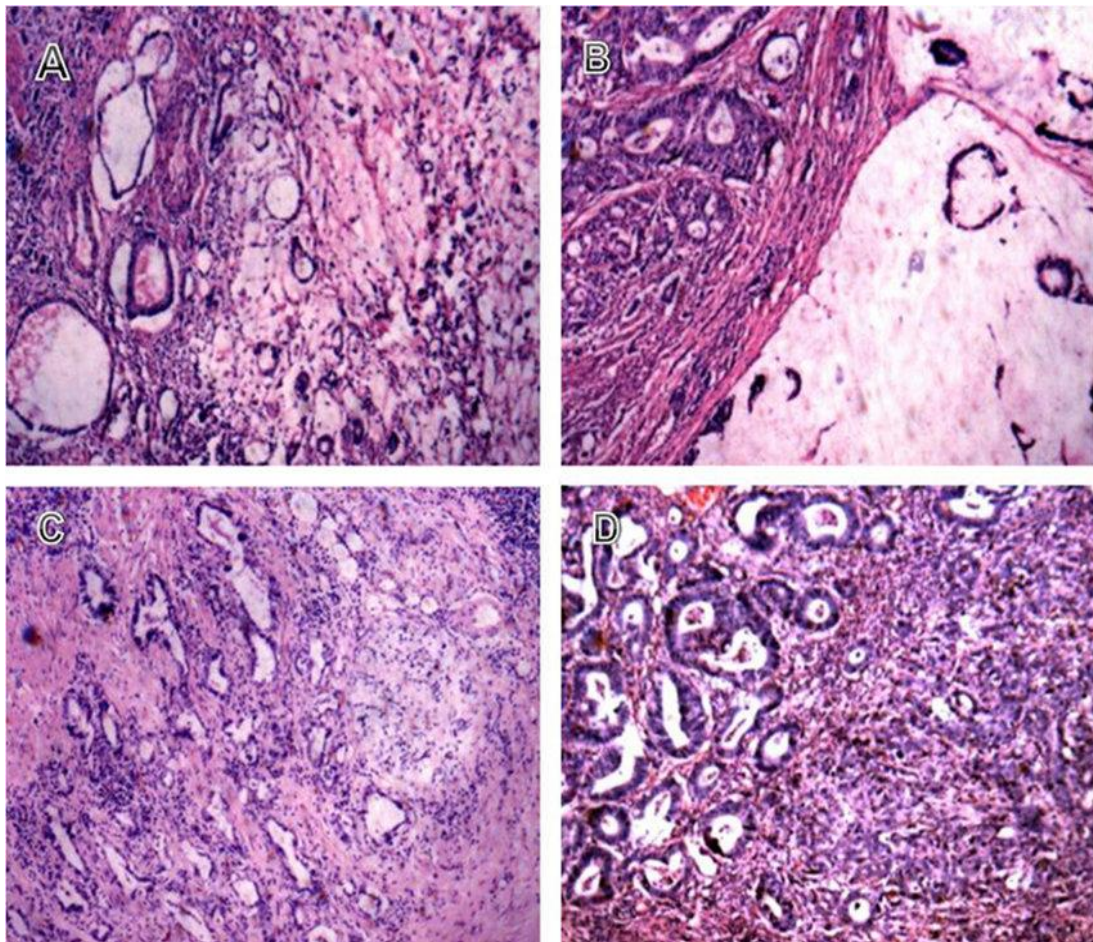
**Hình 2.4.** UTDD thể biệt hóa thấp

\* Nguồn: theo Janjigian, Y. (2012) [49]

**Hình 2.5.** UTDD thể biệt hóa vừa

\* Nguồn: theo Xue, L. (2010)

[113]



**Hình 2.6.** UTDD thể biệt hóa cao

\* Nguồn: theo Zhu, Z. (2014)[129]

- Phân loại giai đoạn TNM và giai đoạn ung thư theo AJCC 2009 [90]:

**Bảng 2.1.** Các giai đoạn TNM UTDD

	<b>Giai đoạn</b>	<b>Mô tả</b>
<b>T - Mức độ xâm lấn</b>	TX	Độ sâu khối u không rõ
	T0	Không có bằng chứng khối u nguyên phát
	Tis	Ung thư biểu mô tại chỗ, không có xâm lấn lớp mô đệm
	T1	Khối u xâm lấn vào lớp niêm mạc hoặc dưới niêm mạc
	T1a	Khối u giới hạn ở lớp niêm mạc
	T1b	Khối u xâm lấn lớp dưới niêm mạc
	T2	Khối u xâm lấn lớp cơ
	T3	Khối u xâm lấn lớp dưới thanh mạc
	T4	Khối u xâm lấn lớp thanh mạc hoặc tới cấu trúc lân cận
	T4a	Khối u xâm lấn lớp thanh mạc
	T4b	Khối u xâm lấn vào cấu trúc kế cận
<b>N - Tình trạng hạch</b>	NX	Không thể đánh giá được hạch bạch huyết vùng
	N0	Không có di căn hạch bạch huyết vùng
	N1	Di căn 1-2 hạch bạch huyết vùng
	N2	Di căn 3-6 hạch bạch huyết vùng
	N3	Di căn $\geq 7$ hạch bạch huyết vùng
	N3a	Di căn từ 7 – 15 hạch bạch huyết vùng
	N3b	Di căn $\geq 16$ hạch bạch huyết vùng
<b>M - Tình trạng di căn xa</b>	MX	Tình trạng di căn xa không rõ
	M0	Không có di căn xa
	M1	Di căn xa

**Bảng 2.2.** Giai đoạn bệnh UTDD

<b>Giai đoạn bệnh</b>	<b>Giai đoạn T</b>	<b>Giai đoạn N</b>	<b>Giai đoạn M</b>
0	Tis	N0	M0
I			
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
II			
IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
III			
IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
IIIB	T4b	N0-1	M0
	T4a	N2	M0
	T3a	N3	M0
IIIC	T4b	N2-3	M0
	T4a	N3	M0
IV	Bất kỳ T	Bất kỳ N	M1

Phân giai đoạn bệnh TNM: T dựa vào MBH sau PT, N dựa vào kết quả MBH sau mổ, M dựa vào LS, XQ phổi, CT bụng ngực và MBH sau mổ.



- Sự biểu lộ của các dấu ấn HMMD

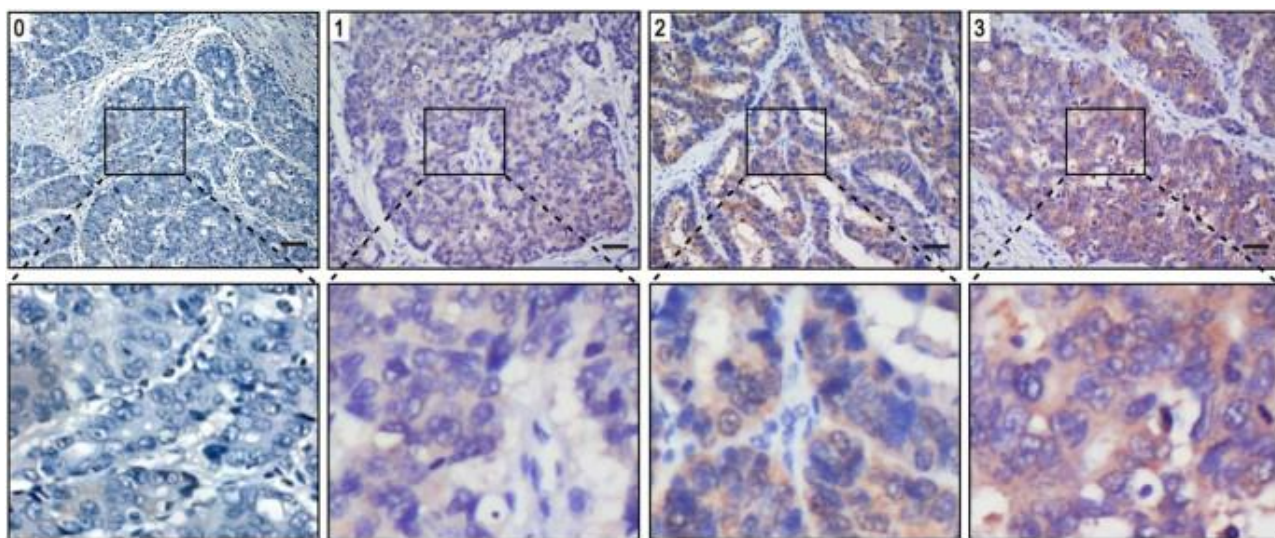
+ Đánh giá mức độ biểu lộ của dấu ấn ALDH trong mẫu ung thư theo các mức độ: 0, 1+, 2+, 3+. Mức độ biểu lộ của ALDH là 0 đánh giá là âm tính, mức độ biểu lộ của ALDH là 1+, 2+ và 3+ đánh giá là dương tính [63]:

0: 1-4% số tế bào được nhuộm HMMD có bắt màu nâu ở toàn bộ vi trường của tiêu bản.

1+: 5-24% số tế bào được nhuộm HMMD có bắt màu nâu ở toàn bộ vi trường của tiêu bản.

2+: 25-49% số tế bào được nhuộm HMMD có bắt màu nâu ở toàn bộ vi trường của tiêu bản.

3+: Từ 50% số tế bào được nhuộm HMMD có bắt màu nâu ở toàn bộ vi trường của tiêu bản.



**Hình 2.7.** Hình ảnh biểu lộ ALDH từ mức 0-3 sau nhuộm HMMD

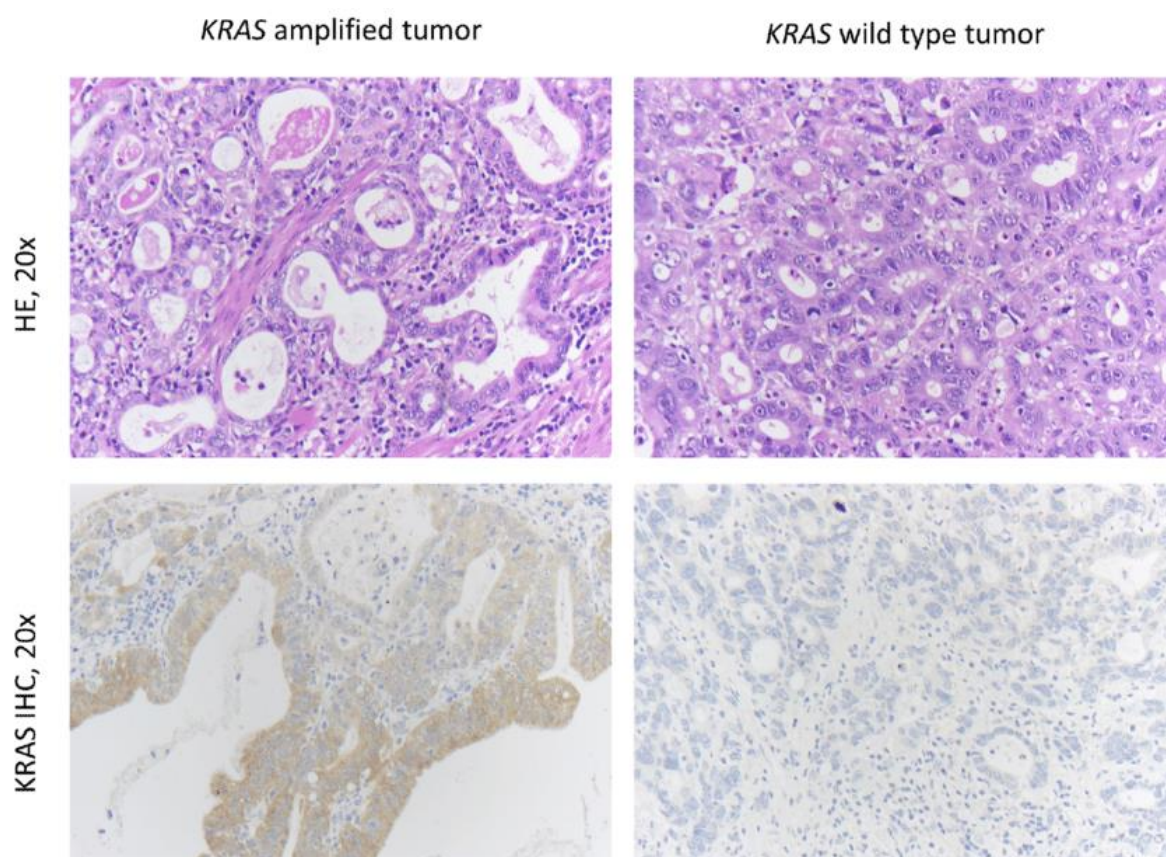
\* Nguồn: theo Li, X. S. (2014) [63]

+ Đánh giá mức độ biểu lộ của dấu ấn KRAS dựa theo các tiêu chí được xây dựng bởi các Giáo sư của Phòng thí nghiệm Nghiên cứu về Ung thư Inserm U1312 (Bordeaux, Pháp) có kết hợp tham khảo tiêu chí đánh giá đã được công bố gần đây về KRAS [85], được trình bày trong bảng 2.3. Mức độ

biểu lộ của KRAS được đánh giá theo các mức độ: 0, 1+, 2+, 3+. Trong đó, 0 và 1+ đánh giá là âm tính, mức độ biểu lộ 2+ và 3+ đánh giá là dương tính:

**Bảng 2.3.** Bảng đánh giá mức độ biểu lộ của KRAS

Điểm	Tỷ lệ tế bào nhuộm màu	Cường độ nhuộm màu	Mức độ biểu lộ
0	< 5%	Không nhuộm màu	0: 0 - 1 điểm
1	5% - 20%	Yếu (vàng nhạt)	1+: 2 - 3 điểm
2	21% - 50%	Trung bình (nâu)	2+: 4 - 5 điểm
3	51% - 100%	Mạnh (nâu đậm)	3+: = 6 điểm



**Hình 2.8.** Hình ảnh biểu lộ KRAS sau nhuộm HE và nhuộm HMMD

\* Nguồn: theo Rehkaemper, J. (2020) [85]

2.2.5.2. *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*

- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo nhóm tuổi
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo giới
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo triệu chứng lâm sàng
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo vị trí khối u
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo Borrmann
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học Lauren
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học WHO
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo độ biệt hóa
- Xác định sự biểu lộ của ALDH theo giai đoạn bệnh
- Sự biểu lộ của KRAS theo nhóm tuổi
- Sự biểu lộ của KRAS theo giới
- Sự biểu lộ của KRAS theo triệu chứng lâm sàng
- Sự biểu lộ của KRAS theo vị trí khối u
- Sự biểu lộ của KRAS theo Borrmann
- Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học Lauren
- Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học WHO
- Sự biểu lộ của KRAS theo độ biệt hóa
- Sự biểu lộ của KRAS theo giai đoạn bệnh
- Phân tích sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo triệu chứng lâm sàng
- Phân tích sự biểu lộ thời của 2 dấu ấn theo vị trí khối u
- Phân tích sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo Borrmann
- Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo MBH Lauren
- Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo đặc điểm MBH WHO
- Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa

- Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo giai đoạn bệnh

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

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

- Các bệnh nhân đến viện được hỏi tiền sử, thăm khám lâm sàng.
- Các bệnh nhân đến nội soi dạ dày tại Bệnh viện K có hình ảnh nghi ngờ UTDD đều được đánh giá xác định vị trí, phân loại hình ảnh tổn thương trên nội soi. Các tổn thương đã xác định trên nội soi được tiến hành sinh thiết. Mẫu sinh thiết được cố định trong dung dịch formaline trung tính 10%, rồi gửi ngay đến khoa Giải phẫu bệnh, vùi nén, làm mô bệnh học để chẩn đoán xác định có phải là UTBM dạ dày không để lựa chọn vào mẫu nghiên cứu.

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

#### **\* Nơi thực hiện kỹ thuật:**

Khoa nội soi Bệnh viện K cơ sở 1.

#### **\* Phương tiện:**

- Máy nội soi hiệu Olympus (Nhật Bản), nguồn sáng, quan sát hình ảnh dạ dày tá tràng qua màn hình hiệu Sony.
- Thuốc gây tê họng: Dung dịch xịt xylocain 2% và gel xylocain.
- Máy cắt đốt và quang đông: Sử dụng máy đốt điện cao tần với phương thức cắt đốt đặc biệt (ENDOCUT mode) và quang đông.
- Máy hút.
- Hệ thống water-jet để bơm rửa trong quá trình nội soi.
- Máy tính kết nối hình ảnh, máy in kết quả.
- Họng cấp oxy, máy hút, monitor theo dõi bệnh nhân.
- Kim sinh thiết, thông lọng cắt polyp, hemoclip.
- Kim tiêm cầm máu.
- khay quả đậu: 01 cái.
- Ngáng miệng có dây buộc: 01 cái.

- Lọ đựng bệnh phẩm.
- Chất bôi trơn đầu máy soi KY: 01 tuýp.
- Bàn thủ thuật: 01 cái.
- Áo thủ thuật, mũ giấy, khẩu trang y tế: 02 bộ.
- Găng tay khám: 02 đôi.
- Xilanh 50ml: 01 cái; 10ml: 01 cái; 05ml: 01 cái.
- Nước muối sinh lý chai 500ml: 01 chai.
- Thuốc gây tê vùng họng: Xylocain 2% hoặc Lidocain 10%.
- Khăn sạch cho bệnh nhân: 01 cái.
- Thuốc nhuộm màu để phát hiện tổn thương nhỏ: Xanh metylen, indigo carmin, lugol...

- 01 bát đựng nước sạch, 01 bát đựng nước pha Cidezyme, 01 bát đựng dung dịch simethicon, 01 bát đựng cồn.

- Hộp chống sốc và phương tiện hồi sức cấp cứu khác.
- Ống Eppendorf chứa dung dịch formaline trung tính 10%.

**\* Kỹ thuật nội soi:**

- Chuẩn bị bệnh nhân:
  - + Bệnh nhân không ăn hay uống thuốc 12 giờ trước khi làm nội soi.
  - + Giải thích hướng dẫn để bệnh nhân yên tâm hợp tác.
  - + Người bệnh phải ký cam kết làm thủ thuật.
  - + Gây tê họng bằng dung dịch xylocain 2%.
- Tiến hành thủ thuật nội soi dạ dày:
  - + Chuẩn bị và kiểm tra máy: Vận hành máy, kiểm tra hệ thống ánh sáng, kiểm tra hệ thống bơm hơi và nước, kiểm tra hệ thống hút, kiểm tra nút điều khiển và độ uốn cong của ống soi.
  - + Tiến hành nội soi: 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, DII 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.

- Sinh thiết tổn thương UTDD:

+ Dụng cụ sinh thiết: Kim sinh thiết của máy nội soi dạ dày ống mềm hiệu FB-25K-1, đường kính 2mm.

+ Kỹ thuật sinh thiết: Sử dụng kỹ thuật sinh thiết kẹp. Đối với các tổn thương dạng loét, sinh thiết ở mép trong bờ ổ loét. Đối với khối u, sinh thiết nhiều mảnh tại nhiều vị trí.

+ Số lượng mẫu sinh thiết: Lấy ít nhất 6 mẫu sinh thiết kích thước  $\geq$  2mm. Mẫu sinh thiết phải là mô dạ dày không phải là chất hoại tử hoặc giả mạc.

+ Sau khi lấy được bệnh phẩm, mẫu được lấy khỏi kẹp sinh thiết, rồi đặt vào ống Eppendorf chứa dung dịch formaline trung tính 10%, gửi đến khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện K, chẩn đoán xác định là UTDD.

### 2.2.6.3. *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 tổng hợp, Bệnh viện K, cơ sở 1, Quán Sứ, Hà Nội. 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%, đúc mẫu mô trong paraffin để tạo thành các khối nén phục vụ cho xét nghiệm mô bệnh học.

- Một mẫu mô u đúc trong paraffin của bệnh nhân được chọn để gửi đến phòng xét nghiệm Inserm U1312, Đại học Bordeaux, Pháp. Tiến hành các xét nghiệm mô bệnh học, hoá mô miễn dịch đối với ALDH và KRAS. Quá trình

phân tích và phiên giải kết quả được thực hiện bởi các chuyên gia của phòng xét nghiệm Inserm U1312. Quá trình xét nghiệm có sự hỗ trợ của GS. Christine Varon (Giáo sư về *Helicobacter* và ung thư tiêu hóa, tế bào gốc ung thư).

#### 2.2.6.4. Thu thập dữ liệu mô bệnh học

##### \* *Nơi thực hiện*

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

##### \* *Kỹ thuật*

- Mẫu bệnh phẩm được xử lý, cố định, chuyển đúc và vùi nén, lưu trữ ở nhiệt độ phòng và nhuộm HE thường quy để chẩn đoán, phân loại mô bệnh học và nhuộm ALDH, KRAS.

- Tiêu bản nhuộm HE được soi và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học, ở độ phóng đại 10 - 40 lần để chẩn đoán và phân typ mô bệnh học theo phân loại của WHO. Chọn khối nén với tiêu bản tương ứng có đầy đủ tế bào u để sau đó tiến hành nhuộm HMMD.

##### \* *Phiên giải kết quả*

Đọc kết quả trên tiêu bản nhuộm HE dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 10 x 40 lần để chẩn đoán và phân typ mô bệnh học theo phân loại của WHO bởi hai bác sĩ chuyên khoa giải phẫu bệnh.

#### 2.2.5.5. 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 bám dính cao (Leica).
  - + Lamén (Leica).
  - + Bể nhuộm hóa mô miễn dịch (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 paraffin**

- + 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 paraffin 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<sup>0</sup>C – 98<sup>0</sup>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  $\mu$ L) 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l dung dịch kháng thể 1 pha trong dung dịch Protein Block, ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Rửa 2 lần bằng đệm TBST, mỗi lần 5 phút.

+ Bổ sung 50  $\mu$ l 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.

#### \* **Kiểm chứng**

- Kiểm chứng dương: Sử dụng một tiêu bản đã chắc chắn là dương tính

làm chứng dương.

- Kiểm chứng âm: Không phủ kháng thể thứ nhất vào tiêu bản đối với tất cả các trường hợp nhuộm tiêu bản chứng âm.

**\* *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.

Đánh giá kết quả theo các tiêu chuẩn được đề cập trên dựa vào tỷ lệ các tế bào u dương tính ở bào tương.

**2.2.7. *Xử lý số liệu***

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

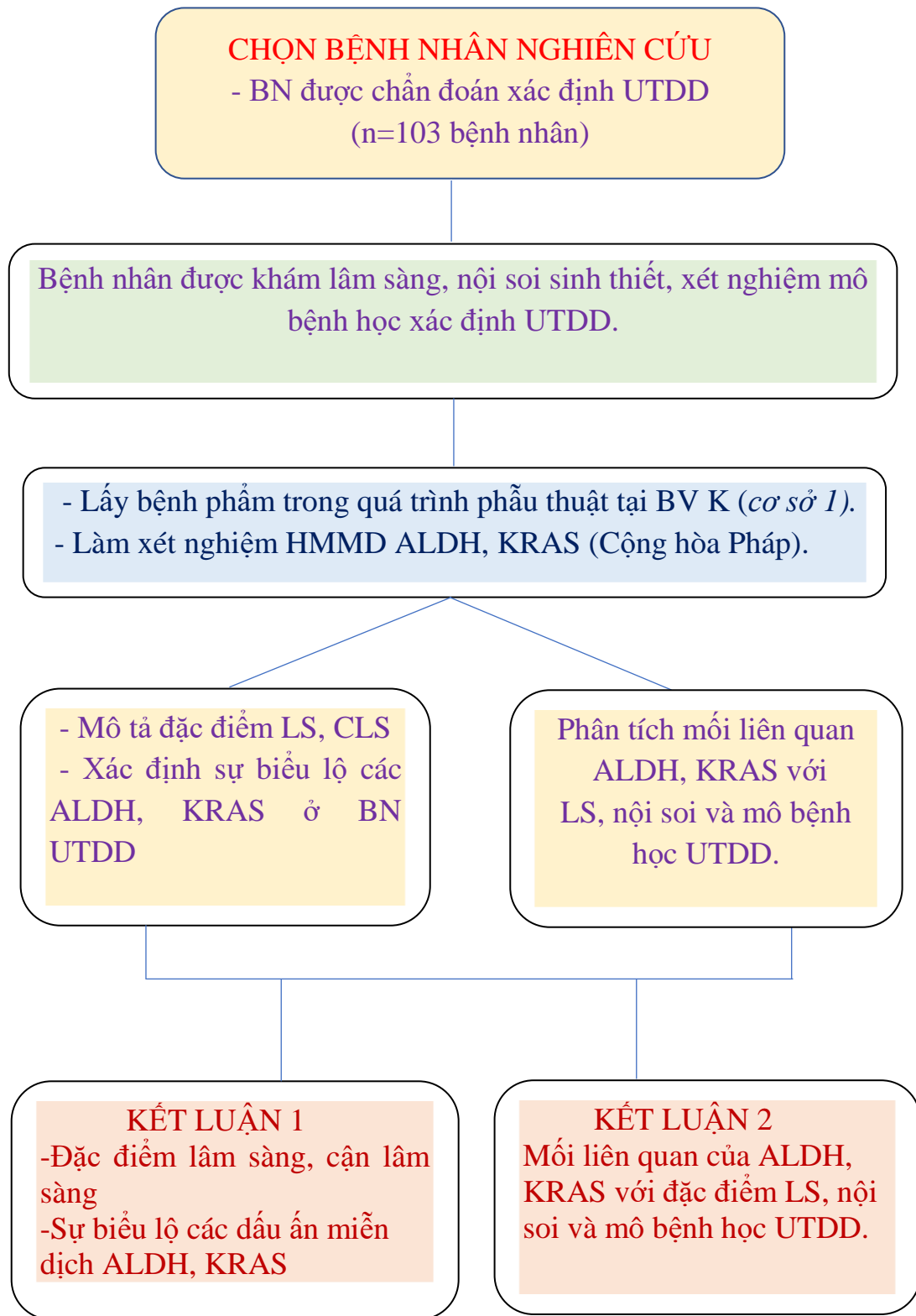
- Thống kê tần số và tỷ lệ phần trăm được sử dụng để mô tả các biến số định tính.

- Kiểm định Crosstabs (Chi-Square test) được sử dụng để đánh giá mối tương quan giữa các biến số định tính.

- Kết quả được coi là có ý nghĩa thống kê với giá trị  $p \leq 0,05$ .

**2.2.8. *Đạo đức trong nghiên cứu***

Các bước tiến hành tuân thủ đầy đủ và nghiêm túc về mặt y đức, đạo đức trong nghiên cứu. Các kỹ thuật trong nghiên cứu đã được đồng ý thực hiện tại Bệnh viện K (nơi cung cấp mẫu bệnh phẩm, hồ sơ bệnh án nghiên cứu). Nghiên cứu không ảnh hưởng đến quá trình và kết quả điều trị của người bệnh. Nghiên cứu chỉ được tiến hành khi có sự tham gia tự nguyện, bảo mật thông tin cá nhân của người bệnh tham gia.

**Sơ đồ nghiên cứu**

### CHƯƠNG 3

#### 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 Aldehyde dehydrogenase, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày

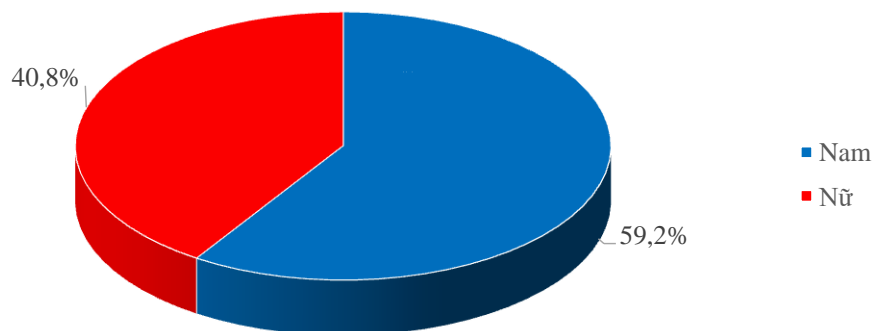
##### 3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học của bệnh nhân

##### 3.1.1.1. Đặc điểm lâm sàng

**Bảng 3.1.** Phân bố đối tượng theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	Số lượng	Tỷ lệ %
≤ 50	21	20,4
50 - 59	33	32,0
60 - 69	36	35,0
≥ 70	13	12,6
Tổng số	103	100,0
Tuổi trung bình	$57,9 \pm 11,4$	

**Nhận xét:** Phần lớn các bệnh nhân từ 50 tuổi trở lên, trong đó nhóm tuổi từ 60-69 chiếm tỷ lệ cao nhất (35,0%).



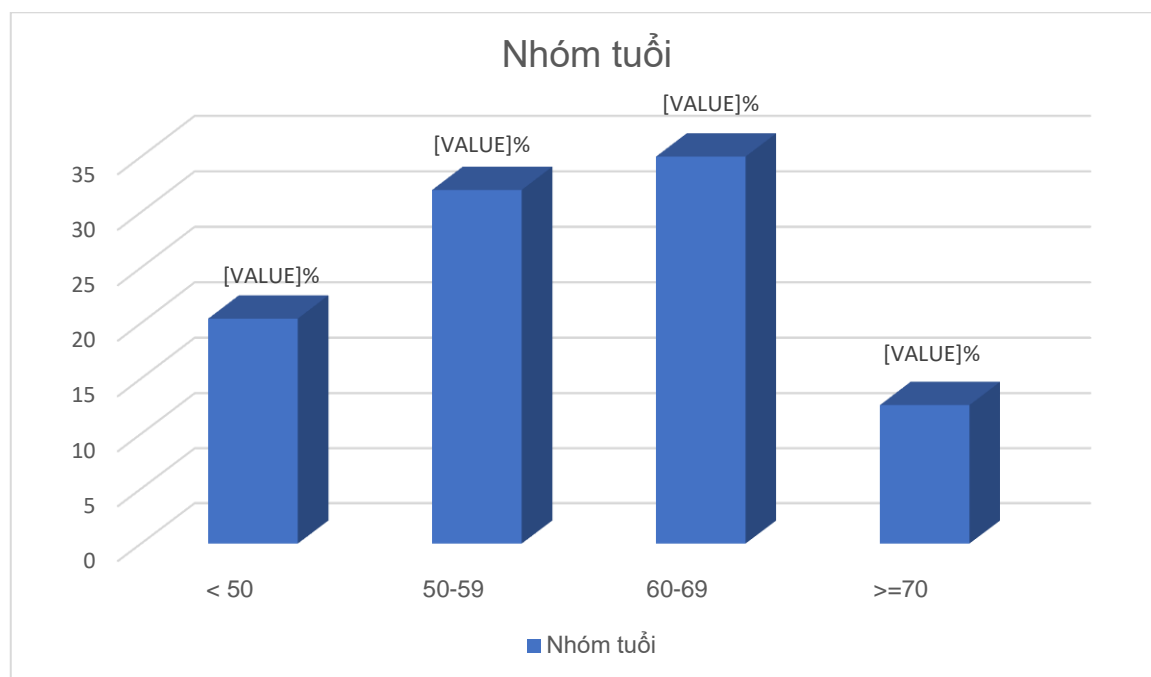
**Biểu đồ 3.1.** Tỷ lệ về giới tính

**Nhận xét:** Tỷ lệ UTDD ở nam chiếm 59,2% cao hơn so với ở nữ.

**Bảng 3.2.** Phân bố nhóm tuổi theo giới

Giới \ Tuổi	Nam		Nữ	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
< 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	100,0	42	100,0

**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%.

**Biểu đồ 3.2.** Tỷ lệ các nhóm tuổi

**Nhận xét:** Tỷ lệ UTDD gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi 60-69 và thấp nhất ở nhóm ≥70 tuổi, chiếm tỷ lệ là 35,0% so với 12,6%.

**Bảng 3.3.** Tiền sử bản thân và thói quen sinh hoạt

<b>Dấu hiệu</b>	<b>Tần suất</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
<b><i>Tiền sử bản thân</i></b>		
Đau thượng vị	102	99,0
<b><i>Thói quen sinh hoạt</i></b>		
Uống rượu	17	16,5
Hút thuốc	19	18,4

**Nhận xét:** Tỷ lệ bệnh nhân có thói quen uống rượu là 16,5%, hút thuốc là 18,4%.

**Bảng 3.4.** Lý do đến khám bệnh

<b>Lý do</b>	<b>Tần suất</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Đau thượng vị	102	99,0
Xuất huyết tiêu hóa	6	5,8
Sút cân	30	29,1
Nóng rát thượng vị	6	5,8
Ợ hơi, ợ chua	9	8,7
Buồn nôn, nôn	3	2,9
Khó nuốt	3	2,9
Triệu chứng khác	40	38,8

**Nhận xét:** 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%.

**Bảng 3.5.** Triệu chứng lâm sàng

<b>Triệu chứng</b>	<b>Tần suất</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Đau thượng vị	102	99,0
Sút cân	30	29,1
Chán ăn	9	8,7
Buồn nôn, nôn	3	2,9
Xuất huyết tiêu hóa	6	5,8
Khó nuốt	3	2,9
Thiếu máu	1	1,0
Mệt mỏi	0	0

**Nhận xét:** Triệu chứng lâm sàng thường gặp nhất là đau thượng vị (99,0%), tiếp theo là triệu chứng sút cân (29,1%).

### 3.1.1.2. Đặc điểm nội soi

**Bảng 3.6.** Đặc điểm vị trí tổn thương trên nội soi dạ dày

<b>Vị trí u</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Thân vị	5	4,9
Bờ cong lớn	5	4,9
Bờ cong nhỏ	30	29,1
Hang vị	54	52,4
Môn vị	9	8,7
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** 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.

**Bảng 3.7.** Đặc điểm hình thái khối u theo phân loại Borrmann

<b>Phân loại Borrmann</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Dạng polyp	3	2,9
Dạng nấm	19	18,4
Dạng loét	68	66,0
Dạng thâm nhiễm	13	12,7
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** - UTDD dạng loét theo phân loại Borrmann chiếm tỷ lệ cao nhất với 66,0%. Tiếp theo là UTDD dạng nấm và dạng thâm nhiễm.

- UTDD dạng polyp chiếm tỷ lệ thấp nhất với 2,9%.

### 3.1.1.3. Phân typ mô bệnh học

**Bảng 3.8.** Phân loại mô bệnh học theo Lauren

<b>Typ mô bệnh học</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Thể ruột	69	67,0
Thể lan tỏa	34	33,0
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** 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. Không gặp trường hợp nào thuộc thể hỗn hợp.



**Bảng 3.9.** Phân loại mô bệnh học theo WHO

<b>Typ mô bệnh học</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Ung thư biểu mô tuyến nhú	1	1,0
Ung thư biểu mô tuyến ống	59	57,3
Ung thư biểu mô tuyến nhầy	9	8,7
Ung thư biểu mô tế bào nhân	31	30,1
Ung thư biểu mô tế bào vảy	2	1,9
Loại khác	1	1,0
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** - 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%.

- Các thể khác chiếm tỷ lệ thấp hơn, trong đó thấp nhất là thể tuyến nhú với tỷ lệ 1,0%.

**Bảng 3.10.** Phân loại độ biệt hoá theo WHO

<b>Mức độ biệt hóa</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Biệt hóa thấp	33	32,0
Biệt hóa vừa	24	23,3
Biệt hóa cao	3	2,9
Không phân loại	43	41,8
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** Trong các loại UTDD được phân mức độ biệt hóa theo WHO, thì UTDD biệt hóa thấp với 33 bệnh nhân chiếm tỷ lệ cao nhất là 32,0%, trong khi đó loại biệt hóa cao chỉ chiếm 2,9%.

### 3.1.1.4. Giai đoạn bệnh TNM và phân nhóm giai đoạn

**Bảng 3.11.** Mức độ xâm lấn vào thành dạ dày của UTDD

Mức độ u xâm nhập	Số lượng	Tỷ lệ %
T1	1	1,0
T2	3	2,9
T3	12	11,7
T4	87	84,4
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** UTDD biểu hiện xâm nhập thanh mạc hoặc phúc mạc tạng chiếm tỷ lệ cao nhất với 84,4%.

**Bảng 3.12.** Tình trạng di căn hạch

Tình trạng di căn hạch	Số lượng	Tỷ lệ %
N0	44	42,7
N1	16	15,5
N2	26	25,2
N3	17	16,4
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** UTDD chưa di căn hạch chiếm tỷ lệ 42,7%. Trong 57,3% bệnh nhân bị di căn hạch, chủ yếu tập trung vào nhóm di căn hạch (pN2), chiếm tỷ lệ 25,2%.

**Bảng 3.13.** Tình trạng di căn xa

<b>Tình trạng di căn xa</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
M0	101	98,1
M1	2	1,9
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** Trong 103 trường hợp UTDD, có 02 trường hợp bị phát hiện di căn xa, chiếm tỷ lệ 1,9%.

**Bảng 3.14.** Chẩn đoán giai đoạn UTDD

<b>Giai đoạn ung thư dạ dày</b>	<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Giai đoạn I	4	3,9
Giai đoạn II	32	31,1
Giai đoạn III	65	63,1
Giai đoạn IV	2	1,9
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** UTDD giai đoạn III có tỷ lệ cao nhất với 63,1%, tiếp theo là giai đoạn II với tỷ lệ 31,1%.

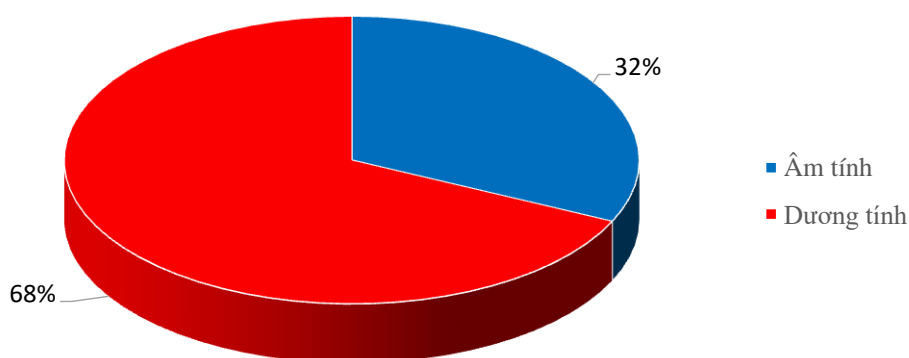
### 3.1.2. Sự biểu lộ dấu ấn miễn dịch ALDH, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày

#### 3.1.2.1. Sự biểu lộ của dấu ấn miễn dịch ALDH

**Bảng 3.15.** Sự biểu lộ ALDH trong UTDD

Biểu lộ ALDH		Số lượng	Tỷ lệ %
Âm tính		33	32,0
Dương tính	1+	18	17,5
	2+	36	35,0
	3+	16	15,5
Tổng số		103	100,0

**Nhận xét:** - Tỷ lệ bệnh nhân biểu lộ ALDH ở mức 1+ chiếm 17,5%, mức 2+ là 35,0% và 3+ chiếm tỷ lệ 15,5%.



**Biểu đồ 3.3.** Tỷ lệ biểu lộ ALDH

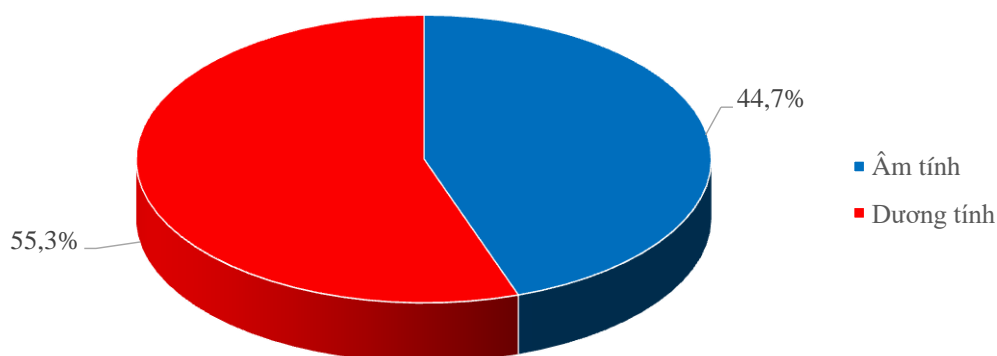
**Nhận xét:** Tỷ lệ biểu lộ ALDH dương tính là 68% cao hơn so với tỷ lệ âm tính ở bệnh nhân UTDD.

### 3.1.2.2. Sự biểu lộ của dấu ấn miễn dịch KRAS

**Bảng 3.16.** Sự biểu lộ KRAS trong UTDD

Biểu lộ KRAS		Số lượng	Tỷ lệ %
Âm tính	0	35	34,0
	1+	11	10,7
Dương tính	2+	40	38,8
	3+	17	16,5
Tổng số		103	100,0

**Nhận xét:** - Tỷ lệ bệnh nhân biểu lộ KRAS ở mức 1+ chiếm 10,7%, mức 2+ là 38,8% và 3+ chiếm tỷ lệ 16,5%.



**Biểu đồ 3.4.** Tỷ lệ biểu lộ KRAS

**Nhận xét:** Tỷ lệ biểu lộ KRAS dương tính là 55,3% cao hơn so với tỷ lệ âm tính ở bệnh nhân UTDD.

### 3.1.2.3. Tỷ lệ đồng biểu lộ ALDH và KRAS

**Bảng 3.17.** Liên quan giữa biểu lộ ALDH và KRAS trong UTDD

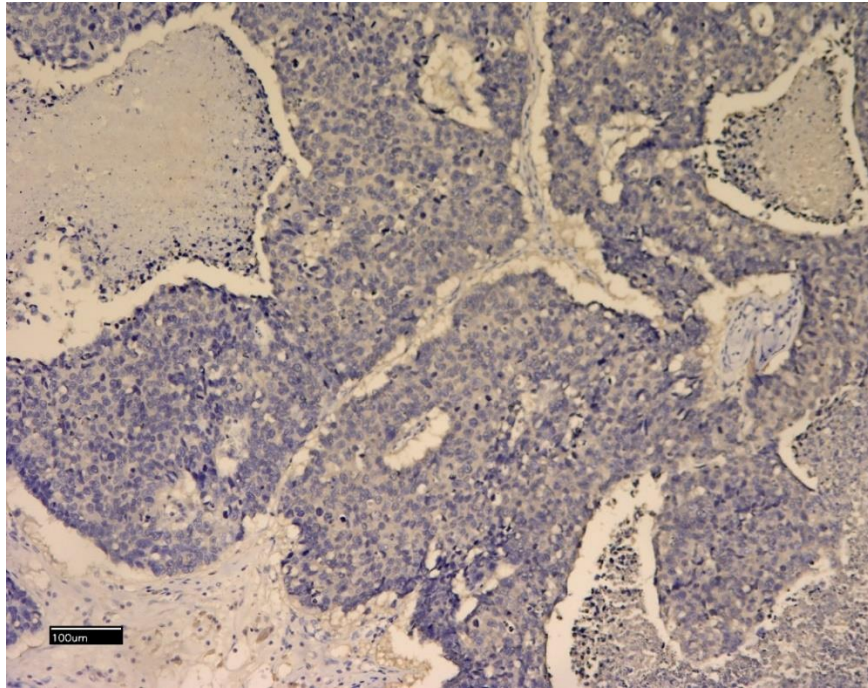
		Biểu lộ ALDH				p
		Âm tính		Dương tính		
		n	%	n	%	
Biểu lộ KRAS	Âm tính	26	78,8	20	28,6	0,001
	Dương tính	7	21,2	50	71,4	
Tổng số		33	100,0	70	100,0	

**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 3.18.** Tỷ lệ đồng biểu lộ của ALDH và KRAS trong UTDD

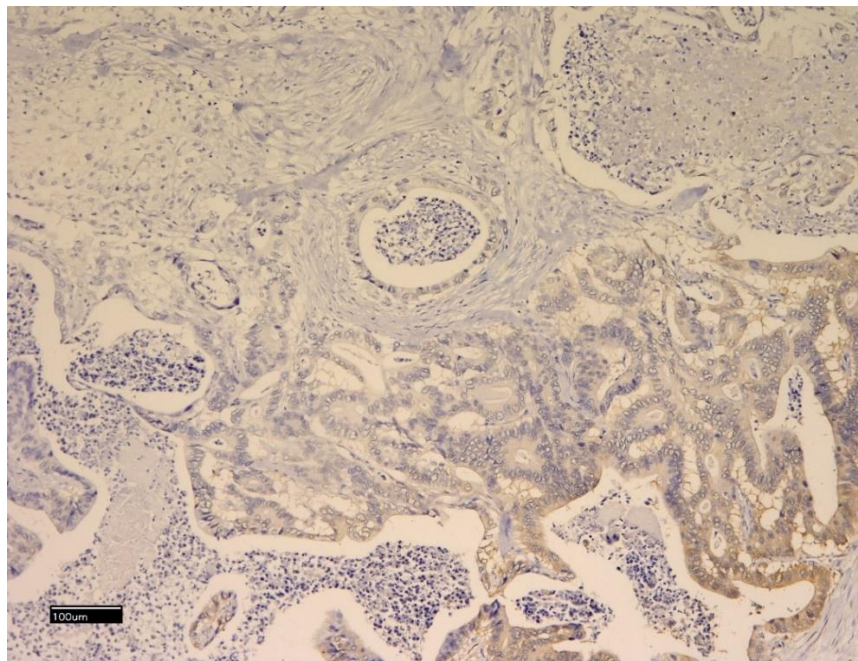
Kiểu hình miễn dịch	Số lượng	Tỷ lệ %
ALDH (-), KRAS (-)	26	25,3
ALDH (+), KRAS (-)	20	19,4
ALDH (-), KRAS (+)	7	6,8
ALDH (+), KRAS (+)	50	48,5
Tổng số	103	100,0

**Nhận xét:** Tỷ lệ biểu lộ một dấu ấn đơn độc là 26,2%. Hai dấu ấn biểu lộ đồng thời chiếm tỷ lệ cao nhất với 48,5%.



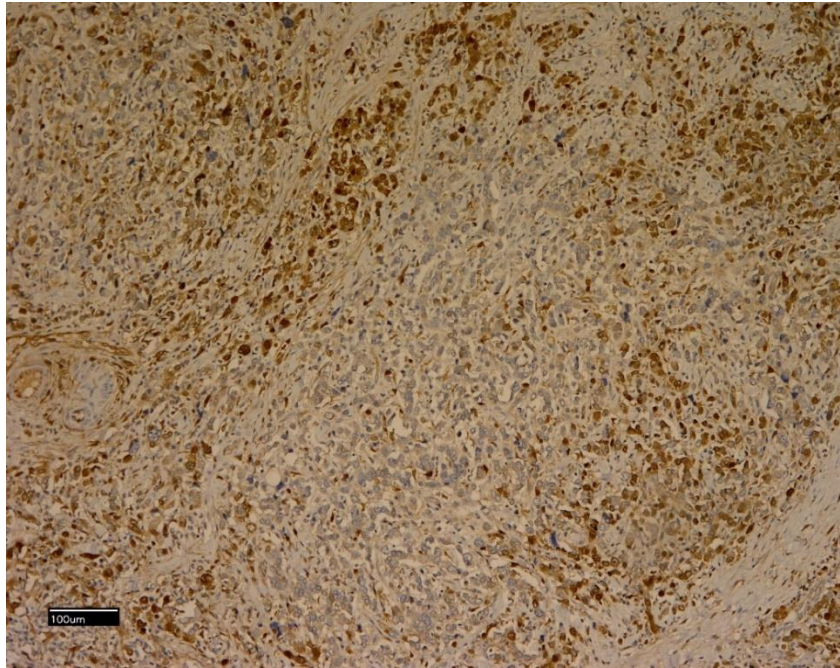
**Hình 3.1.** Mô u không biểu lộ ALDH. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu\text{m}$ .

(\* Nguồn: BN Đinh Thị L. BANC số 93)



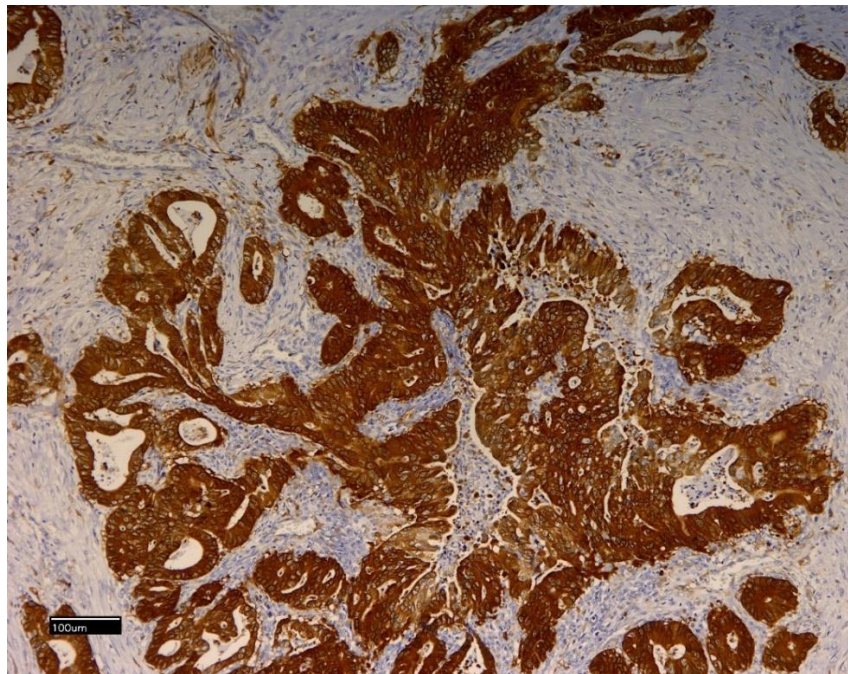
**Hình 3.2.** Mô u biểu lộ ALDH 1+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu\text{m}$ .

(\* Nguồn: BN Vũ Hữu H. BANC số 61)



**Hình 3.3.** Mô u biểu lộ ALDH 2+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo của ảnh = 100  $\mu\text{m}$ .

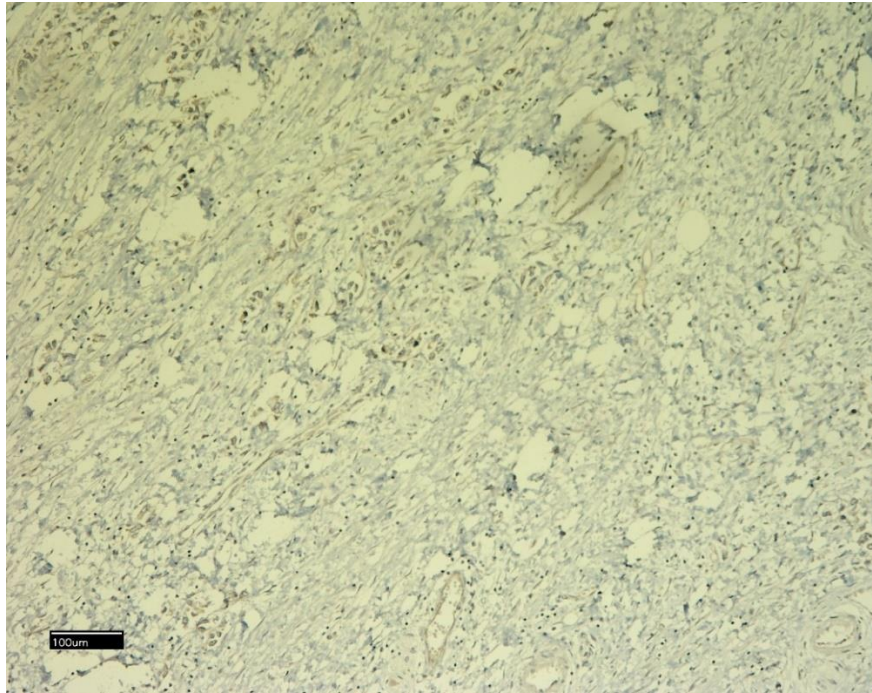
(\* Nguồn: BN Nguyễn Văn Q. BANC số 20)



**Hình 3.4.** Mô u biểu lộ ALDH 3+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu\text{m}$ .

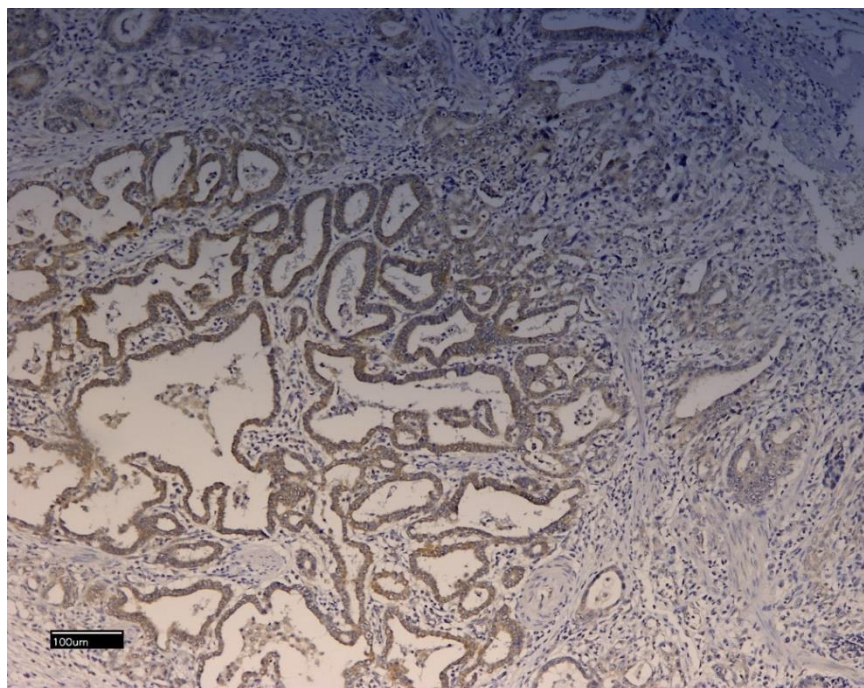
(\* Nguồn: BN Trịnh Văn B. BANC số 71)





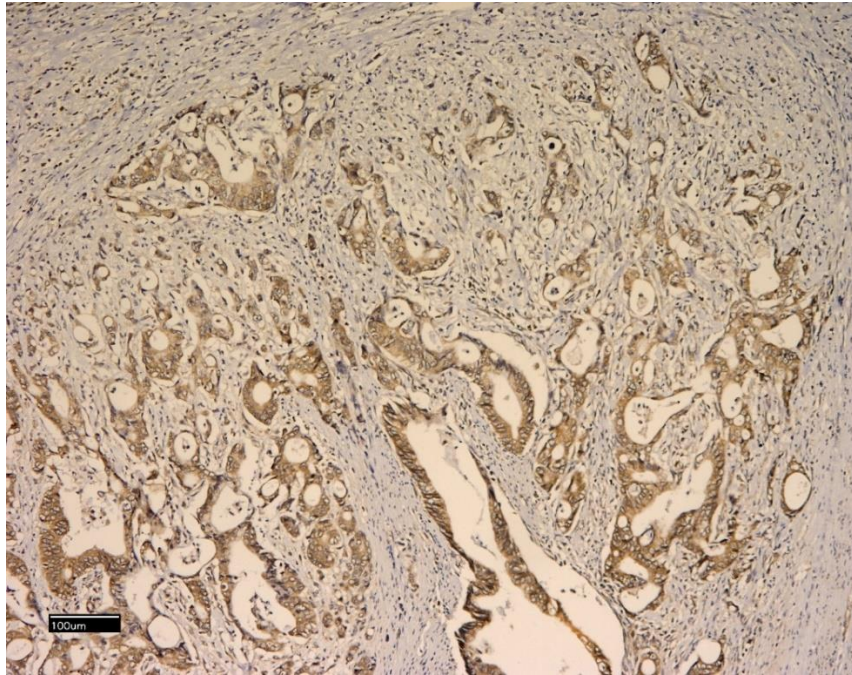
**Hình 3.5.** Mô u không biểu lộ KRAS.

(\* Nguồn: BN Long Thị H. BANC số 31)



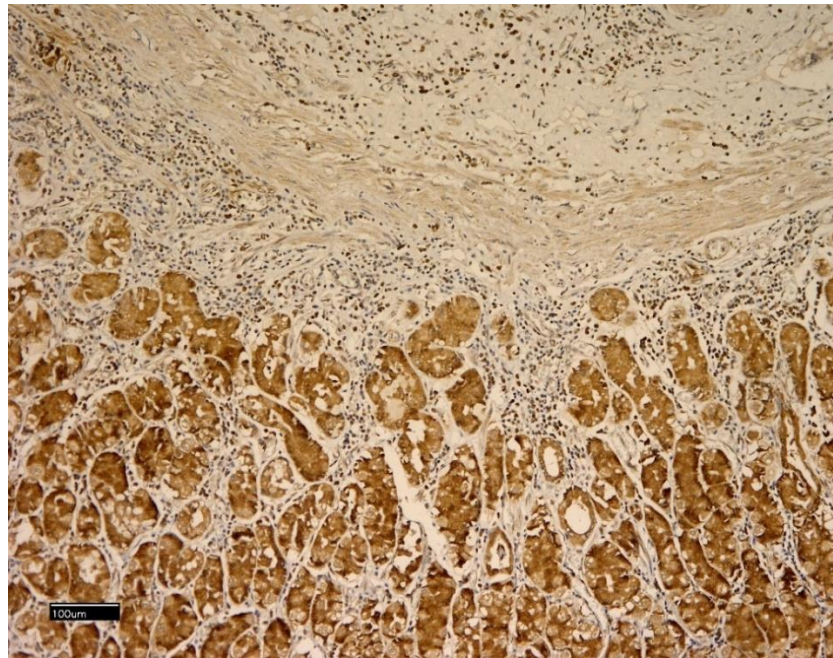
**Hình 3.6.** Mô u biểu lộ KRAS 1+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu$ m.

(\* Nguồn: BN Lò Thị Đ. BANC số 63)



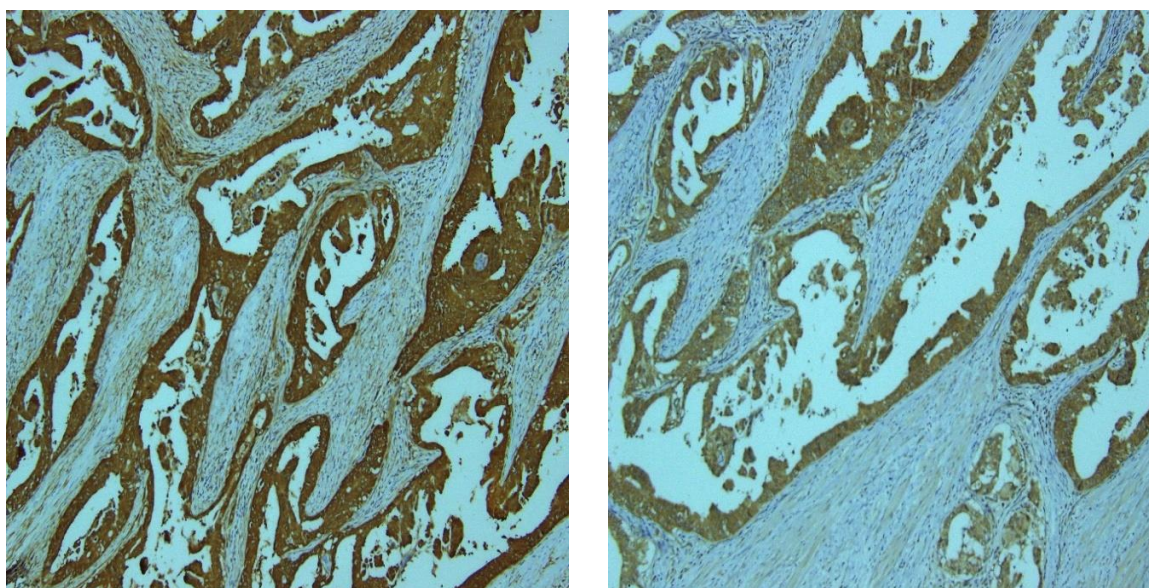
**Hình 3.7.** Mô u biểu lộ KRAS 2+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu$ m.

(\* Nguồn: BN Dương Thị T. BANC số 42)



**Hình 3.8.** Mô u biểu lộ KRAS 3+. Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu$ m.

(\* Nguồn: BN Đoàn Văn D. BANC số 25)



**Hình 3.9.** Mô u đồng biểu lộ ALDH 3+ (bên trái), KRAS 3+ (bên phải). Nhân tế bào nhuộm màu tím. Các tế bào dương tính bắt màu nâu. Thang đo tỷ lệ = 100  $\mu$ m.

(\* Nguồn: BN Vi Văn T. BANC số 10)

**3.2. 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**

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

**Bảng 3.19.** Sự biểu lộ của ALDH theo nhóm tuổi

Biểu lộ ALDH Nhóm tuổi	Âm tính		Dương tính		p
	n = 33	%	n = 70	%	
< 50	10	30,3	11	15,7	0,19
50-59	12	36,4	21	30,0	
60-69	8	24,2	28	40,0	
$\geq$ 70	3	9,1	10	14,3	

**Nhận xét:** Trong các bệnh nhân có biểu lộ ALDH, nhóm tuổi từ 60-69 có tỷ lệ cao nhất với 40,0%.

**Bảng 3.20.** Sự biểu lộ của ALDH theo giới

<b>Giới</b>	<b>Âm tính</b>		<b>Dương tính</b>		<b>p</b>
	n	%	n	%	
Nam	17	51,5	44	62,9	0,27
Nữ	16	48,5	26	37,1	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

**Nhận xét:** Trong các bệnh nhân có biểu lộ ALDH, nam giới chiếm tỷ lệ 62,9% cao hơn so với nữ giới.

**Bảng 3.21.** Sự biểu lộ của ALDH theo triệu chứng lâm sàng

<b>Triệu chứng</b>	<b>Âm tính</b>		<b>Dương tính</b>		<b>p</b>
	n	%	n	%	
Đau thượng vị (n=102)	32	31,4	70	68,6	0,14
Sút cân (n=30)	7	23,3	23	76,7	0,22
Chán ăn (n=9)	1	11,1	8	88,9	0,15
Buồn nôn/nôn (n=3)	1	33,3	2	66,7	0,96
Xuất huyết tiêu hóa (n=6)	2	33,3	4	66,7	0,94
Khó nuốt (n=3)	0	0	3	100	0,22
Thiếu máu (n=1)	0	0	1	100	0,49

**Nhận xét:** - Trong số các triệu chứng lâm sàng thường gặp ( $n \geq 30$ ), bệnh nhân sút cân có tỷ lệ ALDH dương tính là 76,7%.

- Sự biểu lộ ALDH chưa thấy có mối liên quan với các triệu chứng lâm sàng ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.22.** Sự biểu lộ của ALDH theo vị trí khối u

Biểu lộ ALDH Vị trí u	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Thân vị	1	3,0	4	5,7	0,29
Bờ cong lớn	3	9,1	2	2,9	
Bờ cong nhỏ	8	24,2	22	31,4	
Hang vị	20	60,7	34	48,6	
Môn vị	1	3,0	8	11,4	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

**Nhận xét:** - Trong các bệnh nhân có biểu lộ ALDH, u ở hang vị có tỷ lệ cao nhất với 48,6%.

- Tiếp theo là u ở bờ cong nhỏ có tỷ lệ biểu lộ ALDH là 31,4%, bệnh nhân UTDD ở bờ cong lớn có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 2,9%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH theo vị trí khối u,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.23.** Sự biểu lộ của ALDH theo Borrmann

Biểu lộ ALDH Borrmann	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Dạng polyp	1	3,0	2	2,9	0,34
Dạng nấm	5	15,2	14	20,0	
Dạng loét	20	60,6	48	68,6	
Dạng thâm nhiễm	7	21,2	6	8,5	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân có u dạng loét theo Borrmann có tỷ lệ biểu lộ ALDH cao nhất với 68,6%.

**Bảng 3.24.** Sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học Lauren

Biểu lộ ALDH Lauren	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Thể ruột	19	57,6	0,16	71,4	0,16
Thể lan tỏa	14	42,4	20	28,6	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân UTDD thể ruột có tỷ lệ biểu lộ ALDH cao hơn với 71,4%, bệnh nhân UTDD thể lan tỏa có tỷ lệ biểu lộ thấp hơn với 28,6%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH theo đặc điểm mô bệnh học Lauren,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.25.** Sự biểu lộ của ALDH theo đặc điểm mô bệnh học WHO

Biểu lộ ALDH WHO	Âm tính		Dương tính		p
	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	

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

- Tiếp theo là UTDD thể tế bào nhân có tỷ lệ biểu lộ ALDH là 27,1%, bệnh nhân UTDD thể tuyến nhú có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 1,4%.

- Có sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH theo đặc điểm mô bệnh học WHO,  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.26.** Sự biểu lộ của ALDH theo độ biệt hóa

Biểu lộ ALDH Độ biệt hóa	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	

**Nhận xét:** - 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

Biểu lộ ALDH Giai đoạn	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	

**Nhận xét:** - 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%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH theo giai đoạn bệnh,  $p > 0,05$ .

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

**Bảng 3.28.** Sự biểu lộ của KRAS theo nhóm tuổi

Biểu lộ KRAS Nhóm tuổi	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
< 50	12	26,1	9	15,8	0,56
50-59	15	32,6	18	31,6	
60-69	14	30,4	22	38,6	
≥ 70	5	10,9	8	14,0	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** - Trong các bệnh nhân có biểu lộ KRAS, nhóm tuổi từ 60-69 có tỷ lệ cao nhất với 38,6%.

- Sự biểu lộ KRAS chưa thấy có mối liên quan với nhóm tuổi ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.29.** Sự biểu lộ của KRAS theo giới

Biểu lộ KRAS Giới	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Nam	26	56,5	35	61,4	0,61
Nữ	20	43,5	22	38,6	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** - Trong các bệnh nhân có biểu lộ KRAS, nam giới chiếm tỷ lệ 61,4% cao hơn so với nữ giới.

- Sự biểu lộ KRAS chưa thấy có mối liên quan với giới ( $p > 0,05$ ).



**Bảng 3.30.** Sự biểu lộ của KRAS theo triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng \ Biểu lộ KRAS	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Đau thượng vị (n=102)	45	44,1	57	55,9	0,26
Sút cân (n=30)	10	33,3	20	66,7	0,13
Chán ăn (n=9)	4	44,4	5	55,6	0,98
Buồn nôn/nôn (n=3)	1	33,3	2	66,7	0,68
Xuất huyết tiêu hóa (n=6)	3	50,0	3	50,0	0,78
Khó nuốt (n=3)	1	33,3	2	66,7	0,68
Thiếu máu (n=1)	0	0	1	100	0,36

**Nhận xét:** - Trong số các triệu chứng lâm sàng thường gặp ( $n \geq 30$ ), bệnh nhân sút cân có tỷ lệ KRAS dương tính là 66,7%.

**Bảng 3.31.** Sự biểu lộ của KRAS theo vị trí khối u

Vị trí u \ Biểu lộ KRAS	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Thân vị	2	4,3	3	5,3	0,96
Bờ cong lớn	2	4,3	3	5,3	
Bờ cong nhỏ	13	28,3	17	29,8	
Hang vị	24	52,2	30	52,6	
Môn vị	5	10,9	4	7,0	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** - Trong các bệnh nhân có biểu lộ KRAS, u ở hang vị có tỷ lệ cao nhất với 52,6%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ KRAS theo vị trí khối u,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.32.** Sự biểu lộ của KRAS theo Borrmann

<b>Biểu lộ ALDH</b> <b>Borrmann</b>	<b>Âm tính</b>		<b>Dương tính</b>		<b>p</b>
	n	%	n	%	
Dạng polyp	1	3,0	2	2,9	0,34
Dạng nấm	5	15,2	14	20,0	
Dạng loét	20	60,6	48	68,6	
Dạng thâm nhiễm	7	21,2	6	8,5	
Tổng số	33	100,0	70	100,0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân có u dạng loét theo Borrmann có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao nhất với 68,6%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ KRAS theo vị trí khối u,  
p > 0,05.

**Bảng 3.33.** Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học Lauren

<b>Biểu lộ KRAS</b> <b>Lauren</b>	<b>Âm tính</b>		<b>Dương tính</b>		<b>p</b>
	n	%	n	%	
Thể ruột	29	63,0	40	70,2	0,44
Thể lan tỏa	17	37,0	17	29,8	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân UTDD thể ruột có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao hơn với 70,2%, bệnh nhân UTDD thể lan tỏa có tỷ lệ biểu lộ thấp hơn với 29,8%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ KRAS theo đặc điểm mô bệnh học Lauren, p > 0,05.

**Bảng 3.34.** Sự biểu lộ của KRAS theo đặc điểm mô bệnh học WHO

WHO \ Biểu lộ KRAS	Âm tính		Dương tính		p
	n	%	n	%	
Ung thư biểu mô tuyến nhú	0	0	1	1,7	0,21
Ung thư biểu mô tuyến ống	23	50,0	36	63,2	
Ung thư biểu mô tuyến nhày	6	13,0	3	5,3	
Ung thư biểu mô tế bào nhân	14	30,4	17	29,8	
Ung thư biểu mô tế bào vảy	2	4,4	0		
Thể khác	1	2,2	0		
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân UTDD thể tuyến ống có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao nhất với 63,2%.

- Tiếp theo là UTDD thể tế bào nhân có tỷ lệ biểu lộ KRAS là 29,8%, bệnh nhân UTDD thể tuyến nhú có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 1,7%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ KRAS theo đặc điểm mô bệnh học WHO,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.35.** Sự biểu lộ của KRAS theo độ biệt hóa

Độ biệt hóa \ Biểu lộ KRAS	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	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân UTDD biệt hóa thấp có tỷ lệ biểu lộ KRAS 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%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ KRAS theo độ biệt hóa,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.36.** Sự biểu lộ của KRAS theo giai đoạn bệnh

<b>Biểu lộ KRAS</b> <b>Giai đoạn</b>	<b>Âm tính</b>		<b>Dương tính</b>		<b>p</b>
	n	%	n	%	
Giai đoạn I	4	8,7	0	0	0,06
Giai đoạn II	12	26,1	20	35,1	
Giai đoạn III	30	65,2	35	61,4	
Giai đoạn IV	0		2	3,5	
Tổng số	46	100,0	57	100,0	

**Nhận xét:** Bệnh nhân UTDD giai đoạn III biểu lộ KRAS cao nhất với 61,4%.

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

**Bảng 3.37.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo triệu chứng lâm sàng

<b>Triệu chứng</b> <b>Dấu ấn</b>	<b>Số dấu ấn dương tính</b>			<b>p</b>
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Đau thượng vị (n=102)	25 24,5%	27 26,5%	50 49%	0,22
Sút cân (n=30)	6 20,0%	5 16,7%	19 63,3%	0,14
Chán ăn (n=9)	1 11,1%	3 33,3%	5 55,6%	0,58
Buồn nôn/nôn (n=3)	1 33,3%	0 0	2 66,7%	0,57
Xuất huyết tiêu hóa (n=6)	2 33,3%	1 16,7%	3 50,0%	0,82
Khó nuốt (n=3)	0 0	1 33,3%	2 66,7%	0,59
Thiếu máu (n=1)	0 0	0 0	1 100%	0,58

**Nhận xét:** Không có sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH và KRAS theo triệu chứng lâm sàng,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.38.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo vị trí khối u

Dấu ấn Vị trí u	Số dấu ấn dương tính			p
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Thân vị	1 3,8%	1 3,7%	3 6,0%	0,17
Bờ cong lớn	1 3,8%	3 11,1%	1 2,0%	
Bờ cong nhỏ	5 19,2%	11 40,7%	14 28,0%	
Hang vị	18 69,2%	8 29,6%	28 56,0%	
Môn vị	1 3,8%	4 14,8%	4 8,0%	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân có UTDD ở vị trí hang vị có tỷ lệ biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn có tỷ lệ cao nhất (56,0%).

- Không có sự khác biệt về sự đồng biểu lộ 2 dấu ấn theo vị trí khối u,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.39.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo Borrmann

Dấu ấn Borrmann	Số dấu ấn dương tính			p
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Dạng polyp	1 3,8%	1 3,7%	1 2,0%	0,29
Dạng nấm	3 11,5%	5 18,5%	11 22,0%	
Dạng loét	15 57,7%	19 70,4%	34 68,0%	
Dạng thâm nhiễm	7 26,9%	2 7,4%	4 8,0%	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân có u dạng loét đồng biểu lộ cả 2 dấu ấn với tỷ lệ 68,0%, bệnh nhân có u dạng nấm có tỷ lệ biểu lộ thấp hơn với 22,0%.

- Không có sự khác biệt về sự đồng biểu lộ 2 dấu ấn theo hình thái khối u,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.40.** Sự đồng biểu lộ của 2 dấu ấn theo MBH Lauren

<b>Dấu ấn</b> <b>Lauren</b>	<b>Số dấu ấn dương tính</b>			<b>p</b>
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Thở ruột	14 53,8%	20 74,1%	35 70,0%	0,24
Thở lan tỏa	12 46,2%	7 25,9%	15 30,0%	

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

**Bảng 3.41.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo đặc điểm MBH WHO

<b>Dấu ấn</b> <b>WHO</b>	<b>Số dấu ấn dương tính</b>			<b>p</b>
	0 dấu ấn	1 dấu ấn	2 dấu ấn	
Ung thư biểu mô tuyến vú	0 0	0 0	1 2,0%	0,05
Ung thư biểu mô tuyến ống	10 38,5%	16 59,3%	33 66,0%	
Ung thư biểu mô tuyến nhầy	4 15,4%	4 14,8%	1 2,0%	
Ung thư biểu mô tế bào nhân	10 38,5%	6 22,2%	15 30%	
Ung thư biểu mô tế bào nhỏ	2 7,7%	0 0	0 0	
Thở khác	0 0	1 3,7%	0 0	

**Nhận xét:** - Bệnh nhân có u thể tuyến ống có tỷ lệ đồng biểu lộ cả 2 dấu ấn cao nhất với 66,0%.

- Không có sự khác biệt về sự biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn theo đặc điểm mô bệnh học WHO,  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.42.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo độ biệt hóa

<b>Dấu ấn</b> <b>Độ biệt hóa</b>	<b>Số dấu ấn dương tính</b>			<b>p</b>
	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	

**Nhận xét:** 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 3.43.** Sự biểu lộ đồng thời của 2 dấu ấn theo giai đoạn bệnh

<b>Dấu ấn</b> <b>Giai đoạn</b>	<b>Số dấu ấn dương tính</b>			<b>p</b>
	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	

**Nhận xét:** Bệnh nhân có u giai đoạn III có tỷ lệ đồng biểu lộ 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 4

### 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 bệnh lý ung thư dạ dày, tuổi và giới được coi là các yếu tố liên quan đến tỷ lệ mắc bệnh cũng như tiên lượng bệnh ở giai đoạn sau này.

Trong nghiên cứu này tôi tiến hành cứu trên 103 bệnh nhân cho thấy 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). Tỷ lệ bệnh nhân UTDD là nam chiếm 59,2% cao hơn so với ở nữ và đặc biệt bệnh nhân là nam trong độ tuổi 60-69 tuổi chiếm tỷ lệ (34,4%) (Biểu đồ 3.1.).

So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong nước như Võ Duy Long (2017) và cộng sự có kết quả nhóm tuổi từ 60-69 chiếm tỷ lệ 27%, tỷ lệ mắc bệnh nam/nữ là 70/42 [4].

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan (2020) cho thấy bệnh nhân trong độ tuổi trên 60 tuổi chiếm tỷ lệ (50,9%), tỷ lệ bệnh nhân là nam giới mắc bệnh (69,5%) cao gấp 2,28 lần so với nữ giới (30,5%) [3].

Trước đó, nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) chỉ ra rằng nhóm tuổi 61-70 tuổi chiếm tỷ lệ (18,4%), nhóm tuổi từ 51-60 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (37,7%), tỷ lệ bệnh nhân là nam (71,7%) cao gấp 2,5 lần so với nữ (28,3%) [1].

Kết quả nghiên cứu của Phan Văn Cương (2018) cho thấy nhóm tuổi mắc bệnh là 55-59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 14,1%, lứa tuổi 60-64 tuổi chỉ chiếm tỷ lệ 13,9%, trong đó bệnh nhân là nam chiếm tỷ lệ cao 64,8% [2].

Trong một nghiên cứu khác của Phạm Văn Nam (2019) lứa tuổi bệnh



nhân mắc bệnh 51-60 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất nam 32,43%; nữ 10,81% [6].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng về tuổi và giới mắc bệnh với các tác giả này. Các nghiên cứu cho rằng, tỷ lệ nam giới mắc UTDD cao do thói quen sinh hoạt có sự khác nhau giữa 2 giới, điển hình như hút thuốc và uống rượu. Tỷ lệ UTDD ở nữ thấp hơn đáng kể so với nam còn được giải thích rằng có thể là do nữ giới không có thói quen hoặc rất ít phụ nữ có thói quen uống rượu và hút thuốc lá. Trong nghiên cứu này tỷ lệ bệnh nhân có thói quen uống rượu là 16,5%; hút thuốc là 18,4% (Bảng 3.3).

#### 4.1.1.2. Đặc điểm lâm sàng

##### - Tiền sử bệnh

Trong nghiên cứu này, điều tra tiền sử bệnh nhân chúng tôi ghi nhận tỷ lệ bệnh nhân có tiền sử đau thượng vị là 99,0%, không có bệnh nhân có tiền sử viêm dạ dày, tiền sử loét dạ dày, phẫu thuật cắt dạ dày (Bảng 3.3).

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan (2020) cho thấy có 52,7% bệnh nhân có tiền sử bị bệnh dạ dày; trong đó có 12,4% bệnh nhân có tiền sử gia đình bị bệnh ung thư dạ dày và 37,7% bệnh nhân có tiền sử bị nhiễm *H.pylori* [3].

Trước đó, nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) cho thấy có 6,0% bệnh nhân có tiền sử viêm, loét dạ dày và bệnh nhân không có tiền sử phẫu thuật dạ dày [8].

Nghiên cứu của Phạm Văn Nam cho thấy, bệnh nhân bị bệnh ung thư biểu mô dạ dày nhưng có bệnh nội khoa kèm theo. Có 14,86% bệnh nhân có mắc bệnh viêm loét dạ dày; 5,41% bệnh nhân có kèm theo bệnh đái tháo đường và bệnh tăng huyết áp [6].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, phần lớn các bệnh nhân khi khai thác tiền sử thì đều khỏe mạnh, rất ít trường hợp phải điều trị bệnh lý dạ dày trước đó, tiền sử bệnh chỉ là đau thượng vị, bệnh nhân khi phát hiện bệnh thì tổn

thương đã là ác tính. Điều này cho thấy UTDD là bệnh tiến triển âm thầm, bệnh ở giai đoạn tiền ác tính cũng không có biểu hiện rõ ràng. Bên cạnh đó, một lí do hay gặp có thể là bệnh nhân chủ quan, có các tiền triệu như đau bụng âm ỉ thì không đi khám bệnh mà cố chịu đựng, đến khi các biểu hiện lâm sàng ảnh hưởng nhiều đến sinh hoạt bệnh nhân mới đến viện khám và điều trị.

- Lý do vào viện

Để thấy rõ được lý do khiến bệnh nhân quyết định vào viện, chúng tôi thu thập thông tin về lý do vào viện của bệnh nhân bao gồm đau thượng vị, xuất huyết tiêu hóa, sút cân, nóng rát vùng thượng vị, ợ hơi, ợ chua, buồn nôn, nôn, khó nuốt. Trong số các lý do nêu trên, chúng tôi đã xác định được đau thượng vị là triệu chứng chính để bệnh nhân đi khám có tỷ lệ 99,0%, sút cân 29,1%, các triệu chứng khác có tỷ lệ thấp (Bảng 3.4).

Theo Đặng Văn Thời (2017) thì gần như tất cả các bệnh nhân UTDD khi vào viện đều biểu hiện rõ các dấu hiệu như mệt mỏi sút cân, khó nuốt, nuốt nghẹn, xuất huyết tiêu hóa. Trong đó, triệu chứng nuốt nghẹn (56%) và đau thượng vị (34%) là các triệu chứng thường gặp nhất [8]. Kết quả này của chúng tôi cũng có sự tương đồng với một nghiên cứu gần đây ở Việt Nam của tác giả Nguyễn Quang Bộ với tỷ lệ vào viện vì đau thượng vị chiếm 94,3% [1].

Một trong những yếu tố ảnh hưởng tới việc bệnh nhân đến viện sớm hay muộn phụ thuộc vào thời gian biểu hiện các đặc điểm lâm sàng nêu trên cũng như mức độ biểu hiện bệnh. Một số nghiên cứu cho thấy rằng ở giai đoạn sớm bệnh nhân ít có sự biểu hiện các triệu chứng lâm sàng hoặc biểu hiện không rõ rệt.

- Triệu chứng 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 hiện 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 hiện lâm sàng hay gặp nhất là đau thượng vị chiếm tỷ lệ 99,0%, các biểu hiện lâm sàng khác có gặp nhưng chiếm tỷ lệ thấp hơn (Bảng 3.5). Trước đó, tác giả Nguyễn Quang Bộ (2017) xác định tỷ lệ này là 98,1% [1]. Theo kết quả nghiên cứu của Phạm Văn Nam (2019) tỷ lệ bệnh nhân có triệu chứng đau bụng là 100% [6]. Theo tác giả Võ Duy Long (2017) tỷ lệ bệnh nhân có đau bụng chiếm 98% [4]. Theo kết quả nghiên cứu công bố trên một bài báo gần đây của nhóm tác giả Hồ Chí Thanh và cộng sự cho thấy, triệu chứng đau bụng vùng thượng vị chiếm tỷ lệ 96,9% và đây cũng là lý do khiến bệnh nhân vào viện [9]. Như vậy, có thể thấy các kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác về triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân.

**Bảng 4.1.** So sánh triệu chứng toàn thân và cơ năng giữa các nghiên cứu

STT	Triệu chứng lâm sàng	N.Q.Bộ (2017)	V.D.Long (2017)	Đ.V.Thời (2017)	Nghiên cứu này
1	Đau thượng vị	98,1%	87,5%	62%	99,0%
2	Sụt cân	56,6%	52,3%	30%	29,1%
3	Chán ăn	24,5%	-	26%	8,7%
4	Buồn nôn/nôn	50,9%	45,5%	-	2,9%
5	Nôn máu/phân đen	18,9%	15,2%	10%	5,8%
6	Khó nuốt	-	-	64%	2,9%
7	Thiếu máu	-	-	-	1,0%
8	Mệt mỏi	-	-	-	0%

Để so sánh tỷ lệ các triệu chứng lâm sàng trên bệnh nhân UTDD giữa nghiên cứu này với một số nghiên cứu khác trong nước và nước ngoài chúng ta quan sát kết quả nghiên cứu ở bảng 4.1 và thấy được rằng: Đau bụng thượng vị ở các bệnh nhân được thể hiện ở nhiều dạng và nhiều mức độ không giống nhau bao gồm đau âm ỉ, nóng rát, ậm ạch khó chịu. Buồn nôn hoặc nôn cũng là một triệu chứng tiêu hóa gặp ở bệnh UTDD. Một trong những nguyên nhân dẫn tới buồn nôn là do hẹp môn vị.

Tiếp sau đau thượng vị là triệu chứng sụt cân chiếm tỷ lệ từ 30-61,6%; tỷ lệ này trong nghiên cứu của chúng tôi là 29,1% thấp hơn so với các tác giả được so sánh trong bảng 4.1. Triệu chứng sụt cân là dấu hiệu khá điển hình nhưng các bệnh nhân ung thư nói chung đều có, tuy nhiên triệu chứng này lại không điển hình đối với bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi.

Nôn ra máu hoặc đi ngoài phân đen cũng được đánh giá là một dấu hiệu quan trọng ở bệnh nhân UTDD. Tình trạng xuất huyết tiêu hóa đã được ghi nhận trong nhiều báo cáo khác nhau ở trong và ngoài nước. Trong bảng so sánh 4.1 chúng tôi thấy rằng, tỷ lệ bệnh nhân biểu hiện đặc điểm lâm sàng này dao động từ 10-20%. Nghiên cứu của chúng tôi xác định tỷ lệ là 5,8% thấp hơn so với khoảng phổ biến này. Xuất huyết tiêu hóa được biểu hiện ở các dạng khác nhau và các mức độ khác nhau tùy vào giai đoạn phát triển của khối u dạ dày. Xuất huyết tiêu hóa do UTDD là xuất huyết tiêu hóa cao thường có sự khác biệt với ung thư đại tràng ở màu phân đen so với phân lẫn máu tươi. Tuy tỷ lệ bệnh nhân biểu hiện triệu chứng này không nhiều so với các triệu chứng khác nhưng nó lại là dấu hiệu cảnh báo quan trọng cho UTDD cũng như giai đoạn bệnh.

#### *4.1.1.3. Đặc điểm nội soi*

Để xác định được vị trí, hình thái, mức độ tổn thương thì nội soi dạ dày là một thủ thuật cần được tiến hành. Trong các nghiên cứu về ung thư dạ dày

đều phải thu thập thông tin về vị trí của khối u, từ đó giúp các nhà khoa học tìm ra hình ảnh mô bệnh học cũng như sự di căn kèm theo nếu có. 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 29,2%. Các vị trí khác như thân vị, bờ cong lớn, môn vị có gặp nhưng chiếm tỷ lệ thấp.

Một nghiên cứu gần đây của Phạm Văn Nam (2019) cũng có kết quả tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, vị trí thường gặp nhất là hang, môn vị chiếm tỷ lệ lên 51,36%; tiếp đến là vị trí ở bờ cong nhỏ chiếm tỷ lệ 32,4%; u ở các vị trí khác như bờ cong lớn, thân vị chiếm tỷ lệ thấp [6].

Theo kết quả của một nghiên cứu trước đó tại Hà Nội của tác giả Phan Văn Cương (2018) cho thấy sự phân bố của các vị trí mắc ung thư dạ dày trong số những ca bệnh ghi nhận được vị trí. Tỷ lệ vị trí ung thư dạ dày tại hang vị chiếm tỷ lệ cao nhất 48,5%; tại bờ cong nhỏ 18,3%; tại tâm vị 14,2% [2].

Nghiên cứu về đặc điểm hình thái khối u theo phân loại Borrmann, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hình thái khối u thường gặp nhất là dạng loét chiếm tỷ lệ 66,0%; các hình thái khác chiếm tỷ lệ thấp hơn như dạng nấm 18,4%; dạng thâm nhiễm 12,7%; dạng polyp 2,9%. Kết quả này có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Phạm Văn Nam (2019) u thể loét chiếm tỷ lệ cao nhất 43,25%; thể sùi ít gặp nhất chiếm tỷ lệ 2,7% [6]. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) cũng cho thấy, tổn thương dạng loét xâm lấn chiếm tỷ lệ cao nhất 43,4%; tổn thương các dạng khác như thể thâm nhiễm 11,3%; thể sùi 11,3% ít gặp hơn [1]. Như vậy, các nghiên cứu đều cho kết quả tương đồng với kết quả nghiên cứu của tôi về hình thái tổn thương của bệnh nhân ung thư dạ dày.

#### *4.1.1.4. Đặc điểm mô bệnh học*

- Phân loại mô bệnh học theo Lauren và WHO

Phân loại mô bệnh học UTDD có ý nghĩa rất quan trọng trong việc đưa ra chẩn đoán bệnh, từ đó giúp cho bác sĩ tiên lượng và lựa chọn phác đồ điều trị bệnh một cách tối ưu nhất. Hiện nay, trên thế giới cùng tồn tại nhiều hệ thống phân loại khác nhau nhưng ba hệ thống phân loại được sử dụng phổ biến là WHO, của Lauren, của Nhật Bản và một số hệ thống phân loại khác.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân loại mô bệnh học các mẫu ung thư thu được theo hai hệ thống chính đang sử dụng phổ biến hiện nay là hệ thống của Lauren và hệ thống của 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).

Theo một số kết quả nghiên cứu trong nước, tỷ lệ thể ruột cũng thường chiếm ưu thế so với thể lan tỏa. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan (2020) và cộng sự xác định được tỷ lệ ung thư dạ dày thể ruột chiếm 75,8% và thể lan tỏa chiếm 24,2%; khi phân thể mô bệnh học theo giới cũng có kết quả tương tự, ung thư dạ dày thể ruột chiếm tỷ lệ cao hơn so với thể lan tỏa ở cả giới nam 79,0% và nữ 68,5% [3].

Hệ thống phân loại mô bệnh học UTDD của WHO được sử dụng phổ biến nhất hiện nay. Theo hệ thống phân loại này, chúng tôi thấy rằng dạng mô học phổ biến nhất trong số 103 bệnh nhân được nghiên cứu là thể tuyến ống chiếm tới 57,3%; tiếp đến là thể tế bào nhẵn 30,1%. Các dạng ung thư thể khác gồm thể tuyến nhày (8,7%); thể tế bào nhỏ 1,9% và tỷ lệ thấp nhất là thể tuyến nhú (1,0%) (Bảng 3.9). Sự phổ biến của thể tuyến ống này cũng được chỉ ra trong các nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ bệnh nhân UTDD thể ống tuyến là 85%; các thể khác chiếm tỷ lệ thấp hơn [1]. Kết quả nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) cho thấy 100% bệnh nhân ung thư biểu mô thể ống tuyến [8]. Như vậy, có thể thấy rằng có sự tương đồng về thể

mô học theo hệ thống phân loại của WHO giữa các nghiên cứu trong nước đã được báo cáo trong những năm vừa qua.

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 32,0%; 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 (2017) 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% [1]. Kết quả nghiên cứu của Phạm Văn Nam (2019) cũng cho kết quả tương tự, thể kém biệt hóa chiếm tỷ lệ cao nhất 33,79% [6]. Tuy vậy, theo kết quả nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) cho thấy, kết quả mô bệnh học thể biệt hóa vừa chiếm tỷ lệ cao nhất 44,0%; các thể biệt hóa cao và thể biệt hóa thấp có tỷ lệ tương đương nhau lần lượt là 30,0% và 26,0% [8].

#### - Giai đoạn bệnh

Trong số 103 bệnh nhân nghiên cứu, chúng tôi đã xác định có tới 84,4% trường hợp bệnh nhân đã ở giai đoạn T4 và 11,7% ở giai đoạn T3, chỉ có 1,0% trường hợp ở giai đoạn T1. Điều này cho thấy rằng phần lớn các trường hợp được phát hiện ở giai đoạn muộn.

Phân chia theo giai đoạn hạch (N) chúng tôi xác định được tỷ lệ bệnh nhân N0 chiếm 42,7%; còn lại thuộc về giai đoạn N1-N3, trong đó giai đoạn N2 chiếm tỷ lệ cao hơn 2 giai đoạn còn lại 25,2%; điều này có nghĩa là phần lớn các bệnh nhân đã có di căn hạch. Tỷ lệ di căn xa M1 chiếm 1,9%; đa số là di căn M0 chiếm tỷ lệ 98,1% (Bảng 3.12, bảng 3.13).

Phân loại theo giai đoạn UTDD ở giai đoạn sớm (giai đoạn I) chỉ chiếm tỷ lệ thấp 3,9%. Phần lớn số trường hợp bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đã ở giai đoạn III chiếm tỷ lệ 63,1% và ở giai đoạn IV (1,9%) (Bảng 3.14).

Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Võ Duy Long (2017) với 65,2% trường hợp ở giai đoạn T4a, chỉ có bốn trường hợp ở giai đoạn sớm (T1). Cả bốn trường hợp này đều không di căn hạch lympho và hiện đang còn sống với thời gian sống còn từ 17 đến 40 tháng. Phân chia theo giai đoạn hạch (N), tỷ lệ N0 chiếm tỷ lệ cao nhất 55,4%; tiếp đến là bệnh nhân ở giai đoạn N2 19,6%; N3a 17,0%; giai đoạn N1 và N3b chiếm tỷ lệ thấp lần lượt là 7,1% và 0,9%. Phân loại theo giai đoạn bệnh chỉ có bảy trường hợp (6,3%) ung thư ở giai đoạn I, 55 trường hợp (49%) ở giai đoạn II và phần lớn bệnh nhân khi phát hiện bệnh đang ở giai đoạn III chiếm tỷ lệ 44,7% [4].

Theo kết quả nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) nghiên cứu trên 50 bệnh nhân cho thấy mức độ xâm lấn của khối u ở mức T2 chiếm tỷ lệ cao nhất 36,0%; mức độ xâm lấn mức T3, T4 có tỷ lệ đương đương lần lượt là 32% và 30%. Xác định mức độ di căn hạch kết quả nghiên cứu cho thấy mức di căn hạch N2 chiếm tỷ lệ cao nhất 48%; mức độ N1 44%. Phân loại giai đoạn bệnh, bệnh nhân được phát hiện bệnh ở giai đoạn II và giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao 68% [8].

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) cho thấy, mức độ xâm lấn của khối u ở mức T3 chiếm tỷ lệ cao nhất 45,3%. Xác định mức độ di căn hạch kết quả nghiên cứu cho thấy chủ yếu mức di căn hạch N0 chiếm tỷ lệ 58,5%. Phân loại giai đoạn bệnh, giai đoạn II có tỷ lệ cao nhất với 45,2%; giai đoạn III là 32,2%, giai đoạn I chiếm 22,6% [1].

Một nghiên cứu trước đó của Phan Văn Cường (2018) cho thấy, phân bố độ xâm lấn của những trường hợp ung thư dạ dày được ghi nhận. Trong số những trường hợp ghi nhận được, T4a chiếm tỷ suất cao nhất (48,1%); T3a (31,7%); T2a (12,6%) và T1b (7%). Các trường hợp khác chiếm tỷ lệ thấp. Mức độ di căn hạch vùng chủ yếu ở mức N1 chiếm tỷ lệ 38,2%; xác định mức



độ di căn xa của ung thư dạ dày chủ yếu ở mức M0 73,7% và phân bố giai đoạn của ung thư dạ dày phần lớn bệnh nhân khi phát hiện bệnh đã ở giai đoạn IV chiếm tỷ lệ 59,7% [2].

Xác định giai đoạn bệnh theo kết quả của Phạm Văn Nam (2019) nghiên cứu trên 74 bệnh nhân cho thấy mức độ xâm lấn T3 chiếm tỷ lệ cao nhất 58,11%; bệnh nhân được xác định ung thư giai đoạn IIIa chiếm tỷ lệ cao nhất 40,54% [6].

Như vậy, có thể thấy việc phát hiện UTDD ở giai đoạn sớm đã giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ sống sót sau 5 năm cho các bệnh nhân UTDD. Những kết quả này có được nhờ chương trình tầm soát sớm UTDD, đặc biệt là ứng dụng các kỹ thuật nội soi hiện đại vào khám sàng lọc định kỳ.

#### ***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 (2023), tỷ lệ biểu lộ ALDH là 61,2% [7].

Kể từ năm 2012, nhiều tác giả trên toàn thế giới đã tập trung nghiên cứu mối quan hệ giữa sự biểu lộ ALDH1 và UTDD. Trong nhiều nghiên cứu hồi cứu, những bệnh nhân được chẩn đoán bệnh lý UTDD nhưng không được xạ trị hoặc hóa trị liệu đã được chọn, và các mô ung thư và viêm dạ dày được sử dụng làm đối chứng. Trong các mô UTDD, tiền ung thư và không ung thư, sự biểu lộ của ALDH1 có thể được xác định bằng phương pháp hóa mô miễn dịch. Các nghiên cứu khác nhau bao gồm khoảng 36-1072 trường hợp UTDD và ALDH1 biểu lộ trong 43,9%-100% trường hợp. Mức độ dương tính của ALDH1 dao động tương ứng từ 5,77%-24,1% và 10%-43,4% ở các mô không ung thư và mô cận ung thư. Mức độ dương tính của ALDH1A1 tương ứng dao động từ 43,2%-89,4% và 10%-43,4% trong mô ung thư và trong các mô

cận ung thư. Trong hầu hết các nghiên cứu, mô không ung thư hoặc mô cận ung thư được sử dụng làm nhóm đối chứng. Sự biểu lộ ALDH1 ở các mô UTDD cao hơn ở các mô không ung thư và mô cận ung thư [107].

Hay tương tự như trong nghiên cứu của Brungs, D. năm 2019 cho thấy tỷ lệ biểu lộ ALDH là 72% [19]. Hay trong nghiên cứu của Wakamatsu, Y. năm 2012 cũng cho thấy tỷ lệ biểu lộ ALDH là 55% trong số 190 bệnh nhân, nghiên cứu này cũng cho thấy ALDH là một trong số các dấu ấn tế bào gốc ung thư dạ dày có liên quan đến thời gian sống thêm và tiên lượng đáp ứng với các biện pháp điều trị nhắm đích [104].

Trong nghiên cứu của Li, X. S. năm 2014 biểu lộ protein ALDH có liên quan đáng kể với sự xâm lấn sâu, di căn hạch và giai đoạn bệnh ( $p < 0,05$ ). Cả phân tích đơn biến và đa biến đều cho thấy ALDH là một yếu tố tiên lượng độc lập cho cả thời gian sống sót toàn bộ và thời gian sống không tái phát bệnh ( $p < 0,001$ ) [63].

Hơn nữa, sự biểu lộ quá mức của ALDH có liên quan đến tiên lượng xấu hơn ở những bệnh nhân phân nhóm theo kích thước khối u, độ xâm lấn sâu và di căn hạch bạch huyết. Bệnh nhân có biểu lộ quá mức ALDH, trong đó các tế bào khối u có khả năng xâm lấn cao, có sự tự điều chỉnh kém và thời gian sống thêm không tái phát ngắn hơn. Như vậy, tỷ lệ biểu lộ ALDH trong nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với một số kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước đã được biết đến rộng rãi.

#### *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%. Hiện nay, phần lớn các nghiên cứu tập trung phân tích đột biến gen KRAS dẫn đến tăng cường hoạt hóa của gen này gây ra ung thư. Tỷ lệ này tương đương với các nghiên cứu khác. Như trong nghiên cứu của Polom, K. (2019) 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. Đột biến KRAS ở những bệnh nhân nữ giới, lớn tuổi biểu lộ giai đoạn T và N tiến triển nhanh hơn, nhiều khối u di căn hơn và cần điều trị hỗ trợ nhiều hơn so với các bệnh nhân nam. Tỷ lệ sống sót sau 5 năm là 72,2% đối với bệnh nhân đột biến KRAS. Trong phân tích đa biến, KRAS có tỷ lệ sống sót kém hơn ( $p = 0,304$ ) [84].

Hay như trong phân tích gộp của Hewitt, Lindsay C. trên 61 nghiên cứu. Số bệnh nhân dao động từ 5 đến 712 bệnh nhân, trung bình trong mỗi nghiên cứu là 61 [42]. Có 39 (66%) nghiên cứu từ phương Đông và 22 (37%) nghiên cứu từ phương Tây. Các nghiên cứu từ phương Đông có quy mô nghiên cứu trung bình cao hơn là 66 bệnh nhân, khác nhau từ 5 đến 319 bệnh nhân so với cho các nghiên cứu từ phương Tây với quy mô nghiên cứu trung bình là 33 bệnh nhân, từ 7 đến 494 bệnh nhân. Lớn nhất là một nghiên cứu đa trung tâm quốc tế bao gồm 712 UTDD: 278 bệnh nhân từ Vương quốc Anh, 230 bệnh nhân từ Nhật Bản và 204 bệnh nhân từ Singapore. Tỷ lệ trung bình tổng thể của đột biến KRAS trong UTDD là 6,5%; dao động từ 0-29%. Tỷ lệ biểu lộ KRAS trung bình tương tự trong các nghiên cứu từ phương Đông và phương Tây (Đông: 6%, dao động từ 0-20%, Tây 7,5%, dao động từ 0-29%).

Tương tự như vậy, một nghiên cứu đa trung tâm quốc tế báo cáo một tỷ lệ tổng thể của các đột biến KRAS là 4,2% không khác biệt giữa phương Đông, phương Tây và các quốc gia (Anh 6%, Nhật Bản 4%, Singapore 2%). Có 29 nghiên cứu đã điều tra mối quan hệ giữa trạng thái đột biến KRAS và một hoặc nhiều yếu tố bệnh lý lâm sàng. Những yếu tố đó bao gồm phân loại khối u, phân loại Lauren, vị trí khối u, độ sâu xâm lấn của khối u (T), tình trạng hạch bạch huyết (N), phân loại Borrmann, tuổi, giới và nhiễm *H.pylori* hoặc EBV. Mối liên quan được nghiên cứu thường xuyên nhất là mối liên

quan giữa trạng thái đột biến KRAS và mức độ xâm lấn T, tiếp theo là giới tính và độ tuổi được báo cáo tương ứng trong 33%, 30% và 30% nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của Jabini, R. cho thấy đột biến KRAS được phát hiện ở 6 trong số 140 (4,2%) mẫu mô ung thư dạ dày. Đột biến KRAS xuất hiện ở 22,2% (4/18) mẫu nhiễm *H. pylori* ( $p < 0,05$ ). Các khối u từ các đối tượng *H. pylori* dương tính có nhiều khả năng có đột biến KRAS hơn đáng kể so với các khối u từ các đối tượng *H. pylori* âm tính (OR=17,1). Dữ liệu cho thấy rằng nhiễm *H. pylori* khi so sánh với không nhiễm *H. pylori*, có liên quan đến tỷ lệ đột biến KRAS cao hơn trong ung thư dạ dày [47].

Wang, L. phát hiện ra rằng, ung thư biểu mô tuyến đường tiêu hóa biểu hiện sự thay đổi vùng rõ rệt về tần suất đột biến KRAS, với đột biến KRAS thường gặp nhất được quan sát thấy ở ung thư biểu mô tuyến tụy (lên đến 94,9%), trong khi tần suất này thấp hơn nhiều ở ung thư biểu mô tuyến từ thực quản và dạ dày (5,4%) và 8,7% [106].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có thể thấy tỷ lệ biểu lộ của KRAS cao hơn so với các nghiên cứu đã công bố. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam đánh giá về tỷ lệ biểu lộ KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày, từ các thông tin này về sự biểu lộ KRAS có thể tiến hành các nghiên cứu kế tiếp để tìm hiểu rõ hơn về các đặc điểm hóa mô miễn dịch ở bệnh nhân UTDD tại Việt Nam.

#### 4.1.2.3. Sự biểu lộ đồng thời ALDH và KRAS

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ đồng biểu lộ của KRAS và ALDH của các bệnh nhân trong nghiên cứu là 48,5%. Chưa có nghiên cứu nào về tỷ lệ đồng biểu lộ ALDH và KRAS ở các bệnh nhân UTDD. Trong nghiên cứu của Althobiti, M. cho thấy rằng, sự biểu lộ ALDH trong nhuộm miễn dịch như một dấu hiệu mô riêng lẻ có thể không dự đoán được quần thể tế bào gốc ung thư; thay vào đó, sự kết hợp biểu lộ của nhiều hơn các dấu ấn miễn dịch tế bào gốc ung thư có thể xác định chính xác hơn các mối liên quan và sự phát

triển tế bào ung thư. Nghiên cứu đã quan sát thấy phản ứng miễn dịch mạnh mẽ của ALDH trong một số ít quần thể tế bào ác tính, điều này có thể chỉ ra rằng quần thể này chưa thể đại diện cho các tế bào gốc ung thư [10].

## **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**

Trong nhiều thập kỷ qua, các nghiên cứu tiên phong cho rằng biểu lộ bất thường của ALDH có liên quan đến một số bệnh không phải khối u ở người, ví dụ như bệnh Alzheimer (AD), không dung nạp rượu. Nguyên nhân là do mất hoạt động hoặc thiếu hụt enzyme, biểu hiện và tích lũy các aldehyde độc hại. Một rối loạn khác liên quan đến ALDH là do đột biến gen ALDH, đặc biệt là đa hình đơn nucleotide, góp phần làm bất hoạt enzyme, rối loạn chức năng tế bào, làm gián đoạn quá trình trao đổi chất bình thường và dễ mắc các bệnh ở người, chẳng hạn như hội chứng Sjögren-Larsson (SLS) và tăng prolin máu loại II (HPH). Tính đa hình trong các gen này có thể ảnh hưởng khác nhau đến nguy cơ phát triển bệnh ở các chủng tộc được đánh giá. Điều này làm tăng khả năng ALDH trở thành dấu hiệu thay thế để xác định cơ chế bệnh sinh và đặc điểm bệnh lý lâm sàng [111].

Sự biểu lộ ALDH bất thường đã được phát hiện ở các khối u của các cơ quan khác nhau, bao gồm ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư phổi, ung thư biểu mô tế bào vảy ở đầu và cổ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, và u nguyên bào thần kinh đệm. Hoạt tính ALDH tăng cao được biểu hiện ở các tế bào giống tế bào gốc, giúp tái tạo tính không đồng nhất của khối u. Tế bào gốc ung thư (TBGUT) là những tế bào hiếm gặp trong khối u có khả năng tự đổi mới và biệt hóa bền vững. ALDH biểu lộ quá mức trong tế bào gốc ung thư đã được xác nhận là có tác dụng thúc đẩy sự phát triển của khối u, di căn, kháng thuốc và thoát khỏi miễn dịch. Do đó,

ALDH nổi bật như là dấu ấn sinh học cho tế bào gốc trong một số bệnh ung thư. Về mặt lâm sàng, ALDH cũng được coi là chỉ số tiên lượng xấu ở bệnh ung thư rắn. Một đánh giá có hệ thống và phân tích hồi cứu trên 1557 bệnh nhân mắc bệnh ung thư rắn tiên triển hoặc di căn cho thấy biểu lộ ALDH cao có liên quan rõ ràng đến khả năng sống sót tổng thể kém hơn, đặc biệt là trong ung thư vú, ung thư cổ tử cung và ung thư buồng trứng. Do đó, đánh giá lâm sàng về ALDH trong quá trình phát triển khối u giúp cải thiện sự hiểu biết của chúng ta về động lực tiến hóa của tế bào gốc ung thư và mở đường cho các ứng dụng điều trị. Mặt khác, việc nhắm đích các isoenzym ALDH hoặc các con đường liên quan đến ALDH có ý nghĩa điều trị đầy hứa hẹn thông qua việc ngăn chặn sự tiến triển của bệnh ung thư, đặc biệt là trong việc tiêu diệt quần thể tế bào gốc ung thư dạ dày.

Trong các khối u, bằng chứng chỉ ra rằng các ALDH như ALDH1A1, ALDH1A3 và ALDH3A1 là những yếu tố quan trọng dẫn đến tình trạng kháng hóa trị và xạ trị ở nhiều khối u rắn bằng cách giải độc các thuốc gây độc tế bào và giảm thiểu căng thẳng oxy hóa. Ví dụ, làm bất hoạt gen ALDH1A1 ở người tế bào ung thư vú tăng độ nhạy cảm với paclitaxel bằng cách kích hoạt sản xuất ROS, và kết quả tương tự cũng đạt được với các thuốc chống ung thư khác như doxorubicin, sorafenib và staurosporine. Một ví dụ khác là nồng độ ALDH1A1 cao dẫn đến thu được biểu mô-trung mô đặc tính chuyên tiếp (EMT) và tế bào gốc ung thư cũng như khả năng kháng erlotinib thông qua việc thanh thải các loại clo phản ứng/ROS trong bệnh ung thư phổi. Việc ức chế hoặc ức chế được lý của ALDH1A1 giúp khắc phục tình trạng kháng erlotinib trong ống nghiệm và *in vivo*.

Mối liên quan giữa ALDH và ung thư di căn trong lâm sàng đã được quan tâm từ cuối những năm 1980, khi Marselos M. và cộng sự nhận thấy rằng, sự tăng hoạt tính enzyme ALDH ở các tổn thương di căn của ung thư

đại tràng so với mô bình thường bên cạnh. 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. Phần lớn các báo cáo đều cho thấy mối tương quan thuận giữa biểu lộ ALDH và di căn. Tuy nhiên, những kết quả này nên được hiểu 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. Việc nghiên cứu các cơ chế phân tử làm tăng khả năng sinh khối u của tế bào biểu lộ 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 lộ 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 lộ 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- $\beta$ -catenin đã được chứng minh là được kích hoạt trong các tế bào ung thư có biểu lộ ALDH1A1 và ALDH3A1 cao trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, buồng trứng và ung thư gan.

Nghiên cứu trên 103 bệnh nhân về tỷ lệ biểu lộ ALDH cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ biểu lộ ALDH theo tuổi và giới ( $p > 0,05$ ). Lão hóa là một quá trình sinh học phức tạp không thể đảo ngược liên quan đến việc gia tăng tỷ lệ mắc bệnh mạn tính và gánh nặng chăm sóc sức khỏe người cao tuổi. Một số giả thuyết đã được đề xuất cho sinh học của quá trình lão hóa bao gồm tích tụ gốc tự do, tổn thương DNA, quá trình chết theo chương trình, làm ngắn các trình tự DNA-telomer ở đầu tận cùng của nhiễm sắc thể. Các bằng

chúng gần đây cho thấy mối liên hệ giữa đột biến gen của aldehyde dehydrogenase ty thể (ALDH2) và tuổi thọ cũng như sự lão hóa tim mạch và tăng nguy cơ mắc ung thư. Tuổi càng cao khả năng xuất hiện các đột biến gen ALDH càng cao và càng có nguy cơ dẫn đến mắc bệnh này. Không có nghiên cứu nào chỉ ra mối liên quan giữa tuổi và đột biến gen ALDH ở bệnh nhân ung thư dạ dày. Mặc dù, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện về ung thư dạ dày và giới tính, kết quả từ những nghiên cứu này không nhất quán. Có những nghiên cứu cho rằng không có mối liên quan giữa giới tính với ung thư dạ dày. Tuy nhiên do thói quen sinh hoạt, ung thư dạ dày thường gặp hơn ở nam giới. Hiện chưa có nghiên cứu nào chỉ ra mối liên quan giữa ALDH và giới tính của bệnh nhân ung thư dạ dày. Đây có thể do ALDH là các dấu ấn miễn dịch của tế bào gốc ung thư, không phân biệt giới tính khi xuất hiện đột biến.

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, sự biểu lộ ALDH không phụ thuộc vào triệu chứng lâm sàng. Tỷ lệ biểu lộ của ALDH không phụ thuộc vào giới tính độ tuổi cũng là những kết quả được chỉ ra ở nghiên cứu về sự biểu lộ của dấu ấn này bằng HMMD [92]. Bệnh nhân có u giai đoạn II và III có tỷ lệ biểu lộ ALDH cao với 30,0% và 62,9%. Tuy chưa thấy sự khác biệt về sự biểu lộ ALDH theo giai đoạn bệnh,  $p > 0,05$ , nhưng tỷ lệ này cao hơn so với biểu lộ của ALDH ở giai đoạn I và IV. Kết quả này của chúng tôi có sự tương đồng với một số công bố về sự biểu lộ của ALDH. Điển hình như Li X. và cộng sự, khi nghiên cứu trên 216 trường hợp UTDD bằng HMMD đã nhận thấy rằng, sự biểu lộ cao của ALDH tỷ lệ thuận với sự di căn hạch ( $p < 0,01$ ) và giai đoạn bệnh ( $p < 0,001$ ). Nghiên cứu này đưa ra nhận định là biểu lộ quá mức của ALDH còn liên quan tới giảm tỷ lệ thời gian sống thêm toàn bộ (OS) ( $p < 0,001$ ) và thời gian sống không tái phát (RFS) ( $p < 0,001$ ) [63]. Những kết quả tương tự cũng được nêu ra trong các nghiên cứu của Lee J. [59] và Ye Y.



[118]. Tuy nhiên cũng có nghiên cứu cho rằng, sự biểu lộ của ALDH không liên quan tới sự di căn hạch cũng như giai đoạn bệnh [92].

Trong nghiên cứu này, sự biểu lộ ALDH không phụ thuộc vào vị trí, hình thái khối u trên nội soi. Mọi liên quan giữa ALDH và ung thư di căn đã được quan tâm từ cuối những năm 1980, khi Marselos M. và cộng sự nhận thấy rằng, sự tăng hoạt tính enzyme ALDH ở các tổn thương di căn của ung thư đại tràng so với mô bình thường bên cạnh [68]. 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 ALDH liên quan đến khả năng di căn của tế bào ung thư [76]. Phần lớn các báo cáo đều cho thấy mối tương quan thuận giữa biểu lộ ALDH và di căn. Tuy nhiên, những kết quả này nên được hiểu 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.

Senel không tìm thấy mối quan hệ có ý nghĩa thống kê giữa biểu lộ của ALDH1 và các triệu chứng lâm sàng, tỷ lệ sống sót không tái phát hoặc tỷ lệ sống sót chung (OS) [92]. Ngoài ra, Wang, L. đã báo cáo rằng, biểu lộ ALDH1 không tương quan với tuổi tác; giới; giai đoạn u, hạch, di căn (TNM); phân loại Lauren; hoặc tỷ lệ sống sót trong UTDD [107].

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 [104]. Hơn nữa, Wang và cộng sự 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 [107]. 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.

Việc nghiên cứu các cơ chế phân tử làm tăng khả năng sinh khối u của tế bào biểu lộ ALDH đã cho thấy các yếu tố phân tử đa dạng, đồng biểu lộ 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 lộ 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 lộ 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- $\beta$ -catenin đã được chứng minh là được kích hoạt trong các tế bào ung thư có biểu lộ ALDH1A1 và ALDH3A1 cao trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, buồng trứng và ung thư gan [20].

Đối với UTDD, một nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng, các tế bào biểu lộ cao ALDH đã thúc đẩy khả năng di căn của khối u thông qua sự tăng cường biểu lộ PD-L1. Điều này mở ra một cách tiếp cận điều trị phối hợp đối với UTDD [98]. Một nghiên cứu khác của Yang L. và cộng sự cho thấy rằng, các khối u dạ dày biểu lộ cao ALDH có sự tăng cường biểu hiện của các protein Sox2 và liên quan tới trạng thái di căn hạch và di căn xa của khối u [114].

Một trong những vấn đề được nhiều nghiên cứu hiện nay đặc biệt quan tâm là mối liên hệ giữa sự biểu lộ cao của ALDH với khả năng kháng các liệu pháp điều trị ung thư. Một số thuốc, hóa chất từ môi trường, những chất ức chế, gốc tự do và sản phẩm chuyển hóa có thể là nguyên nhân gây rối loạn chức năng của ALDH. Hoạt độ của ALDH trong kháng thuốc oxazaphosphorines được nghiên cứu nhiều nhất. Bằng chứng đầu tiên về vai trò của ALDH đối với sự kháng thuốc đã được tìm thấy trong trường hợp của các dòng tế bào ung thư bạch cầu. Nó đã tiết lộ rằng, sự biểu lộ của ALDH ở mức cao làm tăng khả năng kháng lại cyclophosphamide. Ngoài ra,

ức chế sự hoạt động của ALDH1 bởi DEAB đã dẫn đến tăng sự nhạy cảm của tế bào với 4 hydroperoxycyclophosphamide [74]. Trong ung thư vú, biểu lộ quá mức của ALDH và CD44 cho phép xác định các tế bào gốc ung thư. Các tế bào ALDH+/CD44+ có khả năng kháng lại hoá trị liệu hiệu quả rõ rệt hơn so với các tế bào ALDH-/CD44- [26]. Đối với UTDD, sự biểu lộ quá mức của ALDH đã được xác định là có khả năng liên quan đến kháng các thuốc điều trị ung thư hiện nay là 5-Fu và cisplatin [80].

Trong những năm gần đây, các thụ thể yếu tố tăng trưởng, thuốc ức chế tyrosine kinase (EGFR-TKI), đã được sử dụng như một liệu pháp tiềm năng cho việc ức chế sự tăng trưởng của tế bào ung thư vú và UTDD. EGFR-TKI có thể ức chế sự tăng sinh tế bào thông qua ngăn chặn sự kích hoạt EGFR trong các đường tín hiệu tyrosine kinase, một trong những con đường chính được quan sát thấy trong các bệnh ung thư khác nhau, trong đó có UTDD. Quần thể tế bào biểu lộ hoạt tính ALDH1A1 trong các tế bào ung thư được chỉ ra có khả năng kháng TKI cao gấp 5-6 lần tế bào biểu hiện yếu hoặc biểu lộ ALDH1A1. Ức chế hoạt động ALDH bởi acid retinoic hoặc DEAB (thuốc ức chế trực tiếp của ALDH1A) làm giảm đáng kể sức đề kháng của tế bào đối với 4-hydroperoxycyclophosphamide, doxorubicin và xạ trị. Những kết quả này đã được quan sát thấy trong các tế bào ung thư vú [26].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ biểu lộ ALDH, ở các bệnh nhân có khối u nằm ở vị trí hang vị chiếm tỷ lệ cao nhất (48,6%), sau đó là đến bờ cong nhỏ (31,4%), môn vị (11,4%). Tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ biểu lộ ALDH ở các vị trí ung thư dạ dày.

Wang L. và cộng sự kết luận rằng, ALDH1 có mối tương quan thuận với nhiễm *H. pylori*. Biểu lộ quá mức ALDH1 và sự phong phú của *H. pylori* tăng đáng kể trong các mô UTDD so với niêm mạc dạ dày bình thường. Tác giả đã báo cáo rằng, biểu lộ protein ALDH1 tăng lên trong các trường hợp dương

tính với *H. pylori* so với các trường hợp âm tính với *H. pylori* và có tương quan dương tính với mối quan hệ giữa biểu lộ ALDH1 và *H. pylori* dương tính. Do đó, *H. pylori* có thể liên quan đến điều chỉnh lại ALDH1. Trong viêm dạ dày do *H. pylori*, số lượng tế bào dương tính với ALDH1 tăng lên và góp phần vào sự tiến triển của tân sinh trong dạ dày niêm mạc [107].

Tỷ lệ biểu lộ ALDH ở các bệnh nhân có khối u có phân loại hình thái đại thể theo phân loại Borrmann cao nhất là dạng loét. Tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ biểu lộ ALDH theo các typ phân loại đại thể khối u theo Borrmann.

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 [63]. Tương tự, Wakamatsu nghiên cứu thấy ALDH1 được biểu lộ quá mức trong dạ dày ung thư và có mối tương quan thuận với độ sâu xâm lấn và giai đoạn TNM. Hơn nữa, biểu lộ ALDH1 cao hơn đáng kể trong di căn hạch lan tỏa hơn trong khối u nguyên phát và ALDH1A1 được phát hiện là biểu lộ quá mức trong các khối u xâm lấn cao, đặc biệt là ở T3 và ung thư biểu mô T4 [104]. Nói chung, sự liên kết chặt chẽ mức độ biểu lộ ALDH1A1 cao với ung thư dạ dày xâm lấn gợi ý rằng ALDH1A1 có thể là một mục tiêu khả thi cho điều trị ung thư.

Trong suốt những thập kỷ qua, các nghiên cứu tiên phong ủng hộ rằng hoạt động hoặc biểu lộ bất thường của ALDH có liên quan rõ ràng đến các bất thường về thần kinh, các bệnh chuyển hóa và đặc biệt là ở các khối u rắn. Ví dụ, ALDH thúc đẩy quá trình oxy hóa các thuốc chống ung thư, chẳng hạn như cyclophosphamide, thành các chất chuyển hóa ít độc hơn, gây ra hiện tượng kháng hóa trị. ALDH tham gia tổng hợp RA liên quan đến sự tăng sinh

tế bào ung thư và điều hòa hệ thống miễn dịch. Ngoài ra, ALDH đóng vai trò quan trọng trong việc tái phát khối u qua trung gian bào gốc ung thư và phổ biến di căn, cho thấy kết quả lâm sàng kém ở bệnh nhân. Tuy nhiên, cơ chế phân tử cũng có hoạt động hoặc biểu lộ ALDH bất thường trong quá trình biến đổi và tiến triển ác tính bị phân mảnh và hạn chế, điều này cần được nghiên cứu thêm. Việc khám phá các chức năng và cơ chế điều chỉnh chi tiết hơn của ALDH cũng sẽ thúc đẩy sự hiểu biết của chúng ta về các bệnh khác như PD và AD.

Một trong những vấn đề được nhiều nghiên cứu hiện nay đặc biệt quan tâm là mối liên hệ giữa sự biểu lộ cao của ALDH với khả năng kháng các liệu pháp điều trị ung thư. Một số thuốc, hóa chất từ môi trường, những chất ức chế, gốc tự do và sản phẩm chuyển hóa có thể là nguyên nhân gây rối loạn chức năng của ALDH. Hoạt độ của ALDH trong kháng thuốc oxazaphosphorines được nghiên cứu nhiều nhất. Bằng chứng đầu tiên về vai trò của ALDH đối với sự kháng thuốc đã được tìm thấy trong trường hợp của các dòng tế bào ung thư bạch cầu. Nó đã chứng minh rằng, sự biểu lộ của ALDH ở mức cao làm tăng khả năng kháng lại cyclophosphamide. Ngoài ra, ức chế sự hoạt động của ALDH1 bởi DEAB đã dẫn đến tăng sự nhạy cảm của tế bào với 4 hydroperoxycyclophosphamide. Đối với UTDD, sự biểu lộ quá mức của ALDH đã được xác định là có khả năng liên quan đến kháng các thuốc điều trị ung thư hiện nay là 5-Fu và cisplatin.

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

Sau khi phân tích số liệu của nghiên cứu này, u ở hang vị có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao nhất với 52,6%, tuy nhiên chúng tôi thấy chưa có mối liên hệ giữa sự biểu lộ KRAS với vị trí khối u trên hình ảnh nội soi,  $p > 0,05$ .

Kết quả này khác so với nghiên cứu của Ayatollahi, H. khi tác giả thấy rằng có một mối tương quan đáng kể giữa các codon và vị trí đột biến KRAS; 33% codon đột biến KRAS 12 và 66% codon 13 phát sinh từ đáy dạ dày ( $p=0,015$ ) [12]. Zhao và cộng sự, đã chỉ ra rằng tất cả 8 khối u dạ dày đột biến KRAS đều phát sinh từ hang vị dạ dày ( $p=0,002$ ), nhưng có 3 khối u từ thân dạ dày. Hầu hết các trường hợp đột biến KRAS được báo cáo bởi Zhao và cộng sự, là các khối u biệt hóa cao; 50% đột biến KRAS codon 12 và 13 là khối u T1 ( $p=0,011$ ,  $p=0,016$ ), nhưng các nghiên cứu khác không báo cáo mối tương quan đáng kể giữa đột biến KRAS và giai đoạn TNM. Trong nghiên cứu của Ayatollahi, H., tần suất đột biến KRAS cao nhất được quan sát thấy ở giai đoạn I (28,5%), kết quả này tương tự như nghiên cứu gần đây của Zhao (21%). Hầu như tất cả các đột biến KRAS trong nghiên cứu đều thuộc loại lan tỏa, trái ngược với các nghiên cứu khác. Một số tác giả đưa ra giả thuyết rằng đột biến KRAS có thể được phát hiện ở loại đường ruột và nó không phải là đặc điểm của ung thư biểu mô loại lan tỏa [12].

Trong nghiên cứu của chúng tôi: Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ biểu lộ KRAS ở các bệnh nhân thuộc các typ mô bệnh học khác nhau,  $p > 0,05$ . Bệnh nhân UTDD thể tuyến ống có tỷ lệ biểu lộ KRAS cao nhất với 63,2%. Tiếp theo là UTDD thể tế bào nhầy có tỷ lệ biểu lộ KRAS là 29,8%, bệnh nhân UTDD thể tuyến nhú có tỷ lệ biểu lộ thấp nhất với 1,7% (bảng 3.34). Mối quan hệ giữa sự biểu lộ KRAS và kiểu hình mô học chưa được nghiên cứu chi tiết và các nghiên cứu trước đây bị giới hạn bởi kích thước mẫu nhỏ và do đó thiếu khả năng thống kê. Trong nghiên cứu của Hewitt, L. C., tác giả đã xác định được mối quan hệ giữa sự biểu lộ KRAS và kiểu hình mô học nhầy, phù hợp với tần suất cao hơn của sự biểu lộ KRAS được báo cáo ở phổi nhầy, buồng trứng và ung thư đại trực tràng. Tuy nhiên, do tần suất tương đối thấp của UTDD với kiểu hình chất nhầy và sự biểu lộ

KRAS (12%), sẽ không khả thi nếu sử dụng sự hiện diện của kiểu hình chất nhầy làm yếu tố dự báo cho sự hiện diện của sự biểu lộ KRAS trong UTDD. Thành phần chính của UTDD chất nhầy là chất nhầy ngoại bào, bao gồm các glycoprotein có trọng lượng phân tử cao được điều hòa bởi sự biểu hiện của các gen MUC2, MUC5AC và MUC6 ở người. Trong các mô hình chuột có KRAS được kích hoạt cấu thành trong dạ dày, các tế bào MUC4+ không đều được tìm thấy với các chất nhầy bất thường được xác nhận bằng phương pháp nhuộm xanh Alcian. Nghiên cứu của Hewitt, L. C. cho thấy mối quan hệ giữa sự biểu lộ KRAS và kiểu hình chất nhầy, được đặc trưng bởi chất nhầy ngoại bào, nhưng không liên quan đến UTDD loại tế bào vòng đăng nhập, được đặc trưng bởi chất nhầy nội bào [41].

Trong khi đó chưa thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự biểu lộ KRAS theo mức độ biệt hóa,  $p > 0,05$  (bảng 3.35). 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), 3 (20%) nghiên cứu cho thấy tỷ lệ KRAS cao hơn ở các UTDD biệt hóa cao trong khi 9 (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 cao và thấp. 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 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 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. 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. Khi phức hợp RAS-GTP đề kháng với sự thủy phân của GTPase làm cho hoạt động KRAS- GTP tăng lên không kiểm soát, 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 hình thành khối u.

Trong phân tích gộp của Lindsay C. Hewitt có 21 (33%) nghiên cứu đánh giá mối quan hệ giữa tình trạng đột biến KRAS và mức độ xâm lấn khối u trong ung thư dạ dày. Với cách xây dựng hệ thống đánh giá khác nhau, thiết kế nghiên cứu khác nhau đã được sử dụng trong các bài báo khác nhau và một số nghiên cứu đã so sánh các nhóm danh mục T với nhau làm cho việc giải thích kết quả trở nên khó khăn. Không có nghiên cứu nào trong số các nghiên cứu đã báo cáo mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa phân loại T/giai đoạn và tình trạng đột biến KRAS. Nhìn chung, các kết quả đều cho thấy có tỷ lệ đột biến KRAS cao hơn ở T cao hơn (T2-4) so với phân loại T thấp hơn.



Mili và cộng sự trong một nghiên cứu gần đây bằng hoá mô miễn dịch đã chỉ ra rằng KRAS biểu lộ phổ biến ở ung thư dạ dày với tỷ lệ là 68%. Mặt khác, sự biểu lộ của KRAS có mối liên hệ với sự biểu lộ của COX-2. Nghiên cứu này còn chỉ ra rằng sự biểu lộ hoá mô miễn dịch của KRAS có liên hệ chặt chẽ với khả năng xâm lấn và di căn của ung thư dạ dày.

Có mười một nghiên cứu đã điều tra mối quan hệ giữa tình trạng đột biến KRAS và sự hiện diện của hạch bạch huyết di căn với kết quả trái ngược nhau. Năm (45%) nghiên cứu nhận thấy rằng các trường hợp UTDD đột biến KRAS có xu hướng không có di căn hạch bạch huyết hoặc ít hơn có ý nghĩa thống kê về số bệnh nhân có di căn hạch bạch huyết. Trong khi các nghiên cứu khác báo cáo rằng đột biến KRAS thường xuyên hơn ở UTDD có hạch bạch huyết di căn hạch.

KRAS là một tác nhân hạ cuối của EGFR. Kích hoạt đột biến của KRAS được cho là kích thích đường dẫn tín hiệu RAS/RAF/MEK/độc lập với kích hoạt EGFR. Fu đã tìm thấy tỷ lệ đột biến KRAS nói chung là 4,1%; gần bằng với hầu hết các nghiên cứu trước đây ở Trung Quốc và Nhật Bản (4%-4,9% ở Nhật Bản và 4,5% ở Trung Quốc). Ở bệnh nhân và mô hình động vật, chức năng ác tính của đột biến KRAS G12V đã được xác định ở các khối u khác, chẳng hạn như ung thư đại trực tràng, ung thư phổi và ung thư tuyến tụy bằng nhiều kỹ thuật. Đối với ung thư dạ dày, Fu nhận thấy KRAS G12V là một dấu hiệu tiên lượng xấu, điều này chưa được báo cáo trước đây. Hơn nữa, nghiên cứu đoàn hệ của Fu là nghiên cứu lớn nhất trong các báo cáo liên quan, có thể phản ánh hiệu quả hơn hồ sơ phân tử của bệnh nhân UTDD phía Nam Trung Quốc. Ngoài ra, Fu nhận thấy các vị trí khối u không liên quan đến sự sống sót chung của bệnh nhân UTDD hoặc với các đột biến KRAS, BRAF và PIK3CA. KRAS là một dấu ấn sinh học quan trọng để dự đoán đáp ứng với liệu pháp chống EGFR trong ung thư đại trực tràng. Một số thử nghiệm giai đoạn III về việc bổ sung cetuximab hoặc panitumumab vào hóa trị liệu hệ thống đã báo cáo rằng trong ung thư

UTDD hoặc ung thư thực quản tiến triển, các kháng thể kháng EGFR rất ít có giá trị. Do đó, cần có thêm bằng chứng để làm sáng tỏ giá trị tiên đoán đột biến KRAS đối với UTDD [32].

Mối quan tâm ngày càng tăng về các liên kết phân tử và di truyền với dữ liệu bệnh học lâm sàng có thể sẽ cải thiện kết quả điều trị của bệnh nhân UTDD. Polom đã trình bày nghiên cứu của mình về đột biến KRAS ở bệnh nhân UTDD, cho thấy mối liên hệ quan trọng với trạng thái không ổn định của các liên kết phân tử trên thực nghiệm. Từ bài báo của Polom, tác giả có thể kết luận một vài điểm chính. Đầu tiên là các đột biến KRAS trong UTDD phối hợp với trạng thái liên kết phân tử không ổn định trên thực nghiệm trong phần lớn các trường hợp. Bệnh nhân nữ giới, lớn tuổi, bị đột biến KRAS với trạng thái liên kết phân tử ổn định có khả năng sống sót tốt hơn so với bệnh nhân KRAS có trạng thái liên kết không ổn định trên kính hiển vi, vì vậy đây là một yếu tố tích cực cho sự sống sót của bệnh nhân UTDD. Đột biến KRAS với trạng thái liên kết không ổn định có tiên lượng rất xấu, kết quả điều trị thấp hơn so với các bệnh nhân UTDD khác. Dựa trên nghiên cứu của Polom, không nên mô tả các đột biến KRAS dựa trên các kiểu đột biến codon khác nhau, mà dựa trên trạng thái không ổn định về mặt liên kết. Mặc dù, tình trạng đột biến KRAS không phải là dấu ấn sinh học tiên lượng hoặc dự đoán trong UTDD, nhưng phân tích cụ thể theo phân nhóm thực sự có thể xác định các phân nhóm bệnh nhân có liên quan về mặt lâm sàng mà cuối cùng có thể ảnh hưởng đến quyết định điều trị. Cần phân tích sâu hơn về một nhóm bệnh nhân lớn hơn để đánh giá kết quả của những phát hiện này [84].

Nhắm đích KRAS là một chiến lược hấp dẫn vì tỷ lệ đột biến KRAS cao và tầm quan trọng của nó trong việc bắt đầu và duy trì sự phát triển của khối u. Vì những đặc điểm riêng của nó, việc nhắm mục tiêu trực tiếp vào KRAS từng được cho là không thể. Với việc tích cực nghiên cứu, đã có một số hiểu biết mới để hiểu rõ hơn về các đột biến KRAS, thúc đẩy sự phát triển của các loại thuốc

nhắm vào KRAS. Đã đạt được tiến bộ trong việc nhắm đích KRAS, đặc biệt là nhắm đích KRAS (G12C). Các kỹ thuật mới, chẳng hạn như sàng lọc mảnh dựa trên NMR, chia sẻ kết nối, và trong thiết kế thuốc silico, đã được sử dụng để khám phá các tác nhân mới liên kết trực tiếp với KRAS, mặc dù còn một chặng đường dài để đạt được KRAS mục tiêu. Các cách tiếp cận độc đáo của peptide và protein cũng đầy hứa hẹn nhưng phải đối mặt với nhiều thách thức. Một lớp phân tử nhỏ đặc hiệu cộng hóa trị liên kết KRAS (G12C), chẳng hạn như AMG510 và MRTX849, đã được xác định và cho thấy kết quả đầy hứa hẹn trong các thử nghiệm lâm sàng.

Tuy nhiên, cũng có một số vấn đề cần giải quyết cho sự phát triển tiếp theo của nó, bao gồm đánh giá độ an toàn lâm sàng trong một nghiên cứu đoàn hệ lớn hơn, tối ưu hóa hiệu quả lâm sàng và khắc phục tình trạng kháng thuốc. Phản ứng với thuốc ức chế KRAS (G12C) ở bệnh nhân rất đa dạng, cho thấy sự tồn tại của kháng thuốc nội tại. Trong khi đó, thách thức chung đối với các loại thuốc nhắm đích là sự xuất hiện của tình trạng kháng thuốc mắc phải. Cần những nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ toàn diện các cơ chế kháng thuốc mắc phải để có được các lựa chọn điều trị tối ưu [45].

#### ***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 có sự khác biệt về sự biểu lộ đồng thời cả 2 dấu ấn ở các bệnh nhân có độ biệt hóa thấp và vừa là cao nhất (34,0%) cao hơn so với các độ biệt hóa khác;  $p < 0,05$  (Bảng 3.42).

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 yếu tố độ biệt hóa theo WHO, 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.

Tuy nhiên, ở nghiên cứu này còn một vài hạn chế là: Thứ nhất, không theo dõi được thời gian sống toàn bộ và sự tiến triển của bệnh nên không phân tích được mối liên quan của các dấu ấn ALDH, KRAS với kết quả điều trị; thứ hai không thiết kế được nhóm chứng để đối sánh kết quả nghiên cứu; thứ ba, chưa phân tích được mối liên quan của các dấu ấn ALDH, KRAS với sự xuất hiện của vi khuẩn *H. Pylori* và một số dấu ấn miễn dịch phổ biến hiện nay: CEA, CA72-4, CA19-9...

## 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 ( $p < 0,05$ ).



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Nguyễn Quang Bộ (2017), *Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư dạ dày 1/3 dưới bằng phẫu thuật triệt căn có kết hợp hóa chất*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Dược Huế, tr. 55.
2. Phan Văn Cường (2018), *Nghiên cứu tỷ suất mới mắc ung thư dạ dày trong cộng đồng dân cư Hà Nội giai đoạn 2009-2013*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội, tr. 58.
3. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2020), *Nghiên cứu Đa hình thái đơn gen MUC1 và PSCA trên bệnh nhân ung thư dạ dày*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội, tr. 49.
4. Võ Duy Long (2017), *Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi điều trị ung thư dạ dày theo giai đoạn I, II, III*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, tr. 53.
5. Hoàng Văn Minh, Lưu Ngọc Hoạt (2020), *Phương pháp chọn mẫu và tính toán cỡ mẫu trong nghiên cứu khoa học sức khỏe*, Nhà xuất bản Đại học Y tế công cộng, Hà Nội, tr. 26.
6. Phạm Văn Nam (2019), *Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật nội soi cắt dạ dày, vét hạch D<sub>2</sub>, D<sub>2</sub> mở rộng điều trị ung thư biểu mô dạ dày*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội, tr. 66.
7. Nguyễn Khắc Tấn (2023), *Nghiên cứu sự biểu lộ và mối liên quan của các dấu ấn miễn dịch tế bào gốc ung thư, Her2 trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên, tr. 63.
8. Đặng Văn Thời (2017), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, thương tổn và đánh giá kết quả lâu dài phẫu thuật triệt căn ung thư phần trên dạ dày* Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Dược Huế, tr. 64.



9. Hồ Chí Thanh, Trương Đức Tuần, Lại Bá Thành (2020), "Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ung thư dạ dày 1/3 dưới ở người cao tuổi tại bệnh viện Quân Y 103", *Tạp chí Y-Dược học quân sự*, 5, tr. 56-61.

### **Tiếng Anh**

10. Althobiti M., El Ansari R., Aleskandarany M., et al (2020), "The prognostic significance of ALDH1A1 expression in early invasive breast cancer", *Histopathology*, 77(3), pp. 437-448.
11. Aran V., Omerovic J. (2019), "Current Approaches in NSCLC Targeting K-RAS and EGFR", *Int J Mol Sci*, 20(22), pp. 5701.
12. Ayatollahi H., Tavassoli A., Jafarian A. H., et al (2018), "KRAS Codon 12 and 13 Mutations in Gastric Cancer in the Northeast Iran", *Iran J Pathol*, 13(2), pp. 167-172.
13. Balbo S., Brooks P. J. (2015), "Implications of acetaldehyde-derived DNA adducts for understanding alcohol-related carcinogenesis", *Adv Exp Med Biol*, 815, pp. 71-88.
14. Bender G., Fahrioglu Yamaci R., Taneri B. (2021), "CRISPR and KRAS: a match yet to be made", *J Biomed Sci*, 28(1), pp. 77.
15. Bermúdez A., Arranz-Salas I., Mercado-saenz S., et al (2021), "Her2-Positive and Microsatellite Instability Status in Gastric Cancer—Clinicopathological Implications", *Diagnostics*, 11, pp. 944.
16. Blaj C., Schmidt E. M., Lamprecht S., et al (2017), "Oncogenic Effects of High MAPK Activity in Colorectal Cancer Mark Progenitor Cells and Persist Irrespective of RAS Mutations", *Cancer Res*, 77(7), pp. 1763-1774.
17. Borggreve A. S., Goense L., Brenkman H. J. F., et al (2019), "Imaging strategies in the management of gastric cancer: current role and future potential of MRI", *Br J Radiol*, 92(1097), pp. 20181044.

18. Bosman F. T. (2010), *WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Tumours of the digestive system*, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, pp. 60.
19. Brungs D., Lochhead A., Iyer A., et al (2019), "Expression of cancer stem cell markers is prognostic in metastatic gastroesophageal adenocarcinoma", *Pathology*, 51(5), pp. 474-480.
20. Calderaro J., Nault J. C., Bioulac-Sage P., et al (2014), "ALDH3A1 is overexpressed in a subset of hepatocellular carcinoma characterised by activation of the Wnt/ss-catenin pathway", *Virchows Arch*, 464(1), pp. 53-60.
21. Cavaleiro-Pinto M., Peleteiro B., Lunet N., et al (2011), "Helicobacter pylori infection and gastric cardia cancer: systematic review and meta-analysis", *Cancer Causes Control*, 22(3), pp. 375-387.
22. Cavatorta O., Scida S., Miraglia C., et al (2018), "Epidemiology of gastric cancer and risk factors", *Acta Biomed*, 89(8-S), pp. 82-87.
23. Chen Y. C., Fang W. L., Wang R. F., et al (2016), "Clinicopathological Variation of Lauren Classification in Gastric Cancer", *Pathol Oncol Res*, 22(1), pp. 197-202.
24. Chiang T. H., Chang W. J., Chen S. L., et al (2021), "Mass eradication of Helicobacter pylori to reduce gastric cancer incidence and mortality: a long-term cohort study on Matsu Islands", *Gut*, 70(2), pp. 243-250.
25. Choi S., Park S., Kim H., et al (2022), "Gastric Cancer: Mechanisms, Biomarkers, and Therapeutic Approaches", *Biomedicines*, 10(3), pp. 543.
26. Croker A. K., Allan A. L. (2012), "Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation

- resistance of stem-like ALDHhiCD44(+) human breast cancer cells", *Breast Cancer Res Treat*, 133(1), pp. 75-87.
27. Ebrahimi V., Soleimanian A., Ebrahimi T., et al (2020), "Epigenetic modifications in gastric cancer: Focus on DNA methylation", *Gene*, 742, pp. 144577.
  28. Edenberg H. J. (2007), "The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants", *Alcohol Res Health*, 30(1), pp. 5-13.
  29. Ferro A., Morais S., Rota M., et al (2018), "Tobacco smoking and gastric cancer: meta-analyses of published data versus pooled analyses of individual participant data (StoP Project)", *Eur J Cancer Prev*, 27(3), pp. 197-204.
  30. Ferro A., Morais S., Rota M., et al (2018), "Alcohol intake and gastric cancer: Meta-analyses of published data versus individual participant data pooled analyses (StoP Project)", *Cancer Epidemiol*, 54, pp. 125-132.
  31. Findlay J. M., Antonowicz S., Segaran A., et al (2019), "Routinely staging gastric cancer with (18)F-FDG PET-CT detects additional metastases and predicts early recurrence and death after surgery", *Eur Radiol*, 29(5), pp. 2490-2498.
  32. Fu X. H., Chen Z. T., Wang W. H., et al (2019), "KRAS G12V Mutation is an Adverse Prognostic Factor of Chinese Gastric Cancer Patients", *J Cancer*, 10(4), pp. 821-828.
  33. Fujiyoshi M., Inoue H., Fujiyoshi Y., et al (2021), "Endoscopic Classifications of Early Gastric Cancer: A Literature Review", *Cancers (Basel)*, 14(1), pp. 100.

34. García-Alfonso P., Pérez-Solero G., Alsar J., et al (2021), "Biomarkers in early colorectal, esophageal, and gastric cancer", *Clinical Case Reports and Reviews*, 7, pp. 1-7.
35. Giandola T., Maino C., Marrapodi G., et al (2023), "Imaging in Gastric Cancer: Current Practice and Future Perspectives", *Diagnostics (Basel)*, 13(7), pp. 1276.
36. Gkoutakos A., Centonze G., Vita E., et al (2022), "Identification of Targetable Liabilities in the Dynamic Metabolic Profile of EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma: Thinking beyond Genomics for Overcoming EGFR TKI Resistance", *Biomedicines*, 10(2), pp. 277-288.
37. Guo T., Wu Y., Huang D., et al (2021), "Prognostic Value of KRAS Exon 3 and Exon 4 Mutations in Colorectal Cancer Patients", *J Cancer*, 12(17), pp. 5331-5337.
38. Han C., Xu T., Zhang Q., et al (2021), "The New American Joint Committee on Cancer T staging system for stomach: increased complexity without clear improvement in predictive accuracy for endoscopic ultrasound", *BMC Gastroenterol*, 21(1), pp. 255.
39. Harpaz T., Abumock H., Beery E., et al (2018), "The Effect of Ethanol on Telomere Dynamics and Regulation in Human Cells", *Cells*, 7(10), pp. 169-188.
40. Hashimoto Y., Hamaguchi M., Obora A., et al (2020), "Impact of metabolically healthy obesity on the risk of incident gastric cancer: a population-based cohort study", *BMC Endocr Disord*, 20(1), pp. 11.
41. Hewitt L. C., Saito Y., Wang T., et al (2019), "KRAS status is related to histological phenotype in gastric cancer: results from a large multicentre study", *Gastric Cancer*, 22(6), pp. 1193-1203.

42. Hewitt Lindsay C., Hutchins Gordon G., Melotte Veerle, et al (2015), "KRAS, BRAF and gastric cancer", *Translational Gastrointestinal Cancer*, 4(6), pp. 429-447.
43. Hong X., Liu F. (2022), "Editorial: Molecular Biomarkers for Gastric Cancer", *Front Oncol*, 12, pp. 850373.
44. Hsu S. M., Raine L., Fanger H. (1981), "The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics", *Am J Clin Pathol*, 75(6), pp. 816-821.
45. Huang L., Guo Z., Wang F., et al (2021), "KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer", *Signal Transduct Target Ther*, 6(1), pp. 386.
46. Ilic M., Ilic I. (2022), "Epidemiology of stomach cancer", *World J Gastroenterol*, 28(12), pp. 1187-1203.
47. Jabini R., Eghbali S. A., Ayatollahi H., et al (2019), "Analysis of KRAS gene mutation associated with Helicobacter pylori infection in patients with gastric cancer", *Iran J Basic Med Sci*, 22(5), pp. 529-533.
48. Jancik S., Drabek J., Radzioch D., et al (2010), "Clinical relevance of KRAS in human cancers", *J Biomed Biotechnol*, 2010, pp. 150960.
49. Janjigian Y., Shamseddine A., Tawil A., et al (2012), "A Case of Advanced Gastric Cancer", *Gastrointestinal cancer research : GCR*, 5, pp. 59-63.
50. Japanese Gastric Cancer Association (2011), "Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition", *Gastric Cancer*, 14(2), pp. 101-112.
51. Jeon J., Cheong J. H. (2019), "Clinical Implementation of Precision Medicine in Gastric Cancer", *J Gastric Cancer*, 19(3), pp. 235-253.

52. Jeyabaskaran A., Bose A., Subashree K. (2022), "An Overview of Gastric Cancer: Classification, Risk Factors, Symptoms and Treatment", *Eur Exp Bio*, pp. 12:83.
53. Jiang T., Mei L., Yang X., et al (2022), "Biomarkers of gastric cancer: current advancement", *Heliyon*, 8(10), pp. e10899.
54. John D. P., Christopher J. Dean (1998), *Immunochemical Protocol, Second edition*, Humana Press, pp. 23-37.
55. Kuroki K., Oka S., Tanaka S., et al (2021), "Clinical significance of endoscopic ultrasonography in diagnosing invasion depth of early gastric cancer prior to endoscopic submucosal dissection", *Gastric Cancer*, 24(1), pp. 145-155.
56. Kwan A. K., Piazza G. A., Keeton A. B., et al (2022), "The path to the clinic: a comprehensive review on direct KRAS(G12C) inhibitors", *J Exp Clin Cancer Res*, 41(1), pp. 27.
57. Lahmidani N., El Yousf M., Aqodad N., et al (2018), "Update on Gastric Cancer Epidemiology and Risk Factors", *Journal of Cancer Therapy*, 9, pp. 242-254.
58. Lee D. H., Lee S. Y., Oh S. C. (2017), "Hedgehog signaling pathway as a potential target in the treatment of advanced gastric cancer", *Tumour Biol*, 39(6), pp. 1010428317692266.
59. Lee J. S., Kim S. H., Lee S., et al (2019), "Gastric cancer depends on aldehyde dehydrogenase 3A1 for fatty acid oxidation", *Sci Rep*, 9(1), pp. 16313.
60. Li M., Liu W., Zhu Y. F., et al (2006), "Correlation of COX-2 and K-ras expression to clinical outcome in gastric cancer", *Acta Oncol*, 45(8), pp. 1115-1119.

61. Li R., Li J., Wang X., et al (2018), "Detection of gastric cancer and its histological type based on iodine concentration in spectral CT", *Cancer Imaging*, 18(1), pp. 42.
62. Li X., Ai S., Lu X., et al (2021), "Nanotechnology-based strategies for gastric cancer imaging and treatment", *RSC Adv*, 11(56), pp. 35392-35407.
63. Li X. S., Xu Q., Fu X. Y., et al (2014), "ALDH1A1 overexpression is associated with the progression and prognosis in gastric cancer", *BMC Cancer*, 14, pp. 705.
64. Liu Q., Yu S., Zhao W., et al (2018), "EGFR-TKIs resistance via EGFR-independent signaling pathways", *Mol Cancer*, 17(1), pp. 53.
65. Liu W. T., Liu W. B., Gao M., et al (2019), "Expression of ALDH1A1 and CD133 is associated with the prognosis and effect of different chemotherapeutic regimens in gastric cancer", *Oncol Lett*, 18(5), pp. 4573-4582.
66. Ma J., Shen H., Kapesa L., et al (2016), "Lauren classification and individualized chemotherapy in gastric cancer", *Oncol Lett*, 11(5), pp. 2959-2964.
67. Maejima R., Iijima K., Kaihovaara P., et al (2015), "Effects of ALDH2 genotype, PPI treatment and L-cysteine on carcinogenic acetaldehyde in gastric juice and saliva after intragastric alcohol administration", *PLoS One*, 10(4), pp. e0120397.
68. Marselos M., Michalopoulos G. (1987), "Changes in the pattern of aldehyde dehydrogenase activity in primary and metastatic adenocarcinomas of the human colon", *Cancer Lett*, 34(1), pp. 27-37.

69. Matsuoka T., Yashiro M. (2018), "Biomarkers of gastric cancer: Current topics and future perspective", *World J Gastroenterol*, 24(26), pp. 2818-2832.
70. Mazzei M. A., Bagnacci G., Gentili F., et al (2022), "Structured and shared CT radiological report of gastric cancer: a consensus proposal by the Italian Research Group for Gastric Cancer (GIRCG) and the Italian Society of Medical and Interventional Radiology (SIRM)", *Eur Radiol*, 32(2), pp. 938-949.
71. Miyaoka M., Yao K., Tanabe H., et al (2020), "Diagnosis of early gastric cancer using image enhanced endoscopy: a systematic approach", *Transl Gastroenterol Hepatol*, 5, pp. 50.
72. Mizumoto A., Ohashi S., Hirohashi K., et al (2017), "Molecular Mechanisms of Acetaldehyde-Mediated Carcinogenesis in Squamous Epithelium", *Int J Mol Sci*, 18(9), pp. 1943.
73. Moreb J. S., Ucar D., Han S., et al (2012), "The enzymatic activity of human aldehyde dehydrogenases 1A2 and 2 (ALDH1A2 and ALDH2) is detected by Aldefluor, inhibited by diethylaminobenzaldehyde and has significant effects on cell proliferation and drug resistance", *Chem Biol Interact*, 195(1), pp. 52-60.
74. Moreb J., Schweder M., Suresh A., et al (1996), "Overexpression of the human aldehyde dehydrogenase class I results in increased resistance to 4-hydroperoxycyclophosphamide", *Cancer Gene Ther*, 3(1), pp. 24-30.
75. Murugan A. K., Grieco M., Tsuchida N. (2019), "RAS mutations in human cancers: Roles in precision medicine", *Semin Cancer Biol*, 59, pp. 23-35.



76. Mytar B., Stec M., Szatanek R., et al (2018), "Characterization of human gastric adenocarcinoma cell lines established from peritoneal ascites", *Oncol Lett*, 15(4), pp. 4849-4858.
77. Necula L., Matei L., Dragu D., et al (2019), "Recent advances in gastric cancer early diagnosis", *World J Gastroenterol*, 25(17), pp. 2029-2044.
78. Nguyen Phu Hung (2015), *Characterization and targeting of cancer stem cells in gastric adenocarcinoma*, Université de Bordeaux, pp. 11.
79. Nguyen T. P., Luu H. N., Nguyen M. V. T., et al (2020), "Attributable Causes of Cancer in Vietnam", *JCO Glob Oncol*, 6, pp. 195-204.
80. Nishikawa S., Konno M., Hamabe A., et al (2013), "Aldehyde dehydrogenase high gastric cancer stem cells are resistant to chemotherapy", *Int J Oncol*, 42(4), pp. 1437-1442.
81. Okada M., Shibuya K., Sato A., et al (2014), "Targeting the K-Ras--JNK axis eliminates cancer stem-like cells and prevents pancreatic tumor formation", *Oncotarget*, 5(13), pp. 5100-5112.
82. Parra-Lara L. G., Mendoza-Urbano D. M., Bravo J. C., et al (2020), "Coffee Consumption and Its Inverse Relationship with Gastric Cancer: An Ecological Study", *Nutrients*, 12(10), pp. 3028-3036.
83. Paun I., Plesea I., Glavici A., et al (2015), "Comparative study of clinical-morphological profiles of different types of gastric carcinoma", *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*, 56, pp. 1345-1356.
84. Polom K., Das K., Marrelli D., et al (2019), "KRAS Mutation in Gastric Cancer and Prognostication Associated with Microsatellite Instability Status", *Pathol Oncol Res*, 25(1), pp. 333-340.

85. Rehkaemper J., Korenkov M., Quaas A., et al (2020), "Amplification of KRAS and its heterogeneity in non-Asian gastric adenocarcinomas", *BMC Cancer*, 20(1), pp. 587.
86. Richa S., Sageena G. (2022), "Dietary factors associated with gastric cancer - a review", *Translational Medicine Communications*, 7(1), pp. 7.
87. Rossi G., Petrone M. C., Healey A. J., et al (2023), "Gastric cancer in 2022: Is there still a role for endoscopic ultrasound?", *World J Gastrointest Endosc*, 15(1), pp. 1-9.
88. Sah B. R., Owczarczyk K., Siddique M., et al (2019), "Radiomics in esophageal and gastric cancer", *Abdom Radiol (NY)*, 44(6), pp. 2048-2058.
89. Salaspuro M. (2011), "Acetaldehyde and gastric cancer", *J Dig Dis*, 12(2), pp. 51-59.
90. Santiago J. M., Sasako M., Osorio J. (2011), "[TNM-7th edition 2009 (UICC/AJCC) and Japanese Classification 2010 in Gastric Cancer. Towards simplicity and standardisation in the management of gastric cancer]", *Cir Esp*, 89(5), pp. 275-281.
91. Scheffzek K., Shivalingaiah G. (2019), "Ras-Specific GTPase-Activating Proteins-Structures, Mechanisms, and Interactions", *Cold Spring Harb Perspect Med*, 9(3), pp. a031500.
92. Senel F., Kokenek Unal T. D., Karaman H., et al (2017), "Prognostic Value of Cancer Stem Cell Markers CD44 and ALDH1/2 in Gastric Cancer Cases", *Asian Pac J Cancer Prev*, 18(9), pp. 2527-2531.
93. Simanshu D. K., Nissley D. V., McCormick F. (2017), "RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease", *Cell*, 170(1), pp. 17-33.

94. Singh S., Bhat M. Y., Sathe G., et al (2021), "Proteomic Signatures of Diffuse and Intestinal Subtypes of Gastric Cancer", *Cancers (Basel)*, 13(23), pp. 5930.
95. Slavin T. P., Weitzel J. N., Neuhausen S. L., et al (2019), "Genetics of gastric cancer: what do we know about the genetic risks?", *Transl Gastroenterol Hepatol*, 4, pp. 55.
96. Smyth E. C., Verheij M., Allum W., et al (2016), "Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up", *Ann Oncol*, 27(suppl 5), pp. v38-v49.
97. Society of Gastric Cancer of China Anti-Cancer Association (2022), "CACA guidelines for holistic integrative management of gastric cancer", *Holistic Integrative Oncology*, 1(1), pp. 3.
98. Sun L., Huang C., Zhu M., et al (2020), "Gastric cancer mesenchymal stem cells regulate PD-L1-CTCF enhancing cancer stem cell-like properties and tumorigenesis", *Theranostics*, 10(26), pp. 11950-11962.
99. Tahtamouni L. (2010), *GENE EXPRESSION: A Laboratory Manual*, Department of Biology and Biotechnology; Faculty of Sciences; The Hashemite University, pp. 6.
100. Tanaka M., Hoteya S., Kikuchi D., et al (2022), "Effect of Helicobacter pylori infection on malignancy of undifferentiated-type gastric cancer", *BMC Gastroenterol*, 22(1), pp. 7.
101. Tomita H., Tanaka K., Tanaka T., et al (2016), "Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer", *Oncotarget*, 7(10), pp. 11018-11032.
102. Ucar E., Semerci E., Ustun H., et al (2008), "Prognostic value of preoperative CEA, CA 19-9, CA 72-4, and AFP levels in gastric cancer", *Adv Ther*, 25(10), pp. 1075-1084.

103. Vassalli G. (2019), "Aldehyde Dehydrogenases: Not Just Markers, but Functional Regulators of Stem Cells", *Stem Cells Int*, 2019, pp. 3904645.
104. Wakamatsu Y., Sakamoto N., Oo H. Z., et al (2012), "Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer", *Pathol Int*, 62(2), pp. 112-119.
105. Wanebo H. J., Kennedy B. J., Chmiel J., et al (1993), "Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons", *Ann Surg*, 218(5), pp. 583-592.
106. Wang L., Saeedi B. J., Mahdi Z., et al (2023), "Analysis of KRAS Mutations in Gastrointestinal Tract Adenocarcinomas Reveals Site-Specific Mutational Signatures", *Mod Pathol*, 36(2), pp. 100014.
107. Wang L., Wang L., Yu Y., et al (2022), "Aldehyde Dehydrogenase 1 in Gastric Cancer", *J Oncol*, 2022, pp. 5734549.
108. Wang S., Dong D., Zhang W., et al (2021), "Specific Borrmann classification in advanced gastric cancer by an ensemble multilayer perceptron network: a multicenter research", *Med Phys*, 48(9), pp. 5017-5028.
109. Wilchek M., Bayer E. A. (1984), "The avidin-biotin complex in immunology", *Immunol Today*, 5(2), pp. 39-43.
110. Won M., Kim J. H., Ji M. S., et al (2021), "ROS activated prodrug for ALDH overexpressed cancer stem cells", *Chem Commun (Camb)*, 58(1), pp. 72-75.
111. Xia J., Li S., Liu S., et al (2023), "Aldehyde dehydrogenase in solid tumors and other diseases: Potential biomarkers and therapeutic targets", *MedComm (2020)*, 4(1), pp. e195.

112. Xiao L., Xin J. (2022), "Advances in Clinical Oncology Research on (99m)Tc-3PRGD2 SPECT Imaging", *Front Oncol*, 12, pp. 898764.
113. Xue L., Yang J., Su Q., et al (2010), "Synchronous Gastric Carcinoma and Nodal Malignant Lymphoma: A Rare Case Report and Literature Review", *Case reports in oncology*, 3, pp. 223-230.
114. Yang L., Xu J. F., Kang Q., et al (2017), "Predictive Value of Stemness Factor Sox2 in Gastric Cancer Is Associated with Tumor Location and Stage", *PLoS One*, 12(1), pp. e0169124.
115. Yang Q., Huo S., Sui Y., et al (2018), "Mutation Status and Immunohistochemical Correlation of KRAS, NRAS, and BRAF in 260 Chinese Colorectal and Gastric Cancers", *Front Oncol*, 8, pp. 487.
116. Yao K. (2022), "Magnifying endoscopy for the diagnosis of early gastric cancer: Establishment of technique, diagnostic system, and scientific evidence from Japan", *Dig Endosc*, 34 Suppl 2, pp. 50-54.
117. Yao K., Uedo N., Kamada T., et al (2020), "Guidelines for endoscopic diagnosis of early gastric cancer", *Dig Endosc*, 32(5), pp. 663-698.
118. Ye Y., Zhang S., Chen Y., et al (2018), "High ALDH1A1 expression indicates a poor prognosis in gastric neuroendocrine carcinoma", *Pathol Res Pract*, 214(2), pp. 268-272.
119. Yoon C., Till J., Cho S. J., et al (2019), "KRAS Activation in Gastric Adenocarcinoma Stimulates Epithelial-to-Mesenchymal Transition to Cancer Stem-Like Cells and Promotes Metastasis", *Mol Cancer Res*, 17(9), pp. 1945-1957.
120. Young J. J., Pahwa A., Patel M., et al (2019), "Ligaments and Lymphatic Pathways in Gastric Adenocarcinoma", *Radiographics*, 39(3), pp. 668-689.

121. Yu H., Xu N., Li Z. K., et al (2020), "Association of ABO Blood Groups and Risk of Gastric Cancer", *Scand J Surg*, 109(4), pp. 309-313.
122. Yu X., Yang Y., Li J. (2020), "Application of ultrasound in the diagnosis of gastrointestinal tumors", *European Journal of Inflammation*, 18, pp. 2058739220961194.
123. Zanoni M., Bravaccini S., Fabbri F., et al (2022), "Emerging Roles of Aldehyde Dehydrogenase Isoforms in Anti-cancer Therapy Resistance", *Front Med (Lausanne)*, 9, pp. 795762.
124. Zhang Y., Li D., Dai Y., et al (2019), "The Role of E-cadherin in Helicobacter pylori-Related Gastric Diseases", *Curr Drug Metab*, 20(1), pp. 23-28.
125. Zhang Y., Yu J. (2020), "The role of MRI in the diagnosis and treatment of gastric cancer", *Diagn Interv Radiol*, 26(3), pp. 176-182.
126. Zhao H., Han J., Lv F., et al (2013), "<sup>99m</sup>Tc-MDP uptake in implantation metastasis of gastric cancer: the additional value of SPECT/CT", *Clin Nucl Med*, 38(10), pp. 838-840.
127. Zhou B., Zhou Z., Chen Y., et al (2020), "Plasma proteomics-based identification of novel biomarkers in early gastric cancer", *Clin Biochem*, 76, pp. 5-10.
128. Zhou H. M., Zhang J. G., Zhang X., et al (2021), "Targeting cancer stem cells for reversing therapy resistance: mechanism, signaling, and prospective agents", *Signal Transduct Target Ther*, 6(1), pp. 62.
129. Zhu Z., Sun X., Wang J., et al (2014), "Histopathology-based prognostic score is independent prognostic factor of gastric carcinoma", *BMC cancer*, 14, pp. 663.

PHỤ LỤC 1  
**PHIẾU NGHIÊN CỨU**

Số nghiên cứu: ..... Mã số BA, Phiếu khám bệnh: .....

**A. HÀNH CHÍNH**

A1. Họ và tên BN: .....A2.Năm sinh: .....

A3. Giới: 1.Nam; 2.Nữ

A4. Địa chỉ: .....

A5. Điện thoại:.....

A6. Ngày vào viện:..... A7.Ngày ra viện:.....

A8. Ngày phẫu thuật: .....

A9. Nơi phẫu thuật: .....

**B. LÝ DO VÀO VIỆN**

B1. Đau thượng vị 0.Không 1.Có B2. Xuất huyết tiêu hóa 0.Không 1.Có

B3. Sút cân 0.Không 1.Có B4. Nóng rát thượng vị 0.Không 1.Có

B5. Ợ hơi, ợ chua 0.Không 1.Có B6. Buồn nôn, nôn 0.Không 1.Có

B7. Khó nuốt 0.Không 1.Có B8. Triệu chứng khác 0.Không 1.Có

**C. TIỀN SỬ**

**1. BẢN THÂN**

C1.1. Đau thượng vị 0. Không 1.Có

C1.2. Viêm dạ dày 0. Không 1.Có

C1.3. Loét dạ dày 0. Không 1.Có

C1.4. Phẫu thuật cắt dạ dày 0. Không 1.Có

**2. THÓI QUEN SINH HOẠT**

C2.1. Hút thuốc 0. Không 1.Có

C2.2. Uống rượu 0. Không 1.Có

C2.3. Tiếp xúc kim loại nặng 0. Không 1.Có

## **D. TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG**

D1. Đau thượng vị	0.Không 1.Có	D2. Sút cân	0.Không 1.Có
D3. Chán ăn	0.Không 1.Có	D4. Buồn nôn, nôn	0.Không 1.Có
D5. Nôn máu	0.Không 1.Có	D6. Khó nuốt	0.Không 1.Có
D7. Thiếu máu	0.Không 1.Có	D8. Mệt mỏi	0.Không 1.Có

## **E. NỘI SOI DẠ DÀY**

E1. Vị trí u:	1.Tâm vị	2.Phình vị	
	3.Thân vị	4.Bờ cong lớn	
	5.Bờ cong nhỏ	6.Hang vị	7. Môn vị

E2. Hình thái u theo Borrmann:

1.Dạng polyp	2.Dạng nấm
3.Dạng loét	4.Dạng thâm nhiễm

## **F. MÔ BỆNH HỌC**

F1. Mô bệnh học theo Lauren:

1.Thể ruột (Intestinal)	2.Thể lan tỏa (Diffuse)	3.Thể hỗn hợp
-------------------------	-------------------------	---------------

F2. Mô bệnh học theo WHO:

1.Thể tuyến nhú (Papillary)	2.Thể tuyến ống (Tubular)
3.Thể tuyến nhày (Mucinous)	4.Thể tế bào nhẫn(Signet-ring cell)
5.Thể tuyến vảy (Adenosquamous)	6.Thể tế bào vảy (Squamous cell)
7.Thể tế bào nhỏ (Small cell)	8.Thể không biệt hóa (Undifferentiated)
9.Thể khác	

F3. Độ biệt hóa theo WHO:

1.Biệt hóa thấp (Poorly)	2.Biệt hóa vừa (Moderately)
3.Biệt hóa cao (Well)	



<b>Giai đoạn</b>	<b>Mô tả</b>
<b>F4.1.T</b>	<b>Khối u</b>
TX	Độ sâu khối u không rõ
T0	Không có bằng chứng khối u nguyên phát
Tis	Ung thư biểu mô tại chỗ, không có xâm lấn lớp mô đệm
T1	Khối u xâm lấn vào lớp niêm mạc hoặc dưới niêm mạc
T1a	Khối u giới hạn ở lớp niêm mạc
T1b	Khối u xâm lấn lớp dưới niêm mạc
T2	Khối u xâm lấn lớp cơ
T3	Khối u xâm lấn lớp dưới thanh mạc
T4	Khối u xâm lấn lớp thanh mạc hoặc tới cấu trúc lân cận
T4a	Khối u xâm lấn lớp thanh mạc
T4b	Khối u xâm lấn vào cấu trúc kế cận
<b>F4.2.N</b>	<b>Hạch bạch huyết vùng</b>
NX	Không thể đánh giá được hạch bạch huyết vùng
N0	Không có di căn hạch bạch huyết vùng
N1	Di căn 1-2 hạch bạch huyết vùng
N2	Di căn 3-6 hạch bạch huyết vùng
N3	Di căn $\geq 7$ hạch bạch huyết vùng
N3a	Di căn từ 7 – 15 hạch bạch huyết vùng
N3b	Di căn $\geq 16$ hạch bạch huyết vùng
<b>F4.3.M</b>	<b>Di căn xa</b>
MX	Tình trạng di căn xa không rõ
M0	Không có di căn xa
M1	Di căn xa

<b>F4.4.Giai đoạn bệnh</b>	<b>Giai đoạn T</b>	<b>Giai đoạn N</b>	<b>Giai đoạn M</b>
0	Tis	N0	M0
I			
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
II			
IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
III			
IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
IIIB	T4b	N0-1	M0
	T4a	N2	M0
	T3a	N3	M0
IIIC	T4b	N2-3	M0
	T4a	N3	M0
IV	Bất kỳ T	Bất kỳ N	M1

**Nghiên cứu sinh**

**PHỤ LỤC 2**  
**PHIẾU NGHIÊN CỨU**  
**(KẾT QUẢ HÓA MÔ MIỄN DỊCH)**

Số nghiên cứu: ..... Mã số BA, Phiếu khám bệnh: .....

A1. Họ và tên BN: .....A2. Tuổi: .....

**A. HÓA MÔ MIỄN DỊCH**

G1. ALDH: 0.Mức độ 0;    1.Mức độ 1;    2.Mức độ 2;    3.Mức độ 3

G2. KRAS: 0.Mức độ 0;    1.Mức độ 1;    2.Mức độ 2;    3.Mức độ 3

G3. Biểu lộ ALDH:        0.Âm tính;        1.Dương tính

G4. Biểu lộ KRAS:        0.Âm tính;        1.Dương tính

**Nghiên cứu sinh**

### PHỤ LỤC 3

#### DANH SÁCH BỆNH NHÂN ĐƯỢC CHỌN VÀO NGHIÊN CỨU

Tên đề tài nghiên cứu: “Nghiên cứu sự biểu lộ và mối liên quan của các dấu ấn miễn dịch Aldehyde Dehydrogenase, KRAS ở bệnh nhân ung thư dạ dày”.

Người thực hiện:

Người hướng dẫn: PGS

Địa điểm:

Thời gian thực hiện:

STT	Họ và tên	Năm sinh	Mã điều trị	Địa chỉ
1	LÊ THIÊN Q	1973	K1.171078599	Quỳnh Hải - Quỳnh Phụ - Thái Bình
2	NGUYỄN C	1944	K1.18000652	P. Cẩm Phú - Tp. Cẩm Phả - Quảng Ninh
3	NGUYỄN BÁ N	1963	K1.18001283	TT. Việt Quang - Bắc Quang - Hà Giang
4	TRẦN G	1942	K1.18001259	Tân Quang - Tp. Tuyên Quang - Tuyên Quang
5	TRẦN THỊ M	1959	K1.18002525	Hải Yên - Tĩnh Gia - Thanh Hóa
6	NGUYỄN THỊ T	1963	K1.18002736	Xuân Sơn - Đông Triều - Quảng Ninh
7	LÊ THỊ N	1976	K1.18003472	Sơn Hải - Quỳnh Lưu - Nghệ An
8	NGUYỄN NGỌC H	1970	K1.18004113	Yên Lợi - Ý Yên - Nam Định
9	TRƯƠNG THỊ N	1966	K1.18003822	Đào Ngạn - Hà Quảng - Cao Bằng
10	VI VĂN T	1955	K1.18003081	Tân Bình - Như Xuân - Thanh Hóa
11	TẠ THỊ Đ	1952	K1.18008165	Hương Mạc - Từ Sơn - Bắc Ninh
12	NGUYỄN THỊ N	1953	K1.18008172	An Lâm - Nam Sách - Hải Dương
13	ĐỒNG THỊ L	1954	K1.18007458	Diễn Phú - Diễn Châu - Nghệ An
14	ĐÀO THỊ C	1948	K1.18010570	Tân Yên - Hàm Yên - Tuyên Quang
15	BÉ THỊ T	1987	K1.18012141	Yên Phúc - Văn Quan - Lạng Sơn
16	NGUYỄN THANH V	1978	K1.18012119	Trần Quang Khải - Tp. Nam Định - Nam Định
17	NGUYỄN VĂN V	1958	K1.18017090	Nguyễn Du - Tp. Hà Tĩnh - Hà Tĩnh

18	TRẦN THỊ V	1957	K1.18018470	Lộc An - Tp. Nam Định - Nam Định
19	TỔNG KHẮC D	1965	K1.18019108	Lọng Doi - Lục Nam - Bắc Giang
20	NGUYỄN VĂN Q	1959	K1.18016587	Tăng Tiên - Việt Yên - Bắc Giang
21	DƯƠNG THỊ L	1953	K1.18019106	Hiển Ninh - Sóc Sơn - Hà Nội
22	HOÀNG ĐÌNH H	1957	K1.18019666	TT. Vương - Tiên Lữ - Hưng Yên
23	PHẠM THỊ M	1960	K1.19021181	Ngũ Phúc - Kiến Thụy - Thái Bình
24	NGUYỄN HỮU T	1966	K1.18020361	Nam Thành - Yên Thành - Nghệ An
25	ĐOÀN VĂN D	1953	K1.18020852	Thanh Sơn - Uông Bí - Quảng Ninh
26	NGUYỄN THỊ S	1954	K1.18002822	Tri Thủy - Phú Xuyên - Hà Nội
27	TỔNG VĂN M	1977	K1.18024993	Thanh Sơn - Tĩnh Gia - Thanh Hóa
28	LÊ THỊ C	1947	K1.18023917	Cầm Phúc - Cầm Giàng - Hải Dương
29	ĐỖ VĂN N	1960	K1.18028168	P. Xương Giang - Tp. Bắc Giang - Bắc Giang
30	ĐỖ THỊ KIM L	1975	K1.18030135	Phương Đông - Uông Bí - Quảng Ninh
31	LONG THỊ H	1981	K1.18027761	Tân Lập - Hữu Lũng - Lạng Sơn
32	NGUYỄN THỊ P	1956	K1.18029164	Dị Sứ - Mỹ Hào - Hưng Yên
33	NGUYỄN ĐỨC C	1968	K1.18029457	Thái Long - Tuyên Quang - Tuyên Quang
34	LÊ THỊ B	1946	K1.18031141	Sài Đông - Long Biên - Hà Nội
35	TRẦN THỊ THANH V	1953	K1.18031064	Đông Hoàng - Tiền Hải - Thái Bình
36	NGUYỄN ĐỨC T	1953	K1.18029057	Bồ Hạ - Yên Thế - Bắc Giang
37	CAO VĂN L	1936	K1.18029750	Nam Cường - Nam Trực - Nam Định
38	BÙI THỊ H	1953	K1.18031089	Trần Hưng Đạo - Tp. Thái Bình - Thái Bình
39	NGUYỄN VĂN T	1948	K1.18031143	Kim Hoa - Mê Linh - Hà Nội
40	NGUYỄN THỊ L	1971	K1.18033995	Thiệu Khánh - Thiệu Hóa - Thanh Hóa

41	ĐỖ VĂN H	1967	K1.18034204	Hữu Bằng - Kiến Thụy - Hải Phòng
42	DƯƠNG THỊ T	1961	K1.18033637	Thanh Thạch - Bồ Trạch - Quảng Bình
43	NGUYỄN VĂN V	1939	K1.18035711	Xuân Hồng - Xuân Trường - Nam Định
44	NGUYỄN MẠNH H	1957	K1.18035044	Mai Đình - Sóc Sơn - Hà Nội
45	NGUYỄN VĂN H	1957	K1.18035266	Đại Nài - Tp. Hà Tĩnh - Hà Tĩnh
46	QUYÊN THỊ T	1960	K1.18035034	Phủ Lý - Hà Nam
47	NGUYỄN VĂN H	1957	K1.18036593	Xuân Lai - Gia Bình - Bắc Ninh
48	NGUYỄN VĂN D	1962	K1.18036239	Đồng Tiến - Tx. Hòa Bình - Hòa Bình
49	NGÔ ĐỨC N	1974	K1.18037101	Trại Cau - Đông Hỷ - Thái Nguyên
50	PHẠM VĂN N	1935	K1.18036606	Đông Vinh - Đông Hưng - Thái Bình
51	NGUYỄN VĂN Đ	1949	K1.18038567	Tạ Xá - Cẩm Khê - Phú Thọ
52	NGUYỄN VĂN H	1963	K1.18039593	Việt Thuận - Vũ Thư - Thái Bình
53	NGUYỄN ĐỨC C	1962	K1.18040812	Cộng Hòa - Kim Thành - Hải Dương
54	TRẦN VĂN H	1958	K1.18040073	Trần Quang Khải - Tp. Nam Định - Nam Định
55	LÊ XUÂN T	1962	K1.18026919	Duy Minh - Duy Tiên - Hà Nam
56	LƯƠNG THỊ B	1958	K1.18040471	Tân Cương - Vĩnh Tường - Vĩnh Phúc
57	HẦU VĂN N	1962	K1.18042385	Kỳ Lãm - Đội Cấn - Tuyên Quang
58	NGUYỄN THỊ H	1980	K1.18044398	Yên Viên - Gia Lâm - Hà Nội
59	NGUYỄN KIM C	1930	K1.18042677	Đại Áng - Thanh Trì - Hà Nội
60	HOÀNG THỊ O	1949	K1.18043775	Thắng Long - Nông Cống - Thanh Hóa
61	VŨ HỮU H	1957	K1.18045004	Liêu Xá - Yên Mỹ - Hưng Yên
62	QUÁCH XUÂN T	1972	K1.18044744	Quỳnh Lưu - Nho Quan - Ninh Bình
63	LÒ THỊ Đ	1964	K1.18045030	Chiềng Ban - Mai Sơn - Sơn La



64	NGUYỄN DANH L	1960	K1.18045840	Ngũ Phúc - Kiến Thụy - Hải Phòng
65	PHẠM THỊ B	1954	K1.18026940	Quang Tiến - Thái Hòa - Nghệ An
66	NGUYỄN THANH T	1957	K1.18048787	Yên Cường - Ý Yên - Nam Định
67	ĐINH THỊ H	1956	K1.18047365	Cao Minh - Phúc Yên - Vĩnh Phúc
68	TRIỆU THỊ T	1955	K1.18048092	Đồng Đăng - Cao Lộc - Lạng Sơn
69	NGUYỄN VĂN L	1962	K1.18050565	Bảo Cường - Định Hóa - Thái Nguyên
70	NGUYỄN THỊ L	1959	K1.18050767	Chiến Thắng - An Lão - Hải Phòng
71	TRỊNH VĂN B	1955	K1.18051305	Thành Bắc - Quảng Thành - Thanh Hóa
72	VŨ THỊ H	1975	K1.18052290	Mê Sở - Văn Giang - Hưng Yên
73	ĐỖ THỊ D	1973	K1.18052473	Phù Ninh - Thủy Nguyên - Hải Phòng
74	PHẠM THÁI Á	1945	K1.18056539	Bát Nạo - Thanh Miện - Hải Dương
75	PHẠM THANH T	1970	K1.18056409	Yết Kiêu - Hạ Long - Quảng Ninh
76	LÊ ĐÌNH T	1955	K1.18056362	Thái Hòa - Triệu Hóa - Thanh Hóa
77	PHẠM VĂN K	1957	K1.18057382	Kim Tân - Kim Thành - Hải Dương
78	ĐÀO SỸ T	1955	K1.18059578	Quỳnh Long - Quỳnh Lưu - Nghệ An
79	PHAN VĂN C	1959	K1.18060165	Cầm Xá - Mỹ Hào - Hưng Yên
80	ĐÀO VĂN T	1970	K1.18061121	Thù Sỹ - Tiên Lữ - Hưng Yên
81	NGUYỄN VĂN D	1974	K1.18062073	Hồng Lạc - Thanh Hà - Hải Dương
82	LÊ THỊ T	1991	K1.18061821	Quỳnh Diện - Quỳnh Lưu - Nghệ An
83	LÝ QUANG Đ	1949	K1.18061733	Thượng Sơn - Vị Xuyên - Hà Giang
84	HOÀNG MINH Đ	1950	K1.18064742	Từ Liêm - Tây Hồ - Hà Nội
85	PHAN THẾ K	1988	K1.18064622	Nam Thành - Yên Thành - Nghệ An
86	VŨ THỊ D	1964	K1.18068632	Bồ Xuyên - Tp. Thái Bình - Thái Bình

87	NGUYỄN VĂN C	1958	K1.18069321	Tượng Lĩnh - Kim Bảng - Hà Nam
88	NGUYỄN VĂN N	1972	K1.18067787	Thanh Quang - Nam Sách - Hải Dương
89	LÊ QUANG L	1954	K1.18074664	Bồ Hạ - Yên Thế - Bắc Giang
90	VŨ VĂN T	1952	K1.18075205	Nhật Tân - Gia Lộc - Hải Dương
91	ĐINH VĂN H	1964	K1.18077291	Như Quỳnh - Văn Lâm - Hưng Yên
92	TRẦN THỊ T	1957	K1.18079705	Nghi Hòa - Cửa Lò - Nghệ An
93	ĐINH THỊ L	1936	K1.18078641	Vĩnh Khúc - Văn Giang - Hưng Yên
94	NGUYỄN ĐỨC T	1957	K1.18081160	Thủy Sơn - Thủy Nguyên - Hải Phòng
95	NGUYỄN VĂN Q	1963	K1.18082284	Cộng Hòa - Quảng Yên - Quảng Ninh
96	HOÀNG ĐĂNG V	1963	K1.18083348	Tân Nguyên - Yên Bình - Yên Bái
97	VŨ THỊ H	1958	K1.18084570	Tiền Phong - Duy Tiên - Hà Nam
98	VƯƠNG VĂN C	1965	K1.18089318	Kiến Thiết - Yên Sơn - Tuyên Quang
99	NGUYỄN THỊ D	1960	K1.18090147	Thái Hòa - Triệu Sơn - Thanh Hóa
100	ĐẶNG CHINH C	1945	K1.18047462	Lạch Tray - Ngô Quyền - Hải Phòng
101	PHẠM HỒNG S	1951	K1.18097777	Đông Ngàn - Từ Sơn - Bắc Ninh
102	TRƯƠNG THỊ X	1960	K1.18102540	Quảng Cư - Sầm Sơn - Thanh Hóa
103	VŨ TUẤN T	1964	K1.18104242	Yên Bắc - Duy Tiên - Hà Nam

Hà Nội, ngày 02 tháng 6 năm 2020

XÁC NHẬN CỦA  
BỆNH VIỆN

XÁC NHẬN CỦA  
NGƯỜI HƯỚNG DẪN

NGƯỜI THỰC HIỆN  
ĐỀ TÀI





## PHỤ LỤC 4

### KẾT QUẢ HMMD



Attestation letter: collaboration  
with

Bordeaux,  
May 4th, 2023

Pr Christine Varon

Christine.varon@u-bordeaux.fr  
Professor

Head of team4 "Helicobacter-associated digestive cancers, cancer stem cells and therapeutic strategies", INSERM U1312 "Bordeaux Institute In Oncology",

Head of the graduate program Cancer Biology, University of Bordeaux

146 rue Léo Saignat  
33076 Bordeaux cedex  
Phone : +335 5757 9575  
/ +335 5757 1119  
Fax : +335 5651 4182

To whom is concerned,

By this letter, I, Christine Varon Professor in Cell Biology and Translational Oncology attest that since 2017 we have collaborated with the research team of Dr. Nguyen Phu Hung is students for histopathological analyses on tissue samples from gastric cancer patients from Vietnam. Dr Nguyen Phu Hung was PhD student in our laboratory under my supervision from 2011 to 2015 on the study of cancer stem cells in gastric cancer; we have pursue this collaboration with him on this topic.

Experiments of immunohistochemistry have been started first in France and then pursued in laboratory in Vietnam in collaboration with us for the transfer of technical expertise in Vietnam. We supported the realization and analysis on tissue sections for the detection of markers of cancer cells KRas and ALDH by immunohistochemistry. The list of tissue samples given by Dr Phu Hung Nguyen that we have analyzed is attached to this letter.

Sincerely yours,

Prof. Christine Varon



Name	Age	Block	Gender	WHO classification	Lauren classification	Differentiation level	KRAS	ALDH
LÊ THIÊN QUÝ	44	23802	M	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	0	0
NGUYỄN CƯỜNG	74	24385	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN BA NHẬT	55	24387	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	0
TRẦN GIẢN	76	24482	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	2
TRẦN THỊ MAI	59	24799	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN THỊ THUYỀN	55	24803	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
LÊ THỊ NHUNG	42	24913	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	3
NGUYỄN NGỌC HẠNH	48	24962	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	0	2
TRƯƠNG THỊ NGHI	52	24988	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
VI VĂN TƯỜNG	63	25333	M	Papillary adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	3
T.À THỊ ĐOÀI	66	25891	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	1
NGUYỄN THỊ NHIỆN	65	26071	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
ĐÔNG THỊ LỘC	64	26163	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	1
ĐÀO THỊ CỬ	70	26630	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
BÉ THỊ TUYẾN	31	26876	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	1
NGUYỄN THANH VĂN	40	26934	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
NGUYỄN VĂN VIỆN	60	27937	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	3
TRẦN THỊ VỆ	61	28268	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
NGUYỄN VĂN QUANG	59	28271	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
TÔNG KHÁC DUNG	53	28553	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	1	2
DƯƠNG THỊ LAN	65	28622	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	1	2
HOÀNG ĐÌNH HẠNH	61	28697	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
PHẠM THỊ MƠ	58	28837	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	UM312 BRIC

NGUYỄN HỮU TRÂM	52	28840	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
ĐOÀN VĂN DUONG	65	28844	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	3	2
NGUYỄN THỊ SỎ	64	29255	F	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	0	2
TÔNG VĂN MINH	41	30036	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
LÊ THỊ CHỮNG	71	30040	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	1
ĐỖ VĂN NGHỊ	58	30376	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	2	0
ĐỖ THỊ KIM LIÊN	43	30593	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	3	0
LONG THỊ HIỆP	37	30595	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
NGUYỄN THỊ PHÚC	62	30597	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	0	0
NGUYỄN ĐỨC CƯỜNG	50	30726	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
LÊ THỊ BÍCH	72	30939	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	0	0
TRẦN THỊ THANH VỊT	65	30943	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN ĐỨC THỊNH	65	30982	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
CAO VĂN LAU	82	30984	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	2
BÙI THỊ HIỀN	65	31029	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	2
NGUYỄN VĂN THỨ	70	31165	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN THỊ LAN	47	31845	F	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	1
ĐỖ VĂN HƯƠNG	51	31883	M	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	1	1
DƯƠNG THỊ THƯỜNG	57	31887	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN VĂN VĂN	79	32012	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN VĂN HẬU	61	32129	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	2
NGUYỄN MẠNH HIỀN	61	32132	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	2
QUYÊN THỊ THANH	58	32258	F	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	2	0
NGUYỄN VĂN HIỀN	56	32431	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	1
NGUYỄN VĂN DUẬN	44	32440	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0

NGÔ ĐỨC NIÊM	83	32718	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	1
PHẠM VĂN NHẬT	56	32720	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN VĂN ĐOÀN	55	33083	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN VĂN HUNG	60	33087	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN ĐỨC CÓN	69	33411	M	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	0	0
TRẦN VĂN HỒNG	60	33640	M	Squamous cell carcinoma	Diffuse	Well differentiated carcinoma	0	0
LÊ XUÂN TOÀN	56	33855	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	1	0
LƯƠNG THỊ BÁC	56	33858	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	1	1
HÀU VĂN NGO	38	34181	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYỄN THỊ HẢO	88	34415	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
NGUYỄN KIM CHI	69	34500	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	0	0
HOANG THỊ OANH	52	34560	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	3
VŨ HỮU HẠT	54	34739	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	1
QUÁCH XUÂN THUY	46	34741	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	1
LỖ THỊ ĐỐI	52	34743	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	1	3
NGUYỄN DANH LỰC	58	35091	M	Squamous cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
PHẠM THỊ BÔNG	64	35531	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	1	0
NGUYỄN THANH TỈNH	61	35621	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	3
ĐINH THỊ HÒA	62	35730	F	Others Carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	1	2
TRIỆU THỊ THÈ	63	35732	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	1
NGUYỄN VĂN LỰC	56	36166	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	1	0
NGUYỄN THỊ LEN	59	36437	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
TRINH VĂN BÌNH	63	36439	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
VŨ THỊ HIỀN	43	36533	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
ĐOÀN THỊ DINH	45	36536	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	2

1/17

26

PHAM THAI AT	73	37603	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	1
PHAM THANH TRI	48	37611	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	0	0
LE DINH THUYONG	63	37638	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	2	2
PHAM VAN KHOT	61	37946	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	3
DAO SY TIEN	63	38127	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
PHAN VAN CAO	59	38246	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
DAO VAN THE	48	38797	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
NGUYEN VAN DUNG	44	39007	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	0	0
LE THI TU	37	39105	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	0	0
LY QUANG DAI	69	39210	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	1
HOANG MINH DAU	68	39323	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	3	3
PHAN THE KIEN	30	39385	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	2
VU THI DUYEN	54	40221	F	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	2	1
NGUYEN VAN CHUC	60	40305	M	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	0	0
NGUYEN VAN NHAC	46	40599	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
LE QUANG LOAN	64	41616	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	3	3
VU VAN THUYONG	66	41823	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	3
DINH VAN HOAT	54	42413	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	1	1
TRAN THI THIEN	61	42532	F	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	0
DINH THI LIEN	82	42710	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	0
NGUYEN DUC TOAN	61	42750	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	3
NGUYEN VAN QUANG	55	43106	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
HOANG DANG VINH	55	43297	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	2
VU THI HA	60	43863	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	0
VUONG VAN CHAO	53	44611	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Poorly differentiated carcinoma	2	0

UJ442 BRIC

Insa

NGUYỄN THỊ DUNG	58	45008	F	Mucinous adenocarcinoma	Intestinal	Well differentiated carcinoma	0	0
ĐẶNG CHINH CAI	73	45741	M	Signet-ring cell carcinoma	Diffuse	Moderately differentiated carcinoma	0	0
PHẠM HỒNG SƠN	67	46168	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	0	2
TRƯƠNG THỊ XOE	58	47089	F	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Poorly differentiated carcinoma	2	0
VŨ TUẤN THANH	54	47671	M	Tubular adenocarcinoma	Intestinal	Moderately differentiated carcinoma	1	2

Professor  
tine