BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG

**HỌC VIỆN QUÂN Y**

=== \*\*\* ===

VI THUẬT THẮNG

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC, HÓA MÔ MIỄN DỊCH VÀ TÌNH TRẠNG METHYL HÓA GEN *RASSF1A* TRONG UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN TIỀN LIỆT**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

**HÀ NỘI - 2018**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG

**HỌC VIỆN QUÂN Y**

=== \*\*\* ===

VI THUẬT THẮNG

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC, HÓA MÔ MIỄN DỊCH VÀ TÌNH TRẠNG METHYL HÓA GEN *RASSF1A* TRONG UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN TIỀN LIỆT**

|  |  |
| --- | --- |
| **Chuyên ngành:** | **Khoa học y sinh** |
| **Mã số:** | **9720101** |

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

**1. GS. TS. Nguyễn Đình Tảo**

**2. TS. Nguyễn Ngọc Hùng**

**HÀ NỘI - 2018**

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan những kết quả và số liệu trong luận án này là trung thực, chính xác, chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu khoa học nào khác.

**Nghiên cứu sinh**

**Vi Thuật Thắng**

MỤC LỤC

**Trang**

Trang phụ bìa

[LỜI CAM ĐOAN i](#_Toc528578084)

[MỤC LỤC ii](#_Toc528578085)

[DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT vi](#_Toc528578086)

[DANH MỤC BẢNG viii](#_Toc528578087)

[DANH MỤC HÌNH xi](#_Toc528578088)

[DANH MỤC ẢNH xii](#_Toc528578089)

[ĐẶT VẤN ĐỀ 1](#_Toc528578090)

[CHƯƠNG 1](#_Toc528578091): [TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3](#_Toc528578092)

[1.1. Sơ lược giải phẫu, phôi thai, sinh lý, mô học và phân loại ung thư tuyến tiền liệt 3](#_Toc528578093)

[1.1.1. Sơ lược về giải phẫu 3](#_Toc528578094)

[1.1.2. Sơ lược về phôi thai và sinh lý 3](#_Toc528578095)

[1.1.3. Sơ lược về mô học 5](#_Toc528578096)

[1.1.4. Phân loại mô bệnh học ung thư tuyến tiền liệt 6](#_Toc528578097)

[1.2. Ung thư tuyến tiền liệt, tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt và phân độ mô học ung thư biểu mô tuyến 11](#_Toc528578098)

[1.2.1. Ung thư tuyến tiền liệt 11](#_Toc528578099)

[1.2.2. Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt 16](#_Toc528578100)

[1.2.3. Phân độ mô học ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt 17](#_Toc528578101)

[1.3. Xâm lấn và di căn của ung thư tuyến tiền liệt 21](#_Toc528578102)

[1.3.1. Xâm lấn tại chỗ 21](#_Toc528578103)

[1.3.2. Di căn 21](#_Toc528578104)

[1.4. Hoá mô miễn dịch và ứng dụng trong ung thư tuyến tiền liệt 21](#_Toc528578105)

[1.4.1. Khái niệm về hóa mô miễn dịch 21](#_Toc528578106)

[1.4.2. Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán mô bệnh học 25](#_Toc528578107)

[1.5. Methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư 31](#_Toc528578108)

[1.5.1. Methyl hóa ADN 31](#_Toc528578109)

[1.5.2. Methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư tuyến tiền liệt 36](#_Toc528578110)

[CHƯƠNG 2](#_Toc528578111): [ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 43](#_Toc528578112)

[2.1. Đối tượng nghiên cứu 43](#_Toc528578113)

[2.1.1. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu xác định một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 43](#_Toc528578114)

[2.1.2. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu hóa mô miễn dịch 44](#_Toc528578115)

[2.1.3. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu methyl hóa gen RASSF1A 44](#_Toc528578116)

[2.2. Phương pháp nghiên cứu 45](#_Toc528578117)

[2.2.1. Thiết kế nghiên cứu 45](#_Toc528578118)

[2.2.2. Vật liệu, hóa chất, thiết bị nghiên cứu 46](#_Toc528578119)

[2.2.3. Các kỹ thuật dùng trong nghiên cứu 50](#_Toc528578120)

[2.3. Xử lý số liệu 61](#_Toc528578121)

[2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu 61](#_Toc528578122)

[CHƯƠNG 3](#_Toc528578123): [KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 63](#_Toc528578124)

[3.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân mắc ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo nhóm tuổi 63](#_Toc528578125)

[3.2. Kết quả nghiên cứu một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 64](#_Toc528578126)

[3.2.1. Xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt, các thể ung thư biểu mô tuyến theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004 64](#_Toc528578127)

[3.2.2. Xác định các biến thể của ung thư biểu mô tuyến nang 65](#_Toc528578128)

[3.2.3. Tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp và không phối hợp với PIN độ cao 65](#_Toc528578129)

[3.2.4. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason 66](#_Toc528578130)

[3.2.5. Phân bố độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến theo mẫu mô học thứ nhất và mẫu mô học thứ hai Gleason 67](#_Toc528578131)

[3.2.6. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp với PIN độ cao theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason 68](#_Toc528578132)

[3.2.7. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u 68](#_Toc528578133)

[3.2.8. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u theo nhóm điểm Gleason 69](#_Toc528578134)

[3.2.9. Phân bố tỷ lệ các chất chứa trong tuyến nang ác tính 70](#_Toc528578135)

[3.2.10. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason 71](#_Toc528578136)

[3.3. Kết quả nghiên cứu hóa mô miễn dịch 77](#_Toc528578137)

[3.3.1. Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 77](#_Toc528578138)

[3.3.2. Các típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nhuộm hóa mô miễn dịch 78](#_Toc528578139)

[3.3.3. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u 78](#_Toc528578140)

[3.3.4. Phân bố mức độ bộc lộ PSA của tế bào u theo độ Gleason 79](#_Toc528578141)

[3.3.5. Phân bố mức độ bộc lộ PSA của tế bào u xâm nhập dây thần kinh 79](#_Toc528578142)

[3.3.6. Tình trạng bộc lộ CK34βE12 và p63 của tế bào đáy 80](#_Toc528578143)

[3.3.7. Mức độ bộc lộ CK34βE12 và p63 của các tế bào đáy 81](#_Toc528578144)

[3.3.8. Tình trạng và mức độ bộc lộ CK7 và CK5/6 của biểu mô đường niệu lành tính và ác tính 82](#_Toc528578145)

[3.3.9. Tình trạng và mức độ bộc lộ actin của các loại tế bào mô đệm 83](#_Toc528578146)

[3.4. Kết quả nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* 87](#_Toc528578147)

[3.4.1. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu bệnh phẩm 87](#_Toc528578148)

[3.4.2. Kết quả đánh giá hiệu quả của quá trình xử lý bisulfite 87](#_Toc528578149)

[3.4.3. Kết quả xác định sự methyl hóa gen *RASSF1A* ở các mẫu ung thư 89](#_Toc528578150)

[3.4.4. Kết quả xác định sự methyl hóa gen *RASSF1A* ở các mẫu tăng sản tuyến tiền liệt 90](#_Toc528578151)

[3.4.5. Đối chiếu tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* với một số đặc điểm mô bệnh học trong ung thư biểu mô tuyến 91](#_Toc528578152)

[CHƯƠNG 4](#_Toc528578153): [BÀN LUẬN 94](#_Toc528578154)

[4.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo nhóm tuổi 94](#_Toc528578155)

[4.2. Một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 95](#_Toc528578156)

[4.2.1. Xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt, các thể và biến thể ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt 95](#_Toc528578157)

[4.2.2. Ung thư biểu mô tuyến phối hợp với tân sản nội biểu mô độ cao 108](#_Toc528578158)

[4.2.3. Độ mô học trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 112](#_Toc528578159)

[4.2.4. Các đặc điểm đặc trưng ác tính trong ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt 116](#_Toc528578160)

[4.2.5. Các đặc điểm chất chứa trong lòng tuyến nang ác tính 119](#_Toc528578161)

[4.3. Sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch và tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 121](#_Toc528578162)

[4.3.1. Sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt. 121](#_Toc528578163)

[4.3.2. Tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt và tăng sản tuyến tiền liệt 128](#_Toc528578164)

[KẾT LUẬN 134](#_Toc528578165)

[KIẾN NGHỊ 136](#_Toc528578166)

[DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN 137](#_Toc528578167)

[TÀI LIỆU THAM KHẢO](#_Toc528578168)

[PHỤ LỤC](#_Toc528578169)

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

|  |  |
| --- | --- |
| **Tên viết tắt** | **Tên đầy đủ** |

|  |  |
| --- | --- |
| AFIP | Armed Force Institute of Pathology  (Viện bệnh học Quân đội Hoa Kỳ) |
| ADN | Acid deoxyribonucleic |
| Alu | [Arthrobacter luteus](https://en.wikipedia.org/wiki/Arthrobacter_luteus) |
| AMACR | Alpha-methylacyl-CoA racemase |
| AQP1 | Aquaporin 1 |
| ARN | Acid ribonucleic |
| ATM | Ataxia telangectasia mutant  (thể đột biến giãn mạch mất điều hòa vận động) |
| BCL-2 | B-cell lymphoma 2 |
| *BEX1* | *Brain-expressed X-linked 1 gene* |
| CEA | Carcino embryonic antigen (kháng nguyên ung thư bào thai) |
| CECR1 | Cat eye syndrome critical region 1 |
| COBRA | Combined bisulfite restriction analysis  (phân tích giới hạn bisulfite kết hợp) |
| C1QR1 | Complement Component 1 Q Receptor 1 |
| CTAG2 | cancer-testis antigens 2 |
| DAG | Diacylglycerol |
| DNMT | DNA methyltranferase (enzym chuyển methyl hóa ADN) |
| DYNLT3 | Dynein Light Chain Tctex-Type 3 |
| EMA | Epithelial membrane antigen (kháng nguyên màng biểu mô) |
| GPB | Giải phẫu bệnh |
| *GSTP1* | *Glutathion S-transferase Pi 1 gene* |
| HMMD | Hoá mô miễn dịch |
| KN | Kháng nguyên |
| KT | Kháng thể |
| LINE 1 | Long interspersed nuclear elements 1 |
| MBH | Mô bệnh học |
| MSP | Methylation specific PCR (phản ứng chuỗi đặc hiệu methyl hóa) |
| NKX3.1 | NK homeobox (drosophila), family 3, locus 1 |
| P53AIP1 | Tumor Protein P53 Regulated Apoptosis Inducing Protein 1 |
| PCa | Prostate cancer (ung thư tuyến tiền liệt) |
| PCR | Polymerase chain reaction (phản ứng chuỗi polymerase) |
| PIN | Prostatic intraepithelial neoplasia  (tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt) |
| PSA | Prostate specific antigen (kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt) |
| *RASSF1A* | *Ras-association domain family 1 isoform A gene* |
| RCC | Renal cell carcinoma (ung thư tế bào thận) |
| RLGS | Restriction landmark genomic scanning  (quét hệ gen đánh dấu mốc giới hạn) |
| SAM | S-adenosylmethionine |
| SARAH | Sav/RASSF/Hpo |
| SCLC | Small cell lung cancer (ung thư phổi tế bào nhỏ) |
| *TDRD12* | [Tudor domain containing 12](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799322/) |
| TP53 | Tumour protein p53 |
| *TSG* | *Tumor suppressor gene* (gen ức chế u) |
| TTL | Tuyến tiền liệt |
| UTBM | Ung thư biểu mô |
| UTTTL | Ung thư tuyến tiền liệt |
| QĐKN | Quyết định kháng nguyên |
| WHO | World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới) |
| (+) | Dương tính (có bộc lộ) |
| (-) | Âm tính (không bộc lộ) |

DANH MỤC BẢNG

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Bảng** | **Tên bảng** | **Trang** |

[1.1. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của](#_Toc524684897) [Tổ chức Y tế Thế giới (1980) 7](#_Toc524684898)

[1.2. Bảng phân loại mô bệnh học tăng sản, u và các tổn thương giống u tuyến tiền liệt của AFIP (2000). 8](#_Toc524684899)

[1.3. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của](#_Toc524684900)[Tổ chức Y tế Thế giới (2004) 9](#_Toc524684901)

[1.4. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của](#_Toc524684902)[Tổ chức Y tế Thế giới (2016) 10](#_Toc524684903)

[1.5. Phân nhóm điểm Gleason 20](#_Toc524684904)

[1.6. Phân nhóm độ của hội nghị đồng thuận ISUP (2014) 20](#_Toc524684905)

[2.1. Các tiêu chuẩn mô bệnh học để chẩn đoán ung thư](#_Toc524684906) [biểu mô tuyến nang 51](#_Toc524684907)

[2.2. Các kháng thể sử dụng trong nghiên cứu 56](#_Toc524684908)

[2.3. Trình tự nucleotide của các mồi cho phản ứng PCR và MSP 60](#_Toc524684909)

[3.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân mắc ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo nhóm tuổi 63](#_Toc524684910)

[3.2. Kết quả xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô](#_Toc524684911) [tuyến tiền liệt 64](#_Toc524684912)

[3.3. Kết quả xác định các biến thể của ung thư biểu mô tuyến nang 65](#_Toc524684913)

[3.4. Tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt phối hợp và không phối hợp với PIN độ cao 66](#_Toc524684914)

[3.5. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason 66](#_Toc524684915)

[3.6. Phân bố độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt theo mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai Gleason 67](#_Toc524684916)

[3.7. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp PIN độ cao theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason 68](#_Toc524684917)

[3.8. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u 68](#_Toc524684918)

[3.9. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u theo nhóm điểm Gleason 69](#_Toc524684919)

[3.10. Phân bố tỷ lệ u có đặc điểm đặc trưng ác tính và u không có đặc điểm ác tính theo nhóm điểm Gleason 70](#_Toc524684920)

[3.11. Phân bố tỷ lệ các chất chứa trong tuyến nang ác tính 70](#_Toc524684921)

[3.12. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason 71](#_Toc524684922)

[3.13. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng và u không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason 72](#_Toc524684923)

[3.14. Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch ung thư biểu mô tuyến tiền liệt 77](#_Toc524684924)

[3.15. Các típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nhuộm hóa mô miễn dịch 78](#_Toc524684925)

[3.16. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u 78](#_Toc524684926)

[3.17. Phân bố mức độ bộc lộ PSA theo độ Gleason 79](#_Toc524684927)

[3.18. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u xâm nhập dây thần kinh 80](#_Toc524684928)

[3.19. Tình trạng bộc lộ 34βE12 và p63 của tế bào đáy 80](#_Toc524684929)

[3.20. Mức độ bộc lộ CK34βE12 và p63 của tế bào đáy 81](#_Toc524684930)

[3.21. Tình trạng và mức độ bộc lộ CK7 và CK5/6 của biểu mô đường niệu lành tính và ác tính 82](#_Toc524684931)

[3.22. Tình trạng và mức độ bộc lộ actin 83](#_Toc524684932)

[3.23. Tỷ lệ methyl hóa trong ung thư và tăng sản tuyến tiền liệt 91](#_Toc524684933)

[3.24. Tỷ lệ methyl hóa theo độ Gleason 92](#_Toc524684934)

[3.25. Tỷ lệ methyl hóa theo điểm Gleason/độ biệt hóa 92](#_Toc524684935)

[3.26. Tỷ lệ methyl hóa theo tình trạng u xâm lấn dây thần kinh 93](#_Toc524684936)

[3.27. Tỷ lệ methyl hóa trong tăng sản tuyến tiền liệt theo tình trạng PIN 93](#_Toc524684937)

[4.1. So sánh kết quả điểm Gleason trong nghiên cứu của chúng tôi với một số tác giả 114](#_Toc524684938)

[4.2. So sánh tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt của một số tác giả trong nước và nước ngoài 130](#_Toc524684939)

DANH MỤC HÌNH

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Hình | Tên hình | Trang |

[1.1. Thiết đồ đứng ngang với hành niệu đạo được duỗi ra và](#_Toc524685361) [thiết đồ đứng dọc tuyến tiền liệt 4](#_Toc524685362)

[1.2. Thiết đồ nhìn sau và ngang qua tuyến tiền liệt 4](#_Toc524685363)

[1.3. Mô học tuyến tiền liệt 6](#_Toc524685364)

[1.4. Biểu đồ hệ thống phân độ Gleason 18](#_Toc524685365)

[1.5. Sơ đồ biến đổi ngoại di truyền 32](#_Toc524685366)

[1.6. Sơ đồ quá trình methyl hóa 33](#_Toc524685367)

[1.7. Methyl hóa ADN trong ung thư 35](#_Toc524685368)

[1.8. Sơ đồ các dạng đồng phân của locus gen *RASSF1* tại 3p21.3 37](#_Toc524685369)

[1.9. Nguyên lý phương pháp MSP 42](#_Toc524685370)

[3.1. Kết quả kiểm tra chất lượng ADN được tách chiết từ mẫu mô ung thư biểu mô tuyến tiền liệt và tăng sản tuyến tiền liệt với cặp mồi GL-F/GL-R của gen *β - globulin.* 87](#_Toc524685371)

[3.2. Sản phẩm PCR nhân bản gen *β-globin* từ khuôn ADN trước (băng đỏ) và sau xử lý (băng vàng) với bisulfite của mẫu mô ung thư và mẫu mô tăng sản. 88](#_Toc524685372)

[3.3. Sản phẩm MSP nhân bản gen *RASSF1A* từ khuôn ADN bị xử lý bằng bisulfite của 20 mẫu ung thư (từ P1 đến P20) với cặp mồi methyl RASSF1A-M210-F/RASSF1A-M211-R và cặp mồi không methyl RASSF1A-Un-F2/ RASSF1A-Un-R2. 90](#_Toc524685373)

[3.4. Sản phẩm MSP nhân bản gen *RASSF1A* từ khuôn ADN bị xử lý với bisulfite của 10 mẫu tăng sản tuyến tiền liệt (từ B1 đến B10). 91](#_Toc524685374)

DANH MỤC ẢNH

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ảnh | Tên ảnh | Trang |

[3.1. Các mảnh mô tuyến tiền liệt phẫu thuật nội soi có chứa ổ ung thư 73](#_Toc528578265)

[3.2. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2 73](#_Toc528578267)

[3.3. PIN độ cao, típ vi nhú 73](#_Toc528578269)

[3.4. PIN độ cao típ hình chùm và típ dạng dẹt 73](#_Toc528578271)

[3.5. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2 74](#_Toc528578273)

[3.6. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2 74](#_Toc528578275)

[3.7. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3 74](#_Toc528578277)

[3.8. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2, phối hợp với PIN độ cao 74](#_Toc528578279)

[3.9. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2 75](#_Toc528578280)

[3.10. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3 75](#_Toc528578281)

[3.11. Ung thư biểu mô tuyến ống 75](#_Toc528578282)

[3.12. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát tại chỗ 76](#_Toc528578283)

[3.13. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát xâm lấn 76](#_Toc528578284)

[3.14. Tế bào u xâm nhập dây thần kinh 76](#_Toc528578285)

[3.15. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4 76](#_Toc528578286)

[3.16. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2 84](#_Toc528578287)

[3.17. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3 84](#_Toc528578288)

[3.18. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4 84](#_Toc528578289)

[3.19. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập mô đệm 84](#_Toc528578290)

[3.20. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập vùng tuyến lành 85](#_Toc528578291)

[3.21. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập ống dẫn tuyến tiền liệt 85](#_Toc528578292)

[3.22. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 5, u xâm nhập mạch máu 85](#_Toc528578293)

[3.23. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 5, u xâm nhập mạch máu 85](#_Toc528578294)

[3.24. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3 86](#_Toc528578295)

[3.25. Tế bào u xâm nhập dây thần kinh 86](#_Toc528578296)

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tuyến tiền liệt thường gặp ở nam giới trên 65 tuổi, phần lớn bệnh thường diễn biến thầm lặng không có triệu trứng. Do đó, bệnh khó phát hiện ở giai đoạn sớm, hầu hết các trường hợp được phát hiện tình cờ qua xét nghiệm mô bệnh học các bệnh phẩm sau phẫu thuật với chẩn đoán trước phẫu thuật là tăng sản tuyến tiền liệt [1], [2]. Các yếu tố nguy cơ mắc ung thư tuyến tiền liệt bao gồm: tiền sử gia đình, tuổi, chủng tộc, béo phì, chế độ ăn, lối sống và môi trường sống [3]*.* Ở các nước Bắc Âu và Bắc Mỹ, ung thư tuyến tiền liệt là nguyên nhân thứ hai gây tử vong do ung thư ở nam giới sau ung thư phổi và đứng hàng thứ 5 trong các loại ung thư. Ung thư tuyến tiền liệt có thể được điều trị hiệu quả nếu bệnh được chẩn đoán ở giai đoạn sớm, khi khối u vẫn còn nằm ở phía bên trong lớp vỏ bao của tuyến tiền liệt [4].

Ở Việt Nam, theo một số thống kê người ta thấy tỷ lệ ung thư tuyến tiền liệt được phát hiện qua xét nghiệm mô bệnh học sau phẫu thuật tăng sản tuyến tiền liệt là 8% [5], tỷ lệ ung thư tuyến tiền liệt theo phủ tạng là 3% [6]. Nhìn chung, ung thư tuyến tiền liệt ở nước ta có chiều hướng gia tăng, tỷ lệ mắc chuẩn theo tuổi giai đoạn những năm 2002 là 2,3 - 2,5/100.000 dân, đến năm 2012 tỷ lệ này là 3,4/100.000 dân và đứng thứ 10 về tỷ lệ mắc ung thư ở nam giới [7].

Ngày nay, cùng với sự tiến bộ của khoa học, các phương tiện sàng lọc, các kỹ thuật chẩn đoán và điều trị ung thư nói chung và ung thư tuyến tiền liệt nói riêng ngày càng hiện đại, đặc biệt là kỹ thuật nội soi cắt u tuyến tiền liệt qua niệu đạo được chỉ định rộng rãi hơn. Vì vậy, tỷ lệ phát hiện ung thư tuyến tiền liệt qua xét nghiệm mô bệnh học sẽ còn tăng lên [8], [9].

Để xác định đúng típ mô bệnh học, phân độ mô học khối u một cách chính xác, giúp cho việc đánh giá giai đoạn bệnh, dự đoán tiến triển, di căn và khả năng đáp ứng của u với điều trị, việc áp dụng một bảng phân loại mô bệnh học và các tiêu chuẩn mô bệnh học đã thống nhất là rất cần thiết [10], [12].

Ngày nay, người ta thấy gen ức chế khối u *Ras- association domain family 1 isoform A (RASSF1A)* bị bất hoạt bởi ngoại di truyền xảy ra trong nhiều loại khối u. Đối với ung thư tuyến tiền liệt, tình trạng methyl hóa quá mức gen *RASSF1A* rất thường gặp và được cho là xảy ra vào giai đoạn sớm của quá trình hình thành và tiến triển của u. Từ đó, đánh giá tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong các mẫu sinh thiết tuyến tiền liệt sẽ góp phần hỗ trợ chẩn đoán, lựa chọn cách thức điều trị và tiên lượng căn bệnh này [13], [14].

Tại Việt Nam, phần lớn các nghiên cứu ung thư tuyến tiền liệt thuộc về điều trị nội khoa, ngoại khoa, xét nghiệm kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt... Các nghiên cứu về mô bệnh học, hóa mô miễn dịch chưa nhiều và chưa có nghiên cứu đầy đủ nào về đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004 kết hợp với xác định sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch và tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt. Xuất phát từ thực trạng ở trên, chúng tôi thực hiện đề tài:*“Nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học, hóa mô miễn dịch và tình trạng methyl hóa gen RASSF1A trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt”* với mục tiêu:

1. Nghiên cứu một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt tại Bệnh viện Quân y 103 theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004.

2. Xác định sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch, tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* và đối chiếu với một số đặc điểm mô bệnh họctrong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Sơ lược giải phẫu, phôi thai, sinh lý, mô học và phân loại ung thư tuyến tiền liệt

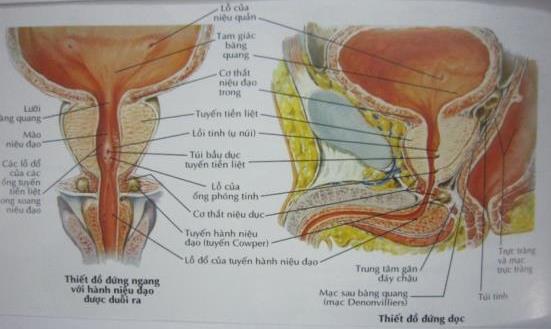
1.1.1. Sơ lược về giải phẫu

Tuyến tiền liệt (TTL) nằm trong khung chậu, sau xương mu, dưới bàng quang, giữa hai cơ nâng hậu môn, trước trực tràng và bao bọc quanh đoạn đầu niệu đạo. Tuyến tiền liệt có dạng hình nón, đáy ở trên, đỉnh ở dưới, ở người trưởng thành tuyến nặng khoảng 20 gam. Vỏ bao của TTL không phải là vỏ thực sự mà do sự dày lên của mô đệm xơ-cơ ở vùng ngoại vi. Tuyến tiền liệt được cung cấp máu bởi động mạch bàng quang dưới và động mạch trực tràng giữa, các tĩnh mạch tạo thành đám rối tĩnh mạch TTL. Mạng lưới mạch bạch huyết của TTL tập trung chủ yếu ở lớp vỏ bao và vùng mô liên kết xung quanh TTL và đổ vào các hạch bạch huyết chậu trong.

Tuyến tiền liệt có hệ thống đám rối thần kinh rất phong phú tách ra từ đám rối hạ vị. Vùng gần vỏ bao và trong các bó mạch thần kinh thường có nhiều tế bào hạch thần kinh giao cảm. Những nhánh dây thần kinh nhỏ đi qua vỏ bao TTL để vào vùng tuyến, các nhánh dây thần kinh này có thể tiếp xúc hoặc thậm chí có thể ấn lõm vào một phía bờ của các nang tuyến bình thường. [15], [16]. (hình 1.1) và (hình 1.2).

1.1.2. Sơ lược về phôi thai và sinh lý

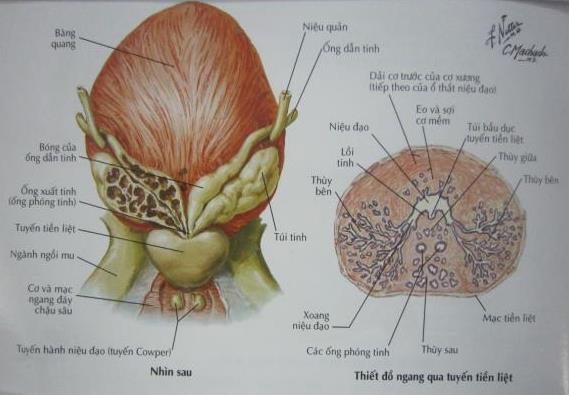
Từ tuần thứ 12 của thai kỳ, TTL được hình thành và phát triển dưới ảnh hưởng của androgen (testosterone là thành phần chính của androgen) được sản xuất từ tinh hoàn của thai nhi. Cùng với sự phát triển của nụ biểu mô, trung mô cũng phát triển theo và biệt hóa thành mô đệm xơ-cơ để hình thành mô đệm của TTL. Các tuyến nằm gần ụ núi thường ngắn và có cấu trúc khá đơn giản, trong khi các tuyến ở xa thường dài hơn và có cấu trúc phức tạp hơn. Sau đó, các tuyến ở xa ụ núi lại chia nhánh vào vùng sau bên của tuyến và hiện tượng này cứ tiếp tục tới tận cùng là các nang tuyến [10], [17], [18].



Hình 1.1. Thiết đồ đứng ngang với hành niệu đạo được duỗi ra và

thiết đồ đứng dọc tuyến tiền liệt

Nguồn: Theo Frank. H. N. (2008) [19].



Hình 1.2. Thiết đồ nhìn sau và ngang qua tuyến tiền liệt

Nguồn: Theo Frank. H. N. (2008) [19].

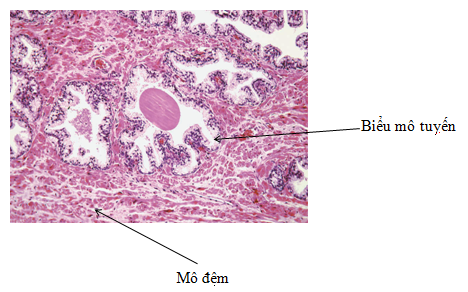
Về sinh lý, dịch TTL được tiết ra bởi các tế bào chế tiết ở nang tuyến và ống tuyến sau đó đổ vào niệu đạo TTL. Dịch tiết của TTL góp phần tạo nên tinh dịch, trung bình mỗi ngày TTL tiết ra khoảng 0,5 - 2,0 ml dịch. Ngoài những thành phần chính là phosphatase acid và acid citric, còn có nhiều loại enzym tiêu hủy protein như fibrinolysin, fibrinogenase, aminopeptidase để góp phần làm loãng tinh dịch. Quá trình chế tiết của TTL chịu sự chi phối của hệ thần kinh giao cảm và đối giao cảm thông qua sự kích thích co thắt mô đệm xơ - cơ của TTL [18], [20].

1.1.3. Sơ lược về mô học

Tuyến tiền liệt có cấu trúc dạng phức hợp ống tuyến, các đơn vị nang tuyến đổ vào những ống phân nhánh, các ống phân nhánh lại đổ vào ống dẫn chính, sau đó các ống dẫn chính lớn đổ vào niệu đạo TTL. Các ống dẫn chính này được lót bởi biểu mô chuyển tiếp ở vị trí đổ vào niệu đạo. Cấu trúc mô học của các nang tuyến và các ống dẫn nhỏ là tương tự nhau, chúng bao gồm lớp tế bào chế tiết và lớp tế bào đáy, do đó chúng cũng giống nhau về chức năng, ngoại trừ các ống dẫn nhỏ biểu mô chế tiết ít tạo nhú hơn so với nang tuyến. TTL không có lớp cơ biểu mô, mà chỉ có lớp tế bào đáy bên ngoài. Lớp tế bào chế tiết bên trong sản xuất kháng nguyên đặc hiệu của TTL và phosphastase acid TTL.

Lớp tế bào chế tiết nằm phía trên lớp tế bào đáy, đó là các tế bào hình khối vuông hoặc hình trụ, nhân đồng dạng nằm ở cực đáy, bào tương nhiều bọng nhỏ và có hạt, hiếm khi thấy không bào trong bào tương. Lớp tế bào đáy là những tế bào dẹt, đôi khi có hình vuông, bào tương ít, tỷ lệ nhân/bào tương cao, nhân tròn hoặc bầu dục, đôi khi có hạt nhân nhỏ ưa kiềm, bình thường lớp tế bào đáy chỉ có một hàng tế bào đứng trên màng đáy mỏng [21].

Chất chế tiết trong lòng của các nang tuyến bắt màu hồng nhạt khi nhuộm hematoxylin và eosin (H.E). Các thể amylacea có dạng lá xếp đồng tâm và thường thấy trong nang tuyến bình thường. Các nang tuyến và ống tuyến của TTL được bao xung quanh bởi mô đệm gồm các tế bào cơ trơn, nguyên bào sợi và sợi collagen… [16], [18], [22]. (hình 1.3).

******

Hình 1.3. Mô học tuyến tiền liệt

Nguồn: Theo Ovalle. K.W. và cộng sự (2013) [23].

1.1.4. Phân loại mô bệnh học ung thư tuyến tiền liệt

Năm 1980, Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization: WHO) đã đưa ra bảng phân loại mô bệnh học (MBH) các khối u của TTL. Tuy nhiên, với sự phát triển mạnh mẽ về dấu ấn miễn dịch cho kháng nguyên đặc hiệu tế bào, đặc biệt là kháng nguyên tế bào u. Từ đó, một số tổn thương của TTL như tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt (prostatic intraepithelial neoplasia: PIN) và một số biến thể mới của UTBM TTL đã được phát hiện. Do đó, trong quá trình ứng dụng thực tế, bảng phân loại này đã dần bộc lộ một số hạn chế. Để bổ sung một số tổn thương và một số biến thể mới đã được phát hiện. Năm 2000, Viện bệnh học Quân đội Hoa kỳ (Armed Force Institute of Pathology: AFIP) đã đưa ra bảng phân loại MBH tăng sản, u và các tổn thương giống u của TTL. Bảng phân loại này đã được nhiều Hội nghị quốc tế thống nhất và được nhiều nước trên thế giới áp dụng, trong đó có Việt Nam. Đến năm 2004, WHO đã sửa đổi bảng phân loại về MBH các khối u TTL năm 1980 và công bố bảng phân loại về MBH các khối u TTL, đồng thời đưa ra mã hình thái học phân loại quốc tế về các bệnh cho khối u TTL cũng như hệ thống hóa cách gọi tên các khối u TTL.

Tuy nhiên, sau 12 năm, kể từ khi bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) ra đời, trong quá trình ứng dụng bảng phân loại này vào trong thực tế đã nảy sinh nhiều hiểu biết mới về bệnh học và di truyền học các khối u TTL. Vì vậy, năm 2016, WHO đã bổ sung và sửa đổi bảng bảng phân loại về MBH các khối u TTL (2004) và công bố bảng phân loại mô bệnh học mới nhất về các khối u TTL.

Chúng tôi xin giới thiệu tóm tắt các bảng phân loại mô bệnh học khối u TTL đã được công bố:

Bảng 1.1. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của

Tổ chức Y tế Thế giới (1980)

|  |  |
| --- | --- |
| **I. Các u biểu mô** | **II. Các u không thuộc biểu mô** |
| A. Lành tính | **III. Các u khác** |
| B. Ác tính: | **IV. Các u thứ phát** |
| 1. Ung thư biểu mô tuyến | **V. Các u không xếp loại** |
| a. Tuyến nang nhỏ | **VI. Các tổn thương giống u** |
| b. Tuyến nang lớn. |  |
| c. Hình sàng |  |
| d. Dạng đặc/dạng bè |  |
| e. Các loại khác |  |
| 2. Ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp |  |
| 3. Ung thư biểu mô tế bào vảy |  |
| 4. Ung thư biểu mô không biệt hoá |  |

*Nguồn: Theo Nguyễn Văn Hưng (2005)* [10].

Bảng 1.2. Bảng phân loại mô bệnh học tăng sản, u và các tổn thương giống u tuyến tiền liệt của AFIP (2000).

|  |  |
| --- | --- |
| - **Tăng sản** | - **Các u hỗn hợp** |
| **- U biểu mô lành tính** | **- Các u trung mô** |
| **- Tân sản nội biểu mô.** | **- Các u khác** |
| **- UTBM tuyến thông thường.** | **- Các u thứ phát.** |
| **- Các biến thể đặc biệt của UTBM tuyến và các dạng khác**  UTBM tuyến ống.  UTBM tuyến nhày.  UTBM tế bào nhẫn.  UTBM tuyến-tế bào vảy.  UTBM tế bào vảy.  UTBM nang dạng tuyến và dạng đáy.  UTBM tế bào chuyển tiếp.  UTBM tế bào nhỏ.  UTBM dạng sacôm.  UTBM dạng limphô-biểu mô.  UTBM không biệt hóa. | **- Các tổn thương giống u** |

*Nguồn: Theo Nguyễn Văn Hưng (2005)* [10]*.*Bảng 1.3. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của

Tổ chức Y tế Thế giới (2004)

|  |  |
| --- | --- |
| **1. Các u biểu mô** | ICD-0 |
| 1.1. Các u biểu mô tuyến |  |
| - UTBM tuyến nang: | 8140/3\* |
| *Biến thể teo đét.* |  |
| *Biến thể giả tăng sản.* |  |
| *Biến thể tuyến bọt.* |  |
| *Biến thể dạng keo/nhày.* | 8480/3 |
| *Biến thể tế bào nhẫn.* | 8490/3 |
| *Biến thể tế bào hạt ưa axit.* | 8290/3 |
| *Biến thể giống u limphô-biểu mô.* | 8082/3 |
| *Biến thể dạng sacôm* | 8572/3 |
| - Tân sản nội biểu mô, độ III. | 8148/2 |
| - UTBM tuyến ống: | 8500/3 |
| *Dạng sàng.* | 8201/3 |
| *Dạng nhú.* | 8260/3 |
| *Dạng đặc.* | 8230/3 |
|  |  |
| 1.2. U biểu mô đường niệu |  |
| UTBM đường niệu. | 8120/3 |
| 1.3. Các u biểu mô tế bào vảy |  |
| - UTBM tuyến-vảy. | 8560/3 |
| - UTBM tế bào vảy. | 8070/3 |
| 1.4. Các u tế bào đáy |  |
| - U tuyến tế bào đáy. | 8147/0 |
| - Ung thư tế bào đáy. | 8147/3 |
| **2. Các u di căn** |  |

*Nguồn: Theo Eble. J. N. và cộng sự (2004*) [11].

*\* Ghi chú:* Mã hình thái học phân loại quốc tế về bệnh cho khối u (Morphology code of the Intenational Classification of Disease for Oncology: ICD-0 code) và hệ thống hóa cách gọi tên bệnh như sau:

/0: Các khối u lành tính

/2: Các ung thư tại chỗ và PIN độ III

/3: Các khối u ác tính

/1: U giáp biên ác tính (không rõ bản chất).

Bảng 1.4. Bảng phân loại mô bệnh học các khối u tuyến tiền liệt của

Tổ chức Y tế Thế giới (2016)

|  |  |
| --- | --- |
| **Các u biểu mô** |  |
| Các u biểu mô tuyến |  |
| UTBM tuyến nang | 8140/3 |
| *Biến thể teo đét* |  |
| *Biến thể giả tăng sản* |  |
| *Biến thể vi nang* |  |
| *Biến thể tuyến bọt* |  |
| *Biến thể dạng keo/nhày* | 8480/3 |
| *Biến thể tế bào giống tế bào nhẫn* | 8490/3 |
| *Biến thể tế bào khổng lồ đa hình thái* |  |
| *Biến thể dạng sacôm* | 8572/3 |
| Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt độ cao | 8148/2 |
| Ung thư nội ống | 8500/2 |
| Ung thư tuyến ống | 8500/3 |
| *Dạng sàng* | 8201/3 |
| *Dạng nhú* | 8260/3 |
| *Dạng đặc* | 8230/3 |
| Ung thư biểu mô đường niệu | 8120/3 |
| Các u tế bào vảy |  |
| Ung thư tuyến vảy | 8560/3 |
| Ung thư tế bào vảy | 8070/3 |
| Ung thư tế bào đáy | 8147/3 |
| **Các khối u thần kinh - nội tiết** |  |
| Ung thư biểu mô tuyến với sự biệt hóa thần kinh – nội tiết. | 8574/3 |
| U thần kinh nội tiết biệt hóa cao | 8240/3 |
| Ung thư thần kinh nội tiết tế bào nhỏ | 8041/3 |
| Ung thư thần kinh nội tiết tế bào lớn | 8013/3 |
| **Các khối u trung mô** |  |
| **Các khối u tạo máu** |  |
| **Các khối u di căn** |  |

*Nguồn theo: Humphrey. P. A (2016)* [24]*.*

1.2. Ung thư tuyến tiền liệt, tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt và phân độ mô học ung thư biểu mô tuyến

1.2.1. Ung thư tuyến tiền liệt

*1.2.1.1. Đặc điểm đại thể (chung cho các loại ung thư tuyến tiền liệt)*

Khoảng 70 - 75% UTTTL phát sinh ở vùng ngoại vi của TTL, chủ yếu ở thùy sau, còn lại 15% phát sinh từ vùng trung tâm và 10 - 15% từ vùng chuyển tiếp [25], [26]. UTTTL bắt đầu bằng nhiều ổ, thông thường lúc phát hiện ra các ổ này đã hòa nhập thành một khối, giới hạn không rõ. Khi khối u xâm nhập vào vỏ bao của tuyến hoặc lan rộng đến túi tinh, trực tràng, bàng quang mới có thể phân biệt rõ khối u. Mặt cắt khối u thường đặc, chắc, màu trắng - xám, hoặc màu vàng da cam, khác với mặt cắt tổ chức TTL lành tính ở xung quanh có màu vàng nhạt và xốp. Về sau, trong bào tương tế bào u chứa nhiều lipid, hiếm thấy hình ảnh hoại tử và xuất huyết, tế bào u thường lan rộng kín đáo bên dưới bờ khối u. Một số khối u nhỏ khó nhận thấy về đại thể, nhưng có thể thấy sự co kéo các dải xơ - cơ quanh niệu đạo, gây biến dạng niệu đạo. Những khối u ở vùng ngoại vi TTL có thể lan rộng hoặc nằm kín đáo bên ngoài giới hạn của TTL. Những khối u ở vùng đỉnh và thùy trước của tuyến thường khó nhận ra về đại thể, vì có thể nhầm với tăng sản tuyến và tăng sản mô đệm TTL. Nhìn chung, các khối u có thể nhận ra được về mặt đại thể, thường có khuynh hướng khối u đã lớn, có thể sờ thấy, u có độ mô học cao và ở giai đoạn bệnh muộn hơn so với khối u không rõ về đại thể là những khối u nhỏ, không thể sờ thấy (thường nhỏ hơn 5mm), thường ở giai đoạn bệnh sớm hơn và độ mô học thấp hơn [5], [11]. Một số khối u lớn, xâm nhiễn lan tỏa, có thể không có biểu hiện về đại thể. Các nguyên nhân dẫn đến chẩn đoán dương tính giả bao gồm: các ổ teo đét tuyến hòa nhập vào nhau, các ổ nhồi máu cũ, các ổ tăng sản mô đệm, các ổ viêm TTL dạng hạt [27], [28].

*1.2.1.2. Đặc điểm vi thể ung thư tuyến tiền liệt*

Đại đa số UTTTL là ung thư biểu mô, số còn lại gồm có: các khối u thần kinh nội tiết, các khối u trung mô ác tính, các khối u tạo máu, các khối u ác tính hiếm gặp và các khối u do di căn. Mỗi loại khối u kể trên có những tiêu chuẩn mô bệnh học đặc trưng cho chúng. Đối với ung thư biểu mô tuyến nang của tuyến tiền liệt, các tiêu chuẩn mô bệnh học để chẩn đoán do WHO (2004) đưa ra được trình bày tóm tắt ở bảng 2.1.

*1.2.1.3. Ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nguyên phát*

Ung thư biểu mô TTL nguyên phát bao gồm 4 típ mô bệnh học, đó là: UTBM tuyến, UTBM đường niệu, UTBM tế bào vảy và UTBM tế bào đáy, nhưng hầu hết hay gặp là UTBM tuyến [26], [29].

\* Ung thư biểu mô tuyến: UTBM tuyến là khối u ác tính xâm nhập của các tế bào chế tiết TTL. UTBM tuyến gồm có UTBM tuyến nang và UTBM tuyến ống, nhưng UTBM tuyến nang là chủ yếu, còn UTBM tuyến ống rất ít gặp. Biến thể mô học hay gặp nhất của UTBM tuyến là biến thể tuyến nang thông thường. Các biến thể ít gặp bao gồm: thể teo đét, thể giả tăng sản, thể tuyến bọt, thể tế bào nhẫn, thể dạng chất keo/nhày, thể tế bào ưa axít, thể giống u limphô biểu mô và thể dạng sacôm, các biến thể này thường phối hợp với biến thể tuyến nang thông thường. Tuy nhiên, trong một số mẫu mô sinh thiết cắt bỏ toàn bộ TTL có thể thấy hình thái học đặc trưng của riêng một biến thể.

- Ung thư biểu mô tuyến nang:

Ung thư biểu mô tuyến nang được xếp loại từ biệt hóa cao (biệt hóa rõ) là loại thường gây ra nhiều khó khăn cho việc phân biệt với các tổn thương lành tính của TTL, cho tới biệt hóa thấp (kém biệt hóa) là loại khó nhận ra nguồn gốc của ung thư. Đặc điểm chung đối với hầu hết các tuyến ung thư là chúng được lót bởi một lớp tế bào biểu mô và không có lớp tế bào đáy. Trong khi đó, các tuyến lành tính có lớp tế bào đáy nằm bên dưới tế bào chế tiết. Tuy nhiên, sự nhận ra các tế bào đáy trong các lát cắt mô học nhuộm H.E không phải dễ dàng, ngay cả trong các trường hợp ung thư đã rõ rệt thì vẫn có những tế bào giống tế bào đáy. Khi nhuộm HMMD với các kháng thể đặc hiệu cho tế bào đáy, những tế bào này không phản ứng, đó là những tế bào xơ nằm sát với các tuyến ung thư. Ngược lại, các tế bào đáy cũng không dễ dàng nhận ra trong các tuyến lành tính, nếu không sử dụng các nghiên cứu đặc biệt. Chẩn đoán mô bệnh học UTBM tuyến của TTL và phân biệt UTBM tuyến của TTL với các tuyến lành tính chủ yếu phải dựa vào đặc điểm cấu trúc tổ chức, đặc điểm nhân và bào tương của tế bào, đặc điểm các chất chứa trong lòng tuyến.

Trong UTBM tuyến của TTL, ngoài sự xâm lấn ra bên ngoài TTL, có 3 đặc điểm đặc trưng để chẩn đoán quyết định ung thư, đó là: tế bào u xâm nhập dây thần kinh, u tăng sinh xơ-nhày và cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận. Còn các hình ảnh khác cũng có thể thấy trong các tổn thương lành tính của TTL [11], [30].

- Ung thư biểu mô tuyến ống:

Ung thư biểu mô tuyến ống là một thể của ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt. Cấu trúc u gồm các ống tuyến lớn được lót bởi các tế bào biểu mô hình trụ cao sắp xếp giả tầng giống như ung thư nội mạc tử cung, bào tương tế bào u thường có hai màu sắc, đôi khi có thể sáng màu. Trong nhiều trường hợp có thể thấy có nhiều hình nhân chia và sự mất điển hình của nhân rất rõ, một số trường hợp khác sự mất điển hình của nhân lại không rõ khiến cho chẩn đoán MBH gặp nhiều khó khăn, đặc biệt là trong mẫu mô sinh thiết kim. UTBM tuyến ống cũng có sự đa dạng về mẫu cấu trúc và thường kết hợp với nhau đó là: cấu trúc dạng nhú, dạng sàng, dạng đặc. Hầu hết, UTBM tuyến ống được phân độ mô học tương đương Gleason độ 4, trong một số trường hợp nếu có hoại tử dạng trứng cá thì chúng có thể được phân độ tương đương Gleason độ 5.

\* Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát của TTL

Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát của TTL thường nằm trong các ống dẫn đoạn gần của TTL, chúng được cho là phát sinh từ sự tăng sản, loạn sản biểu mô vùng chuyển tiếp giữa niệu đạo và các ống dẫn đoạn gần của TTL hoặc có thể phát sinh từ biểu mô đường niệu dự trữ.

Về mô bệnh học, chỉ một số ít trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL có cấu trúc nhú, còn lại chủ yếu là UTBM đường niệu kém biệt hóa kết hợp với ung thư đường niệu tại chỗ. Thành phần UTBM đường niệu tại chỗ có hình ảnh mô học đặc trưng giống như UTBM đường niệu tại chỗ ở bàng quang và niệu đạo, với sự đa hình thái về nhân tế bào rất rõ và có nhiều nhân chia. UTBM đường niệu nguyên phát của TTL có một hình ảnh rất đặc trưng, đó là có các tế bào u giống tế bào Paget phát triển lan vào giữa lớp tế bào đáy và tế bào chế tiết của nang tuyến hoặc ống tuyến của TTL. Đối với UTBM đường niệu nguyên phát của TTL xâm nhập và lan rộng thì các ống dẫn của TTL bị giãn ra và lấp đầy các tế bào u, thường có hoại tử dạng trứng cá ở vùng trung tâm các đám tế bào u. Khi các tế bào u xâm lấn vào mô đệm, chúng thường sắp xếp thành từng ổ nhỏ không đều hoặc thành từng dây, từng dải, đôi khi chúng là các tế bào đơn lẻ và phản ứng xơ hóa của mô đệm rất rõ rệt. Đồng thời, sự biệt hóa biểu mô vảy hoặc tuyến của tế bào u có thể quan sát thấy và u xâm nhập vào mạch máu cũng thường được nhận ra. Đối với UTBM đường niệu tại chỗ của TTL, phản ứng viêm ở mô đệm rất hay gặp và không có xơ hóa.

Trong trường hợp UTBM đường niệu kém biệt hóa ở bàng quang xâm lấn trực tiếp vào TTL thì cần phải phân biệt với UTBM TTL kém biệt hóa. Đối với UTBM đường niệu kém biệt hóa, sự đa hình thái về nhân tế bào và hoạt động nhân chia nhiều hơn so với UTBM TTL kém biệt hóa [10], [11]. Trong UTBM đường niệu kém biệt hóa, bào tương tế bào có khuynh hướng ưa axít hoặc có sự biệt hóa biểu mô vảy. Trái ngược lại, UTBM TTL kém biệt hóa thì bào tương u lại có các bọng bọt và nhạt màu. Trong UTBM đường niệu kém biệt hóa, các tế bào u có khuynh hướng sắp xếp thành từng ổ, trái lại, trong UTBM TTL kém biệt hóa các tế bào u có khuynh hướng sắp xếp thành từng dải hoặc biệt hóa thành dạng tuyến hoặc hình sàng [17], [20].

\* Ung thư biểu mô tế bào vảy

Đây là loại u rất hiếm gặp, bao gồm:

- Ung thư biểu mô tuyến - vảy: cấu trúc u gồm các ống tuyến, nhưng một số tế bào biểu mô tuyến lại có sự biệt hóa tế bào vảy rất rõ rệt. Nhuộm hóa mô miễn dịch (HMMD), thành phần biểu mô tuyến bộc lộ PSA (prostate specific antigen: kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt). Trái lại, thành phần biệt hoá tế bào vảy không bộc lộ PSA, nhưng lại bộc lộ cytokeratin (CK) trọng lượng phân tử cao.

- Ung thư biểu mô tế bào vảy: cấu trúc u gồm các tế bào hình đa diện có cầu nối gian bào và chất keratin. Nhuộm HMMD, hầu hết các tế bào vảy không bộc lộ PSA. UTBM tế bào vảy nguyên phát của TTL phải được phân biệt dựa vào lâm sàng với UTBM tế bào vảy ở niệu đạo hoặc ở bàng quang lan vào TTL và cũng phải phân biệt với dị sản tế bào vảy trong các ổ nhồi máu hoặc sau điều trị bằng hocmôn.

\* Ung thư biểu mô tế bào đáy

Cấu trúc u gồm các đám hoặc các ổ tế bào có nhân hình tròn hoặc có góc, chất nhiễm sắc mịn, bào tương hẹp, nhạt màu. Các tế bào sắp xếp song song theo hình cọc rào (hình song cửa sổ) và rất hay bị hoại tử. Các tiêu chuẩn mô học để chẩn đoán sự ác tính bao gồm: tế bào u xâm nhập vào mô đệm của TTL, tế bào u xâm lấn ra bên ngoài TTL, tế bào u xâm nhập dây thần kinh trong TTL, hình ảnh hoại tử và xơ hóa mô đệm. Nhuộm HMMD, tế bào u không bộc lộ PSA, nhưng lại bộc lộ cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34betaE12 (CK34βE12) và p63.

*1.2.1.4. Các khối u do di căn*

Các khối u thứ phát gây tổn thương TTL, bao gồm: các di căn từ bên ngoài vào TTL qua đường máu hoặc xâm lấn TTL từ các ung thư ở vùng khung chậu. Các di căn ung thư từ phổi, da, dạ dày, ruột, thận, tinh hoàn và các tuyến nội tiết vào TTL cũng đã được thông báo. Bệnh cảnh lâm sàng, hình ảnh MBH và sự xác định bằng nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA rất có giá trị cho chẩn đoán phân biệt.

1.2.2. Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt

Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt (prostatic intraepithelial neoplasia: PIN) được định nghĩa là sự chuyển dạng ác tính của các tế bào biểu mô nang tuyến và ống tuyến của TTL, nhưng quá trình chuyển dạng còn giới hạn trong lớp biểu mô, vì vậy gọi là tân sản nội biểu mô.

Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt được chia thành 2 loại, đó là: tân sản nội biểu mô độ thấp (trước đây là PIN I) và tân sản nội biểu mô độ cao (trước đây là PIN II và PIN III). Phân biệt giữa PIN độ thấp và PIN độ cao chủ yếu phải dựa vào mức độ bất thường về nhân và kiến trúc của tế bào.

Đặc điểm vi thể của PIN độ thấp:

Trong PIN độ thấp, biểu mô lót các nang tuyến và ống tuyến tăng sinh chồng chất lên nhau, khoảng cách giữa các tế bào không đều, nhân tế bào có thể lớn hơn bình thường một chút ít và không đều. PIN độ thấp rất khó phân biệt với tuyến bình thường hoặc tuyến tăng sản biểu mô, đặc biệt là trong các trường hợp tăng sản tế bào đáy hoặc dị sản tế bào chuyển tiếp.

Đặc điểm vi thể của PIN độ cao:

Trong PIN độ cao, bào tương biểu mô lót các nang tuyến hoặc ống tuyến thường ưa kiềm hoặc có 2 màu sắc. Nhân tế bào có kích thước lớn, đậm màu, chất nhiễm sắc phân bố không đều, màng nhân dày, hạt nhân lớn. PIN độ cao gồm có 4 mẫu cấu trúc, đó là:

+ Dạng hình chùm là do từng nhóm tế bào chế tiết của nang tuyến và ống tuyến tăng sản thành nhiều hàng nhô vào trong lòng tuyến nang.

+ Dạng vi nhú là do các tế bào chế tiết tạo thành cấu trúc nhú nhô vào trong lòng tuyến nang, độ cao của các vi nhú có thể rất khác nhau, các nhú thường không có trục liên kết mạch máu.

+ Dạng hình mặt sàng là một phức hợp tăng sinh nội ống tạo ra nhiều khoảng trống giống như mặt sàng hay giống như những ống tuyến nhưng không có mô liên kết đệm chống đỡ.

+ Dạng dẹt hay dạng phẳng là dạng rất hiếm gặp, kích thước tuyến nhỏ, biểu mô lót các nang và ống tuyến chỉ có khoảng 1 hoặc 2 lớp tế bào chế tiết mang đầy đủ đặc tính bất thường của PIN độ cao.

Những đặc điểm khác của PIN độ cao: lớp tế bào đáy của nang tuyến và ống tuyến có PIN độ cao được phát hiện ngay cả trên những tiêu bản nhuộm H.E, mặc dù lớp tế bào đáy thường xuyên bị gián đoạn ở nhiều mức độ khác nhau. Ngược lại, trong UTBM thì lớp tế bào đáy bị mất hoàn toàn. Nhuộm HMMD với kháng thể kháng cytokeratin trọng lượng phân tử cao và p63 giúp ích cho việc nhận ra tế bào đáy, trong trường hợp dù chỉ còn vài tế bào đáy sót lại ở các nang tuyến hoặc ống tuyến.

Các biến thể mô học của PIN độ cao bao gồm: biến thể tế bào nhẫn, tế bào chế nhày, tế bào có bọt, tế bào sắp xếp đảo ngược (inverted cell), tế bào thần kinh nội tiết và biến thể ung thư nội ống [11], [30], [31].

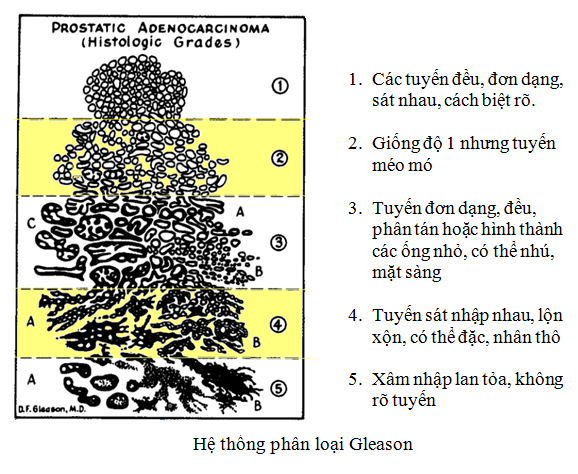
1.2.3. Phân độ mô học ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt

Đã có nhiều hệ thống phân độ mô học (ĐMH) cho UTBM tuyến của TTL được đưa ra. Nhưng các tranh luận chủ yếu vẫn là có nên phân độ dựa theo sự biệt hóa tuyến đơn thuần, hay là kết hợp biệt hóa tuyến với sự mất điển hình của nhân tế bào, hoặc có nên phân độ theo mẫu mô học biệt hóa cao nhất hay là mẫu mô học biệt hóa thấp nhất?.

Hệ thống phân độ Gleason do Donal F. Gleason và cộng sự đưa ra năm 1966, đến năm 1993 được WHO giới thiệu làm hệ thống phân độ cho ung thư biểu mô tuyến của TTL. Ngày nay, hệ thống phân độ này được ưa chuộng nhất đối với UTBM tuyến của TTL [26], [30].

Hệ thống phân độ Gleason chỉ dựa vào cấu trúc tuyến ung thư (sự mất điển hình của nhân tế bào không được đánh giá) và chủ yếu quan sát ở độ phóng đại thấp và trung bình (40 lần và 100 lần). Hệ thống phân độ này rất phù hợp với tính chất đa hình thái, đa cấu trúc UTBM tuyến của TTL. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định hệ thống phân độ Gleason rất có giá trị trong tiên lượng, định hướng điều trị, cũng như đánh giá nguy cơ tái phát sau cắt toàn bộ TTL hoặc sau xạ trị UTTTL [11], [32].

Hệ thống phân độ Gleason được Donal F. Gleason đưa ra dưới dạng biểu đồ ở hình 1.4.



**Độ mô học UTBM tuyến**

Hình 1.4. Biểu đồ hệ thống phân độ Gleason

Nguồn: Theo Eble. J. N. và cộng sự (2004) [11].

Hệ thống phân độ Gleason chia UTBM tuyến thành 5 độ. Trong đó, Gleason độ 1 là ung thư có độ biệt hoá cao nhất, Gleason độ 5 là ung thư có độ biệt hoá thấp nhất [11], [24], [30].

Do có nhiều ĐMH trên cùng một khối u, vì vậy, người ta chỉ chú ý đến 2 mẫu chiếm ưu thế, trong đó mẫu mô học thứ nhất (mẫu nguyên phát) chiếm diện tích nhiều nhất và mẫu mô học thứ hai (mẫu thứ phát) chiếm diện tích nhiều thứ nhì (với điều kiện mẫu chiếm diện tích nhiều thứ nhì phải chiếm trên 5% diện tích của tổng u). Tổng của mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai chính là điểm Gleason của khối u. Trong tổng này, mẫu thứ nhất bao giờ cũng đặt trước mẫu thứ hai, ví dụ: khi điểm Gleason được viết là 2+5 =7, có nghĩa là TTL bị ung thư này cùng tồn tại cả hai mẫu, mẫu thứ nhất có ĐMH là 2 (biệt hóa cao), mẫu thứ hai có ĐMH là 5 (biệt hóa thấp), nhưng mẫu độ 2 chiếm ưu thế hơn và điểm Gleason của khối u là 7 điểm. Trường hợp điểm Gleason được viết là 5+2=7, tuy có cùng tổng số là 7 điểm, nhưng mẫu độ 5 chiếm ưu thế hơn mẫu độ 2.

Nếu khối u chỉ có duy nhất một mẫu mô học, điểm Gleason sẽ được tính bằng cách gấp đôi ĐMH của mẫu đó, ví dụ 2+2 = 4. Với cách tính này, điểm Gleason sẽ dao động từ l+l = 2 (biệt hóa cao nhất) đến 5+5 = 10 (biệt hoá thấp nhất).

Trong trường hợp mô u có trên 3 mẫu mô học khác nhau, mẫu thứ nhất vẫn là mẫu có diện tích lớn nhất, mẫu thứ hai sẽ là mẫu có ĐMH cao nhất, ví dụ: khối u có 3 ĐMH phân bố trên 3 vùng có diện tích khác nhau, theo thứ tự vùng độ 2 chiếm 60% diện tích, vùng độ 3 chiếm 30%, vùng độ 5 chiếm 10%, lúc này điểm Gleason sẽ được ghi là 2+5=7 [26].

Các ưu điểm của hệ thống phân độ Gleason:

- Mô u được nhận dạng theo mức độ biệt hóa của các nang tuyến.

- Cách nhận dạng được vẽ đơn giản, dễ hiểu, dễ áp dụng và chuẩn hóa.

- Cung cấp nhiều thông tin khách quan về khả năng lan tràn, di căn, khả năng đáp ứng của u với điều trị cũng như tiên lượng bệnh [24], [33].

- Cung cấp thông tin về tính không đồng nhất của mô u, thông qua mẫu mô học thứ nhất và mẫu mô học thứ hai [34], [35].

Tùy thuộc vào điểm Gleason, có thể chia UTBM TTL thành các nhóm điểm khác nhau. (bảng 1.5).

Bảng 1.5. Phân nhóm điểm Gleason

|  |  |
| --- | --- |
| **Điểm Gleason** | **Độ biệt hóa** |
| 2 – 4 | Cao |
| 5 – 7 | Vừa |
| 8 – 10 | Thấp |

*Nguồn: Theo Damjanov I. và cộng sự (2007)* [36].

Tuy nhiên, một số tác giả chứng minh rằng u có điểm Gleason là 7 điểm thì ác tính hơn u có điểm Gleason 5 và 6 điểm. Do đó, các tác giả đề nghị tách nhóm u có điểm Gleason 5 - 7 thành nhóm u có điểm Gleason 5 - 6 và nhóm u có điểm Gleason 7 điểm [3], [37]. Năm 2014, Hội nghị đồng thuận ISUP (International Society of Urology Pathology: ISUP) về phân độ Gleason đã giới thiệu phân nhóm độ UTBM TTL [12], [38], [39]. (bảng 1.6).

Bảng 1.6. Phân nhóm độ của hội nghị đồng thuận ISUP (2014)

|  |  |
| --- | --- |
| Nhóm độ 1 | Điểm Gleason < 6 |
| Nhóm độ 2 | Điểm Gleason 3+4= 7 |
| Nhóm độ 3 | Điểm Gleason 4+3=7 |
| Nhóm độ 4 | Điểm Gleason 4+4=8, 3+5=8, 5+3=8 |
| Nhóm độ 5 | Điểm Gleason 9-10 |

*Nguồn: Theo Humphrey và cộng sự (2016)* [39].

1.3. Xâm lấn và di căn của ung thư tuyến tiền liệt

1.3.1. Xâm lấn tại chỗ

Khối u ở vùng chuyển tiếp thường xâm lấn về vùng phía trước của TTL, trong khi khối u ở vùng ngoại vi thường xâm lấn ra vùng sau - bên của TTL và phát triển lan rộng vào tổ chức xung quanh TTL, dọc theo các sợi thần kinh và vùng vỏ bao của TTL.

Đối với những u ở giai đoạn muộn, kích thước u lớn, tế bào u thường xâm lấn ra ngoài TTL, xâm lấn vào cổ bàng quang gây tắc nghẽn đường tiểu. Tế bào u xâm lấn vào túi tinh có thể là trực tiếp hoặc lan rộng theo ống phóng tinh, theo đường mạch máu và đường bạch huyết [11], [26].

1.3.2. Di căn

Ung thư tuyến tiền liệt cho di căn khi tế bào ung thư xâm nhập vào mạch bạch huyết và mạch máu. Vị trí di căn thường gặp nhất là hạch limphô vùng, hạch vùng bịt và hạch vùng hạ vị thường bị di căn đầu tiên, sau đó mới đến các hạch chậu, hạch trước xương cùng cụt... Di căn hạch có thể xảy ra trước di căn xương. Một số trường hợp, hạch vùng quanh TTL và quanh túi tinh là vị trí di căn đầu tiên. Xương cũng là vị trí hay gặp di căn UTTTL, theo thứ tự giảm dần như sau: xương chậu, cột sống, thắt lưng, xương sườn, xương đùi, xương sọ... Các ổ di căn ở xương, có thể làm tiêu xương hoặc tạo xương. Di căn đến các tạng như gan, phổi thường hiếm gặp, nhưng ở giai đoạn cuối thì di căn đến các tạng lại rất thường gặp [26], [29].

1.4. Hoá mô miễn dịch và ứng dụng trong ung thư tuyến tiền liệt

1.4.1. Khái niệm về hóa mô miễn dịch

Hóa mô miễn dịch là kết hợp phản ứng miễn dịch và hóa chất để làm hiện rõ các kháng nguyên hiện diện trong mô (màng, bào tương và nhân tế bào). Vì kháng nguyên không thể quan sát hình thái được, cho nên người ta phải xác định vị trí của nó trên tế bào bằng các phản ứng miễn dịch và hóa học.

Nguyên tắc: ủ KT đặc hiệu với KN cần xác định (trên lát cắt mô), nếu có mặt KN sẽ có phản ứng KN - KT, có thể quan sát được bằng cách “đánh dấu” phân tử KT đặc hiệu.

+ Đánh dấu bằng chất huỳnh quang, có thể quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang.

+ Đánh dấu bằng enzym: khi bổ sung cơ chất tạo màu tương ứng với enzym, sẽ giúp “nhuộm màu” KN cần xác định, nhờ đó có thể quan sát được KN dưới kính hiển vi quang học.

Trong kỹ thuật HMMD, KN là những phân tử protein cần xác định trên lát cắt mô (có thể là protein màng tế bào, bào tương hoặc nhân tế bào). KT (đặc hiệu với KN cần xác định) được sử dụng làm thuốc thử. Có thể sử dụng duy nhất một KT được đánh dấu hoặc sử dụng hai KT, trong đó KT thứ nhất đặc hiệu với KN cần xác định, KT thứ hai đặc hiệu với KT thứ nhất, sử dụng làm KT phát hiện được “đánh dấu” bằng enzym, chất huỳnh quang. Phần lớn các KT được dùnglà IgG, tiếp đến là IgM. KT tiếp xúc trực tiếp với KN gọi là KT thứ nhất. Tuỳ theo cách sản xuất, có hai loại KT:

+ Kháng thể đa dòng: KT đa dòng được sản xuất bằng việc gây miễn dịch cho động vật với KN đặc hiệu. Động vật đáp ứng miễn dịch và tạo ra kháng huyết thanh, bao gồm nhiều kháng thể đặc hiệu (với các QĐKN khác nhau trên phân tử KN) và không đặc hiệu, sau đó, các KT ngoài ý muốn bị loại bỏ. KT đa dòng dễ sản xuất và nhạy hơn KT đơn dòng, tuy nhiên cũng có một số bất lợi như: KT đa dòng có thể chứa các KT phản ứng không đặc hiệu với các KN và kháng thể đa dòng có khuynh hướng nhuộm nền cao.

+ Kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody): đặc hiệu với một QĐKN duy nhất, vì vậy có tính đặc hiệu cao, ít hoặc không có phản ứng chéo.

Phản ứng KN – KT: sự tương tác KN – KT là liên kết không đồng hóa trị, phụ thuộc rất nhiều vào cấu trúc không gian ba chiều của vị trí tương tác trên cả phân tử KN và KT. Sự tương tác dựa vào liên kết hydro, liên kết tĩnh điện, lực liên kết Vander Waals và sự kị nước từ các nhóm không cùng cực. Lực liên kết quyết định ái lực của các KT với KN. Các KT của một quyết định kháng nguyên giống nhau có thể có cấu trúc khác nhau do vậy có ái lực khác nhau.

Các chất đánh dấu: là chất dùng để phát hiện phức hợp KN - KT bằng mắt thường. Chất đánh dấu có thể được gắn với các chất khác (kháng thể hoặc protein A), hoặc nó có thể tạo thành một phức hợp với các KT được đánh dấu. Tác động của một chất đánh dấu đến các đặc tính liên kết của protein mà nó sẽ kết nối phải được xem xét trước khi sử dụng.

+ Kháng thể: các KT không gắn kết có thể được phát hiện.

+ Thuốc nhuộm: chất màu đầu tiên dùng để gắn với kháng thể là thuốc nhuộm, nhưng phức hợp kháng thể – thuốc nhuộm này có độ nhạy thấp. Nếu có trên 10 phân tử thuốc nhuộm gắn với 1 phân tử kháng thể sẽ làm thay đổi phản ứng miễn dịch.

+ Các hợp chất huỳnh quang: các chất này khi bị kích thích bởi ánh sáng sẽ phát ra ánh sáng ở các bước sóng đặc trưng cho các hợp chất huỳnh quang được sử dụng.

+ Các enzym: peroxidase là một protein có trọng lượng 40 kD, đây là một enzym được sử dụng là chất đánh dấu rộng rãi nhất. Trước khi phát hiện ra phương pháp ABC (Avidin- Biotin Complex), các kháng thể gắn peroxidase được tạo ra bởi liên kết hóa trị của peroxidase với KT ở nhóm aldehyde của vỏ carbohydrate của enzym. Peroxidase được phát hiện bởi nó có khả năng khử H2O2 thành nước khi có sự hiện diện của các điện tử được cung cấp. Một số hợp chất được sử dụng để hiện màu với peroxidase là diaminobenzidine, 3-amino-9-ethylcarbazole.

Hệ thống ABC (Avidin-Biotin Complex)

+ KT phát hiện: gắn biotin

+ Phân tử đánh dấu không gắn trực tiếp lên KT phát hiện, thay vào đó, phân tử đánh dấu (thường là enzym) được gắn sẵn với avidin (streptavidin). Sau khi ủ mẫu mô với KT phát hiện và rửa tiêu bản, enzym gắn avidin sẽ được phủ lên lát cắt mô. Do ái lực cao giữa biotin và avidin, phân tử enzym sẽ được cố định lên KT phát hiện. Bằng cách này, có thể làm tăng cường độ tín hiệu từ mẫu lát cắt mô, do một phân tử avidin có thể kết hợp với tối đa là 4 phân tử biotin.

Hệ thống phóng đại dấu hiệu nhận biết gồm một enzym, cơ chất và chất màu. Enzym phải được gắn với KT thứ hai bằng một phản ứng KN - KT hay bằng cầu nối hóa học (avidin và biotin). Cần thêm một cơ chất thích hợp với enzym và cuối cùng là chất màu được gắn lên để có thể thấy được sản phẩm, cho phép xác định sự hiện diện của KN trong mô dưới kính hiển vi quang học.

**Các kỹ thuật miễn dịch enzym:**

+ Miễn dịch enzym trực tiếp: KN (mô) kết hợp với KT có gắn enzym. 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 enzym gián tiếp: KN (mô) + KT thứ nhất + KT thứ hai có gắn enzym đồng thời kháng Ig loài của KT thứ nhất.

+ Kỹ thuật enzym – kháng enzym: KN (mô) + KT thứ nhất + KT thứ hai + KT thứ ba kháng enzym + enzym. Phương pháp này có tính đặc hiệu và nhạy hơn hai phương pháp ở trên.

+ Cầu nối biotin – streptavidin: KN (mô) + KT thứ nhất + KT thứ hai gắn biotin + streptavidin + peroxidase. Phương pháp này được sử dụng nhiều vì có tính nhạy và đặc hiệu cao. Avidin có ái lực mạnh với biotin và peroxidase làm cầu nối cho peroxidase gắn vào biotin (trên KT thứ hai). Một phân tử avidin có 4 vị trí gắn biotin nên hệ thống nhận biết được phóng đại lên 4 lần [40], [41].

1.4.2. Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán mô bệnh học

HMMD có thể xác định những đặc tính sau của mô:

+ Xác định nguồn gốc của những u không biệt hóa (nhiều loại u có nguồn gốc khác nhau nhưng có biểu hiện hình thái giống nhau).

+ Xác định ung thư biểu mô vi xâm nhập (trong ung thư biểu mô vi xâm nhập màng đáy bị phá hủy).

+ Xác định ung thư di căn thầm lặng (những ổ di căn ung thư nhỏ, khó phát hiện trên xét nghiệm mô học thường quy).

+ Xác định các kháng nguyên u, bao gồm:

* Kháng nguyên đặc hiệu của u (gồm các gen sinh u bị đột biến và các sản phẩm gen ức chế khối u).
* Thay đổi vị trí phân bố KN trên tế bào (vị trí phân bố KN trên tế bào bình thường khác với tế bào ác tính, đó là do gia tăng tích tụ KN và màng tế bào bị vùi vào bào tương).
* Thay đổi mức độ tăng hoặc giảm biểu hiện kháng nguyên trên tế bào (một số kháng nguyên gia tăng biểu hiện ở các tế bào ác tính, một số khác lại giảm biểu hiện, các kháng nguyên này kết hợp với chức năng biệt hóa của tế bào. Mặc dù nhiều khối u vẫn tiếp tục sản xuất ra các sản phẩm như tế bào bình thường và mất dần khi tế bào biệt hóa kém).
* Những biến đổi sinh hóa của KN.

+ Xác định yếu tố tiên lượng trong ung thư (các KN liên quan đến sự tăng sinh tế bào, đặc biệt là chỉ số phân bào và độ mô học của u).

+ Chẩn đoán u lành với u ác tính.

+ Dự đoán đáp ứng của u với điều trị [42], [43], [44].

Ứng dụng kỹ thuật HMMD trong chẩn đoán UTBM TTL:

Hầu hết UTBM TTL có thể được chẩn đoán bằng sử dụng các tiêu chuẩn mô bệnh học, bảo đảm phân loại phần lớn cho các típ và biến thể của UTBM TTL. Tuy nhiên, những khó khăn gặp phải trong quá trình chẩn đoán mô bệnh học bao gồm:

+ Một số tổn thương lành tính của TTL dễ nhầm với ác tính và ngược lại, một số tổn thương ác tính của TTL dễ nhầm là lành tính.

+ Những tổn thương nghi ngờ do di căn hoặc xâm lấn của ung thư từ nơi khác đến TTL.

+ Xác định típ và biến thể của UTBM TTL.

+ Những mẫu mô sinh thiết nhỏ, khó kết luận.

Trong những trường hợp trên, cần có các kỹ thuật như HMMD để hỗ trợ chẩn đoán. Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm xây dựng một bảng các KT thích hợp trong xét nghiệm HMMD đánh giá bệnh TTL [45], [46], [47]. Ở trong nước, phần lớn các nghiên cứu về UTBM TTL đề cập đến những đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm PSA huyết thanh và điều trị UTBM TTL. Việc nghiên cứu đánh giá sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch trong UTBM TTL chưa nhiều, chưa đầy đủ và hệ thống [48]. Chính vì vậy, chúng tôi lựa chọn một số dấu ấn miễn dịch như: kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt, cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34betaE12, p63, cytokeratin 7, cytokeratin 5/6, actin và tiến hành nhuộm HMMD để đánh giá sự bộc lộ các dấu ấn này trong UTBM TTL [11], [49], [50].

\* Kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt

Năm 1979, sau khi phát hiện ra kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (prostate specific antigen: PSA), PSA đã trở thành một dấu ấn miễn dịch rất hữu ích đối với các tổ chức TTL. PSA không có trong mô TTL trước tuổi dậy thì, đã nhiều công trình nghiên cứu sự phân bố PSA trong mô cũng như nồng độ của PSA trong huyết thanh và coi nó như là yếu tố dự báo UTBM TTL [51]. Các KT đơn dòng và đa dòng trực tiếp kháng lại kháng nguyên này, thường phản ứng rất mạnh và lan tỏa trong bào tương của các tế bào nang tuyến và ống tuyến ở tất cả các vùng của tổ chức TTL bình thường và TTL tăng sản. Các tế bào đáy, biểu mô của ống phóng tinh, túi tinh cũng như biểu mô đường niệu và biểu mô các ống quanh niệu đạo không bộc lộ PSA khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA. Do có tính đặc hiệu cao với TB biểu mô tuyến của TTL, PSA đã thể hiện là một dấu ấn rất hữu ích cho hầu hết các UTBM TTL [52].

Các nghiên cứu chỉ ra trong UTBM TTL, khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA cho thấy:

- Các tế bào biểu mô chế tiết thuộc tất cả các vùng của TTL (+) PSA.

- Các tế bào đáy âm tính (-) PSA.

- UTBM TTL nguyên phát và UTBM TTL di căn (+) PSA.

- Các tế bào biểu mô túi tinh, ống phóng tinh, biểu mô chuyển tiếp ở niệu đạo, các ống dẫn lớn quanh niệu đạo và UTBM đại tràng (-) PSA [11].

\* Cytokeratin 5/6

Cytokeratin 5/6(CK5/6) có trọng lượng phân tử cao (56 kD và 58 kD). Hầu hết UTBM tế bào vảy bộc lộ ưu thế cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 và CK5/6. Do đó, sử dụng kháng thể kháng CK5/6 sẽ giúp ích cho việc xác định các ổ dị sản tế bào vảy trong tăng sản TTL, các ổ biệt hóa tế bào vảy trong UTBM đường niệu biệt hóa kém, UTBM TTL loại tế bào vảy và di căn hoặc xâm lấn của UTBM tế bào vảy từ nơi khác vào TTL [49], [53].

Khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK5/6 cho thấy:

- UTBM tế bào vảy (+) CK5/6.

- Tế bào chế tiết TTL ác tính(+) CK5/6 (dưới 10% các trường hợp).

- U trung mô ác tính (+) CK5/6.

- UTBM đại - trực tràng (+) CK5/6 (dưới 10% các trường hợp)

\* Cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34betaE12

Cytokeratin dòng 34betaE12 (CK34βE12), đây là những cytokeratin có trọng lượng phân tử cao (từ 57 kD đến 66 kD) đã được sử dụng rộng rãi như là một dấu ấn miễn dịch đặc hiệu tế bào đáy. Các tế bào đáy và tế bào nang tuyến TTL có phản ứng miễn dịch với các CK trọng lượng phân tử thấp. Tuy nhiên, chỉ có các tế bào đáy là có phản ứng miễn dịch với các CK trọng lượng phân tử cao, do đó mà CK34βE12 được coi là dấu ấn đặc hiệu TB đáy. Biểu mô vảy và biểu mô đường niệu cũng có phản ứng miễn dịch với CK34βE12.

Trong UTBM TTL, sự không phân bố lớp tế bào đáy trong các tuyến nang là một hình ảnh rất quan trọng để chẩn đoán ung thư xâm nhập, khi các tế bào đáy có thể không rõ ràng khi nhuộm H.E. Nhuộm HMMD có thể trợ giúp phân biệt UTBM TTL xâm nhập với tăng sản nang tuyến nhỏ có cấu trúc giống như ung thư nhưng lại có sự phân bố lớp tế bào đáy. Tuy nhiên, trong teo đét tuyến, tăng sản sau teo đét, tăng sản tuyến mất điển hình, tăng sản tuyến xơ hóa và tế bào mất điển hình sau chiếu tia… các tế bào đáy có thể bị gián đoạn hoặc không thể chứng minh được ở một số các tuyến lành tính thì sự không phân bố lớp tế bào đáy trong các ổ nhỏ các nang tuyến không thể sử dụng đơn độc như là một tiêu chuẩn xác định cho sự ác tính. Hơn nữa, sự vắng mặt của lớp tế bào đáy chỉ hỗ trợ chẩn đoán ung thư xâm nhập trong các trường hợp tăng sản mà có biểu hiện nghi ngờ về tế bào hoặc có biểu hiện nghi ngờ về hình ảnh cấu trúc trên các tiêu bản nhuộm H.E. Trái lại, một số trường hợp UTBM TTL ở giai đoạn sớm, ung thư vi xâm nhập phát sinh trong sự phối hợp với PIN độ cao hay độc lập với PIN độ cao, có thể còn sót lại các tế bào đáy. Sự lan tràn trong lòng ống tuyến của ung thư xâm nhập và các ống tuyến lành tính bị tắc nghẽn bởi sự lan tràn của các tế bào u là cách giải thích khác cho các tế bào đáy còn sót lại. Trong UTBM TTL hiếm khi thấy các đám tế bào ung thư nằm rải rác mà những đám tế bào này có phản ứng miễn dịch với kháng thể kháng CK34βE12. Ngoài ra, sử dụng kháng thể kháng CK34βE12 còn đặc biệt giúp ích cho chẩn đoán các biến thể của UTBM TTL mà chúng có biểu hiện giống như lành tính [11], [53].

Khi nhuộm HMMD với KT kháng cytokeratin dòng 34βE12 cho thấy:

- Các TB chế tiết TTL lành tính và ác tính (-) CK34βE12.

- Các tế bào đáy TTL (+) CK34βE12.

- Biểu mô đường niệu (-) CK34βE12.

- Biểu mô vảy (+) CK34βE12.

Như vậy, sử dụng kháng thể kháng CK34βE12 đã giúp ích cho việc phân biệt giữa UTBM TTL với các tổn thương lành tính của TTL (một số tổn thương của TTL như: teo tuyến, tăng sản sau teo đét, u tuyến tế bào đáy và PIN…khi lớp tế bào đáy không thấy rõ trên kính hiển vi quang học). Để phân biệt các tổn thương lành tính nhưngcó đặc điểm mô học dễ nhầm với UTBM TTL, người ta đã sử dụng kháng thể kháng CK34βE12, nếu thấy lớp tế bào đáy và dấu ấn miễn dịch của chúng, dù liên tục hoặc là không liên tục thì đó là bằng chứng để khẳng định tính chất lành tính của tổn thương. Đối với các tổn thương như UTBM tuyến nang biến thể teo đét thì thực sự không còn tế bào đáy và dấu ấn CK34βE12 [11], [49], [54].

\* p63

p63 là một protein của nhân tế bào, được mã hóa bởi 1 gen nằm ở nhiễm sắc thể số 3q27-29, p63 là một thành viên của họ protein p53 (gen ức chế khối u) tham gia vào điều chỉnh tăng sinh và phát triển của các loại tế bào biểu mô như: biểu mô da, biểu mô cổ tử cung, biểu mô tuyến vú và biểu mô đường niệu dục. Kháng thể kháng p63 đặc hiệu với nhân của các tế bào đáy của tuyến tiền liệt. Vì vậy, kháng thể kháng p63 được dùng để chẩn đoán UTBM TTL cũng như dùng để phân biệt các tổn thương lành tính với tổn thương ác tính của TTL.

+ Nhuộm HMMD với kháng thể kháng p63 có những lợi thế như sau:

- Ít bị ảnh hưởng bởi các biến đổi của mẫu mô.

- Khi nghi ngờ tế bào đáy (-) CK34βE12.

- Dễ đọc kết quả, do cường độ bắt màu của nhân rất mạnh và ít khi bị nhuộm nền [55], [56].

+ Khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng p63 cho thấy:

- UTBM TTL (-) p63.

- TTL lành tính, ung thư đường niệu (+) p63.

- U tuyến tạo thận (-) p63.

- UTBM tế bào vảy (+) p63.

\* Cytokeratin 7

Cytokeratin7 **(**CK7) có trọng lượng phân tử 54 kD được mã hóa bởi gen *KRT7*. Cytokeratin7 phân bố rộng rãi trong các loại tế bào biểu mô đơn. Các nghiên cứu đã chứng minh mối liên quan giữa sự bộc lộ CK7 trong tế bào biểu mô bình thường và tế bào ung thư trong cùng một mô.

Khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK7 cho thấy:

- Tế bào chế tiết TTL lành tính và ác tính (-) CK7

- UTBM đường niệu và u tuyến tạo thận (+) CK7

- Biểu mô đường niệu (+) CK7.

- BM tế bào vảy và UTBM tế bào vảy (-) CK7.

- Ung thư nhày (-) hoặc (+) CK7.

- UTBM đạ i- trực tràng, dạ dày, ruột (-) CK7 [43], [44], [49].

\* Actin đặc trưng cơ

Actin là thành phần chính của khung tế bào. Sợi actin, mặc dù về siêu cấu trúc là thuần nhất, nhưng có tới 6 đồng phân. Các đồng phân của actin phân bố đặc trưng cho các mô khác nhau. Sử dụng kháng thể kháng actin đặc trưng cơ để nhận ra sợi actin của tế bào cơ trơn, cơ vân, nguyên bào xơ - cơ, tế bào cơ biểu mô. Như vậy, sử dụng KT kháng actin đặc trưng cơ để xác định các tế bào không phải là tế bào cơ như: tế bào nội mô mạch máu và tế bào của các tổ chức liên kết khác. Sử dụng kháng thể kháng actin đặc trưng cơ cũng giúp ích cho việc nhận ra các thành phần tế bào dạng cơ vân và các tế bào của các khối u phát sinh từ tổ chức không phải là cơ như: ung thư biểu mô, u sắc tố, u limphô…[11], [47], [49]. Nhuộm HMMD với kháng thể kháng actin đặc trưng cơ:

- Tế bào cơ trơn (+) actin.

- Tế bào đáy, tế bào xơ, tế bào trung mô (-) actin.

1.5. Methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư

1.5.1. Methyl hóa ADN

*1.5.1.1. Khái niệm về methyl hóa*

Methyl hóa ADN là hiện tượng gắn thêm gốc methyl vào nucleotide trên phân tử ADN. Thuật ngữ “di truyền ngoại gen” được hiểu là những thay đổi về kiểu hình nhưng không liên quan đến thay đổi trình tự ADN và được di truyền một cách ổn định từ thế hệ này sang thế hệ khác [57], [58], [59].

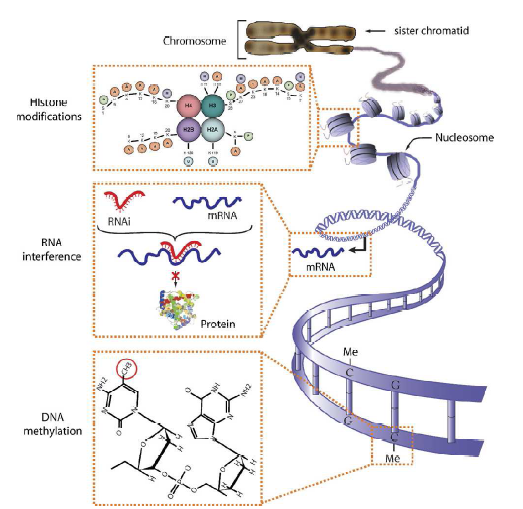
Ngoại di truyền bao gồm:

- Methyl hóa ADN

- Biến đổi ở phân tử histone

- Sự cản trở dịch mã ARN thông tin [52], [60], [61]. (hình 1.5).

Methyl hóa ADN bất thường trong ung thư gồm có: methyl hóa ADN dưới mức trong ung thư và methyl hóa ADN quá mức trong ung thư. Methyl hóa ADN dưới mức trong ung thư thường xảy ra tại các trình tự lặp lại, yếu tố vận động Alu ([Arthrobacter luteus](https://en.wikipedia.org/wiki/Arthrobacter_luteus)) hay LINE 1 (Long interspersed nuclear elements), vùng ADN vệ tinh gần tâm động. Quá trình này thúc đẩy sự vận động của các yếu tố di truyền, làm tăng khả năng sắp xếp lại gen và phát sinh khối u [62], [63]. Trong ung thư biểu mô tuyến nước bọt, phân tích 159 gen, Shao và cộng sự phát hiện 8 gen bị methyl hóa dưới mức bao gồm các gen: *AQP1*(*Aquaporin 1*), *CECR1*(*Cat eye syndrome critical region 1),C1QR1* (*Complement Component 1 Q Receptor 1*), *CTAG2* (*cancer-testis antigens 2*), *P53AIP1* (*Tumor Protein P53 Regulated Apoptosis Inducing Protein 1*), *TDRD12* ([*Tudor domain containing 12*](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799322/)), *BEX1* (*Brain-expressed X-linked 1*) và *DYNLT3* (*Dynein Light Chain Tctex-Type 3*). Mặt khác, methyl hóa dưới mức có vai trò trong ung thư bằng cách hoạt hóa các gen gây ung thư như *Cmyc* và *H-RAS* [64]. Năm 1986, methyl hóa quá mức gen *calcitonin* được phát hiện trong ung thư phổi tế bào nhỏ. Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng methyl hóa quá mức vùng promoter là cơ chế phổ biến gây bất hoạt các gen ức chế khối u. Gen *RASSF1A* và *p16* thường bị methyl hóa trong nhiều loại ung thư, một số gen chỉ methyl hóa đặc hiệu trong một loại ung thư. Hơn nữa mức độ methyl hóa của mỗi gen trong từng loại ung thư cũng khác nhau. Ví dụ như gen *RASSF1A* ít bị methyl hóa trong ung thư đại tràng nhưng bị methyl hóa cao trong ung thư tuyến tiền liệt***.***



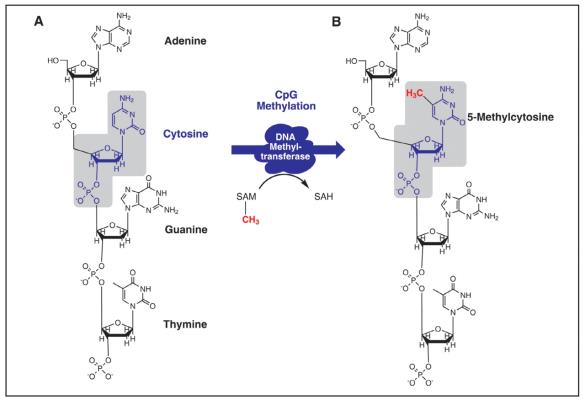
Hình 1.5. Sơ đồ biến đổi ngoại di truyền

Nguồn: Theo Agathanggelou A. và cộng sự (2005) [65].

*Ghi chú: DNA methylation: methyl hóa ADN; RNA interference: cản trở dịch mã ARN thông tin; Histone modifications: biến đổi histone; Chromosome: nhiễm sắc thể; Sister chromatid: nhiễm sắc thể chị em; Me: methyl hóa;* *mRNA: ARN thông tin; RNAi: cản trở dịch mã ARN.*

*1.5.1.2. Cơ chế của quá trình methyl hóa*

Hiện tượng methyl hóa ADN xảy ra ngay sau khi tổng hợp ADN, quá trình này được thực hiện dưới tác dụng của hệ enzym DNA methyltransferase (DNMT) chuyển nhóm methyl (-CH3) từ chất cung cấp là methyl S-adenosylmethionine (SAM) đến vị trí C5 của cytosine. Ở người, sự methyl hóa ADN được tìm thấy xuyên suốt bộ gen, nhóm -CH3 được bổ sung tại vị trí C5 của cytosine đứng trước guanine trong cặp dinucleotide CpG (cytosine pairs guanine: CpG). Trong các tế bào của người có khoảng 70% đến 80% cặp dinucleotide CpG bị methyl hóa [66], [67], [68], [69]. (hình 1.6).



Hình 1.6. Sơ đồ quá trình methyl hóa

Nguồn: Theo Maxwell A. và cộng sự (2015) [69].

*Ghi chú: CpG methylation: methyl hóa CpG; DNA methyl-transferase: enzym chuyển methyl hóa ADN.*

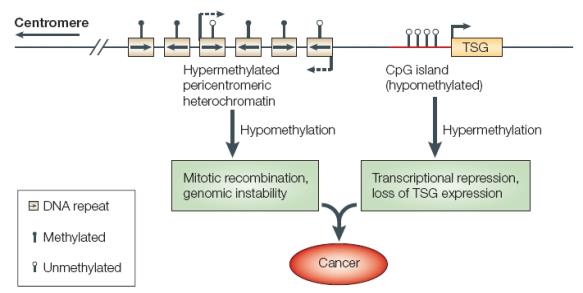
Methyl hóa ADN được thực bởi hai nhóm enzyme DNA methyltransferase (DNMT) là DNMT1 và DNMT3a, DNMT3b. Các enzym DNMT đóng một vai trò quan trọng trong cơ chế methyl hóa của cả tế bào bình thường và tế bào bệnh lý [62]. DNMT1 là enzym duy trì nhóm methyl cho sợi ADN sau khi tái bản, do đó duy trì trạng thái methyl hóa cho thế hệ sau. DNMT1 tương tác với một số protein như HDACs và HMTs tạo phức liên kết với CpG bị methyl hóa, từ đó hình thành hệ thống phức tạp điều hòa sự sắp xếp lại chất nhiễm sắc và mức độ biểu hiện gen. DNMT3a và 3b là các enzym methyl hóa ADN ở vị trí mới (de novo methylation). DNMT3b và DNMT1 duy trì mức độ methyl hóa gen ức chế khối u *p16INK4a* ở dòng tế bào ung thư đại trực tràng. Khi hoạt tính của hai enzym bị ức chế, mức độ methyl hóa gen này giảm tới 95%.

*1.5.1.3. Phân tích methyl hóa*

Methyl hóa ADN là một hiện tượng bình thường xảy ra trong quá trình phát triển của tế bào. Nó đóng vai trò then chốt trong việc kiểm soát các chu trình tế bào, sự phát triển của phôi, quá trình phiên mã, bất hoạt nhiễm sắc thể X và đánh dấu bộ gen. Tuy nhiên, khi sự methyl hóa bất thường xảy ra tại các *TSG* sẽ gây ra những biến đổi có thể dẫn đến ung thư. Hiện tượng methyl hóa bất thường của các gen này thường xuất hiện từ rất sớm trong quá trình phát sinh nhiều loại ung thư. Đồng thời, sự methyl hóa quá mức này cũng được tìm thấy phổ biến trong các mẫu mô ung thư giai đoạn đầu sau khi phẫu thuật cắt bỏ các khối u [66], [70], [71]. (hình 1.7).

Hiện tượng các *TSG* bị bất hoạt bởi ngoại di truyền đang được xem là một cơ chế rất quan trọng trong bệnh sinh ung thư, kể cả ung thư tuyến tiền liệt. Phương pháp tiếp cận để phát hiện gen bị methyl hóa có thể phân thành hai loại: phân tích từng cá thể gen và phân tích nhóm các gen. Để phân tích từng gen, các thông tin về những thay đổi di truyền trong bệnh ung thư như đột biến và mất biểu hiện gen tạo điều kiện thuận lợi cho việc xác định các gen đích. Sự im lặng của các gen này do quá trình methyl hóa được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp kỹ thuật đặc hiệu. Trong khi đó, phương pháp phân tích nhóm các gen sẽ hỗ trợ cho phép việc xác định rộng rãi các gen cùng bị methyl hóa trong từng loại ung thư [61], [72].

Nhiều mô hình đã được đề xuất cho phương pháp này [73]. Kỹ thuật RLGS (restriction landmark genomic scanning: RLGS) đã được giới thiệu trong "các mô hình *silico*" [74]. RLGS là sự kết hợp giữa kết quả thí nghiệm với hệ thống máy tính để phân tích các dữ liệu và đây cũng là một ví dụ điển hình cho sự kết hợp của mô hình nghiên cứu *in vitro* và *in silico*.



Hình 1.7. Methyl hóa ADN trong ung thư

Nguồn: Theo Robertson K.D. (2005) [75].

*Ghi chú:*

Centromere: tâm động.

Heterochromatin: chất dị nhiễm sắc.

Hypermethylated: tăng methyl hóa.

CpG island: đảo CpG.

Pericentromeric: vùng gần tâm động.

Hypomethylation: giảm methyl hóa.

Hypermethylation: tăng methyl hóa.

Mitotic recombination: tái tổ hợp trong tế bào soma.

Transcriptation repression: ức chế phiên mã.

Loss of *TSG* expression: mất biểu hiện gen ức chế khối u.

DNA repeat: trình tự ADN lặp lại.

Methylated: bị methyl hoá.

Unmethylated: không bị methyl hóa.

Cancer: ung thư.

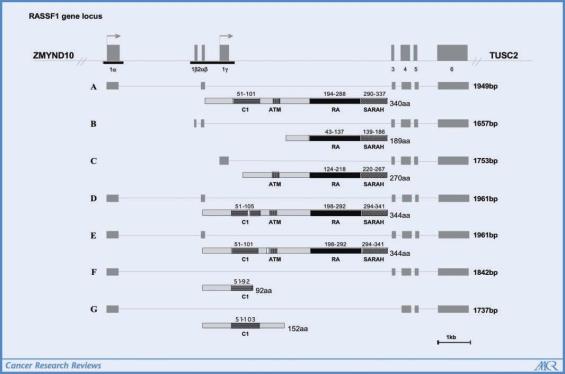
*TSG*: gen ức chế khối u.

1.5.2. Methyl hóa gen RASSF1A trong ung thư tuyến tiền liệt

*1.5.2.1. Cấu trúc và chức năng gen ức chế khối u RASSF1A*

Gen *RASSF1A* đã được chứng minh là một trong những gen bị methyl hóa nhiều nhất trong ung thư ở người. Gen *RASSF1A* nằm trong vùng 3p21.3 trên nhiễm sắc thể số 3 của bộ gen người [76], [77]. Locus gen *RASSF1A* dài khoảng 11.151 bp gồm 8 exon. Sử dụng promoter đặc hiệu và ghép nối thay thế tạo thành 7 dạng đồng phân là *RASSF1A, B, C, D, E, F, G.* Các dạng đồng phân A và C thường được biểu hiện, trong khi đồng phân B được biểu hiện chủ yếu ở các tế bào của hệ thống tạo máu. Đồng phân D và E được biểu hiện đặc hiệu trong các tế bào tim và tụy. Hai loại đồng phân này đều có cấu tạo giống với *RASSF1A* ngoại trừ sự khác biệt nhỏ ở vị trí kết nối được sử dụng trong các exon 2αβ *(RASSF1D)* và 3 *(RASSF1E)* cung cấp mỗi protein với 4 acid amin bổ sung. Hai vùng đảo CpG được kết nối với vùng promoter của *RASSF1*. Trong hai vùng thì vùng đảo nhỏ hơn (737 bp, 85 CpG, GC 71.5% và OE: 0.89) kéo dài vùng promoter của *RASSF1A (RASSF1D, RASSF1E, RASSF1F* và *RASSF1G)*. Đảo CpG thứ hai (1365 bp, 139 CpG, GC 67.9% và OE: 0.88) bao quanh các vùng promoter cho *RASSF1B* và *RASSF1C*. Toàn bộ exon đầu tiên của mỗi bản sao *RASSF1* được chứa trong các đảo CpG.

Gen *RASSF1A* và các đồng phân *RASSF1D-G* có một đầu N tận kinase C được bảo tồn vùng 1 (C1) là vùng được mã hóa bởi exon 1α và 1β, đây là một vùng gắn với diacylglycerol (DAG)/phorbol este để điều hòa hoạt tính kinase. Vùng SARAH có mặt ở đầu C tận, là vùng trung gian của tương tác kiểu dị giữa protein như Hpo/Sav và tương tác đồng kiểu như Mst1. Miền SARAH (Salvador-RASSF1A-Hippo) cần thiết cho sự tương tác của *RASSF1A* với các thành viên của con đường tín hiệu Hippo như các kinase 20-like (MST) ở động vật có vú. SARAH liên kết và kích hoạt cả MST1, MTS2, qua đó thúc đẩy quá trình chết theo chu trình. Vùng ATM là vị trí bị phosphoryl hóa khi tiếp xúc với các bức xạ ion hóa. Khi bị phosphoryl hóa, ATM có vai trò kích hoạt p73 gây chết tế bào và ngăn chặn hình thành các tế bào ung thư. Các vị trí đa hình tại ATM, đặc biệt là A133S đa hình trên gen *RASSF1A* phổ biến nhất được xác định. Những vị trí đa hình tại ATM có thể làm nhiễu loạn các đặc tính ức chế khối u của *RASSF1A* [59], [62], [78], [79]. Như vậy, bệnh nhân chứa các đa hình của tại ATM trên gen *RASSF1A* có thể đề kháng với hóa trị liệu dựa trên bức xạ. Một vùng Ras liên hợp hoặc vùng RalGDS/AF-6 được mã hóa bởi exon 4 và 5 chỉ rõ gen *RASSF1A* và được định vị tạo đầu C tận của các đồng phân A-E. Đây là vùng tương tác gián tiếp với Ras và các GTPase nhỏ khác. Vùng Ras liên hợp của RalGDS gồm 5 chuỗi gấp nếp β và 3 chuỗi xoắn α. Nó là liên kết disulfite đồng hóa trị được hình thành từ hai gốc –SH của cystein của mỗi monomer. (hình 1.8).



Hình 1.8. Sơ đồ các dạng đồng phân của locus gen *RASSF1*tại 3p21.3

Nguồn: Theo Kim G.H. và cộng sự (2011) [80].

Gen *RASSF1A* có vai trò trong điều chỉnh sự tăng sinh tế bào và điều chỉnh tế bào chết theo lập trình [65]. Mặc dù có sự tương tác không chính thức, nhưng gen *RASSF1* đã được quan tâm bởi vì nó được xếp trong mục 3p21.3 của ngân hàng gen. Mặt khác, gen *RASSF1* có tính tương đồng cao với một tác nhân Ras được biết đến trong chuột Nore I và biểu hiện của một trong những đồng phân của *RASSF1* là gen *RASSF1A* bị mất biểu hiện trong hầu hết các dòng tế bào ung thư phổi. Tăng methyl hóa promoter của gen *RASSF1A* tại CpG được xác định là nguyên nhân chính làm cho nó mất biểu hiện. Các tế bào khi được xử lý bằng các tác nhân gây khử methyl thì lại tái biểu hiện gen *RASSF1A*, điều này xác nhận vai trò của methyl hóa ADN trong quá trình bất hoạt gen *RASSF1A* ở các dòng tế bào ung thư. Sự tăng cường biểu hiện gen *RASSF1A* trong các tế bào ung thư phổi loại không phải tế bào nhỏ A549 đã làm giảm khả năng nhân lên và ức chế tăng trưởng của các tế bào khối u ở chuột nude mice cả trong *in vitro* và *in vivo* [65]. Trong ung thư phổi tế bào nhỏ quá trình tăng methyl hóa được phát hiện trong 76% khối u với sự mất cân bằng alen tại 3p21.3 [81]. Tương tự, quá trình methyl hóa gen *RASSF1A* đã được phát hiện trong 52% ung thư phổi loại không phải tế bào nhỏ, 72% ung thư bàng quang và 70% ung thư cổ tử cung với sự mất cân bằng alen tại 3p21.3 [82], [83].

Gen *RASSF1A* được xác định từ năm 2000, nhưng đến nay đã có hơn 150 nghiên cứu chứng minh quá trình methyl hóa bất thường gen *RASSF1A* xảy ra trong rất nhiều loại ung thư, ví dụ: ung thư tuyến tiền liệt [84], [85], ung thư hầu họng [86], [87], ung thư phổi [88], ung thư vú [89], ung thư thận [90], ung thư dạ dày [91], [92], ung thư cổ tử cung [93], ung thư buồng trứng [81], ung thư vùng đầu và cổ [94], ung thư bàng quang [70], [95], u hắc sắc tố ác tính [96], u limphô Hodgkin [97], ung thư đường mật, ung thư gan [65], [73], [98].

*1.5.2.2. Mối liên quan giữa quá trình methyl hóa gen RASSF1A và ung thư tuyến tiền liệt.*

Kể từ khi phát hiện ra gen *RASSF1A* bị bất hoạt trong ung thư phổi, nhiều kết quả nghiên cứu đã được công bố về biểu hiện của gen *RASSF1A* trong các bệnh ung thư, trong đó có ung thư tuyến tiền liệt [85], [99], [100]*.* Quá trình methyl hóa gen *RASSF1A* đã được phát hiện trong ít nhất 37 loại ung thư [65]. Các mô bình thường được sử dụng làm nhóm chứng trong phần lớn các nghiên cứu cho kết quả methyl hóa của gen *RASSF1A* âm tính. Kết quả này lại kết hợp với tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* dương tính cao trong các khối u ác tính đã khiến cho sự phát hiện methyl hóa bất thường gen *RASSF1A* có thể trở thành dấu chuẩn phân tử hỗ trợ chẩn đoán và tiên lượng ung thư [65], [101], [102]. Việc phát hiện quá trình methyl hóa ở những giai đoạn chưa di căn của ung thư vú và cả ở trong đờm của những bệnh nhân giai đoạn sớm của ung thư phổi đã nêu bật tầm quan trọng của gen *RASSF1A* trong chẩn đoán sớm ung thư [84]. Cụ thể, Tomizawa Y. và cộng sự (2002) chỉ ra những bệnh nhân ở giai đoạn 1 ung thư phổi dương tính với methyl hóa gen *RASSF1A* có tỷ lệ sống thêm thấp [78], [83].

Nhiều nghiên cứu chỉ ra có hơn 30 gen bị methyl hóa bất thường trong ung thư tuyến tiền liệt. Trong đó, methyl hóa gen *RASSF1A* chiếm từ 38% đến 90%. Đặc biệt, tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* chiếm tỷ lệ rất cao từ 70% đến 90% ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt tại một số vùng địa lý [38]. Kết quả nghiên cứu của Kawamoto K. và cộng sự (2007) [103] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL là 74% (97/131), trong tăng sản lành tính là 18,5% (12/65). Nghiên cứu của Kang và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL là 84% (31/37). Nghiên cứu methyl hóa gen *RASSF1A* ở dòng tế bào ung thư TTL trong *in vitro*, Kuzmin và cộng sự (2002), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88] cho biết tỷ lệ methyl hóa là 100% (11/11). Khi nghiên cứu 52 bệnh nhân UTBM TTL, Liu L. và cộng sự (2002) [104] đã thông báo tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* là 71% (37/52) với sự phân bố tỷ lệ methyl hóa trong UTBM TTL như sau: nhóm u có điểm Gleason 4-6 là 11/20 (55%), nhóm u điểm Gleason 7-10 là 25/30 (83%), nhóm u kém biệt hóa 5/5 (100%), nhóm khối u di căn 4/4 (100%).

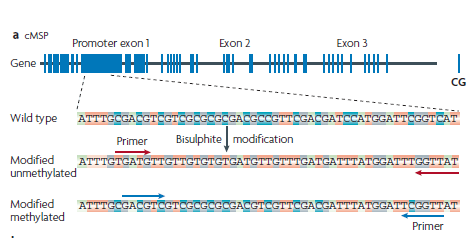
Bên cạnh gen *RASSF1A,* một số gen khác như *GSTP1, MDR1* cũng bị methyl hóa quá mức trong ung thư TTL. Gen *GSTP1* mã hóa enzym khử độc các gốc tự do giúp ngăn chặn sự phá hỏng ADN và quá trình oxi hóa các đại phân tử trong tế bào [105]. Chính vì có chức năng khử độc, gen *GSTP1* được xem là có liên quan tới tính kháng thuốc trong điều trị ung thư. Trong 24 nghiên cứu khác nhau trên 1027 bệnh nhân ung thư TTL cho thấy 85% có gen *GSTP1* bị methyl hóa. Enokida và cộng sự (2005) trích dẫn theo Vương Diệu Linh và cộng sự (2018) [38] nhận thấy bệnh nhân ung thư có mức độ methyl hóa gen *MDR1* cao gấp 4,9 lần so với bệnh nhân tăng sản lành tính TTL. Nhiều nghiên cứu cho thấy việc kết hợp phát hiện methyl hóa trên các gen góp phần tiên lượng tiến triển ung thư TTL và lựa chọn cách thức điều trị thích hợp.

Tại Việt Nam, nghiên cứu methyl hóa các gen liên quan đến ung thư còn rất mới. Đối với UTBM TTL, đến nay đã có một số nghiên cứu về hiện tượng methyl hóa gen *GSTP1* và gen *RASSF1A* trong ung thư TTL. Cụ thể, Vương Diệu Linh và cộng sự (2012) [106] phân tích 34 mẫu ung thư TTL và 28 mẫu tăng sản lành tính bằng kỹ thuật MSP, các tác giả nhận thấy: 19/34 (55,9%) mẫu ung thư TTL và 4/28 (14,3%) mẫu tăng sản lành tính bị methyl hóa gen *GSTP1.* Võ Thị Thương Lan và cộng sự (2016) [107] cho biết tỷ lệ methyl hóa ở gen *RASSF1A* trong UTBM TTL là 32,2%, trong tăng sản lành tính là 27%*.*

Như vậy, phân tích dấu chuẩn di truyền ngoại gen nói chung và dấu chuẩn methyl hóa gen *RASSF1A* nói riêng vẫn còn là một lĩnh vực mới bắt đầu ở Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã lựa chọn gen *RASSF1A* để phân tích dấu chuẩn methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM TTL.

*1.5.2.3. Phương pháp phát hiện methyl hóa*

Phương pháp MSP được Herman và cộng sự áp dụng đầu tiên vào năm 1996 để phân tích tình trạng methyl hóa gen *p16, E-cadhelin* trong dòng tế bào ung thư phổi và mẫu bệnh phẩm. Phương pháp này dựa trên sự khác biệt giữa các trình tự ADN bị methyl hóa và không bị methyl hóa sau khi xử lý ADN bằng dung dịch muối natribisulfite. Quá trình xử lý ADN bằng natribisulfite làm thay đổi trình tự ADN bằng cách chuyển đổi tất cả cytosine không bị methyl hóa thành thymine, trong khi những cytosine đã bị methyl hóa thì sẽ không thay đổi. Các mồi đặc hiệu sẽ được sử dụng để khuếch đại những vùng gen quan tâm bằng phản ứng chuỗi polymerase (polymerase chain reaction: PCR) [108], [109], [110], [111]. Trong phương pháp MSP, hệ gen ADN được xử lý với natribisulfite sẽ chuyển đổi cytosine không bị methyl hóa thành thimine, trong khi cytosine bị methyl hóa vẫn giữ nguyên làm cho trình tự có sự khác biệt giữa ADN bị methyl hóa và không bị methyl hóa. Kỹ thuật MSP sử dụng các cặp mồi đặc hiệu thiết kế dựa vào vùng giàu CpG cho phép phân biệt ADN bị methyl hóa với ADN không methyl hóa [112]. (hình 1.9).



Hình 1.9. Nguyên lý phương pháp MSP

Nguồn: Theo Andrés G. và cộng sự (2013) [112].

*Ghi chú: Promoter: vùng nhận biết tín hiệu kích hoạt gen; Wild type: kiểu ban đầu; Primer: mồi; Modification: biến đổi; modified unmethylated: biến đổi không bị methyl hóa; Modified methylated: biến đổi bị methyl hóa.*

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu xác định một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

*2.1.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn:*

84 mẫu mô TTL chứa ổ ung thư của 84 bệnh nhân UTBM TTL được phẫu thuật nội soi cắt khối u qua niệu đạo tại Bệnh viện Quân y 103 từ 6/2008 đến 7/2017. Tất cả các bệnh nhân này đều được chẩn đoán mô bệnh học (trên tiêu bản nhuộm H.E) là ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nguyên phát. Những bệnh nhân này có đầy đủ các tiêu chuẩn sau:

+ Có bệnh án quá trình điều trị tại khoa Ngoại Tiết niệu - Bệnh viện Quân y 103, có biên bản hội chẩn tiêu bản kèm theo phiếu trả lời kết quả mô bệnh học của khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

+ Tiêu bản nhuộm H.E có đủ các tiêu chuẩn mô bệnh học UTBM TTL (tiêu chuẩn cấu trúc mô và tế bào ung thư theo tiêu chuẩn của WHO năm 2004).

+ Khối mô TTL chứa ổ ung thư vùi trong paraffin đủ để cắt tiêu bản nhuộm H.E.

*2.1.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ:*

+ Các bệnh nhân không đủ tiêu chuẩn lựa chọn ở trên.

+ Bệnh nhân không phải là người Việt Nam.

+ Bệnh nhân mắc UTTTL thứ phát và có nhiều ung thư cùng lúc.

+ Bệnh nhân mắc UTTTL đã điều trị hóa chất hoặc xạ trị.

+ Bệnh nhân mắc UTTTL được phẫu thuật toàn bộ tuyến TTL (mổ theo đường trên xương mu).

2.1.2. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu hóa mô miễn dịch

*2.1.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn:*

+ Các bệnh nhân đã được xác định là UTBM tuyến của TTL bằng chẩn đoán mô bệnh học (trên tiêu bản H.E).

+ Khối mô TTL chứa ổ ung thư vùi trong paraffin còn đủ để cắt tiêu bản nhuộm HMMD và còn tính kháng nguyên khi nhuộm HMMD (dựa vào chứng âm và chứng dương).

*2.1.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ:*

Các bệnh nhân không đủ tiêu chuẩn lựa chọn ở trên.

*2.1.2.3. Nhuộm HMMD:*

+ 31 trường hợp UTBM tuyến nguyên phát của TTL.

+ 2 trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL.

Do ưu tiên cắt nhuộm H.E, khối mô TTL chứa ổ ung thư vùi trong paraffin đã hết dần và nhiều trường hợp không còn tính kháng nguyên. Vì vậy, chúng tôi chỉ lựa chọn được 33 trường hợp đủ tiêu chuẩn cho nhuộm HMMD.

2.1.3. Nhóm bệnh nhân được nghiên cứu methyl hóa gen RASSF1A

*2.1.3.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân UTBM tuyến của TTL:*

+ Các bệnh nhân đã được xác định là UTBM tuyến của TTL bằng chẩn đoán mô bệnh học (trên tiêu bản nhuộm H.E).

+ Khối mô TTL chứa ổ ung thư vùi trong paraffin của các bệnh nhân còn đủ cho xét nghiệm methyl hóa (ADN tổng số được tách chiết đảm bảo chất lượng và được xử lí hoàn toàn với bisulfite) .

+ Chọn 10 bệnh nhân (10 mẫu mô tăng sản lành tính TTL) làm xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A* để so sánh tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến với tăng sản lành tính TTL. Các bệnh nhân tăng sản lành tính TTL này có bệnh án điều trị tại khoa Ngoại Tiết niệu - Bệnh viện Quân y 103, có biên bản hội chẩn tiêu bản nhuộm H.E kèm theo phiếu trả lời kết quả mô bệnh học của khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103 là tăng sản lành tính TTL, đồng thời khối mô tăng sản TTL lành tính vùi trong paraffin đủ tiêu chuẩn cho xét nghiệm methyl hóa.

*2.1.3.2. Tiêu chuẩn loại trừ:*

+ Các bệnh nhân không đủ tiêu chuẩn lựa chọn ở trên.

+ Bệnh nhân không phải là người Việt Nam.

+ Bệnh nhân có nhiều ung thư cùng lúc.

*2.1.3.3. Xét nghiệm methyl hóa gen RASSF1A:*

+ 20 bệnh nhân UTBM tuyến nguyên phát của TTL.

Do ưu tiên cắt nhuộm H.E và HMMD, khối mô TTL chứa ổ ung thư vùi trong paraffin đã hết dần, do đó ADN tổng số được tách chiết không đảm bảo chất lượng cho quá trình xử lý bisulfite để thực hiện phản ứng MSP. Vì vậy, chúng tôi chỉ lựa chọn được 20 trường hợp đủ tiêu chuẩn cho xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A*.

+ 10 bệnh nhân tăng sản lành tính TTL.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu tiến cứu, mô tả cắt ngang các trường hợp được chẩn đoán mô bệnh học (trên tiêu bản nhuộm H.E) là UTBM tuyến tiền liệt nguyên phát.

Phương pháp lấy mẫu: lấy mẫu toàn bộ và có chủ định.

Cỡ mẫu: tính toán theo công thức điều tra một tỷ lệ

n =

Trong đó:

n: số mẫu tối thiểu.

p: tỷ lệ mắc ước tính.

α: mức ý nghĩa thống kê.

Z1-α/2: hệ số tin cậy.

d: độ chính xác mong muốn.

Với α = 5%; Z1-α/2 = 1,96; d = 0,1; p = 78% [10].

Lắp vào công thức trên:

n == 66.

Thực tế các mảnh bệnh phẩm tuyến tiền liệt chứa ổ ung thư được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo thường là nhỏ, khó đủ lượng để thực hiện nhiều kỹ thuật như nhuộm H.E, HMMD, xét nghiệm methyl hóa. Chúng tôi dự kiến lấy dự phòng 120% x 66 = 80 (mẫu), thực tế chúng tôi thu thập 84 mẫu.

2.2.2. Vật liệu, hóa chất, thiết bị nghiên cứu

*2.2.2.1. Vật liệu thu thập thông tin*

+ Phiếu trả lời kết quả mô bệnh học của khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

+ Biên bản hội chẩn tiêu bản kèm theo phiếu trả lời kết quả mô bệnh học của khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

+ Với từng tiêu bản, khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103 tiến hành hội chẩn tiêu bản để thu thập các thông tin cần thiết cho mục đích nghiên cứu và thống nhất chẩn đoán, đánh giá mức độ tổn thương. Các thông tin bao gồm: típ mô bệnh học UTBM TTL, các thể và các biến thể của UTBM TTL. Mức độ biệt hóa của khối u được tính theo hệ thống Gleason gồm 5 độ, theo thứ tự giảm dần độ biệt hóa: Gleason độ 1, độ 2, độ 3, độ 4, độ 5. Điểm Gleason là tổng của độ Gleason thuộc vùng có diện tích nhiều nhất và vùng có diện tích nhiều thứ nhì. Các đặc điểm đặc trưng ác tính, chất chứa trong tuyến nang ác tính và UTBM tuyến của TTL phối hợp với PIN độ cao được đánh giá kết quả: có hoặc không. Mức độ bộc lộ của tế bào lành tính và tế bào ác tính với các dấu ấn miễn dịch được chia thành 5 độ: có bộc lộ: (+), bộc lộ mức độ yếu: (1+), trung bình: (2+), mạnh (3+), rất mạnh (4+) và không bộc lộ: (-). Tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* được đánh giá kết quả: không bị methyl hóa (-), bị methyl hóa (+).

+ Tất cả các tiêu bản, bao gồm: 84 bộ tiêu bản nhuộm H.E của 84 bệnh nhân UTBM TTL và 33 bộ tiêu bản nhuộm HMMD với các kháng thể kháng (PSA, CK34βE12, CK5/6, CK7, p63 và actin) của 33 bệnh nhân UTBM TTL đã được lựa chọn đều được đọc và hội chẩn trên kính hiển vi quang học cùng với Nguyễn Mạnh Hùng (Bộ môn - khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quân y 103), Trần Ngọc Dũng (Bộ môn - khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quân y 103) và chụp ảnh minh họa cho từng trường hợp.

+ Tất cả các mẫu mô xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A* bao gồm: 20 mẫu mô UTBM tuyến của TTL của 20 bệnh nhân UTBM TTL và 10 mẫu mô tăng sản lành tính TTL của 10 bệnh nhân tăng sản lành tính TTL đều được phân tích và đánh giá kết quả cùng với Võ Thị Thương Lan (Phòng thí nghiệm Sinh Y- Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội).

*2.2.2.2. Bệnh phẩm tuyến tiền liệt được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo*

Các mảnh bệnh phẩm TTL được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo được lấy khoảng 12 gam (6-8 cassette)/trường hợp, trong trường hợp số lượng bệnh phẩm ít (<12 gam) sẽ lấy toàn bộ. Các mảnh bệnh phẩm TTL phẫu thuật nội soi đưa vào nghiên cứu một cách ngẫu nhiên. Tuy nhiên, những mảnh bệnh phẩm nghi ngờ ung thư như có mật độ chắc hoặc có biểu hiện màu vàng da cam sẽ được ưu tiên lựa chọn [30], [37].

*2.2.2.3. Bệnh phẩm được nghiên cứu kỹ thuật H.E, hóa mô miễn dịch và methyl hóa*

Các mảnh bệnh phẩm phẫu thuật nội soi đều được cố định trong dung dịch formol đệm trung tính 10%, sau đó được vùi trong paraffin, cắt mảnh hàng loạt với độ dày từ 3 - 4 micromet và làm thành các tiêu bản để nhuộm H.E và HMMD.

Do UTBM TTL là những ổ nhỏ chỉ phát hiện được khi nghiên cứu mô bệnh học. Do đó, trước tiên chúng tôi ưu tiên cắt nhiều mảnh trên cùng một khối bệnh phẩm vùi trong paraffin để nghiên cứu tổn thương mô bệnh học của tổ chức ung thư trên các tiêu bản nhuộm H.E, tiếp theo mới ưu tiên cắt mảnh cho các kỹ thuật nhuộm HMMD và xét nghiệm methyl hóa. Chính vì vậy ổ ung thư hết dần, nhiều trường hợp không còn ổ ung thư nữa hoặc còn rất ít, cho nên chúng tôi không thể thực hiện được đầy đủ các kỹ thuật như nhuộm HMMD, xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A* trên cùng một bệnh nhân và cũng không thực hiện được nhuộm HMMD và xét nghiệm methyl hóa cho toàn bộ các trường hợp UTBM TTL trong nghiên cứu của chúng tôi. Chúng tôi chỉ lựa chọn được 33 trường hợp đủ tiêu chuẩn cho nhuộm HMMD và 20 trường hợp đủ tiêu chuẩn cho xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A*.

+ Nhuộm H.E: kỹ thuật nhuộm H.E được thực hiện tại Bộ môn - khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103. Số trường hợp được nhuộm H.E là 84 mẫu mô UTBM TTL (của 84 bệnh nhân) đúc trong paraffin được cắt thành các lát có độ dày từ 3 - 4 micromet và nhuộm H.E, mục đích nhuộm H.E:

* Chẩn đoán xác định UTBM TTL.
* Xác định típ MBH, các thể và biến thể UTBM TTL.
* Phân độ mô học theo hệ thống Gleason.
* Xác định các đặc điểm mô bệnh học UTBM TTL.

+ Nhuộm HMMD:kỹ thuật nhuộm HMMD được thực hiện tại Bộ môn - khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103. Số trường hợp được nhuộm HMMD là 33 mẫu mô UTBM TTL (của 33 bệnh nhân) đúc trong paraffin được cắt thành các lát có độ dày từ 3 - 4 micromet và nhuộm HMMD theo phương pháp Avidin - Biotin Complex (ABC). Các kháng thể được sử dụng trong nghiên cứu là kháng thể kháng (PSA, CK34βE12, p63, CK5/6, CK7 và actin). Số lượng các tiêu bản thực hiện kỹ thuật nhuộm HMMD bao gồm: 33 bộ tiêu bản nhuộm HMMD với KT kháng PSA, 33 bộ tiêu bản nhuộm với KT kháng CK34βE12, 33 tiêu bản nhuộm KT kháng CK5/6, 33 tiêu bản nhuộm KT kháng CK7, 33 tiêu bản nhuộm KT kháng p63, 33 tiêu bản nhuộm KT kháng actin, mục đích nhuộm HMMD để hỗ trợ:

* Xác định nguồn gốc, xác định típ và biến thể UTBM tuyến:

PSA (+), CK5/6 (-), CK7 (-), CK34βE12 (-), p63 (-).

* Xác định độ biệt hóa của tế bào u:

PSA (1+), PSA (2+), PSA (3+), PSA (4+).

* Xác định UTBM đường niệu nguyên phát của TTL:

PSA (-), CK7 (-), CK5/6 (-), CK34βE12 (+), p63 (+).

* Xác định tổn thương ác tính:

PSA (+), CK34βE12 (-), p63 (-).

* Xác định sự biệt hóa tế bào vảy và UTBM TTL loại tế bào vảy:

CK5/6 (+), PSA (-), CK34βE12 (+), p63 (+), CK7 (-).

* Xác định tế bào ác tính xâm nhập vào mô cơ trơn, mô xơ, thành mạch máu, dây thần kinh và các cấu trúc khác trong TTL:

Tế bào cơ trơn: actin (+); Tế bào xơ, nội mô và tế bào đáy: actin (-).

* Xác định tình trạng và mức độ bộc lộ PSA, CK34βE12, p63, CK5/6, CK7 và actin của các tế bào ác tính cũng như tế bào lành tính của TTL [11], [49].

*+* Xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A*:xét nghiệm methyl hóa được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Sinh Y, Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội. Số trường hợp được làm xét nghiệm methyl hóa là 20 mẫu mô UTBM tuyến của TTL (của 20 bệnh nhân ) đúc trong paraffin đã được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học là UTBM tuyến của TTL nguyên phát và 10 mẫu mô tăng sản lành tính TTL (của 10 bệnh nhân) đúc trong paraffin đã được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học là tăng sản lành tính TTL. Mục đích xét nghiệm methyl hóa:

* Xác định sự methyl hóa gen *RASSF1A* trong nhóm bệnh nhân UTBM tuyến của TTL và trong nhóm bệnh nhân tăng sản lành tính TTL.
* Đối chiếu tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* với một số đặc điểm mô bệnh học trong UTBM tuyến của TTL.

**Sơ đồ các bước xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A***

**Mẫu mô đúc paraffin**

**Chẩn đoán MBH, phân típ, phân độ mô học**

**Xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A***

2.2.3. Các kỹ thuật dùng trong nghiên cứu

*2.2.3.1. Kỹ thuật nhuộm H.E*

+ Kỹ thuật nhuộm H.E được tiến hành theo kỹ thuật mô học thường quy.

+ Để chẩn đoán xác định, xác định típ và xác định một số đặc điểm mô bệnh học UTBM TTL trên tiêu bản nhuộm H.E, chúng tôi sử dụng các tiêu chuẩn mô bệnh học và bảng phân loại mô bệnh học các khối u TTL của WHO (2004).

+ Sử dụng kính hiển vi quang học Olympus CX21 ở độ phóng đại (40, 100, 200, 400 lần) để quan sát tổn thương.

+ Các tiêu chuẩn mô bệnh học để chẩn đoán UTBM tuyến nang của tuyến tiền liệt do WHO (2004) đưa ra được trình bày tóm tắt ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Các tiêu chuẩn mô bệnh học để chẩn đoán ung thư

biểu mô tuyến nang

|  |
| --- |
| **Cấu trúc u:** được đánh giá ở độ phóng đại thấp (40 lần) hoặc trung bình (100 lần)  + Với ung thư biệt hóa:  - Cấu trúc u gồm nhiều tuyến hơn trong tăng sản.  - Các tuyến sắp xếp hỗn độn, chồng lấn lên nhau.  - Các tuyến nằm rời rạc trong các bó sợi cơ trơn.  - Các tuyến nhỏ mất điển hình nằm xen giữa các tuyến lớn lành tính.  - Các tuyến hình thành cấu trúc dạng mặt sàng (mất biệt hóa tuyến).  - Các tuyến hòa nhập vào nhau và sự hình thành tuyến không rõ.  + Với ung thư không biệt hóa:  Cấu trúc u gồm các dây tế bào hoặc các tế bào nằm rời rạc tách biệt nhau.  **Nhân tế bào** (so sánh với tuyến lành tính ở xung quanh)  + Nhân lớn, tăng sắc, các hạt nhân nổi bật.  + Hình dạng và kích cỡ nhân ít thay đổi giữa các tế bào ác tính với nhau (hiếm gặp nhân đa hình thái).  + Hình nhân chia thường thấy nhiều trong UTBM có ĐMH cao và ít thấy nhân chia hơn ở UTBM có ĐMH thấp.  **Bào tương** (so sánh với tuyến lành ở xung quanh)  + Bào tương các tế bào ác tính sáng hơn so với tế bào tuyến lành tính (nếu UT có ĐMH thấp hay/hoặc điểm Gleason thấp thì bào tương màu sáng nhạt gần giống với tuyến lành tính).  + Bờ viền bào tương không nhấp nhô như bờ viền tế bào tuyến lành tính.  + Bào tương có thể có 2 màu sắc (amphophilic).  + Bào tương của tế bào ác tính ở tất cả các độ mô học đều thiếu chỉ tố (lipofucin).  **Các đặc điểm trong lòng tuyến nang**  + Chất dạng tinh thể TTL: cấu trúc giống như các tinh thể ưa axít có hình que, chữ nhật, tam giác, đa giác...  + Chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất tiết mucin màu xanh nhạt.  **Các đặc điểm đặc trưng ác tính**  + U xâm lấn dây thần kinh.  + U tăng sinh xơ - nhày (các cục nhỏ collagen).  + Cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận.  **Mô đệm**  Phản ứng xơ hóa và phản ứng viêm ở mô đệm trong UTBM tuyến thường không rõ rệt. |

*Nguồn: Theo Eble. J. N. và cộng sự (2004)* [11].

+ Các tiêu chuẩn mô bệnh học xác định tổn thương PIN [11]:

- PIN độ thấp: biểu mô chế tiết tăng sinh chồng lấn lên nhau, khoảng cách các tế bào không đều, nhân tế bào lớn hơn bình thường một chút và không đều, một số nhân tế bào có hạt nhân nhỏ và thường là hạt nhân kín đáo, một số nhân có hạt nhân nổi bật. Lớp tế bào đáy viền quanh các ống tuyến còn nguyên vẹn.

- PIN độ cao: các nang và ống tuyến được lót bởi các tế bào với sự đa dạng về hình thái và cấu trúc. Nhân tế bào có các hạt nhân to nổi bật, chất màu nhân đậm, chất nhiễm sắc thô phân bố nhiều hơn ở phía màng nhân, tăng tỷ lệ nhân/bào tương. Lớp tế bào đáy được phát hiện ngay cả trên tiêu bản nhuộm H.E, mặc dù các tế bào này thường xuyên bị gián đoạn ở các mức độ khác nhau.

+ Các tiêu chuẩn xác định đặc điểm đặc trưng ác tính [11]:

- U xâm nhập dây thần kinh trong TTL: các tế bào ung thư hoặc tuyến nang ung thư xâm nhập vào dây thần kinh hoặc xâm nhập quanh dây thần kinh (khác với sự ấn lõm của dây thần kinh vào một phía bờ của nang tuyến trong tổ chức TTL lành tính).

- U tăng sinh xơ - nhày (các cục nhỏ dạng collagen): trong lòng các tuyến ung thư hoặc ở vùng các tuyến ung thư hòa nhập có các đám tổ chức liên kết xơ mỏng mảnh và lỏng lẻo với các nguyên bào xơ nằm rải rác bên trong.

- Tuyến ung thư giống tiểu cầu thận: tế bào biểu mô tuyến ác tính tăng sinh và đan nối với nhau tạo ra cấu trúc dạng mặt sàng, nhưng không nằm vắt ngang hoàn toàn qua lòng tuyến mà chỉ bám một phần vào phía bờ của tuyến, nhìn giống như tiểu cầu thận.

+ Tiêu chuẩn xác định chất dạng tinh thể TTL và chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất mucin màu xanh nhạt [11]:

* Chất dạng tinh thể TTL: trong lòng tuyến nang ác tính chứa chất có cấu trúc giống như các tinh thể có nhiều hình dạng khác nhau và ưa eosin (quan sát thấy trên tiêu bản nhuộm H.E).
* Chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất tiết mucin màu xanh nhạt: trong lòng tuyến nang ác tính chứa chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất mucin màu xanh nhạt (quan sát thấy trên tiêu bản nhuộm H.E).

+ Sau khi chẩn đoán xác định và xác định típ mô bệnh học cũng như xác định một số đặc điểm mô bệnh học UTBM TTL. Chúng tôi tiếp tục tiến hành phân độ mô học UTBM tuyến nang của TTL dựa vào hình ảnh tế bào và cấu trúc mô học của tổ chức khối u ở độ phóng đại thấp và trung bình (40 và 100 lần) [113]. Chúng tôi phân độ mô học khối u theo hệ thống phân độ Gleason với lý do hệ thống phân độ này được ưa chuộng nhất đối với UTBM tuyến của TTL. Đối với UTBM đường niệu nguyên phát của TTL sẽ được phân độ mô học như là khối u của niệu đạo [11], [30], [114]. Mức độ biệt hóa của khối u theo hệ thống phân độ Gleason được xếp theo thứ tự giảm dần độ biệt hóa, từ độ 1 đến độ 5 (từ biệt hóa cao đến biệt hóa kém) [115], [116]. Các tiêu chuẩn mô bệnh học để phân độ Gleason [11]:

* Mẫu mô học Gleason độ 1: u gồm các tuyến đồng dạng, kích cỡ trung bình và xấp xỉ bằng nhau. Gleason độ 1 rất hiếm gặp, nếu gặp chúng thường là ung thư ở vùng chuyển tiếp và chỉ chiếm một phần nhỏ của khối u, cho nên không tính điểm Gleason.
* Mẫu mô học Gleason độ 2: u gồm các tuyến không hoàn toàn đồng đều về hình dạng và kích cỡ so với Gleason độ 1. Các tuyến có kích thước trung bình và lớn hơn kích thước ống tuyến ở mẫu Gleason độ 3, các tuyến hình tròn hoặc hình bầu dục, không có góc, xếp sát và tựa vào nhau, ít chặt chẽ hơn so với độ 1. Các tuyến hợp lại dạng nốt hay dạng cục, có giới hạn rõ, bờ của các nốt không đều, không có hoặc có rất ít hiện tượng tuyến ung thư xâm nhập vào TTL lành tính ở xung quanh (mặc dù bào tương và đặc điểm tế bào không phải là tiêu chuẩn để phân độ Gleason, nhưng nhìn chung tế bào u trong mẫu Gleason độ 1 và 2 thường có bào tương rộng và bắt màu nhạt hơn hoặc ưa eosin nhạt hơn so với các độ còn lại).

- Mẫu mô học Gleason độ 3: khác với độ 1 và 2, ở độ 3 có hiện tượng các tuyến ung thư lan tràn vào mô TTL lành tính, các tuyến thường dài và khác nhau về hình dạng và kích thước, các tuyến có góc, khoảng cách các tuyến không đều. Biểu mô lót các tuyến tăng sản tạo nhú hoặc sắp xếp dạng mặt sàng trong từng tuyến, bờ của các tuyến rõ và đều nhau.

- Mẫu mô học Gleason độ 4: các tuyến hợp vào nhau, bờ các tuyến không rõ tạo ra hình ảnh một khối hay đám hoặc thành dây tế bào và lan tràn vào mô TTL lành tính, có thể xuất hiện các tế bào có bào tương sáng.

- Mẫu mô học Gleason độ 5: tế bào u không biệt hóa thành tuyến, gồm những đám đặc hoặc những dây tế bào, hoặc gồm những tế bào đơn lẻ mất biệt hóa, xâm nhập ra xung quanh, thường có hoại tử ở vùng trung tâm các ổ tế bào u, tế bào u thường dị hình và có nhiều nhân chia.

+ Cách tính điểm Gleason [11]:

* Nếu u có 2 mẫu mô học:

Mẫu nguyên phát: diện tích nhiều nhất.

Mẫu thứ phát: diện tích nhiều thứ nhì.

Điểm Gleason là tổng độ mô học của mẫu nguyên phát và mẫu thứ phát.

- Nếu u có trên 2 mẫu mô học:

Mẫu nguyên phát: diện tích nhiều nhất.

Mẫu thứ phát: mẫu có độ mô học cao nhất trong số mẫu còn lại.

Điểm Gleason là tổng độ mô học của mẫu nguyên phát và mẫu có độ mô học cao nhất.

- Nếu khối u chỉ có duy nhất một mẫu mô học.

Điểm Gleason sẽ được tính bằng cách gấp đôi độ mô học của mẫu đó.

+ Phân nhóm điểm Gleason [36]: dựa vào điểm Gleason của khối u, UTBM tuyến của TTL được phân loại thành 3 nhóm điểm:

- Từ 2-4 điểm: biệt hóa cao,

- Từ 5-7 điểm: biệt hóa vừa,

- Từ 8-10 điểm: kém biệt hóa.

*2.2.3.2. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch*

+ Nguyên lý kỹ thuật: kỹ thuật HMMD được sử dụng là kỹ thuật gián tiếp để phát hiện các KN protein thuộc thành phần của tế bào. Sử dụng KT đã biết trước tương ứng với KN cần tìm để đưa vào mảnh cắt mô cần nghiên cứu, sau đó cho phản ứng với KT đã được gắn với chỉ thị màu kháng lại KT đặc hiệu. Nhờ có chỉ thị màu mà người ta có thể nhìn thấy chúng dưới kính hiển vi quang học khi có phản ứng xảy ra (dương tính).

+ Hóa chất sử dụng:

* Các kháng thể được sử dụng trong nghiên cứu (bảng 2.2), dung dịch đệm rửa, bộc lộ kháng nguyên và hệ thống phát hiện của hãng Leica.

Bảng 2.2. Các kháng thể sử dụng trong nghiên cứu

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Kháng thể** | **Nguồn gốc** | **Dòng** |
| Kháng thể kháng PSA | KT đơn dòng từ chuột | Cl Clone 35H9 |
| Kháng thể kháng CK34βE12 | KT đơn dòng từ chuột | Clone 35H9 |
| Kháng thể kháng p63 | KT đơn dòng từ chuột | Clone 4A4 |
| Kháng thể kháng CK5/6 | KT đơn dòng từ chuột | Clone D5/16 B4 |
| Kháng thể kháng CK7 | KT đơn dòng từ chuột | Clone RN7 |
| Kháng thể kháng actin | KT đơn dòng từ chuột | Clone 1A4 |

* Dung dịch đệm rửa và bộc lộ kháng nguyên:

Tris-Buffered Saline, pH7,6.

Target Retrieval Solution System, pH9,0,10X.

* Hệ thống phát hiện:

Envision TM Detection Systems.

Peroxidase/DAB, Rabbit/Mouse (K5007).

+ Một số bước kỹ thuật khi nhuộm HMMD:

- Chuẩn bị tiêu bản

- Cắt mô làm tiêu bản

- Chuẩn bị dung dịch Tris-Buffered-Saline (TBS)

- Phục hồi nhóm quyết định kháng nguyên

- Khử hoạt động enzym nội sinh

- Pha loãng KT

- Nhuộm tiêu bản.

+ Phương pháp Avidin- Biotin Complex (ABC) được thực hiện theo các bước:

- Tiêu bản sau khi tẩy paraffin được nhúng nước cất 2 lần x 5 phút.

- Khử peroxidase nội sinh bằng dung dịch H2O2 x 5 phút.

- Rửa tiêu bản bằng nước cất 2 lần x 2 phút.

- Bộc lộ KN bằng cách đặt tiêu bản trong dung dịch đệm citrat pH6, đun cách thủy trong nồi áp suất 5 phút sau khi sôi.

- Rửa nước cất 2 lần x 2 phút.

- Rửa tiêu bản bằng dung dịch TBS 2 lần x 2 phút.

- Khử các protein không đặc hiệu với huyết thanh ngựa thường 1% x 5 phút (không được rửa).

- Phủ KT thứ nhất x 60 phút.

- Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút.

- Phủ KT thứ hai (kháng thể bắc cầu gắn biotin) x 30 phút.

- Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút.

- Phủ phức hợp avidin-peroxidase x 30 phút.

- Rửa tiêu bản TBS 2 lần x 5 phút.

- Phủ dung dịch diaminno benzidine (DAB) x 10 phút.

- Rửa nước chảy x 5 phút.

- Nhuộm nhân bằng hematoxylin x 30 giây.

Khử nước, làm sạch tiêu bản, đọc kết quả trên kính hiển vi quang học [43], [47], [117].

+ Đánh giá kết quả nhuộm HMMD:

- 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 kiểm chứng nội chứng.

- Phải đối chiếu với tiêu bản nhuộm H.E để biết vùng cần đọc kết quả.

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

+ Đọc kết quả:

* Âm tính (-): không bộc lộ hay/hoặc không có phản ứng nhuộm màu (chỉ có màu xanh của nhân).
* Dương tính (+): có bộc lộ hay/hoặc có phản ứng nhuộm màu (có màu nâu, nếu dùng màu DAB) [10], [42].

+ Cách đánh giá và nhận định kết quả:

Tiêu bản nhuộm HMMD tốt phải đạt được các tiêu chuẩn: nền tiêu bản không bị nhuộm màu, có sự tương phản rõ giữa tế bào có phản ứng nhuộm màu (dương tính) với tế bào không có phản ứng nhuộm màu (âm tính). Để kiểm định phản ứng hóa mô miễn dịch chúng tôi dựa vào phương pháp kiểm chứng nội chứng trên cùng một mảnh cắt mô được coi là phương pháp kiểm chứng tốt nhất [10]. Đối với dấu ấn PSA: biểu mô chế tiết vùng tuyến lành tính là mô chứng. Dấu ấn CK34βE12: các tuyến ở vùng tuyến lành tính là mô chứng. Dấu ấn CK7: biểu mô đường niệu vùng tuyến lành tính là mô chứng. Đối với dấu ấn CK5/6: mô chứng là mảnh da (chứng dương ngoại). Dấu ấn actin: mảnh ruột là mô chứng (chứng dương ngoại).

Các dấu ấn bào tương tế bào: PSA, CK34βE12, CK7, CK5/6 và actin. Trong trường hợp này, bào tương tế bào có màu nâu (có phản ứng nhuộm màu). Tuy nhiên, đậm độ nhuộm màu của bào tương là khác nhau, chúng tôi dựa vào cách đánh giá của McNeal J.E. và cộng sự (1991) [118]. Dựa vào mức độ nhuộm màu của bào tương, McNeal J.E. và cộng sự chia làm 5 mức độ:

\* Không nhuộm màu: (-).

\* Nhuộm màu: (+).

\* Nhuộm màu mức độ nhạt nhất có thể quan sát thấy ở độ phóng đại thấp là nhuộm màu mức độ yếu (1+): màu nâu nhạt mờ (không rõ).

\* Nhuộm màu mức độ trung bình (2+): màu nâu nhạt rõ.

\* Nhuộm màu mức độ mạnh (3+): màu nâu thẫm.

\* Nhuộm màu mức độ rất mạnh (4+): màu nâu thẫm đậm (các chi tiết về hình thái tế bào bị che mờ).

- Dấu ấn nhân tế bào p63: trong trường hợp này, chỉ có nhân tế bào có màu nâu và mức độ nhuộm màu của nhân khác nhau, cho nên chúng tôi cũng áp dụng cách đánh giá của McNeal J.E. và cộng sự với 5 mức độ nhuộm màu như đã nêu ở trên.

*2.2.3.3. Kỹ thuật xác định tình trạng methyl hóa gen RASSF1A*

+ Một số bước của kỹ thuật MSP:

- Tách chiết ADN từ mẫu mô đúc trong paraffin, kiểm tra chất lượng ADN tách chiết bằng phản ứng PCR với mồi *β-globulin*, sản phẩm PCR được diện di trên gel agarose 1,5% (hoặc gel acrylamide 10%) để kiểm tra chất lượng ADN tách chiết đảm bảo cho xử lý bisulfite.

- Biến đổi bisulfite: ADN tách chiết sẽ được xử lý với bisulfite và tinh sạch bằng Epitect Kit (Qiagen, Cat, No 59104) [119].

- Kiểm tra chất lượng ADN genome trước và sau khi xử lý với bisulfite bằng phản ứng PCR với cặp mồi GL- F/GL-R nhân bản gen *β-globulin* từ khuôn ADN trước và sau xử lý với bisulfite, sau đó sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% (hoặc gel acrylamide 10%) để kiểm tra ADN tổng số đã xử lí hoàn toàn với bisulfite. Quá trình xử lý với bisulfite đã làm biến đổi các cytosine không có nhóm methyl thành thymine, trong khi các cytosine đã methyl hóa sẽ không bị thay đổi.

- Thực hiện phản ứng MSP nhằm để xác định sự methyl hóa gen *RASSF1A* được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR phát hiện methyl hóa bằng cặp mồi đặc hiệu RASSF1A-M210-F/RASSF1A-M211-R có kích thước là 170 bp. Tương tự, để phát hiện gen *RASSF1A* có cytosine không bị methyl hóa (cytosine này sẽ bị thay thế thành thymine sau khi bị xử lý với bisulfite), phản ứng MSP cũng được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu bằng phương pháp nested PCR (PCR lồng). Sản phẩm PCR lần thứ nhất với cặp mồi đặc hiệu RASSF1A-Un-F1/RASF1A-Un-R1 được pha loãng 100 lần và được sử dụng làm khuôn cho phản ứng lần thứ hai với cặp mồi RASSF1A-Un-F2/RASSF1A-Un-R2. Sản phẩm PCR được diện di trên gel agarose 1,5% (hoặc gel acrylamide 10%). Như vậy độ nhạy của phản ứng MSP chính là độ nhạy của phản ứng PCR và độ đặc hiệu được quyết định bởi các mồi đặc thù cho từng loại ADN sau khi đã xử lý với bisulfite.

+ Trình tự nucleotide của các mồi và điều kiện cho phản ứng PCR và MSP được trình bày ở bảng 2.3.

Bảng 2.3. Trình tự nucleotide của các mồi cho phản ứng PCR và MSP

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Tên mồi** | **Trình tự nucleotide (5’>3’)** | **Điều kiện PCR** |
| GL-F | CAACTTCATCCACGTTCACC | 94oC 5 phút, 40 chu kỳ gồm các bước: 94oC 30 giây, 57oC 30 giây, 72oC 30 giây, 72 oC 5 phút. |
| GL-R | GAAGAGCCAAGGACAGGTAC |
| RASSF1A-M210-F | GGGTTTTGCGAGAGCGCG | 94oC 5 phút, 40 chu kỳ gồm các bước: 94oC 30 giây, 630C 30 giây, 72oC 30 giây, 720C 5 phút. |
| RASSF1A-M211-R | GCTAACAAACGCGAACCG |
| RASSF1A-Un-F1 | GGGGTTTTGTGAGAGTGTGTTTAG | 940C 5 phút, 40 chu kỳ gồm các bước: 940C 30 giây 630C 20 giây, 720C 30 giây, 720C 5 phút |
| RASF1A-Un-R1 | TAAACACTAACAAACACAAACC |
| RASSF1A-Un-F2 | GAGAGTGTGTTTAGTTTTGTTTTTG | 94oC 5 phút, 40 chu kỳ gồm các bước: 940C 30 giây, 600C 30 giây, 720C 30 giây, 720C 5 phút. |
| RASF1A-Un-R2 | CCACAAAACAAACCCCAACTTCAA |

2.3. Xử lý số liệu

Xử lý số liệu thu được theo phương pháp xác suất - thống kê áp dụng trong Y học bằng sử dụng phần mềm SPSS13 để tính giá trị trung bình, tỷ lệ phần trăm và tương quan giữa hai biến bằng Spearman. P < 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Các phương pháp và kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: xử lý mô, làm tiêu bản nhuộm H.E, HMMD và xét nghiệm methyl hóa. Đây là những phương pháp thường quy, chuẩn, đã được áp dụng ở các cơ sở chuyên ngành, mang tính quốc tế. Các phương pháp được thực hiện bởi nghiên cứu sinh và những người có kinh nghiệm trong lĩnh vực chuyên ngành, đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy cao.

Các mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu này đã được sự đồng ý của bệnh nhân và Hội đồng khoa học Bệnh viện Quân y 103 cũng như Bộ môn Giải phẫu bệnh - Pháp y thông qua và cho phép thực hiện.

Các thông tin cá nhân của bệnh nhân được giữ bí mật, do đó đảm bảo được quyền lợi của bệnh nhân trong nghiên cứu này.

SƠ ĐỒ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

84 bệnh nhân UTBM TTL

(6/2008 - 7/2017)

(cắt, nhuộm H.E, đọc & hội chẩn)

CHƯƠNG 3

Xét nghiệm methyl hóa

20 UTBM tuyến TTL

Nhuộm HMMD

33 UTBM TTL

**KẾT LUẬN 2**

(HMMD & methyl hóa)

**KẾT LUẬN 1**

(Đặc điểm MBH)

Xác định típ, đặc điểm MBH, phân độ & điểm Gleason

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu 84 trường hợp UTBM TTL nguyên phát, chúng tôi thu được các kết quả như sau:

3.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân mắc ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo nhóm tuổi

Kết quả phân bố tỷ lệ bệnh nhân mắc UTBM TTL theo nhóm tuổi được trình bày ở bảng dưới đây:

Bảng 3.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân mắc ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Nhóm tuổi** | **Số lượng**  (n = 84) | **Tỷ lệ**  (%) |
| 40 – 49 | 1 | 1,19 |
| 50 – 59 | 4 | 4,76 |
| 60 – 69 | 20 | 23,81 |
| 70 – 79 | 36 | 42,86 |
| ≥ 80 | 23 | 27,38 |
| **Tổng số** | **84** | **100%** |
| **Tuổi trung bình** | **74,34 ± 9,27** | |

Tỷ lệ bệnh nhân mắc UTBM TTL cao nhất ở nhóm tuổi 70-79 (42,86%). Tuổi trung bình 74,34 ± 9,27, không gặp trường hợp nào tuổi dưới 40. Tỷ lệ bệnh nhân trên 60 tuổi: 79/84 (94%), bệnh nhân dưới 60 tuổi: 5/84 (6%).

3.2. Kết quả xác định một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

3.2.1. Xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt, các thể ung thư biểu mô tuyến theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004

Các bệnh nhân UTBM TTL trong nghiên cứu của chúng tôi tại Bệnh viện Quân y 103 đã được phẫu thuật nội soi cắt u TTL qua niệu đạo, do đó các mảnh bệnh phẩm TTL có chứa ổ ung thư thường là nhỏ và vụn (một số trường hợp chỉ lấy 3 - 4 mảnh nhỏ). Vì vậy, các đặc điểm về đại thể của u như: vị trí, hình thể, kích thước, màu sắc, mật độ, ranh giới..., chúng tôi chưa thống kê một cách chính xác và đầy đủ.

Bảng 3.2. Kết quả xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô

tuyến tiền liệt (n=84)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Các típ mô bệnh học UTBM** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| **1. UTBM tuyến**  *- UTBM tuyến nang*  *- UTBM tuyến ống*  **2. UTBM đường niệu**  **3. UTBM tế bào vảy**  **4. UTBM tế bào đáy** | **82/84**  *80/82*  *2/82*  **2/84**  **0**  **0** | **97,6**  *97,6*  *2,4*  **2,4**  **0**  **0** |
| **Tổng** | **84** | **100%** |

UTBM tuyến nguyên phát của TTL là chủ yếu (97,6%), UTBM đường niệu nguyên phát của TTL ít gặp (2,4%). Không gặp UTBM tế bào vảy và UTBM tế bào đáy. Trong UTBM tuyến: hầu hết là thể tuyến nang (97,6%), thể tuyến ống ít gặp (2,4%).

3.2.2. Xác định các biến thể của ung thư biểu mô tuyến nang

Trong tổng số 82 trường hợp UTBM tuyến (2 trường hợp UTBM đường niệu không phải UTBM tuyến) có 80 trường hợp UTBM tuyến nang và 2 trường hợp UTBM tuyến ống.

Bảng 3.3. Kết quả xác định các biến thể của ung thư biểu mô tuyến nang (n=80)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Biến thể** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| Tuyến nang thông thường  Teo đét  Giả tăng sản  Tuyến bọt  Tế bào nhẫn  Dạng chất keo/nhày  Tế bào hạt ưa eosin  Giống u limphô-biểu mô  Dạng sacôm | 70  4  6  0  0  0  0  0  0 | 87,5  5  7,5  0  0  0  0  0  0 |
| **Tổng** | **80** | **100%** |

Trong UTBM tuyến nang: hầu hết là biến thể tuyến nang thông thường (87,5%), ít gặp biến thể giả tăng sản (7,5%) và biến thể teo đét (5%), không gặp các biến thể khác.

Các biến thể mới được phát hiện trong UTBM tuyến của TTL đã được bổ sung vào bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004).

3.2.3. Tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp và không phối hợp với PIN độ cao

Trong tổng số 84 trường hợp UTBM TTL nguyên phát (có 82 trường hợp UTBM tuyến của TTL và 2 trường hợp UTBM đường niệu của TTL).

Kết quả về tỷ lệ UTBM tuyến của TTL phối hợp với PIN độ cao và không phối hợp với PIN độ cao được trình bày ở bảng dưới đây:

Bảng 3.4. Tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt phối hợp và không phối hợp với PIN độ cao (n=82)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** | **p** |
| UTBM tuyến phối hợp PIN độ cao  UTBM tuyến không phối hợp PIN độ cao | 60  22 | 73,2  26,8 | < 0,001 |
| **Tổng** | **82** | **100 %** |  |

UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ cao (73,2%), UTBM tuyến không phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ thấp hơn (26,8%). Sự khác biệt giữa UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao và UTBM tuyến không phối hợp với PIN độ cao là có ý nghĩa thống kê, với p < 0,001.

3.2.4. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason

Bảng 3.5. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason (n=82)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Độ biệt hóa** | **Điểm Gleason** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| Biệt hóa cao  Biệt hóa vừa  Kém biệt hóa | 2 - 4  5 - 7  8 – 10 | 14  58  10 | 17,1  70,7  12,2 |
| **Tổng số** |  | **82** | **100%** |

Nhóm u điểm Gleason 5-7 (biệt hóa vừa) chiếm tỷ lệ cao nhất (70,7%). Nhóm u điểm Gleason 2-4 (biệt hóa cao) và nhóm u điểm Gleason 8-10 (kém biệt hóa) chiếm tỷ lệ thấp hơn với tỷ lệ lần lượt là 17,1% và 12,2%.

3.2.5. Phân bố độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến theo mẫu mô học thứ nhất và mẫu mô học thứ hai Gleason

Trong tổng số 84 trường hợp UTBM TTL trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có 82 trường hợp UTBM tuyến của TTL là được phân độ mô học và tính điểm theo hệ thống Gleason [11], [114]. Còn lại 2 trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL được phân độ mô học như các khối u niệu đạo.

Kết quả phân bố độ biệt hóa UTBM tuyến của TTL theo mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai Gleason được trình bày ở bảng sau đây:

Bảng 3.6. Phân bố độ biệt hóa ung thư biểu mô tuyến theo mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai Gleason (n=82)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loại mẫu**  **Độ Gleason** | **Mẫu thứ nhất**  **n (%)** | **Mẫu thứ hai**  **n (%)** |
| 1 | 0 (0%) | 0 (0%) |
| 2 | 16 (19,5%) | 24 (29,3%) |
| 3 | 38 (46,3%) | 19 (23,1%) |
| 4 | 20 (24,4%) | 36 (43,9%) |
| 5 | 8 (9,8%) | 3 (3,7%) |
| **Tổng số** | **82 (100%)** | **82 (100%)** |

Gleason độ 1 (biệt hóa cao nhất) không gặp ở cả mẫu thứ nhất và thứ 2.

Gleason độ 2 (biệt hóa cao) chiếm tỷ lệ thấp (19,5% ở mẫu thứ nhất và 29,3% ở mẫu thứ 2).

Gleason độ 3 (biệt hóa vừa) chiếm tỷ lệ khá cao (46,3% ở mẫu thứ nhất, 23,1% ở mẫu thứ 2 ).

Gleason độ 4 (ít biệt hóa) chiếm tỷ lệ khá cao (43,9% ở mẫu thứ 2, 24,4% ở mẫu thứ nhất).

Gleason độ 5 (kém biệt hóa) chiếm tỷ lệ thấp nhất (9,8% ở mẫu thứ nhất, 3,7% ở mẫu thứ 2).

3.2.6. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp với PIN độ cao theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason

Bảng 3.7. Phân bố tỷ lệ ung thư biểu mô tuyến phối hợp PIN độ cao theo độ biệt hóa/nhóm điểm Gleason (n=60)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Độ biệt hóa** | **Điểm Gleason** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| Biệt hóa cao  Biệt hóa vừa  Kém biệt hóa | 2-4  5-7  8-10 | 12  40  8 | 20  66,7  13,3 |
| **Tổng số** | **60** | | **100%** |

Nhóm điểm Gleason 2-4: UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ 20%.

Nhóm điểm Gleason 5-7: UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ 66,7%.

Nhóm điểm 8-10: UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ 13,3%.

3.2.7. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u

Kết quả về sự phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u được trình bày ở bảng dưới đây:

Bảng 3.8. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u (n=82)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Đặc điểm đặc trưng ác tính** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| U xâm nhập dây TK | 32 | 39% |
| U tăng sinh xơ-nhày | 9 | 11% |
| Tuyến ung thư giống tiểu cầu thận | 10 | 12,2% |
| U có 2 - 3 đặc điểm đặc trưng ác tính | 6 | 7,3% |
| U không có đặc điểm đặc trưng ác tính | 25 | 30,5% |
| **Tổng số** | **82** | **100%** |

Có 39% trường hợp u xâm nhập dây thần kinh, 11% trường hợp u tăng sinh xơ-nhày, 12,2% trường hợp tuyến ung thư giống tiểu cầu thận, 7,3% trường hợp u có 2-3 đặc điểm đặc trưng ác tính, còn lại 30,5% u không có đặc điểm đặc trưng ác tính.

3.2.8. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u theo nhóm điểm Gleason

Bảng 3.9. Phân bố tỷ lệ các đặc điểm đặc trưng ác tính của u theo nhóm điểm Gleason

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Điểm**  **Gleason**  **Đặc điểm**  **đặc trưng ác tính** | **Gleason 2-4**  **n=14 (%)** | **Gleason 5-7**  **n=58 (%)** | **Gleason 8-10**  **n=10 (%)** | **Tổng số** |
| Xâm nhập dây TK | 1/14 (7,2%) | 24/58 (41,4%) | 7/10 (70%) | 32 |
| Tăng sinh xơ - nhày | 0/14 (0%) | 9/58 (15,5%) | 0/10 (0%) | 9 |
| Tuyến giống cầu thận | 0/14 (0%) | 10/58 (17,2%) | 0/10 (0%) | 10 |
| Có 2 - 3 đặc điểm đặc trưng ác tính | 0/14 (0%) | 4/58 (6,9%) | 2/10 (20%) | 6 |
| Không có đặc điểm đặc trưng ác tính | 13/14 (92,8%) | 11/58 (19%) | 1/10 (10%) | 25 |
| **Tổng số** | **14 (100%)** | **58 (100%)** | **10 (100%)** | **82** |

Nhóm u điểm Gleason 2-4 (gồm 14 trường hợp): chỉ có 7,2% (1 trường hợp) u xâm nhập dây thần kinh, còn lại 92,8% (13 trường hợp) u không có đặc điểm đặc trưng ác tính.

Nhóm u điểm Gleason 5-7 (gồm 58 trường hợp): có 41,4% u xâm nhập dây thần kinh, 15,5% u tăng sinh xơ nhày, 17,2% tuyến ung thư giống cầu thận và 6,9% u có 2 - 3 đặc điểm đặc trưng ác tính, còn lại 19% u không có đặc điểm đặc trưng ác tính.

Nhóm u điểm Gleason 8-10 (gồm 10 trường hợp): có 70% u xâm nhập dây thần kinh, 20% u có 2 - 3 đặc điểm đặc trưng ác tính, còn lại 10% u không có đặc điểm đặc trưng ác tính.

Bảng 3.10. Phân bố tỷ lệ u có đặc điểm đặc trưng ác tính và u không có đặc điểm ác tính theo nhóm điểm Gleason

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Điểm**  **Gleason**  **Đặc điểm**  **đặc trưng ác tính** | **Gleason 2-4**  **n=14 (%)** | **Gleason 5-7**  **n=58 (%)** | **Gleason 8-10**  **n=10 (%)** | **Tổng số**  **(%)** |
| Có | 1/14 (7,2%) | 47/58 (81%) | 9/10 (90%) | **57 (69,5%)** |
| Không có | 13/14 (92,8%) | 11/58 (19%) | 1/10 (10%) | **25 (30,5%)** |
| **Tổng số** | **14 (100%)** | **58 (100%)** | **10 (100%)** | **82 (100%)** |
| **Hệ số tương quan Spearman** | **rho = 0,523; p< 0,001** | | |  |

Có sự liên quan giữa điểm Gleason và đặc điểm đặc trưng ác tính. Điểm Gleason càng cao thì tỷ lệ u có đặc điểm đặc trưng ác tính càng nhiều, với p < 0,001.

3.2.9. Phân bố tỷ lệ các chất chứa trong tuyến nang ác tính

Bảng 3.11. Phân bố tỷ lệ các chất chứa trong tuyến nang ác tính (n=82)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Chất chứa trong tuyến nang ác tính** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| Tinh thể | 8 | 9,7 |
| Chất tiết kết đặc màu hồng | 44 | 53,7 |
| Tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng | 18 | 22 |
| Không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng | 12 | 14,6 |
| **Tổng số** | **82** | **100%** |

Có 9,7% trường hợp tuyến nang ác tính chứa tinh thể, 53,7% chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 22% chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng, còn lại 14,6% trường hợp tuyến nang ác tính không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

3.2.10. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason

Bảng 3.12. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Điểm Gleason**  **Đặc điểm**  **chất chứa** | **Gleason 2-4**  **n=14 (%)** | **Gleason 5-7**  **n=58 (%)** | **Gleason 8-10**  **n=10 (%)** | **Tổng** |
| Tinh thể | 5/14 (35,7%) | 3/58 (5,2%) | 0/10 (0%) | 8 |
| Chất tiết kết đặc màu hồng | 6/14 (42,9%) | 38/58 (65,5%) | 0/10 (0%) | 44 |
| Tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng | 3/14 (21,4%) | 14/58 (24,1%) | 1/10 (10%) | 18 |
| Không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng | 0/14 (0%) | 3/58 (5,2%) | 9/10 (90%) | 12 |
| **Tổng** | **14 (100%)** | **58 (100%)** | **10 (100%)** | **82** |

Nhóm u điểm Gleason 2-4: có 35,7% trường hợp u chứa tinh thể, 42,9% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 21,4% trường hợp u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Nhóm u điểm Gleason 5-7: có 5,2% trường hợp u chứa tinh thể, 65,5% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 24,1% trường hợp u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng, còn lại 5,2% trường hợp u không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Nhóm u điểm Gleason 8-10: chỉ có 10% trường hợp u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng, còn lại 90% trường hợp u không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Bảng 3.13. Phân bố tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng và u không chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng theo nhóm điểm Gleason

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Điểm Gleason**  **Tinhthể/**  **chất kết đặc**  **màu hồng** | **Gleason 2-4**  **n=14 (%)** | **Gleason 5-7**  **n=58 (%)** | **Gleason 8-10**  **n=10(%)** | **Tổng** |
| Chứa | 14/14 (100%) | 55/58 (94,83%) | 1/10 (10%) | **70 (85,4%)** |
| Không chứa | 0/14 (0%) | 3/58 (5,17%) | 9/10 (90%) | **12 (14,6%)** |
| **Tổng** | **14 (100%)** | **58 (100%)** | **10 (100%)** | **82 (100%)** |
| **Hệ số tương quan Spearman** | **rho = -0,681; p < 0,001** | | |  |

Có sự liên quan giữa điểm Gleason và u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng. Điểm Gleason càng cao thì tỷ lệ u chứa tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng càng giảm (p < 0,001).

**MỘT SỐ HÌNH ẢNH MINH HỌA MÔ BỆNH HỌC UTBM TTL VÀ PIN ĐỘ CAO NHUỘM H.E**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ảnh 3.1. Các mảnh mô tuyến tiền liệt phẫu thuật nội soi có chứa ổ ung thư  *Mũi tên: Tổ chức u màu vàng nhạt.*  Mã số GPB: N503. | | Ảnh 3.2. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2  *Mũi tên trắng: Tế bào u hình trụ, bào tương sáng, nhân đậm màu và khá đều nằm ở cực đáy.*  *Mũi tên đen: Tinh thể ưa eosin lẫn chất tiết kết đặc màu hồng.*  Mã số GPB: S2835.H.E.400X. |
| Ảnh 3.3. PIN độ cao, típ vi nhú  *Mũi tên: Tế bào chế tiết tăng sản tạo thành các nhú. Nhân tế bào lớn, không đều, tăng sắc...*  Mã số GPB: S2835.H.E.200X. | | Ảnh 3.4. PIN độ cao típ hình chùm và típ dạng dẹt  *Mũi tên: Tế bào chế tiết tăng sản lồi vào trong lòng tuyến (mũi tên trắng) tạo ra hình chùm. Tế bào tăng sản gồm 2-3 hàng tạo ra dạng dẹt (mũi tên đen).*  Mã số GPB: S2835.H.E.200X. |
| Ảnh 3.5. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2  *Mũi tên: Kích thước các tuyến nang không đều, méo mó, nằm sát và tựa vào nhau, cách biệt không rõ.*  Mã số GPB: S2835.H.E.100X. | Ảnh 3.6. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2  *Mũi tên: Lòng tuyến nang chứa chất tiết kết đặc màu hồng.*  Mã số GPB: S2835.H.E.200X. | | |

|  |  |
| --- | --- |
| Ảnh 3.7. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3  *Mũi tên: Tuyến giống tiểu cầu thận (biểu mô tuyến tăng sinh tạo thành cấu trúc dạng sàng và bám vào 1 phía bờ của ống tuyến)*  Mã số GPB: N2046.H.E.200X. | Ảnh 3.8. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2, phối hợp với PIN độ cao  *Mũi tên đen: Các tuyến ung thư xâm nhập vào mô đệm. Mũi tên trắng: PIN độ cao.*  Mã số GPB: S2835.H.E.40X. |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Ảnh 3.9. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2  *Mũi tên: Kích thước tuyến to, nhỏ, méo mó, chu vi tuyến không tròn với các khe sáng bao quanh, tế bào ưa kiềm rõ.*  Mã số GPB: P6870.H.E.200X. | Ảnh 3.10. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3  *Mũi tên: Các tuyến hòa nhập vào nhau. Nhân tế bào thô, bắt màu kiềm đậm.*  Mã số GPB: N503.H.E.400X. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | | |
| Ảnh 3.11. Ung thư biểu mô tuyến ống  *Mũi tên: Tế bào u hình trụ cao, sắp xếp giả tầng, tạo nhú.* *Nhân mất điển hình, hạt nhân rõ. Bào tương rộng.*  Mã số GPB: P6755.H.E.400X. | | |
|  | |  | |
| Ảnh 3.12. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát tại chỗ  *Mũi tên: Tế bào dạng Paget (giống tế bào vảy) nằm giữa tế bào đáy và tế bào chế tiết (tế bào u bị thoái hóa và hoại tử: phía trên góc trái ảnh).*  Mã số GPB: P4280.H.E.400X. | | Ảnh 3.13. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát xâm lấn  *Mũi tên đen: Cấu trúc ung thư dạng nội ống và dạng xâm nhập, tế bào giảm biệt hóa, nhiều nhân chia, u xâm lấn vào mô đệm.*  *(mũi tên trắng: phản ứng xơ hóa mô đệm).*  Mã số GPB: P4280.H.E.200X. | |
|  |  | | |
| Ảnh 3.14. Tế bào u xâm nhập dây thần kinh  *Mũi tên: Tế bào u giảm biệt hóa nhân mất điển hình, bắt màu kiềm đậm.*  Mã số GPB: S3448.H.E.400X. | Ảnh 3.15. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4  *Mũi tên: Tăng sinh xơ-nhày (cục collagen).*  Mã số GPB: S3448.H.E.400X. | | |

3.3. Kết quả nghiên cứu hóa mô miễn dịch

3.3.1. Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

Có 33 trường hợp UTBM TTL được nhuộm HMMD với các kháng thể kháng PSA, CK34βE12, p63, CK7, CK5/6 và actin.

Kết quả bộc lộ PSA, CK34βE12, p63, CK7, CK5/6 và actin của u được trình bày ở bảng sau đây:

Bảng 3.14. Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch ung thư biểu mô tuyến tiền liệt (n=33)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Dấu ấn** | **Có bộc lộ** | **Không bộc lộ** |
| PSA | 31/33 (94%) | 2/33 (6%) |
| CK34βE12 | 2/33 (6%) | 31/33 (94%) |
| p63 | 2/33 (6%) | 31/33 (94%) |
| CK7 | 0 | 33 |
| CK5/6 | 0 | 33 |
| actin | 0 | 33 |

Có 31/33 (94%) trường hợp u bộc lộ PSA, 2/33 (6%) trường hợp (2 UTBM đường niệu) không bộc lộ PSA, nhưng lại bộc lộ CK34βE12 và p63.

Không có trường hợp nào u bộc lộ CK7, CK5/6 và actin.

3.3.2. Các típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nhuộm hóa mô miễn dịch

Bảng 3.15. Các típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nhuộm hóa mô miễn dịch (n=33)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Típ mô bệnh học** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| **UTBM tuyến**  *UTBM tuyến nang*  *UTBM tuyến ống* | **31**  *29*  *2* | **94%** |
| **UTBM đường niệu** | **2** | **6%** |
| Tổng số | 33 | 100% |

Các típ mô bệnh học UTBM TTL nhuộm HMMD gồm có: 31 trường hợp UTBM tuyến (29 trường hợp thể tuyến nang thông thường, 2 trường hợp thể tuyến ống) và 2 trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát.

3.3.3. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u

Bảng 3.16. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u (n=31)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học**  **Mức độ bộc lộ** | **UTBM**  **tuyến nang**  **n=29 (%)** | **UTBM**  **tuyến ống**  **n=2** |
| (-) | 0 (0%) | 0/2 |
| (1+) | 7 (24,2%) | 0/2 |
| (2+) | 13 (44,8%) | 2/2 |
| (3+) | 9 (31%) | 0/2 |
| (4+) | 0 (0%) | 0/2 |
| **Tổng** | **29 (100%)** | **2** |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

- Trong UTBM tuyến nang: tế bào u bộc lộ PSA ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ cao nhất (44,8%).

- Có 2/2 trường hợp UTBM tuyến ống bộc lộ PSA ở mức trung bình.

3.3.4. Phân bố mức độ bộc lộ PSA của tế bào u theo độ Gleason

Bảng 3.17. Phân bố mức độ bộc lộ PSA theo độ Gleason (n=31)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Độ Gleason**  **Mức độ bộc lộ PSA** | **Độ 2** | **Độ 3** | **Độ 4** | **Độ 5** | **Tổng**  **(%)** | **Spearman** |
| (1+) |  |  | 5 | 2 | 7 (22.6%) | **rho = -0.996**  **p< 0,001** |
| (2+) |  | 15 |  |  | 15 (48.4%) |
| (3+) | 9 |  |  |  | 9 (29%) |
| (4+) |  |  |  |  | 0 (0%) |
| **Tổng** | **9** | **15** | **5** | **2** | **31 (100%)** |  |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

Có sự liên quan nghịch giữa mức độ bộc lộ PSA và độ Gleason. Độ Gleason càng cao, mức độ bộc lộ PSA càng yếu (p <0,001).

Tế bào u vùng Gleason độ 4 và độ 5 bộc lộ PSA với mức độ yếu.

Tế bào u vùng Gleason độ 3 bộc lộ PSA với mức độ trung bình.

Tế bào u vùng Gleason độ 2 bộc lộ PSA với mức độ mạnh.

3.3.5. Phân bố mức độ bộc lộ PSA của tế bào u xâm nhập dây thần kinh

Trong tổng số 31 trường hợp UTBM tuyến nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA có 13 trường hợp u xâm nhập dây thần kinh và 18 trường hợp u không xâm nhập dây thần kinh.

Kết quả phân bố mức độ bộc lộ PSA của các tế bào u xâm nhập dây thần kinh được trình bày ở bảng dưới đây:

Bảng 3.18. Mức độ bộc lộ PSA của tế bào u xâm nhập dây thần kinh (n=13)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Mức độ bộc lộ** | **Số lượng** | **Tỷ lệ (%)** |
| (-) | 0 | 0% |
| (1+) | 6 | 46,15% |
| (2+) | 7 | 53,85% |
| (3+) | 0 | 0% |
| (4+) | 0 | 0% |
| **Tổng** | **13** | **100%** |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

- Bộc lộ PSA ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ 53,85%.

- Bộc lộ PSA ở mức độ yếu chiếm tỷ lệ 46,15%.

3.3.6. Tình trạng bộc lộ CK34βE12 và p63 của tế bào đáy

Bảng 3.19. Tình trạng bộc lộ CK34βE12 và p63 của tế bào đáy (n=33)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học** | | **Dấu ấn** | | | |
| **CK34βE12** | | **p63** | |
| *UTBM tuyến* | Vùng tuyến lành tính | 31 | (+) | 31 | (+) |
| Vùng tuyến ung thư | (-) | (-) |
| *UTBM*  *đường niệu* | Vùng tuyến lành tính | 2 | (+) | 2 | (+) |
| Vùng ung thư | (+) | (+) |
| **Tổng số** | | **33** | | **33** | |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+).*

- Đối với UTBM tuyến: vùng tuyến lành bộc lộ CK34βE12 và p63, vùng tuyến ung thư không bộc lộ CK34βE12 và p63.

- Đối với UTBM đường niệu: vùng tuyến lành và vùng ung thư bộc lộ CK34βE12 và p63.

3.3.7. Mức độ bộc lộ CK34βE12 và p63 của các tế bào đáy

Bảng 3.20. Mức độ bộc lộ CK34βE12 và p63 của tế bào đáy (n=33)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dấu ấn**  **Mức độ bộc lộ** | **CK34βE12** | | **p63** | |
| Số lượng  (n =33) | Tỷ lệ  (%) | Số lượng  (n =33) | Tỷ lệ  (%) |
| (-) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (1+) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (2+) | 23 | 69,7% | 6 | 18,2% |
| (3+) | 10 | 30,3% | 27 | 81,8% |
| (4+) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Tổng** | **33** | **100%** | **33** | **100%** |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

- Đối với CK34βE12: bộc lộ ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ cao (69,7%)

- Đối với p63: bộc lộ mức độ mạnh chiếm tỷ lệ cao (81,8%).

3.3.8. Tình trạng và mức độ bộc lộ CK7 và CK5/6 của biểu mô đường niệu lành tính và ác tính

Bảng 3.21. Tình trạng và mức độ bộc lộ CK7 và CK5/6 của biểu mô đường niệu lành tính và ác tính (n=33)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học** | | **Dấu ấn** | | | |
| **CK7** | | **CK5/6** | |
| *UTBM tuyến* | Vùng tuyến lành tính | 31 | (4 +) | 31 | (-) |
| Vùng tuyến ung thư | (-) | (-) |
| *UTBM*  *đường niệu* | Vùng tuyến lành tính | 2 | (4+) | 2 | (-) |
| Vùng ung thư | (-) | (-) |
| **Tổng số** | | **33** | | **33** | |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

- Đối với UTBM tuyến: biểu mô đường niệu vùng tuyến lành bộc lộ CK7 với mức độ rất mạnh (31/31; 100% trường hợp), nhưng không bộc lộ CK5/6. Vùng tuyến ung thư không bộc lộ CK7 và CK5/6.

- Đối với UTBM đường niệu: biểu mô đường niệu vùng tuyến lành bộc lộ CK7 rất mạnh, nhưng không bộc lộ CK5/6. Vùng ung thư không bộc lộ CK7 và CK5/6.

3.3.9. Tình trạng và mức độ bộc lộ actin của các loại tế bào mô đệm

Bảng 3.22. Tình trạng và mức độ bộc lộ actin (n=33)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tế bào mô đệm**  **Mức độ**  **bộc lộ** | **Cơ trơn**  **TTL**  **n (%)** | **Tế bào xơ**  **n (%)** | **Cơ trơn**  **thành mạch**  **n (%)** | **Tế bào đáy**  **n (%)** | **Tế bào**  **nội mô**  **n (%)** |
| (-) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| (1+) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| (2+) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| (3+) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| (4+) | 33 (100%) | 0 (0%) | 33 (100%) | 0 (0%) | 0 (0%) |

*Ghi chú: Không bộc lộ: (-), có bộc lộ: (+), bộc lộ yếu: (1+), bộc lộ trung bình: (2+), bộc lộ mạnh: (3+), bộc lộ rất mạnh: (4+).*

Tế bào cơ trơn TTL và cơ trơn thành mạch bộc lộ actin ở mức độ rất mạnh (33/33; 100% trường hợp). Tế bào xơ, tế bào đáy, tế bào nội mô không bộc lộ actin.

**MỘT SỐ HÌNH ẢNH BỘC LỘ CÁC DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRONG UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN TIỀN LIỆT**

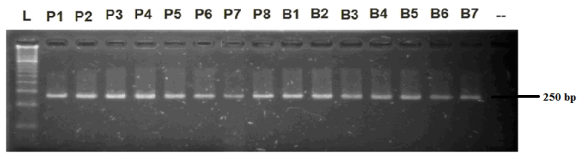
|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Ảnh 3.16. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 2. | Ảnh 3.17. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3. |
| *Mũi tên: TB u bộc lộ PSA mức độ mạnh (màu nâu đậm).* Mã số GPB: M1283.PSA.200X. | *Mũi tên: TB u bộc lộ PSA ở mức trung bình (màu nâu).*Mã số GPB: 3932.PSA.200X. |
|  |  |
| Ảnh 3.18. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4. | Ảnh 3.19. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập mô đệm. |
| *Mũi tên: Tế bào u bộc lộ PSA yếu (màu nâu nhạt).*Mã số GPB: M4309.PSA.200X. | *Mũi tên: Tế bào cơ trơn bộc lộ actin, mức độ rất mạnh (màu nâu đậm che khuất nhân). Mã số GPB: N26.actin.200X.* |

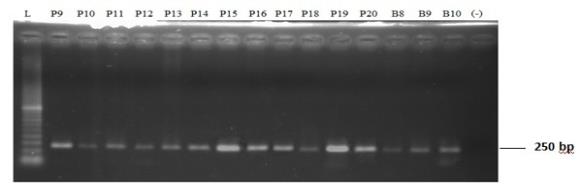
|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Ảnh 3.20. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập vùng tuyến lành. | Ảnh 3.21. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 4, u xâm nhập ống dẫn tuyến tiền liệt. |
| *Mũi tên: Tế bào đáy tuyến lành bộc lộ CK34βE12, mức độ mạnh (màu nâu đậm).* | *Mũi tên: Biểu mô đường niệu bộc lộ CK7, mức độ rất mạnh (màu nâu đậm che khuất nhân).* |
| Mã số GPB: N26.CK34βE12.200X. | Mã số GPB: N26.CK7.200X. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | |
| Ảnh 3.22. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 5, u xâm nhập mạch máu.  *Mũi tên: Tế bào xâm nhập mạch máu.* | Ảnh 3.23. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 5, u xâm nhập mạch máu.  *Mũi tên: Tế bào u bộc lộ PSA, mức độ yếu (màu nâu nhạt).* | |
| Mã số GPB: N26.H.E.400X. | Mã số GPB: N26.PSA.200X. | |
|  | |  | |
| Ảnh 3.24. Ung thư biểu mô tuyến nang, Gleason độ 3. | | Ảnh 3.25. Tế bào u xâm nhập dây thần kinh. | |
| *U xâm nhập vào khoảng quanh dây thần kinh (mũi tên đen) và mô xơ- cơ (mũi tên đỏ).* | | *Tế bào u bộc lộ PSA ở mức độ vừa (màu nâu).* | |
| Mã số GPB: M3932.H.E.200X. | | Mã số GPB: M3932.PSA.200X. | |

3.4. Kết quả nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A*

3.4.1. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu bệnh phẩm

**



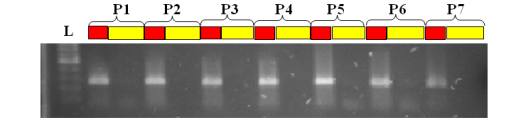
Hình 3.1. Kết quả kiểm tra chất lượng ADN được tách chiết từ mẫu mô ung thư biểu mô tuyến và tăng sản tuyến tiền liệt với cặp mồi GL-F/GL-R của gen *β - globulin.*

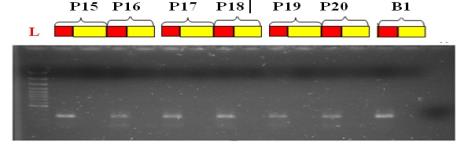
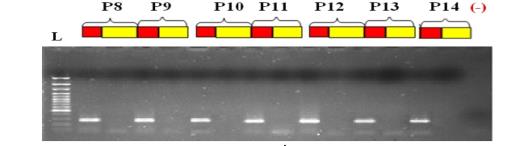
*L: thang chuẩn 100bp, -- : đối chứng âm (nước thay cho ADN khuôn), P1-P20: các mẫu ung thư từ 1-20, B1-B10: các mẫu tăng sản từ 1-10.*

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1.5%. Đối chứng âm (nước thay cho ADN khuôn) không lên băng chứng tỏ các thao tác kỹ thuật đảm bảo tính chính xác của kết quả. Tất cả các mẫu đều lên băng đặc hiệu với kích thước là 250bp, chứng tỏ ADN tổng số được tách chiết tốt, đảm bảo chất lượng cho các thí nghiệm sau.

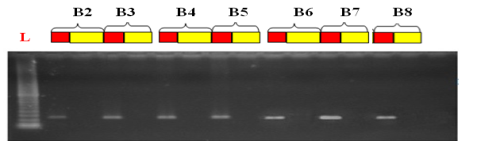
3.4.2. Kết quả đánh giá hiệu quả của quá trình xử lý bisulfite

PCR với cặp mồi GL-F/GL-R nhằm khuếch đại gen *β-globin* từ ADN tổng số trước và sau xử lý với bisulfite được trình bày trên hình 3.2.

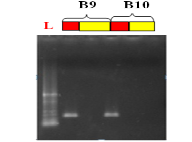




(-)



(-)



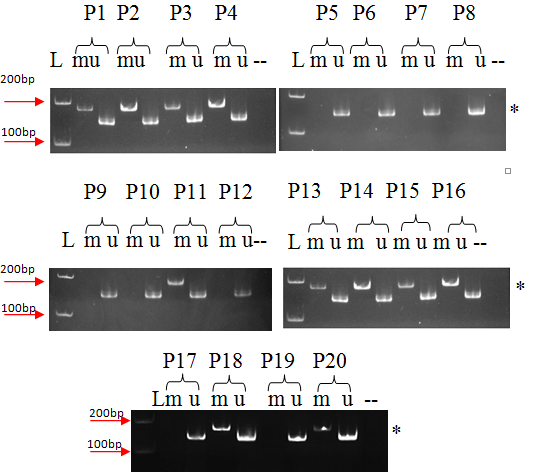
Hình 3.2. Sản phẩm PCR nhân bản gen *β-globin* từ khuôn ADN trước (băng đỏ) và sau xử lý (băng vàng) với bisulfite của mẫu mô ung thư và mẫu mô tăng sản tuyến tiền liệt.

*Ghi chú: P1-P20 ký hiệu các mẫu mô ung thư từ 1 đến 20, B1-B10: ký hiệu mẫu mô ung thư và mẫu mô tăng sản, L: thang chuẩn ADN 100bp, (-): đối chứng âm.*

Kết quả cho thấy các khuôn ADN tách chiết từ các mẫu ung thư và tăng sản TTL đều cho phép khuếch đại gen *β-globin* với kích thước khoảng 250 bp. Điều này chứng tỏ ADN tổng số được tách chiết có chất lượng đảm bảo cho xử lý với bisulfite. Sử dụng ADN sau khi xử lý với bisulfite để làm khuôn cho phản ứng nhân bản gen *β-globin*, chúng tôi không thu được sản phẩm có kích thước 250 bp. Điều này chứng tỏ các mẫu ADN tổng số đã được xử lý hoàn toàn với bisulfite.

3.4.3. Kết quả xác định sự methyl hóa gen RASSF1A ở các mẫu ung thư

Kết quả MSP với các mẫu ung thư được trình bày trên hình 3.3. Phản ứng MSP nhằm phát hiện sự methyl hóa gen *RASSF1A* được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR phát hiện methyl hóa bằng cặp mồi đặc hiệu RASSF1A-M210-F/RASSF1A-M211-R có kích thước là 170 bp. Tương tự, để phát hiện gen *RASSF1A* có cytosine không bị methyl hóa (cytosine này sẽ bị thay thế thành thymine sau khi bị xử lý với bisulfite), phản ứng MSP cũng được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu bằng phương pháp nested PCR (PCR lồng). Sản phẩm PCR lần thứ nhất với cặp mồi đặc hiệu RASSF1A-Un-F1/RASF1A-Un-R1 được pha loãng 100 lần và được sử dụng làm khuôn cho phản ứng lần thứ hai với cặp mồi RASSF1A-Un-F2/RASSF1A-Un-R2.

****

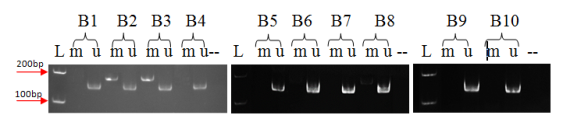
Hình 3.3. Sản phẩm MSP nhân bản gen *RASSF1A* từ khuôn ADN bị xử lý bằng bisulfite của 20 mẫu ung thư (từ P1 đến P20) với cặp mồi methyl RASSF1A-M210-F/RASSF1A-M211-R và cặp mồi không methyl RASSF1A-Un-F2/ RASSF1A-Un-R2.

*Ghi chú: Sản phẩm PCR được điện di trên gel acrylamide 10%. L: thang chuẩn ADN 100 bp. (\*): băng ADN có kích thước 170 bp. (-): đối chứng âm (nước thay cho ADN khuôn).*

Băng ADN đặc hiệu của gen *RASSF1A* bị methyl hóa có kích thước 170 bp (ký hiệu m) được phát hiện trong 11/20 mẫu ung thư TTL. Băng ADN đặc hiệu cho *RASSF1A* không bị methyl hóa có kích thước 137 bp (ký hiệu u) cũng được phát hiện trong 20 mẫu ung thư. Đây là sản phẩm đặc trưng cho các tế bào lành lẫn trong mẫu ung thư. Điều này chứng tỏ ADN đã được xử lý bisulfite tốt và các cặp mồi đã được thiết kế đặc hiệu chính xác đối với gen *RASSF1A*.

3.4.4. Kết quả xác định sự methyl hóa gen RASSF1A ở các mẫu tăng sản tuyến tiền liệt

Kết quả MSP với các mẫu tăng sản TTL được trình bày trên hình 3.4. Tương tự với các mẫu ung thư TTL, phản ứng MSP nhằm phát hiện sự methyl hóa gen *RASSF1A* được thực hiện với cặp mồi đặc hiệu RASSF1A-M210-F/RASSF1A-M211-R, sự không methyl hóa ADN được phát hiện bằng cặp mồi RASSF1A-Un-F2/RASSF1A-Un-R2.



Hình 3.4. Sản phẩm MSP nhân bản gen *RASSF1A* từ khuôn ADN bị xử lý với bisulfite của 10 mẫu tăng sản tuyến tiền liệt (từ B1 đến B10).

*Ghi chú: (m): ký hiệu băng ADN bị methyl hóa, (u): ký hiệu băng ADN không bị methyl hóa. Sản phẩm PCR được điện di trên gel acrylamide 10%. L-Thang chuẩn ADN 100 bp.*

*(-): đối chứng âm (nước thay cho ADN khuôn).*

Tất cả các mẫu mô tăng sản TTL có băng ADN đặc hiệu cho *RASSF1A* không bị methyl hóa (ký hiệu u) cho sản phẩm có kích thước là 137 bp. Băng ADN đặc hiệu cho *RASSF1A* bị methyl hóa có kích thước 170 bp (ký hiệu m) được phát hiện trong 2/10 mẫu tăng sản TTL.

3.4.5. Đối chiếu tình trạng methyl hóa gen RASSF1A với một số đặc điểm mô bệnh học trong ung thư biểu mô tuyến

*3.4.5.1. Tỷ lệ methyl hóa gen RASSF1A trong ung thư biểu mô tuyến và tăng sản lành tính tuyến tiền liệt*

Bảng 3.23. Tỷ lệ methyl hóa trong ung thư biểu mô tuyến và tăng sản tuyến tiền liệt

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học** | **Số lượng**  **(n=30)** | **Tỷ lệ methyl hóa**  **(%)** |
| Ung thư biểu mô tuyến | 20 | 11/20 (55%) |
| Tăng sản TTL | 10 | 2/10 (20%) |
| **Tổng số** | **30** |  |

Tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến của TTL là 55%, trong tăng sản lành tính TTL là 20%.

*3.4.5.2. Methyl hóa gen RASSF1A với độ Gleason của u*

Bảng 3.24. Tỷ lệ methyl hóa theo độ Gleason

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Độ Gleason** | **Số lượng mẫu (n=20)** | **Tỷ lệ methyl hóa (n%)** |
| 2 | 8 | 2 (25%) |
| 3 | 6 | 3 (50%) |
| 4 | 3 | 3 (100%) |
| 5 | 3 | 3 (100%) |
| **Tổng số** | **20** | **rho= 0,605; p = 0,005** |

Tỷ lệ methyl hóa tăng theo độ Gleason của khối u: với hệ số tương quan rho = 0,605; p < 0,01.

*3.4.5.3. Methyl hóa gen RASSF1A với điểm Gleason/độ biệt hóa của u*

Bảng 3.25. Tỷ lệ methyl hóa theo điểm Gleason/độ biệt hóa

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Điểm Gleason** | **Độ biệt hóa** | **Số lượng mẫu**  **(n=20)** | **Tỷ lệ methyl hóa**  **(n %)** |
| 2-4 | Cao | 7 | 2 (28,6%) |
| 5-7 | Vừa | 8 | 4 (50%) |
| 8-10 | Biệt hóa kém | 5 | 5 (100%) |
| **Tổng số** |  | **20** |  |
| **Hệ số Spearman** | **rho = 0,530; p = 0,016** | | |

Tỷ lệ methyl hóa tăng cao theo điểm Gleason/độ biệt hóa của khối u: 28,6% ở nhóm khối u điểm Gleason 2-4/biệt hóa cao, 50% ở nhóm khối u điểm Gleason 5-7/biệt hóa vừa, 100% ở nhóm khối u điểm Gleason 8-10/biệt hóa kém.

*3.4.5.4. Methyl hóa gen RASSF1A với tình trạng u xâm lấn dây thần kinh*

Bảng 3.26. Tỷ lệ methyl hóa theo tình trạng u xâm lấn dây thần kinh

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Xâm lấn dây thần kinh** | **Số lượng mẫu**  **(n=20)** | **Tỷ lệ methyl hóa**  **(n %)** |
| Có | 7 | 6/7 (85,7%) |
| Không | 13 | 5/13 (38,5%) |
| **Tổng số** | **20** |  |
| **Hệ số Spearman** | **rho = 0,453; p = 0,045** | |

Tỷ lệ methyl hóa ở nhóm khối u xâm lấn dây thần kinh là 85,7%, nhóm khối u không xâm lấn dây thần kinh là 38,5%. Có sự tương quan với p < 0,05.

*3.4.5.5. Methyl hóa gen RASSF1A trong tăng sản lành tính tuyến tiền liệt với tình trạng PIN*

Bảng 3.27. Tỷ lệ methyl hóa trong tăng sản tuyến tiền liệt theo tình trạng PIN

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Mô bệnh học** | **Số lượng mẫu**  **(n=10)** | **Tỷ lệ methyl hóa**  **(n %)** |
| Tăng sản TTL phối hợp PIN độ thấp | 5 | 2/5 (40%) |
| Tăng sản TTL không phối hợp PIN | 5 | 0/5 (0%) |
| **Tổng số** | **10** |  |

Tỷ lệ methyl hóatrong tăng sản TTL phối hợp với PIN độ thấp là 40%. Không phát hiện methyl hóa trong tăng sản TTL không phối hợp với PIN độ thấp.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến tiền liệt theo nhóm tuổi

Kết quả nghiên cứu về tuổi bệnh nhân mắc UTBM TTL của chúng tôi ở bảng 3.1 cho thấy: tỷ lệ bệnh nhân mắc UTBM TTL tăng lên theo từng nhóm tuổi, cao nhất ở nhóm tuổi 70-79 (42,86%), thấp nhất ở nhóm tuổi 40-49 (1,19%), nhóm tuổi 50-59 chiếm tỷ lệ 4,76%, nhóm tuổi 60-69 chiếm tỷ lệ 23,81%, nhóm tuổi ≥ 80 chiếm tỷ lệ 27,38%, tuổi trung bình là 74,34 ± 9,27. Tuổi thấp nhất 49 tuổi, tuổi cao nhất 90 tuổi, không gặp trường hợp nào tuổi dưới 40. So sánh kết quả này của chúng tôi với kết quả đã công bố của một số tác giả trong nước và nước ngoài, chúng tôi thấy không có sự khác biệt nhiều. Theo Nguyễn Việt Hải (2013) [20], tỷ lệ mắc UTTTL tăng dần theo tuổi: nhóm tuổi 50-60 (10,14%), 61-70 (18,84%), 71-80 (44,93%), 81-90 (24,63%), nhóm tuổi trên 90 tuổi (0,72%), tuổi cao nhất là 92 tuổi, tuổi trẻ nhất là 34 tuổi, tuổi trung bình của bệnh nhân là 73,80 ± 9,70. Kết quả của Ngô Văn Trung (2004) [120], cho thấy tỷ lệ mắc UTBM TTL cũng tăng lên theo nhóm tuổi, cao nhất ở nhóm tuổi 71-80 (51,7%), thấp nhất ở nhóm tuổi trên 80 tuổi (12,1%), tuổi trên 61 (47/58; 81%). Qua nghiên cứu về tuổi mắc UTBM TTL, chúng tôi thấy hầu hết các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi ở tuổi trên 60 (79/84; 94%), còn lại là dưới 60 tuổi (5/84; 6%). Nhiều nghiên cứu khác ở trong nước và nước ngoài đều cho thấy tỷ lệ mắc UTTTL tăng theo tuổi, đặc biệt là tuổi trên 60, tại Hoa Kỳ thường gặp nhất ở tuổi trên 50 [121]. Theo Gronberg H. (2003) [122], UTTTL rất hiếm gặp ở tuổi dưới 50 tuổi và chỉ chiếm tỷ lệ dưới 0,1% trong tổng số các bệnh nhân UTTTL, tuổi trung bình là 72-74 tuổi và khoảng 85% bệnh nhân được chẩn đoán UTTTL ở tuổi trên 65 tuổi.

4.2. Một số đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

4.2.1. Xác định típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt, các thể và biến thể ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt

Ung thư biểu mô tuyến tiền liệt và tăng sản lành tính TTL là hai nhóm tổn thương chủ yếu của TTL. Về mô bệnh học, chẩn đoán phân biệt giữa hai tổn thương này đôi khi có thể bị nhầm lẫn nhau, nếu bỏ qua đặc điểm hình thái của chúng. Mặt khác, UTBM TTL là một trong những loại u ác tính thường gây ra nhiều khó khăn cho việc chẩn đoán, vì một số tổn thương lành tính của TTL có thể nhầm với UTBM TTL, ví dụ: tăng sản phối hợp với teo đét, tăng sản tế bào đáy, teo đét tuyến, dị sản biểu mô gai… Đồng thời, một số trường hợp trên tiêu bản nhuộm H.E có những tổn thương như UTBM không/hoặc kém biệt hóa, hoặc di căn và xâm lấn ung thư từ nơi khác vào TTL thì cũng rất cần phải được chẩn đoán phân biệt và xác định nguồn gốc ung thư không biệt hóa. Nếu như trên tiêu bản thiếu các đặc điểm ác tính hoặc mẫu mô sinh thiết nhỏ cũng dễ dàng bỏ sót ung thư, do UTBM tuyến biệt hóa cao thường có cấu trúc mô học giống như cấu trúc bình thường của TTL. Do đó, trong thực hành chẩn đoán mô bệnh học, việc áp dụng một bảng phân loại thống nhất và có thể bao quát được hầu hết các tổn thương là rất cần thiết. Trước đây, một số tổn thương trong bệnh TTL như tân sản nội biểu mô TTL cũng đã có nhiều tên gọi khác nhau như: “tổn thương tiền ung thư”, của Mostofi FK. (1973) [123], “loạn sản nội ống” của McNeal J. E. (1986) [124]. Do đó, Hội nghị quốc tế về bệnh TTL năm 1987 đã thống nhất cách gọi tên tổn thương này là: tân sản nội biểu mô TTL và là tổn thương tiền ung thư của TTL [10].

Năm 1954, Franks [28] đã phân loại mô học ung thư TTL, bao gồm các loại: UTBM tuyến, UTBM thể xơ-chai, UTBM giảm biệt hóa và các sacôm mô đệm của TTL. Ưu điểm của phân loại này là đơn giản, dễ vận dụng trong thực hành chẩn đoán, về sau có nhiều biến thể mới được phát hiện nhưng không biết xếp vào loại nào. Để bổ sung những hạn chế trong bảng phân loại của Franks, năm 1980 [10], WHO đã xuất bản bảng phân loại mô học quốc tế về bệnh tuyến tiền liệt. Ưu điểm của bảng phân loại này là đã bổ sung những biến thể của UTBM TTL và có thể cho biết nguồn gốc của khối u, đồng thời cho biết những tổn thương dễ nhầm với UTTTL. Hơn nữa, nó khá thuận tiện và dễ ứng dụng vào trong thực hành chẩn đoán mô bệnh học. Vì vậy,, bảng phân loại này đã được áp dụng trong một thời gian dài. Tuy nhiên, với sự phát triển mạnh mẽ về dấu ấn miễn dịch cho các kháng nguyên tế bào u, bảng phân loại này cũng đã dần bộc lộ một số hạn chế về thuật ngữ và một số tổn thương mới được phát hiện đã không được đề cập, ví dụ: UTBM tuyến ống và một số biến thể của UTBM tuyến. Đặc biệt là thực thể UTBM tế bào đáy và tân sản nội biểu mô TTL cũng đã không được đề cập.

Năm 2000, AFIP [10] đưa ra bảng phân loại về quá sản tuyến tiền liệt, các u và tổn thương giống u để bổ sung những hạn chế của những phân loại trước đó. Bảng phân loại của AFIP đã cập nhật nhiều tổn thương mới cũng như danh pháp mới, đã được nhiều hội nghị quốc tế thống nhất và được nhiều nước trên thế giới sử dụng, trong đó có Việt Nam.

Đến năm 2004, WHO đã sửa đổi bảng phân loại mô bệnh học các khối u TTL năm 1980 và công bố bảng phân loại mới cho các khối u TTL [11].

Các ưu điểm của bảng phân loại mô bệnh học các khối u TTL của WHO (2004):

+ Công nhận UTBM TTL gồm có 4 típ (UTBM tuyến, UTBM đường niệu, UTBM tế bào vảy, UTBM tế bào đáy). Trong đó, UTBM tế bào đáy là típ mới được đưa vào phân loại này thay thế típ UTBM không biệt hóa trong phân loại WHO (1980).

+ Công nhận UTBM tuyến của TTL gồm có 2 thể, đó là: UTBM tuyến nang và UTBM tuyến ống. Trong đó, thể tuyến nang và thể tuyến ống là 2 thể mới được đưa vào phân loại này, thay thế cho các thể: tuyến nang nhỏ, nang lớn, hình sàng, dạng đặc/dạng bè trong bảng phân loại của WHO (1980).

+ Công nhận các biến thể của UTBM tuyến nang, bao gồm: biến thể tuyến nang thông thường, biến thể teo đét, biến thể giả tăng sản, biến thể tuyến bọt, biến thể tế bào nhẫn, biến thể dạng chất keo/nhày*,* biến thể tế bào ưa axít, biến thể giống u limphô - biểu mô và biến thể dạng sacôm.

+ Công nhận các biến thể của UTBM tuyến ống, bao gồm: biến thể dạng sàng, biến thể dạng nhú, biến thể dạng đặc.

+ Các khối u TTL đã được mã hóa theo mã hình thái học phân loại quốc tế về các bệnh cho khối u (Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology: ICD-O) và hệ thống hóa cách gọi tên các khối u TTL.

+ Đã xếp tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt vào danh mục các khối u biểu mô của TTL và công nhận tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt độ cao (PIN độ cao) là tổn thương tiền ung thư.

Nhờ những ưu điểm trên, bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) đã tạo điều kiện thuận lợi trong việc chẩn đoán mô bệnh học UTBM TTL cũng như thống nhất về cách gọi tên theo nguồn gốc của các khối u TTL.

Sự ra đời của bảng phân loại mô học các u TTL của WHO (2004) đã đáp ứng cơ bản nhu cầu chẩn đoán xác định các típ mô bệnh học cũng như các biến thể của UTBM tuyến của TTL. Đồng thời, bảng phân loại này cũng đưa ra các tiêu chuẩn để phân độ mô học cho các thể và biến thể của UTBM tuyến, từ đó giúp cho việc phân độ Gleason và tính điểm Gleason khối u chính xác hơn. Tuy nhiên, việc áp dụng vào thực tế để điều trị, tiên lượng và theo dõi sau phẫu thuật UTBM TTL có lúc gặp nhiều khó khăn và vẫn còn nhiều vấn đề cần làm sáng tỏ. Thực vậy, sau 12 năm, kể từ khi bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) ra đời, đã nảy sinh nhiều hiểu biết mới về bệnh học và di truyền học các khối u TTL. Vì vậy, năm 2016, WHO đã bổ sung và sửa đổi bảng phân loại về MBH các khối u TTL (2004) và công bố bảng phân loại mô bệnh học mới nhất về các khối u TTL.

So sánh bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO năm 2004 (bảng1.3) với phân loại của WHO năm 2016 (bảng 1.4) chúng tôi thấy: bảng phân loại mới nhất này đã bổ sung thêm một thực thể mới, đó là: ung thư tại chỗ và bổ sung biến thể vi nang, biến thể tế bào khổng lồ đa hình thái thay thế cho biến thể tế bào hạt ưa axít và biến thể giống u limphô - biểu mô trong phân loại của WHO (2004).

Ở nước ta, theo hiểu biết của chúng tôi, các công trình nghiên cứu về đặc điểm mô bệnh học của UTBM TTL theo phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) chưa nhiều. Do đó, từ tháng 6/2008 (tại thời điểm này, đây là phân loại mới nhất) đến tháng 7/2017 chúng tôi đã nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học của UTBM TTL theo phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) kết hợp với đánh giá sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch và tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM TTL. Đến nay, chúng tôi công bố kết quả nghiên cứu.

Kết quả xác định típ mô bệnh học UTBM TTL ở bảng 3.2 cho biết: Trong số 84 trường hợp UTBM TTL nguyên phát, có 2 típ UTBM TTL đã được xác định, đó là: UTBM tuyến nguyên phát của TTL chiếm tỷ lệ 97,6% và UTBM đường niệu nguyên phát của TTL chiếm tỷ lệ 2,4%. Chúng tôi không gặp típ UTBM tế bào vảy và UTBM tế bào đáy.

Đối chiếu kết quả này của chúng tôi với bảng phân loại của WHO (2016), chúng tôi không thấy trường hợp nào là UTBM TTL tại chỗ và không gặp biến thể vi nang cũng như biến thể tế bào khổng lồ đa hình thái. Như vậy, rất có thể UTBM TTL tại chỗ và biến thể vi nang cũng như biến thể tế bào khổng lồ đa hình thái rất hiếm gặp trong các mẫu mô UTBM tuyến của TTL được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo.

Kết quả nghiên cứu 50 bệnh nhân UTTTL của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] cho biết tỷ lệ UTBM tuyến thông thường là 78%. Nghiên cứu 138 bệnh nhân UTTTL, Nguyễn Việt Hải (2013) [20] cho biết UTBM tuyến chiếm tỷ lệ 98,6%. Hầu hết các nghiên cứu đều thông báo UTBM tuyến của tuyến tiền liệt chiếm tỷ lệ khoảng 95% [5]. Như vậy, kết quả về tỷ lệ UTBM tuyến của chúng tôi là phù hợp với các thông báo trong y văn và tương đương với kết quả của Nguyễn Việt Hải (2013) [20], nhưng cao hơn kết quả của Nguyễn Văn Hưng (2004) [10].

***Ung thư biểu mô tuyến nang của tuyến tiền liệt***

Ung thư biểu mô tuyến nang của TTL là khối u tế bào chế tiết ác tính xâm nhập. UTBM tuyến nang của TTL được xếp loại từ ung thư biệt hóa rõ (biệt hóa cao), là loại thường gây ra nhiều khó khăn cho việc phân biệt với các tuyến nang lành tính của TTL, cho tới ung thư kém biệt hóa là loại khó nhận ra nguồn gốc của chúng. Thông thường, tất cả các tuyến nang ung thư được lót bởi một lớp tế bào biểu mô và không có lớp tế bào đáy. Trái lại, các tuyến nang lành tính có lớp tế bào đáy nằm phía dưới tế bào chế tiết. UTBM tuyến nang biệt hoá cao có đặc điểm là tăng sinh bất thường các tuyến nang nhỏ, thành nang được lót bởi một lớp tế bào chế tiết hình trụ hoặc hình khối vuông, một số tế bào có hạt nhân lớn. Các nang tuyến nhỏ này sắp xếp sát vào nhau, ngăn cách với nhau bởi mô đệm mỏng. Ngoài ra, các tuyến nang nhỏ này còn xâm nhập vào mô đệm xơ-cơ của TTL. Xung quanh các tuyến nang nhỏ bất thường này không phát hiện thấy sự phân bố lớp tế bào đáy, ngay cả trên trên các tiêu bản nhuộm HMMD với kháng thể kháng cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 và p63.

Về chẩn đoán mô bệnh học, có tác giả cho rằng hạt nhân lớn là tiêu chuẩn quan trọng để chẩn đoán UTBM tuyến. Tuy nhiên, Kramer.CE. (1993) [125] nhận thấy: hạt nhân lớn cũng có thể thấy trong các ổ nhồi máu và viêm TTL, do đó, không phải là tiêu chuẩn quan trọng nhất. Đa số tác giả cho rằng: đặc điểm cấu trúc mô với các ống tuyến nhỏ xâm nhập là quan trọng nhất trong chẩn đoán, tiếp theo là tiêu chuẩn hạt nhân lớn. Đôi khi, một số UTBM tuyến có tế bào u với nhân nhỏ, xẫm màu, không thật rõ hạt nhân nhưng vẫn được chẩn đoán là ung thư vì tiêu chuẩn chẩn đoán trong trường hợp này là hình ảnh các ống tuyến nhỏ xâm nhập.

Tiêu chuẩn về sự có mặt các tế bào đáy viền xung quanh tuyến nang đã chứng minh tính chất lành tính. Tuy nhiên, một số tổn thương lành tính như: PIN và tăng sản tuyến không điển hình, lớp tế bào đáy không còn nguyên vẹn, chỉ còn một số tế bào đáy trong một tuyến nang, hoặc thậm chí một số tuyến hoàn toàn không còn tế bào đáy. Như vậy, sự không phân bố lớp tế bào đáy trong các tuyến nang có phải là tiêu chuẩn quyết định để chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến hay không ?. Theo Halushka và cộng sự: không phải tất cả các tuyến nang bình thường đều còn nguyên vẹn lớp tế bào đáy, vì vậy, không thể chỉ dựa vào tiêu chuẩn này để chẩn đoán ác tính, trích dẫn theo Nguyễn Văn Hưng và cộng sự [10]. Do đó, trong quá trình chẩn đoán mô bệnh học UTTTL, chúng tôi phải dựa chủ yếu vào các tiêu chuẩn mô bệnh học do WHO (2004) đưa ra như: bất thường về cấu trúc mô, bất thường về nhân tế bào (nhân lớn, tăng sắc, hạt nhân lớn, nhân chia bất thường, hình dáng và kích cỡ của nhân...), bất thường về bào tương (bào tương sáng, hai màu sắc), lòng tuyến nang có thể chứa các chất bất thường (chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất tiết mucin màu xanh nhạt, chất dạng tinh thể ) và 3 đặc điểm đặc trưng ác tính (u xâm nhập dây thần kinh, u tăng sinh xơ -nhày và cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận). Như vậy, mặc dù những nang tuyến không bộc lộ CK34βE12 và p63, nhưng lại thiếu các tiêu chuẩn bất thường về cấu trúc mô và tế bào thì vẫn được coi là tuyến lành tính.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.2 và bảng 3.3 cho biết: trong UTBM tuyến, hầu hết là UTBM tuyến nang (97,6%), UTBM tuyến ống rất hiếm gặp (2,4%). Trong UTBM tuyến nang, biến thể tuyến nang thông thường hay gặp nhất (87,5%), các biến thể khác của UTBM tuyến nang ít gặp hơn hoặc rất hiếm gặp.

*Các biến thể của ung thư biểu mô tuyến nang*

Về mô bệnh học, đối với UTBM tuyến nang, biến thể tuyến nang thông thường là phổ biến nhất, các biến thể mô học khác rất ít gặp và luôn luôn phối hợp với biến thể tuyến nang thông thường. Tuy nhiên, một số ít trường hợp trên các mẫu sinh thiết đủ lớn có thể thấy hình thái học đặc trưng của riêng một biến thể.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.3 cho biết: các biến thể mô bệnh học của ung thư biểu mô tuyến nang gặp được trong nghiên cứu này chủ yếu là biến thể tuyến nang thông thường (87,5%), biến thể teo đét và biến thể giả tăng sản ít gặp với tỷ lệ lần lượt là 5% và 7,5%. Chúng tôi không gặp các biến thể khác như: biến thể tế bào có bọt, biến thể dạng chất keo, biến thể tế bào nhẫn, biến thể tế bào hạt ưa axít, biến thể giống u limphô - biểu mô và biến thể dạng sacôm.

Đối với biến thể teo đét: để chẩn đoán phân biệt biến thể này với teo đét lành tính, chúng tôi phải dựa vào các đặc điểm mô bệnh học do WHO (2004) đưa ra như sau: trong UTBM tuyến nang biến thể teo đét có quá trình xâm nhập thực sự của các nang tuyến nhỏ vào giữa các nang tuyến lành tính có kích thước lớn hơn. Trái lại, trong teo đét lành tính các tuyến bị teo đét, sắp xếp dạng thùy và được bao quanh bởi mô đệm bị xơ hóa. Trong một số trường hợp teo đét lành tính có thể thấy hình ảnh các ống tuyến ở vùng trung tâm bị giãn rộng, vây xung quanh các ống tuyến giãn là các ống tuyến có kích thước nhỏ hơn, biểu mô tuyến teo nhỏ, nhân tế bào không mất điển hình và vẫn còn lớp tế bào đáy. Trong UTBM tuyến nang biến thể teo đét ít có phản ứng xơ hóa của mô đệm xung quanh các nang tuyến ung thư và nhân tế bào biểu mô nang tuyến mất điển hình rất rõ.

Đối với biến thể giả tăng sản: ở biến thể này, chúng tôi thấy cấu trúc u gần giống như tăng sản lành tính TTL, bao gồm các tuyến nang lớn phân nhánh, biểu mô tuyến cuộn gập thành các nhánh nhú. Để nhận ra ung thư từ những cấu trúc như thế, chủ yếu chúng tôi phải dựa vào các tiêu chuẩn mô bệnh học của WHO (2004), đó là: trong UTBM tuyến của TTL, các tuyến nang ung thư thường nằm sát nhau và tựa vào nhau, nhân tế bào biểu mô của các tuyến nang ung thư mất điển hình so với nhân của tế bào biểu mô tuyến nang lành tính. Ngoài ra, nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK34βE12 hoặc kháng thể kháng p63 đã giúp ích trong việc xác nhận không có sự phân bố của tế bào đáy trong UTBM tuyến nang biến thể giả tăng sản.

Các biến thể không gặp trong nghiên cứu của chúng tôi, gồm có:

Biến thể dạng chất keo/nhày và tế bào nhẫn: đây là một trong những biến thể rất hiếm gặp, theo thông báo của các nghiên cứu trước đây: biến thể này chiếm tỷ lệ khoảng 0,4% trong tổng số ung thư TTL [11]. Về MBH, chẩn đoán UTBM tuyến nang biến thể dạng chất keo khi thấy ít nhất 25% tổ chức u cắt bỏ có chứa chất nhày nằm ngoài tế bào. Đồng thời, trong các vùng chất nhày có những ổ hoặc đám tế bào u có xu hướng sắp xếp dạng mặt sàng, đôi khi lại có cấu trúc tuyến nang khá rõ. Trái ngược với ung thư biểu mô tuyến ở bàng quang, trong UTBM tuyến nang, biến thể dạng dạng chất keo hiếm khi gặp những tế bào nhẫn chứa chất nhày. Một số trường hợp UTBM TTL có sự xuất hiện tế bào nhẫn, tuy nhiên các không bào trong bào tương không chứa chất nhày, các tế bào nhẫn này cũng có thể thấy trong các dải tế bào, trong các tuyến đơn lẻ hoặc là những tế bào xâm lấn đơn độc [126].

Biến thể tuyến tế bào có bọt: biến thể này cũng hiếm gặp, đặc điểm đặc trưng của chúng là trong bào tương của tế bào u có có nhiều các bọng bọt nhỏ. Tỷ lệ nhân/bào tương rất thấp, nhân tế bào tròn và nhỏ, đậm màu [11].

Biến thể tế bào hạt ưa axít: đây cũng là một trong những biến thể hiếm gặp, cấu trúc u gồm các tế bào lớn, bào tương ưa eosin, tế bào u có nhân tròn hoặc hình bầu dục, nhân tăng sắc, Nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA, các tế bào u bộc lộ PSA với mức độ mạnh. U có độ Gleason cao và nồng độ PSA huyết thanh tăng cao [11].

Biến thể giống u limphô biểu mô: đây là khối u biểu mô ác tính không biệt hoá rất hiếm gặp. Về mô bệnh học, loại u này giống u limphô biểu mô của vòm họng. Cấu trúc u được đặc trưng bởi các tế bào ác tính có dạng hợp bào, kèm xâm nhiễm nhiều limphô bào. Nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA, các tế bào ác tính bộc lộ PSA [11].

Biến thể dạng sacôm: biến thể này rất hiếm gặp, u bao gồm thành phần tế bào biểu mô và thành phần tế bào trung mô hay/hoặc tế bào hình thoi ác tính. Các tế bào kể trên có thể xuất hiện ngay từ lúc ban đầu hoặc có thể trước đó bệnh nhân đã điều trị UTTTL bằng hocmôn hoặc tia xạ. Về vi thể, cấu trúc u gồm thành phần tuyến có thể khác nhau về điểm Gleason. Thành phần dạng sacôm thường có sự tăng sinh tế bào hình thoi ác tính. Các thành phần trung mô đặc trưng bao gồm: sacôm xương, sacôm sụn, sacôm cơ vân, sacôm cơ trơn, sacôm mỡ, sacôm mạch máu… UTBM tuyến nang biến thể dạng sacôm cần được phân biệt với UTBM tuyến có sự dị sản xương hoặc sụn, trong đó thành phần xương hoặc sụn đều biểu hiện lành tính [11].

***Ung thư biểu mô tuyến ống***

UTBM tuyến ống thuần túy rất hiếm gặp, thông thường hay gặp UTBM tuyến ống kết hợp với UTBM tuyến nang. Các nghiên cứu về siêu cấu trúc và HMMD đã chứng minh UTBM tuyến ống có nguồn gốc từ TTL [11]. Trước đây, Melicow và Tannenbaun (1971), trích dẫn theo Mostofi F. và cộng sự (1992) [123] cũng đã gặp và mô tả 2 trường hợp UTBM tuyến ống và đưa ra tên gọi là “ung thư biểu mô TTL dạng nội mạc tử cung ”, vì hình thái mô học của nó giống với nội mạc tử cung, ngày nay thuật ngữ này không còn thích hợp nữa.

Về mô bệnh học, cấu trúc loại u này bao gồm các ống tuyến lớn được lót biểu mô trụ cao giả tầng. Bào tương của các tế bào thường có hai màu sắc và đôi khi có thể sáng màu. Trong nhiều trường hợp có nhiều hình nhân chia và nhân mất điển hình rất rõ, một số trường hợp khác sự mất điển hình lại không rõ khiến cho chẩn đoán mô bệnh học gặp nhiều khó khăn. UTBM tuyến ống cũng có sự đa dạng về các mẫu cấu trúc và các mẫu cấu trúc này cũng thường phối hợp với nhau. Các mẫu cấu trúc trong UTBM tuyến ống, bao gồm: cấu trúc dạng tuyến, dạng sàng và dạng đặc. Một số trường hợp UTBM tuyến ống phối hợp với phản ứng tăng sinh mô sợi xơ, trong mô sợi xơ có nhiều đại thực bào chứa sắc tố hemosiderin. Về chẩn đoán mô bệnh học, UTBM tuyến ống phải được phân biệt với UTBM đường niệu, TTL lạc chỗ, các polyp của TTL và viêm niệu đạo tăng sinh nhú. Khó hơn nữa là phải phân biệt với PIN độ cao dạng sàng. Một số mẫu cấu trúc của UTBM tuyến ống cũng có thể biểu hiện như là UTBM tuyến ống tại chỗ. Về phân độ mô học, hầu hết UTBM tuyến ống được phân độ mô học tương đương với mẫu Gleason độ 4, trong một số trường hợp có hoại tử dạng trứng cá thì chúng có thể được coi như tương đương với mẫu Gleason độ 5. Về HMMD, UTBM tuyến ống bộc lộ PSA, tế bào u không bộc lộ CK trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 và p63 đặc hiệu cho tế bào đáy [11], [123].

Về chẩn đoán phân biệt UTBM tuyến ống với PIN độ cao và UTBM đường niệu của TTL: đối với PIN độ cao, mật độ tuyến thường không nhiều và các tuyến không nằm kề sát nhau, cũng như không có sự hợp nhất tuyến hoặc các nhú, các nhú nội ống thường có trục liên kết huyết quản, đặc biệt là còn sự phân bố tế bào đáy. Còn đối với UTBM đường niệu nguyên phát của TTL khác với ung thư biểu mô tuyến ống là không có sự biệt hoá tuyến và tế bào u không bộc lộ PSA khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi gặp 2 trường hợp (2,4%) UTBM tuyến ống không thuần túy. Về vi thể, chúng tôi thấy cả 2 trường hợp này đều có thành phần UTBM tuyến ống kết hợp với thành phần UTBM tuyến nang. Thành phần UTBM tuyến ống bao gồm các ống tuyến lớn được lót bởi các tế bào biểu mô trụ cao ở dạng đơn hoặc giả tầng, có nơi giống cấu trúc nhú. Bào tương tế bào rộng ở phía cực ngọn và có 2 màu sắc, đôi khi có vùng bào tương hơi sáng màu. Nhân tế bào nằm ở cực đáy và nhân mất điển hình rất rõ, chất nhiễm sắc thô, có nhiều hình nhân chia. Về phân độ mô học cho 2 trường hợp này, do cả 2 trường hợp này đều không phải là UTBM tuyến ống thuần túy (vì có sự kết hợp với thành phần UTBM tuyến nang). Thành phần UTBM tuyến nang của trường hợp thứ nhất được phân độ là Gleason độ 3, trường hợp còn lại được phân độ là Gleason độ 4. Vì vậy, theo WHO (2004) [11], chúng tôi đã phân độ mô học cho 2 trường hợp UTBM tuyến ống này theo phân độ Gleason của UTBM tuyến nang mà chúng đã kết hợp.

Kết quả về tỷ lệ UTBM tuyến ống trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10], (tỷ lệ UTBM tuyến ống trong nghiên cứu của tác giả là 4%). Eble. J. N. và cộng sự (2004) [11] thông báo là tỷ lệ UTBM tuyến ống thuần túy chỉ chiếm vào khoảng 0,2 - 0,8% trong tổng số UTTTL.

***Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát của tuyến tiền liệt***

Hầu hết UTBM đường niệu nguyên phát của TTL đều gặp ở các bệnh nhân lớn tuổi và phân bố độ tuổi cũng tương tự như UTBM đường niệu ở bàng quang. Đối với UTBM đường niệu ở bàng quang xâm lấn, tỷ lệ tổn thương TTL lên tới 45% các trường hợp, tỷ lệ tổn thương TTL cao nhất khi ung thư bàng quang có nhiều ổ hoặc ung thư tại chỗ kết hợp với ung thư xâm lấn.

UTBM đường niệu thứ phát của TTL thường đi kèm với ung thư tại chỗ của niệu đạo TTL. Tổn thương TTL xuất hiện bằng con đường lan trực tiếp từ niệu đạo vào TTL theo các ống dẫn. Vì vậy, phần lớn các trường hợp các ống dẫn ở vùng trung tâm của TTL bị tổn thương nặng nề hơn bởi sự lan tràn các tế bào u so với các ống dẫn và các nang tuyến ở vùng ngoại vi. Ngoài ra, ung thư đường niệu thứ phát của TTL là do UTBM đường niệu từ bàng quang xâm lấn trực tiếp vào TTL.

Về HMMD, các nghiên cứu đều chỉ ra các tế bào u trong UTBM đường niệu nguyên phát của TTL không bộc lộ PSA khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA và phần lớn các trường hợp tế bào u không bộc lộ CK7. Đối với p63 hoặc các cytokeratin trọng lượng phân tử cao thì các tế bào u bộc lộ vào khoảng 50% các trường hợp. Các tế bào đáy còn sót lại trong UTBM đường niệu nguyên phát của TTL thường chỉ gặp trong UTBM đường niệu tại chỗ [11].

Trong nghiên cứu, chúng tôi gặp 2/84 (2,4%) trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL. Về vi thể, cả hai trường hợp này đều thấy thành phần ung thư tại chỗ có sự đa hình thái về nhân tế bào rất rõ. Đặc biệt là có các tế bào u giống tế bào Paget phát triển len lỏi giữa lớp tế bào đáy và tế bào chế tiết của ống tuyến. Đối với thành phần xâm lấn vào mô đệm, chúng tôi thấy: các ống dẫn giãn rộng lấp đầy tế bào biểu mô đường niệu ác tính, rải rác có vùng tế bào u bị thoái hóa. Đối với các tế bào u xâm lấn vào mô đệm, các tế bào u thường sắp xếp thành từng ổ nhỏ hoặc từng dải, đồng thời phản ứng xơ hóa của mô đệm và phản ứng viêm rất rõ ở xung quanh các đám tế bào u xâm lấn.

Kết quả nghiên cứu mô bệnh học 138 trường hợp UTBM TTL của Nguyễn Việt Hải (2013) [20] tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 cho biết: tỷ lệ UTBM đường niệu nguyên phát là 0,7%. Kết quả của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10], khi nghiên cứu 42 trường hợp UTBM TTL nguyên phát tại Bệnh viện K Hà Nội cho biết tỷ lệ UTBM đường niệu nguyên phát là 2%. Eble. J. N. và cộng sự (2004) [11] cho biết: tần xuất UTBM đường niệu nguyên phát của TTL là vào khoảng 0,7% - 2,8% trong tổng số UTTTL. Mostofi F. (1992) [123] cũng cho biết là hiếm khi gặp UTBM đường niệu trong sinh thiết TTL. Như vậy, kết quả của chúng tôi về tỷ lệ UTBM đường niệu nguyên phát của TTL là tương đương với kết quả nghiên cứu đã được công bố của các tác giả trong nước và nước ngoài.

Qua áp dụng bảng phân loại mô học các khối u TTL của WHO (2004) vào nghiên cứu 84 trường hợp UTBM TTL nguyên phát được phát hiện nhờ xét nghiệm mô bệnh học các mảnh bệnh phẩm phẫu thuật nội soi TTL qua niệu đạo tại Bệnh viện Quân y 103, từ tháng 6/2008 đến 7/2017, chúng tôi thấy: tất cả các típ mô bệnh học UTBM TTL và các biến thể mô bệnh học UTBM tuyến gặp được đều không nằm ngoài bảng phân loại này. Điều đó càng chứng tỏ bảng phân loại của WHO (2004) đã bao quát đầy đủ các típ mô bệnh học của UTBM TTL và các biến thể UTBM tuyến mà trong thực hành chẩn đoán mô bệnh học UTBM TTL có thể gặp.

Phân loại của WHO (2004) đã bổ sung các típ mô bệnh học, các thể và biến thể UTBM tuyến, xếp loại tổn thương tân sản nội biểu mô TTL và hệ thống hóa cách gọi tên các khối u TTL. Phân loại của WHO (2004) đã đưa ra các tiêu chuẩn mô bệnh học để chẩn đoán UTBM TTL và các loại ung thư khác của TTL. Đồng thời, đưa ra cách xếp loại mới cho các thể và biến thể của UTBM tuyến phù hợp với tính không đồng nhất của mô ung thư và hoàn toàn phù hợp với sự đa dạng về hình thái cấu trúc của mô UTBM TTL. Ngoài ra, phân loại của WHO (2004) đơn giản, dễ hiểu, dễ nhớ, dễ áp dụng vào trong thực tế, đồng thời cho biết nguồn gốc của khối u. Từ đó đã giúp ích rất nhiều cho chẩn đoán mô bệnh học cũng như phân độ mô học khối u theo hệ thống Gleason đúng và chính xác hơn. Phân loại của WHO (2004) đã giúp ích cho các nhà giải phẫu bệnh tránh được bỏ sót hoặc nhầm lẫn ung thư, đặc biệt là trong chẩn đoán mô bệnh học các mẫu sinh thiết kim.

4.2.2. Ung thư biểu mô tuyến phối hợp với tân sản nội biểu mô độ cao

Tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt (prostatic intraepithelial neoplasia: PIN) là một tổn thương có hình ảnh đặc trưng là tăng sinh và chuyển dạng ác tính của các tế bào biểu mô chế tiết của các nang và ống tuyến, nhưng quá trình chuyển dạng ác tính vẫn còn giới hạn trong lớp biểu mô. Cho nên PIN, đặc biệt là PIN độ cao cần phải được phân biệt về mô học với một số tổn thương lành tính khác của TTL và phải phân biệt típ dạng sàng của PIN độ cao với cấu trúc ung thư dạng sàng [10], [11].

Việc chẩn đoán phân biệt típ dạng sàng của PIN độ cao với ung thư biểu mô tuyến dạng sàng đôi khi là khá phức tạp. Theo quan điểm của một số tác giả, ung thư biểu mô tuyến dạng sàng được chẩn đoán khi có những nang tuyến bất thường sát nhập lại với nhau tạo ra cấu trúc giống như mặt sàng, trong khi típ dạng sàng của PIN độ cao là một phức hợp tăng sinh nội ống với nhiều lỗ trống nhìn cũng giống như mặt sàng [10], [11]. Mặt khác, cần quan sát kỹ các vùng khác để phát hiện các ống tuyến nhỏ xâm nhập và các ổ hoại tử, vì đó là những dấu hiệu của tổn thương ác tính. Tuy nhiên, trên thực tế, ung thư biểu mô tuyến dạng sàng đơn thuần là rất hiếm gặp, chúng thường phối hợp với ung thư biểu mô tuyến nang nhỏ xâm nhập. Trong trường hợp cấu trúc này ở dạng độc lập mà không kèm theo tổn thương khác như đã nêu ở trên thì cần thiết phải sử dụng dấu ấn miễn dịch cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 hoặc p63 để phát hiện tế bào đáy, vì sự có mặt của tế bào đáy chứng minh tính chất lành tính của tổn thương.

Một số đặc điểm chính của PIN độ cao:

+ Nhân tế bào: kích thước nhân lớn, chất màu nhân thường đậm và phân bố không đều, màng nhân dày, hạt nhân lớn. Trong PIN độ cao, tính chất không đều của nhân rõ rệt hơn so với PIN độ thấp. Hạt nhân lớn và không đều phân bố thành từng ổ thường thấy trong PIN độ cao, trong khi ở PIN độ thấp thì đặc điểm này lại phân tán hơn.

+ Đặc điểm mô học khác của PIN độ cao: lớp tế bào đáy của tuyến có tổn thương PIN độ cao được phát hiện ngay cả trên những tiêu bản nhuộm H.E, mặc dù lớp tế bào này thường xuyên bị gián đoạn ở nhiều mức độ khác nhau. Iczkowski K. A. (1999) [54] cho biết có tới 56% các trường hợp PIN độ cao thấy lớp tế bào đáy bị gián đoạn. Ngược lại, trong ung thư biểu mô tuyến, lớp tế bào đáy bị mất hoàn toàn, nhưng sự vắng hoàn toàn tế bào đáy vẫn không được sử dụng làm tiêu chuẩn duy nhất để chẩn đoán ung thư [54]. Nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK34βE12 giúp ích cho việc phát hiện tế bào đáy trong trường hợp dù nang tuyến hoặc ống tuyến chỉ còn một số tế bào đáy sót lại [10].

Ý nghĩa của PIN độ cao: PIN độ cao được ghi nhận là có sự phối hợp với ung thư TTL hoặc PIN xuất hiện trước ung thư [26]. Tỷ lệ PIN độ cao phối hợp với ung thư TTL là khá khác nhau trong các nghiên cứu [11]. Nhưng nhìn chung, PIN độ cao phối hợp rất chặt chẽ với ung thư. PIN độ cao có giá trị như là một dấu ấn của UTBM tuyến. Đặc biệt trong các trường PIN độ cao kèm theo có các tuyến mất điển hình nằm liền kề [11]. Sự có mặt của PIN độ cao trên mảnh sinh thiết là bằng chứng đảm bảo cho sinh thiết lần tiếp theo có nhiều khả năng sẽ gặp ung thư biểu mô TTL [127]. Người ta nhận thấy: tuổi của bệnh nhân, nồng độ PSA huyết thanh và PIN độ cao là những yếu tố dự báo có giá trị cao nhất cho ung thư TTL [10], [128]. Chỉ riêng PIN độ cao cũng đã làm tăng nguy cơ ung thư TTL gấp từ 8 -15 lần so với trường hợp không có PIN độ cao [31], [129], [130].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.4 cho thấy: tỷ lệ UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao là 73,2%, UTBM tuyến không phối hợp với PIN độ cao là 26,8%. UTBM tuyến không phối hợp với PIN độ cao có nghĩa là UTBM tuyến có thể độc lập hoặc phối hợp với các tổn thương lành tính khác của TTL. Kết quả nghiên cứu 194 bệnh nhân UTBM TTL của Alexander E. E. và cộng sự (1996) [131] cho biết: tỷ lệ UTBM TTL phối hợp với PIN độ cao là 88%, UTBM TTL không phối hợp với PIN là 12%. Kết quả nghiên cứu tỷ lệ UTBM TTL phối hợp với PIN độ cao của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] là 76,2%. Như vậy, kết quả về tỷ lệ UTBM TTL phối hợp với PIN độ cao của chúng tôi so với kết quả của Alexander E. E. và Nguyễn Văn Hưng là tương đương với nhau. Hầu hết các nghiên cứu cũng đều cho biết UTBM TTL phối hợp rất chặt chẽ với PIN độ cao và UTBM TTL phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ từ 85% đến 100% trong các bệnh phẩm phẫu thuật cắt toàn bộ TTL với lí do ung thư [11].

Về phân bố tỷ lệ UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao theo điểm Gleason. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.7 cho biết: tỷ lệ UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm u điểm Gleason 5-7 (biệt hóa vừa) với tỷ lệ là 66,7%, còn lại nhóm điểm Gleason 2-4 (biệt hóa cao) và 8-10 (kém biệt hóa) chiếm tỷ lệ thấp hơn, với tỷ lệ lần lượt là 20% và 13,3%. Theo kết quả nghiên cứu và nhận xét chung của các tác giả nước ngoài như: Eptain JL và cộng sự (1995), Erbersdobler A. và cộng sự (1996), Hagman MJ và cộng sự (1997), Montoroni R. và cộng sự (1999), Paradis V. và cộng sự (1999) thì UTBM TTL kém biệt hóa và biệt hóa trung bình phối hợp rất chặt chẽ với PIN độ cao [11]. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu về phân bố tỷ lệ UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao theo độ biệt hóa u của chúng tôi chủ yếu là ở nhóm UTBM tuyến có độ biệt hóa vừa (điểm Gleason 5-7). Như vậy, kết quả này của chúng tôi chỉ phù hợp một phần với kết quả và nhận định của các tác giả nêu ở trên.

Với tỷ lệ cao UTBM tuyến phối hợp PIN độ cao như đã nêu, có phải PIN độ cao là nguyên nhân gây ung thư TTL hay không?. Rất nhiều nghiên cứu đề cập đến vấn đề này và hiện nay có nhiều bằng chứng thuyết phục rằng PIN độ cao là nguyên nhân của ung thư TTL. Người ta thấy có rất nhiều sự tương đồng giữa hai thực thể bệnh này, như tỷ lệ mắc bệnh tăng theo tuổi ở cả hai thực thể bệnh này, mặc dù ung thư xuất hiện chậm hơn PIN độ cao từ 5 - 10 năm. Cả hai cùng mang các biến đổi về di truyền cũng như cùng song song mất biểu hiện protein của một số gen như *NKX3.1* (*NK homeobox Drosophila*, *family 3*, *locus 1*) và p27 [132]. Đột biến TP53 (Tumour protein p53) và biểu hiện quá mức protein p53 cũng được nhận ra trong một số tổn thương PIN độ cao, tăng methyl hóa gen *GSTP1* (*Glutathione S-transferase Pi 1 gene*) đạt xấp xỉ 70% các trường hợp tổn thương PIN độ cao. Protein BCL-2 (B-cell lymphoma 2) cũng xuất hiện trong một số trường hợp PIN độ cao, nhiều gen khác cũng cho thấy là tăng biểu hiện trong PIN độ cao khi so sánh với mô TTL lành tính, AMACR (Alpha-methylacyl-CoA racemase) cũng tăng lên ở một số trường hợp PIN độ cao [133].

Do UTBM tuyến phối hợp với PIN độ cao chiếm tỷ lệ cao, do đó mối liên quan giữa UTBM tuyến và PIN độ cao đã được quan tâm nghiên cứu. Theo một số tác giả, khi theo dõi những bệnh nhân bị PIN độ cao trong khoảng thời gian từ 5-10 năm, một số tác giả đã ghi nhận rằng có tới 6,4% trường hợp phát triển thành UTBM tuyến và ở bệnh nhân tăng sản TTL thì tỷ lệ này là 3,7%. Khi nghiên cứu TTL trên tử thiết, các tác giả đều nhận thấy: hầu hết (83,3%) các ung thư TTL xuất hiện trên cơ sở tân sản nội biểu mô và sự phối hợp này là hằng định ở các nhóm tuổi. Ngoài ra, một số tác giả còn đưa ra bằng chứng về sự liên quan giữa PIN độ cao với UTBM tuyến mặc dù chưa thuyết phục, như sự tương tự về hình thái giữa PIN độ cao và ung thư biểu mô TTL độ mô học thấp và vùng chuyển tiếp là vị trí của cả hai tổn thương này. Ngoài ra, cũng đã có những nghiên cứu còn chỉ ra mối tương quan giữa PIN độ cao với giai đoạn bệnh của UTBM TTL và mối tương quan có ý nghĩa giữa PIN độ cao với di căn hạch limphô [11], [132], [134].

4.2.3. Độ mô học trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

Năm 1926, Broders đã đưa ra phương pháp phân độ mô học cho UTBM TTL với hệ thống 4 độ mô học. Sau đó, hơn 40 hệ thống phân độ mô học khác cũng đã được đề xuất. Cho đến nay, hầu như chỉ có hệ thống phân độ Gleason được sử dụng rộng rãi trên thế giới. Cơ sở của hệ thống này là dựa trên nghiên cứu tiến cứu 5000 trường hợp UTBM TTL từ năm 1960 -1975 tại Mỹ và được ứng dụng ở nhiều nước [24], [113], [123].

Phân độ này rất phù hợp với tính chất đa hình thái cũng như đa cấu trúc của UTBM TTL. Cơ sở của phân độ mô học là dựa vào các tiêu chuẩn về cấu trúc mô ung thư được quan sát ở độ phóng đại thấp và trung bình (40 và 100 lần). Điều đó có nghĩa là chỉ dựa vào cấu trúc mô học của khối u do các tế bào u tạo ra như: cấu trúc hình bè, hình ống, hoặc dạng sàng… mà không dựa vào các đặc điểm bất thường của nhân tế bào cũng như tỷ lệ nhân chia để phân độ [32], [33].

Mức độ biệt hoá của khối u được chia làm 5 độ và được đánh số từ độ 1 đến độ 5 theo thứ tự giảm dần độ biệt hoá. Ở độ 1 và độ 2, mỗi độ chỉ duy nhất có một mẫu mô học đặc trưng. Ngược lại, ở độ 3, độ 4 và độ 5 lại có nhiều mẫu cấu trúc mô học. Thực tế cho thấy, trong cùng một khối u, người ta có thể quan sát thấy nhiều độ mô học khác nhau cùng tồn tại.

Về phân độ mô học cho các biến thể của UTBM tuyến: các biến thể hình thái học của UTBM tuyến bao gồm: biến thể tuyến nang thông thường hay gặp nhất, các biến thể ít gặp như biến thể teo đét, biến thể giả tăng sản... Theo Eble. J. N. và cộng sự [11], hầu hết các biến thể ít gặp này của UTBM tuyến phối hợp với biến thể tuyến nang thông thường và ảnh hưởng của chúng đối với tiên lượng bệnh rất khó đánh giá. Do đó, khi chúng chiếm số lượng ít về thành phần mô học, phân độ mô học của khối u nên được tính theo độ mô học của biến thể tuyến nang thể thông thường mà chúng phối hợp trong cùng khối u. Chỉ một số hiếm các trường hợp các biến thể hiếm gặp kể trên chiếm số lượng nhiều về thành phần mô học và vấn đề phân độ mô học trong những trường hợp này vẫn còn đang tiếp tục bàn luận [11].

Do trong mỗi khối u có nhiều độ mô học, ở mỗi u chỉ chú ý đến hai mẫu chiếm ưu thế hơn, đó là: mẫu thứ nhất (mẫu nguyên phát) là mẫu chiếm diện tích nhiều nhất và mẫu thứ hai (mẫu thứ phát) là mẫu chiếm diện tích nhiều thứ nhì. Tổng độ mô học của mẫu thứ nhất và thứ hai là điểm Gleason của khối u.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về phân bố độ Gleason của mô ung thư biểu mô TTL theo mẫu thứ nhất và thứ hai ở bảng 3.6 cho biết: mô ung thư có độ biệt hoá cao nhất (Gleason độ 1) không gặp ở cả mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai. Độ 3 (biệt hoá vừa) chiếm tỷ lệ cao nhất (mẫu thứ nhất là 46,3%, mẫu thứ hai là 23,1%). Độ 4 (ít biệt hóa) chiếm tỷ lệ khá cao (43,9% ở mẫu thứ hai và 24,4% ở mẫu thứ nhất). Mô ung thư Gleason độ 2 và Gleason độ 5 chiếm tỷ lệ thấp ở cả mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai.

Kết quả của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] cho biết Gleason độ 3 chiếm tỷ lệ cao nhất ở mẫu thứ nhất (68,3%), Gleason độ 4 chiếm tỷ lệ cao nhất ở mẫu thứ hai (48,8%).

Kết quả nghiên cứu về độ và điểm Gleason của Samaratunga H. và cộng sự (2014) [135] cho biết: nhóm u chỉ có duy nhất một mẫu mô học là độ 3 chiếm tỷ lệ thấp (7,5%), còn nhóm u chỉ có duy nhất một mẫu mô học là độ 4 hoặc độ 5 chiếm tỷ lệ rất thấp với tỷ lệ lần lượt là 0,9% và 0,1%. Eble. J. N. và cộng sự (2004) [11] cho biết UTBM TTL thường có nhiều hơn một mẫu mô học trong cùng một u. Qua các kết quả trên, chúng tôi thấy mô UTBM TTL có độ biệt hóa rộng và có nhiều độ biệt hóa khác nhau. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về phân bố độ Gleason của mô ung thư theo mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai phù hợp với kết quả và nhận xét của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] cũng như các thông báo trong y văn.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về phân bố tỷ lệ UTBM tuyến theo điểm Gleason (độ biệt hóa) ở bảng 3.5 cho biết: nhóm u điểm Gleason từ 5-7 (biệt hoá vừa) chiếm tỷ lệ cao nhất (70,7%). Trong khi đó, nhóm u điểm Gleason 2-4 (biệt hoá cao) và nhóm u Gleason 8-10 (kém biệt hoá) chiếm tỷ lệ thấp hơn với tỷ lệ lần lượt là 17,1% và 12,2%.

Bảng 4.1. So sánh kết quả điểm Gleason trong nghiên cứu của chúng tôi với một số tác giả

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tác giả**  **Điểm Gleason** | **Chúng tôi, 2018** | **Nguyễn Việt Hải, 2013**  **[20]** | **Nguyễn Văn Hưng, 2005**  **[10]** | **Oesterling,**  **1987, trích dẫn theo Nguyễn Việt Hải [20]** |
| Gleason 2 - 4 | 14 (17,1%) | 22 (16,18%) | 2 (4,9%) | 34 (12,14%) |
| Gleason 5 - 7 | 58 (70,7%) | 76 (55,88%) | 30 (72,3%) | 217 (78,9%) |
| Gleason 8 - 10 | 10 (12,2%) | 3 (23,53%) | 9 (21,9%) | 24 (8,7%) |
| Tổng số | 82 | 136 | 41 | 275 |

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về phân bố tỷ lệ UTBM tuyến của TTL theo điểm Gleason có sự khác biệt với một số tác giả, đó là: tỷ lệ u điểm Gleason 2-4 của chúng tôi cao hơn so với Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] và Oesterling (1987), nhưng tỷ lệ u điểm Gleason 8-10 trong nghiên cứu của chúng tôi lại thấp hơn so với Nguyễn Việt Hải (2013) [20] và Nguyễn Văn Hưng (2005) [10]. Sự khác nhau này, theo chúng tôi có thể được giải thích là do có sự khác nhau về lựa chọn đối tượng nghiên cứu: đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là các trường hợp UTBM TTL được phát hiện tình cờ qua các mảnh bệnh phẩm TTL phẫu thuật nội soi qua niệu đạo với chẩn đoán lâm sàng trước mổ là tăng sản lành tính TTL hoặc nghi ngờ ung thư. Do đó, hầu hết các trường hợp UTBM TTL trong nghiên cứu của chúng tôi rất có thể là những u ở giai đoạn sớm, bệnh bắt đầu tiến triển, kích thước u còn nhỏ, vẫn còn khu trú ở trong tuyến, chưa xâm lấn lan rộng và di căn. Còn đối tượng nghiên cứu của các tác giả nêu ở trên đã lựa chọn khác với chúng tôi, như bệnh nhân đã ở những giai đoạn lâm sàng khác nhau, khi khối u đã lớn, phát triển vượt ra ngoài vỏ tuyến hoặc đã xâm nhập vào cấu trúc xung quanh của TTL hoặc di căn. Có lẽ như vậy, kết quả về tỷ lệ u điểm Gleason 2-4 trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỷ lệ cao hơn so với kết quả của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] và Oesterling (1987) trích dẫn theo Nguyễn Việt Hải (2013) [20] và kết quả về tỷ lệ u điểm Gleason 8-10 của chúng tôi thấp hơn so với Nguyễn Việt Hải (2013) và Nguyễn Văn Hưng (2005). Kết quả về tỷ lệ UTBM tuyến ở nhóm điểm Gleason 5-7 của chúng tôi không khác biệt nhiều so với kết quả của các tác giả trong nước cũng như ở nước ngoài. Kết quả nghiên cứu mô bệnh học 2900 bệnh nhân cắt bỏ toàn bộ TTL của Samaratunga H. và cộng sự (2014) [135] cho biết nhóm u điểm Gleason 8-10 chiếm tỷ lệ là 17,7%, nhóm u Gleason 6 điểm và 7 điểm chiếm tỷ lệ 82,3%. Kết quả nghiên cứu của Sgrignoli A. (1994) [136] với những trường hợp UTBM TTL ở giai đoạn muộn cho biết như sau: điểm Gleason 5-7 (67,3%), điểm Gleason 8-10 (32,7%), không gặp trường hợp nào trong nhóm điểm Gleason 2-4. Kết quả nghiên cứu của McNeal J. E. (1986) [124] cho biết sự mất biệt hóa của tế bào u có mối tương quan mạnh mẽ với thể tích của khối u, chỉ những khối u có điểm Gleason độ 4, độ 5 mới có di căn và khả năng di căn chỉ có thể xảy ra ở những khối u có thể tích lớn hơn 1 cm3 (xen ti mét khối). Như vậy, UTBM TTL ở giai đoạn càng muộn thì điểm Gleason càng cao, thể tích khối u càng lớn và khả năng di căn càng cao.

4.2.4. Các đặc điểm đặc trưng ác tính trong ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt

Trong chẩn đoán mô bệnh học UTBM TTL, ngoài sự xâm lấn ra bên ngoài TTL hoặc di căn của tế bào u là các tiêu chuẩn để chẩn đoán ác tính, còn có 3 đặc điểm không thấy trong TTL lành tính, đó là: u xâm nhập dây thần kinh, u tăng sinh xơ - nhày và tuyến ung thư giống tiểu cầu thận. Chính vì vậy, 3 đặc điểm này đã được WHO (2004) xếp vào các tiêu chuẩn đặc trưng ác tính trong UTBM TTL.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.8 cho thấy: có 69,5% trường hợp trong tổng số UTBM tuyến trong nghiên cứu của chúng tôi có các đặc điểm đặc trưng ác tính đã nêu ở trên (trong đó: 39% trường hợp u xâm nhập dây thần kinh, 11% trường hợp u tăng sinh xơ - nhày, 12,2% trường hợp cấu trúc tuyến ung thư giống cầu thận, 7,3% trường hợp u có từ 2 đến 3 đặc điểm đặc trưng ác tính). Còn lại 30,5% trường hợp không thấy đặc điểm đặc trưng ác tính. Về phân bố tỷ lệ u có đặc điểm đặc trưng ác tính theo điểm Gleason, kết quả ở bảng 3.9 cho biết:

- Đối với các u nhóm điểm Gleason 2-4: Có tới 92,8% trường hợp không có đặc điểm đặc trưng ác tính, chỉ có 7,2% trường hợp có đặc điểm đặc trưng ác tính.

- Đối với các u nhóm u điểm Gleason 5-7: có 41,4% trường hợp u xâm nhập dây thần kinh, 15,5% u tăng sinh xơ - nhày, 17,2% trường hợp tuyến ung thư giống tiểu cầu thận, 6,9% trường hợp u có 2-3 đặc điểm đặc trưng ác tính, còn lại 19% trường hợp không thấy đặc điểm đặc trưng ác tính.

- Đối với các u nhóm u điểm Gleason 8-10: có 70% trường hợp u xâm nhập dây thần kinh, 20% trường hợp u có 2-3 đặc điểm đặc trưng ác tính. Còn lại 10% trường hợp không thấy đặc điểm đặc trưng ác tính.

Qua kết quả thống kê ở bảng 3.10, chúng tôi nhận thấy có sự liên quan giữa điểm Gleason của khối u và đặc điểm đặc trưng ác tính. Điểm Gleason càng cao thì tỷ lệ u có đặc điểm đặc trưng ác tính càng nhiều, với p < 0,001.

Đặc điểm u xâm nhập dây thần kinh:

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.8 cho biết: u xâm nhập dây thần kinh là 39%. Kết quả nghiên cứu của Eble.J.N. và cộng sự (2004) [11] trên các tiêu bản phẫu thuật cắt toàn bộ TTL cho biết sự xâm nhập dây thần kinh trong UTBM TTL chiếm tỷ lệ vào khoảng từ 75% đến 84% trường hợp. Do sự có mặt gần như khắp nơi của sự xâm nhập dây thần kinh trong phẫu thuật cắt toàn bộ TTL, cho nên các nghiên cứu đã không đưa ra sự xâm nhập dây thần kinh trong các tiêu bản phẫu thuật cắt toàn bộ TTL là tham số tiên lượng độc lập và phát hiện này cũng đã không thường xuyên được thông báo trong các báo cáo mô bệnh học. Tuy nhiên, đã có rất nhiều các nghiên cứu đánh giá ý nghĩa của sự xâm nhập dây thần kinh trong UTBM TTL ở các mẫu sinh thiết kim và hầu hết các kết quả đều đã cho biết: khi u xâm nhập dây thần kinh thì nguy cơ u xâm lấn ra ngoài TTL sẽ tăng lên [11]. Hầu hết các nghiên cứu cũng chỉ ra sự xâm nhập dây thần kinh trong UTBM TTL có mối tương quan với sự xâm lấn ra ngoài TTL với tỷ lệ dao động từ 38% đến 93%. Ngoài ra, các dữ liệu gần đây đã cho rằng sự xâm nhập dây thần kinh có thể là yếu tố tiên đoán độc lập về sự di căn hạch limphô và tiên lượng sau phẫu thuật UTBM TTL [35]. Bonin RS. và cộng sự (1997), trích dẫn theo Eble. J. N. và cộng sự (2004) [11] cũng đã chứng minh rằng sự xâm nhập dây thần kinh trong sinh thiết kim là có mối liên quan có ý nghĩa với tỷ lệ cao bệnh tiến triển sau xạ trị và sau phẫu thuật cắt toàn bộ TTL. Trong khi đó, Hoogland A. M. và cộng sự (2014) [137] cho rằng: ý nghĩa của sự xâm nhập dây thần kinh trong sinh thiết UTBM TTL vẫn còn là một câu hỏi. Epstain J.I. (1995) cho biết: trong sinh thiết TTL bằng kim nhỏ, tỷ lệ u xâm nhập dây thần kinh chỉ chiếm 3%. Đa số các tác giả đều cho rằng khi sự xâm nhập dây thần kinh có ý nghĩa tiên lượng và dễ đánh giá về mặt mô bệnh học thì cần phải thông báo tình trạng u xâm nhập dây thần kinh ở trong các mẫu sinh thiết, đặc biệt trong các mẫu sinh thiết kim [11]. Kết quả về tỷ lệ u xâm nhập dây thần kinh trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với công bố của Eble.J.N. (2004) [11] có thể là do lựa chọn đối tượng nghiên cứu của chúng tôi chỉ là các mảnh bệnh phẩm UTBM TTL được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo.

Đặc điểm u tăng sinh xơ - nhày:

Tăng sinh xơ - nhày là hình ảnh các tuyến ác tính chứa các cục nhỏ dạng sợi collagen. Đó là tổ chức xơ lỏng lẻo lẫn các nguyên bào xơ nằm rải rác ở bên trong, đôi khi các cục xơ - nhày phản ánh sự tổ chức hóa của chất nhày ở trong hoặc ngoài lòng tuyến nang ác tính. Tăng sinh xơ - nhày cũng có thể xuất hiện ở các tuyến ung thư có cấu trúc dạng sàng hoặc ở những vùng tuyến ung thư hòa nhập vào nhau [32]. Nghiên cứu của chúng tôi, u có đặc điểm này chiếm tỷ lệ 11%, chúng tôi cũng chỉ gặp ở trong nhóm u điểm Gleason 5-7 và 8-10. Kết quả của Christian J. D. và cộng sự (2005) [138] cho biết: tăng sản xơ – nhày xuất hiện ở khoảng 13% các trường hợp UTBM TTL và không quan sát thấy chúng trong tuyến nang lành tính, cũng như trong tăng sản TTL hoặc trong PIN. Trong sinh thiết kim, tăng sản xơ - nhày chiếm tỷ lệ 0,6%. Trong phẫu thuật cắt toàn bộ TTL, tăng sản xơ - nhày chiếm tỷ lệ 12,7%. Tăng sinh xơ -nhày là hình ảnh rất hữu ích trong chẩn đoán UTBM TTL, nhưng chúng lại ít xuất hiện [138]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tỷ lệ u tăng sinh xơ - nhày phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả đã nêu ở trên.

Đặc điểm cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận:

Cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận là do các tế bào biểu mô tuyến tăng sinh và đan nối với nhau tạo cấu trúc hình sàng, nhưng không nằm vắt ngang hoàn toàn qua lòng nang tuyến mà chỉ dính một phần vào bờ của tuyến nang tạo ra cấu trúc giống như tiểu cầu thận [11], [32]. Cấu trúc tuyến ung thư giống tiểu cầu thận gặp được trong nghiên cứu của chúng tôi là 12,2% và chúng tôi cũng chỉ thấy hình ảnh này trong nhóm u điểm Gleason 5-7 và Gleason 8-10.

4.2.5. Các đặc điểm chất chứa trong lòng tuyến nang ác tính

Để chẩn đoán UTBM tuyến của TTL, còn có một số đặc điểm nữa cũng giúp ích gợi ý cho một tổn thương ác tính, đó là: trên tiêu bản nhuộm H.E thấy trong lòng tuyến nang ác tính chứa các chất dạng tinh thể ưa eosin và chất tiết kết đặc màu hồng hoặc/hay chất tiết mucin màu xanh nhạt. Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.11 cho thấy:

Có 9,7% trường hợp u chứa chất dạng tinh thể ưa eosin, 53,7% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 22% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng/chất dạng tinh thể. Còn lại 14,6% trường hợp không thấy u chứa chất tiết kết đặc màu hồng/chất dạng tinh thể.

Về phân bố tỷ lệ u chứa chất tiết kết đặc màu hồng và chất dạng tinh thể theo điểm Gleason, kết quả ở bảng 3.12 cho biết:

Đối với u nhóm u điểm Gleason 2-4: toàn bộ các khối u thuộc nhóm điểm này đều chứa chất dạng tinh thể hoặc chất tiết kết đặc màu hồng. Trong đó, có 35,7% trường hợp u chứa chất dạng tinh thể, 42,9% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 21,4 % trường hợp u chứa chất dạng tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Đối với nhóm u điểm Gleason 5-7: có 5,2% trường hợp u chứa chất dạng tinh thể, 65,5% trường hợp u chứa chất tiết kết đặc màu hồng, 24,1% trường hợp u chứa chất dạng tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng và 5,2% trường hợp u không chứa chất dạng tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Đối với u nhóm u điểm Gleason 8-10: chỉ có 10% u chứa chất dạng tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng, còn lại 90% u không chứa chất dạng tinh thể/chất tiết kết đặc màu hồng.

Qua kết quả thống kê ở bảng 3.13, chúng tôi thấy có sự liên quan giữa điểm Gleason và u chứa chất dạng tinh thể/chất tiết màu hồng. Điểm Gleason càng cao, tỷ lệ u chứa chất dạng tinh thể/chất tiết màu hồng càng giảm (p < 0.001).

Các chất dạng tinh thể ưa eosin thường thấy trong UTBM tuyến biệt hóa cao, trái ngược lại, hiếm khi thấy chất dạng tinh thể ưa eosin trong ung thư kém biệt hóa. Mặc dù đây không phải là tiêu chuẩn để chẩn đoán ung thư, nhưng chất dạng tinh thể ưa eosin thường thấy trong các tuyến nang ung thư hơn là trong các tuyến nang lành tính và chúng cũng thường thấy trong tổn thương giống như ung thư, đó là trong tăng sản tuyến mất điển hình [11], [138]. Trong sinh thiết kim sự có mặt của các chất dạng tinh thể trong các nang tuyến lành tính không phải là yếu tố tăng nguy cơ phát hiện ung thư trong sinh thiết lần sau. Mặc dù chất dạng tinh thể không thường xuyên thấy và không phải là tiêu chuẩn kết luận ung thư, nhưng sự có mặt của chất dạng tinh thể trong di căn ung thư không rõ nguồn gốc là cơ sở cho một giả thiết có sức thuyết phục là u có nguồn gốc từ TTL [54].

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] cho biết tỷ lệ UTBM TTL chứa chất dạng tinh thể là 7%. Kết quả của Christian J. D. và cộng sự (2005) [138] cho biết chất dạng tinh thể xuất hiện trong tuyến nang của UTBM TTL biệt hóa cao với tỷ lệ là 36%, UTBM TTL biệt hóa vừa là 14%. Kết quả của Young và cộng sự (2000), trích dẫn theo Nguyễn Văn Hưng và cộng sự (2005) [10] cho biết chất dạng tinh thể TTL tìm thấy trong lòng tuyến nang từ 10% đến 62% trường hợp UTBM tuyến và nó không phải là tiêu chuẩn để chẩn đoán ác tính, vì trong lòng nang tuyến lành tính cũng chứa chất này. So sánh với kết quả của chúng tôi với các tác giả đã nêu ở trên, tỷ lệ u chứa chất dạng tinh thể trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn kết quả của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] và phù hợp với kết quả của Young và cộng sự (2000). Bản chất của chất dạng tinh thể được Ro J. Y. và cộng sự (1990) [139] phát hiện bằng các nghiên cứu siêu cấu trúc, HMMD và vi phân tích bằng tia X cho thấy đó là những chất ưa toan, có cấu trúc sợi do các chất mucin trung tính và mucin acid tạo thành.

Chất tiết kết đặc màu hồng trong lòng tuyến nang ác tính:

Kết quả về tỷ lệ u chứa chất tiết kết đặc màu hồng trong nghiên cứu của chúng tôi là 53,7% trường hợp trong tổng số các khối u TTL, chúng tôi cũng gặp chủ yếu là ở trong nhóm khối u biệt hóa cao và vừa. Iczkowski K. A. (1999) [54] cho biết các sinh thiết UTTTL qua niệu đạo và sinh thiết khi cắt toàn bộ TTL vì lí do ung thư, tỷ lệ u chứa chất tiết kết đặc màu hồng là 60%. Epstain JI (1995) thông báo rất hay gặp chất tiết kết đặc màu hồng trong nhóm UTBM tuyến có độ biệt hóa cao, ngược lại, thể amylacea có cấu trúc hình tròn hoặc hình oval với các lá xếp đồng tâm thông thường lại thấy trong tuyến lành tính và hiếm khi thấy trong tuyến ung thư [11]. Kết quả nghiên cứu của Christian J. D. và cộng sự (2005) [138] cho biết chất tiết kết đặc màu hồng xuất hiện trong tuyến nang ác tính là 52%. So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tỷ lệ chất tiết kết đặc màu hồng chứa trong tuyến nang ác tính và phân bố tỷ lệ của chúng theo độ biệt hóa của khối u với các tác giả đã nêu trên là phù hợp với nhau.

4.3. Sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch và tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt

4.3.1. Sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt.

*\* Kháng nguyên đặc hiệu TTL (prostate specific antigen: PSA)*

Kháng nguyên đặc hiệu TTL là một glyco-protein có trọng lượng phân tử khoảng 33 kD, PSA được các tế bào biểu mô chế tiết của TTL tiết ra dưới tác động điều hòa của androgen, đây là một kháng nguyên trong bào tương tế bào, nhờ tính đặc hiệu cơ quan mà PSA được coi là dấu ấn nhạy cảm nhất cho các khối u TTL. Ngày nay, PSA đã trở thành xét nghiệm quan trọng để phát hiện UTTTL. Cho tới nay, chưa phát hiện phản ứng chéo nào đối với dấu ấn PSA. Hầu hết các tế bào chế tiết trong UTBM TTL bộc lộ PSA khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA. Các tế bào đáy của nang và ống tuyến, biểu mô ống dẫn TTL, biểu mô niệu đạo TTL, biểu mô túi tinh, biểu mô ống phóng tinh, các ổ dị sản biểu mô vảy không bộc lộ PSA [140].

Kết quả ở bảng 3.14 cho thấy: hầu hết 31/33 (94%) trường hợp tế bào u trong UTBM TTL nguyên phát bộc lộ PSA, chỉ có 2/33 (6%) trường hợp ung thư đường niệu nguyên phát không bộc lộ PSA. Kết quả nghiên cứu Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] cho biết, trong số 42 trường hợp UTBM TTL nguyên phát nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA, có 41/42 (97,6%) trường hợp bộc lộ PSA với mức độ từ mạnh đến yếu. Nhiều nghiên cứu khác trước đây cũng đã chứng minh tính đặc hiệu cơ quan của PSA. Có nhiều nghiên cứu đã chứng minh trong TTL bình thường các tế bào chế tiết ở nang tuyến và ống tuyến đều có cùng một kiểu hình dương tính mạnh với PSA, các tế bào đáy âm tính với PSA, do đó PSA là dấu ấn tế bào biểu mô TTL trưởng thành [10], [141], [142].

Dấu ấn PSA đã trợ giúp xác định nguồn gốc của một u ác tính xuất hiện tại TTL hoặcở các cơ quan gần TTL để xác định có phải là UTBM TTL nguyên phát hay là di căn ung thư từ nơi khác vào TTL. Một số ung thư kém biệt hóa ở TTL, bàng quang, niệu đạo… cũng chỉ có PSA mới có thể trợ giúp cho biết nguồn gốc từ biểu mô đường niệu hay từ biểu mô TTL, trong trường hợp này chỉ một số tế bào u bộc lộ PSA cũng cho phép khẳng định nguồn gốc TTL của tế bào u. Sự bộc lộ PSA trong nhuộm HMMD là rất hữu ích cho chẩn đoán phân biệt giữa UTBM TTL kém biệt hóa với UTBM đường niệu, ung thư đại tràng, viêm tuyến TTL dạng hạt và u limphô. Nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA cũng dễ dàng nhận ra nguồn gốc của các UTBM tuyến di căn [53], [54]. Dấu ấn PSA cũng được ứng dụng trong nhiều loại bệnh phẩm khác nhau, ví dụ: các mảnh bệnh phẩm sinh thiết cắt lạnh, phiến đồ tế bào học... PSA cũng có thể không bộc lộ khi UTBM TTL đã được điều trị bằng hocmôn, hoặc mẫu sinh thiết quá nhỏ…

Về đặc điểm nhuộm HMMD: các tế bào u trong UTBM tuyến thể tuyến nang và thể tuyến ống bộc lộ PSA ở các mức độ khác nhau, PSA không phân biệt được tuyến lành với tuyến ác tính, biến thể teo đét bộc lộ PSA ở mức độ yếu. Các tế bào tuyến nang vùng tuyến lành bộc lộ PSA ở mức độ mạnh chiếm tỷ lệ cao, đối với các tế bào u trong UTBM tuyến của TTL bộc lộ PSA ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ cao.

Kết quả ở bảng 3.16 cho biết: trong UTBM tuyến nang, tế bào u bộc lộ PSA ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ cao nhất (44,8%), tiếp theo là bộc lộ PSA ở mức độ mạnh (31%) và bộc lộ PSA ở mức độ yếu (24,2%). Đối với UTBM tuyến ống (2 trường hợp), tế bào u bộc lộ PSA ở mức độ trung bình.

Nghiên cứu sự phân bố mức độ bộc lộ PSA của các tế bào u theo độ Gleason (độ biệt hóa của tế bào u), bảng 3.17 cho biết: các tế bào u vùng Gleason độ 4 và độ 5 bộc lộ PSA ở mức độ yếu, vùng Gleason độ 3 bộc lộ PSA ở mức độ trung bình, vùng Gleason độ 2 bộc lộ PSA ở mức độ mạnh. Kết quả ở trên cho biết: mức độ bộc lộ PSA của các tế bào u ở những vùng có độ Gleason càng cao (kém biệt hóa) thì mức độ bộc lộ càng yếu (p < 0,001).

Đối với 2 trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL, khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng PSA, chúng tôi thấy cả 2 trường hợp này đều không bộc lộ PSA. Eble.J.N. và cộng sự (2004) [11] cho biết: các tế bào u trong UTBM đường niệu nguyên phát của TTL không bộc lộ PSA, nhưng cần chú ý chất tiết TTL trong lòng tuyến có thể có phản ứng nhuộm màu, dẫn đến bề mặt các tế bào u ở phía lòng tuyến có màu nhạt. Do đó, không được nhầm lẫn là tế bào u bộc lộ PSA.

Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.18 cho biết: với những khối u xâm nhập dây thần kinh, tế bào u bộc lộ PSA ở mức độ yếu chiếm 46,15%, bộc lộ PSA ở mức độ trung bình chiếm 53,85%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các khối u xâm nhập dây thần kinh bộc lộ PSA ở mức độ yếu là các khối u kém biệt hóa (6 trường hợp điểm Gleason 8-10), các khối u bộc lộ PSA ở mức độ trung bình là các khối u biệt hóa mức độ vừa (7 trường hợp điểm Gleason 5-7). Chúng tôi cho rằng, các tế bào u xâm nhập dây thần kinh là những tế bào giảm biệt hóa, do đó có thể cũng giảm tính kháng nguyên PSA, cho nên mức độ bộc lộ PSA cũng sẽ yếu đi. Epstein J. I. (2014) [143] cho biết mặc dù PSA đã được chứng minh là rất hữu ích trong việc nhận ra dòng tế bào biểu mô TTL, nhưng sự nhạy cảm của các tế bào u với kháng thể kháng PSA đã giảm xuống trong UTBM TTL kém biệt hóa. Brimo F. và cộng sự (2012) [144] cho biết là kháng thể kháng PSA rất nhạy với tế bào biểu mô chế tiết TTL và dương tính tới 95% trong UTBM TTL kém biệt hóa. Sự giảm tính kháng nguyên PSA của tế bào u, đặc biệt là trong các mẫu sinh thiết kim đã không loại trừ chẩn đoán là UTBM TTL kém biệt hóa. Trong tình huống như vậy, các dấu ấn mới của dòng tế bào TTL như là: protein 501S (P501S hoặc Alpha-methyl-CoA-Racemas), kháng nguyên màng đặc trưng TTL, NKX3-1, thụ thể androgen nên được sử dụng để hỗ trợ chẩn đoán.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đánh giá tình trạng, mức độ bộc lộ PSA của tế bào u trong UTBM TTL là phù hợp với các kết quả nghiên cứu đã được công bố và đồng thuận với các nhận xét đó là: khi tế bào u càng giảm biệt hóa (độ mô học Gleason và điểm Gleason càng cao) thì mức độ bộc lộ PSA càng yếu [143], [144].

*\* Cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34betaE12 (CK34βE12)*

Về HMMD, các tế bào chế tiết TTL và tế bào đáy đều có dấu ấn cytokeratin trọng lượng phân tử thấp, nhưng chỉ có tế bào đáy là có dấu ấn cytokeratin trọng lượng phân tử cao. Do đó, kháng thể kháng CK34βE12 là đặc hiệu với tế bào đáy và đã được sử dụng rộng rãi để phát hiện tế bào đáy.

Trong chẩn đoán mô bệnh học UTBM TTL, một số biến thể mô học như biến thể teo đét, biến thể giả tăng sản… rất dễ nhầm là lành tính. Ngược lại, một số tổn thương TTL lành tính như tăng sản tuyến không điển hình, teo đét tuyến, tăng sản tế bào đáy, tăng sản sau teo đét… cũng rất dễ nhầm là UTBM TTL. Để xác định các tổn thương dễ gây ra sự nhầm lẫn này, người ta đã sử dụng kháng thể kháng cytokeratin trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 để phát hiện tế bào đáy, nếu còn lớp tế bào đáy thì đó là bằng chứng để khẳng định tính chất lành tính của tổn thương.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về sự bộc lộ CK34βE12 của tế bào đáy trong UTBM TTL ở bảng 3.19 cho biết: vùng tuyến ung thư không có trường hợp nào bộc lộ CK34βE12, trái lại, vùng tuyến lành tính có 33/33 (100%) trường hợp bộc lộ CK34βE12. Về mức độ bộc lộ CK34βE12, bảng 3.20 cho thấy: CK34βE12 bộc lộ từ mức độ trung bình đến mức độ mạnh, nhưng bộc lộ ở mức độ trung bình chiếm tỷ lệ (69,7%) cao hơn so với bộc lộ ở mức độ mạnh (30,3%). Nguyễn Văn Hưng (2005) [10] đã nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK34βE12 cho 26 trường hợp, bao gồm: 7 trường hợp UTBM tuyến, 19 trường hợp tổn thương lành tính TTL. Tác giả nhận thấy: toàn bộ UTBM TTL không bộc lộ CK34βE12, toàn bộ các tổn thương lành tính bộc lộ CK34βE12 (19/19 trường hợp) và mức độ bộc lộ từ yếu đến rất mạnh.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đánh giá tình trạng, mức độ bộc lộ CK34βE12 của tế bào đáy khi nhuộm HMMD là tương tự với các kết quả của các nghiên cứu trước đây về sự bộc lộ CK34βE12 trong UTBM TTL và phù hợp với nhận định của các tác giả trong nước và nước ngoài, đó là: hầu hết các tế bào đáy bộc lộ CK34βE12, các tế bào chế tiết TTL và tế bào mô đệm TTL không bộc lộ CK34βE12 [53], [54], [144].

*\* p63*

Kháng thể kháng p63 đặc hiệu với nhân TB đáy của TTL. Kháng thể kháng p63 được dùng tương tự như các kháng thể kháng CK34βE12 để chẩn đoán UTBM TTL và phân biệt các tổn thương lành tính của TTL với các tổn thương ác tính. Đặc biệt, nhuộm HMMD với kháng thể kháng p63 còn được dùng trong các trường hợp nghi ngờ các tế bào đáy âm tính với CK34βE12 [11], [144].

Kết quả nghiên cứu chúng tôi ở bảng 3.19 cho thấy: vùng tuyến ung thư không bộc lộ p63 và CK34βE12. Trong khi đó, ở vùng tuyến lành tính (vùng ngoài u) và vùng UTBM đường niệu bộc lộ p63 và CK34βE12. Như vậy, đối với UTBM tuyến, các TB u không bộc lộ p63 và CK34βE12, các tuyến ung thư không có sự phân bố tế bào đáy. Đối với UTBM đường niệu nguyên phát của TTL, mặc dù các tế bào u thuộc thành phần ung thư đường niệu xâm lấn và thành phần ung thư đường niệu tại chỗ không bộc lộCK34βE12 và p63, nhưng các tế bào đáy còn sót lại nằm viền quanh vùng ung thư đường niệu tại chỗ bộc lộ CK34βE12 và p63.

Kết quả ở bảng 3.20 cho biết: vùng tuyến lành tính, có 81,8% trường hợp tế bào đáy bộc lộ p63 ở mức độ mạnh, 18,2% bộc lộ ở mức độ trung bình, 30,3% trường hợp tế bào đáy bộc lộ CK34βE12 ở mức độ mạnh và 69,7% bộc lộ CK34βE12 ở mức độ trung bình. Kết quả trên của chúng tôi cho thấy: các tế bào đáy bộc lộ p63 với mức độ mạnh chiếm tỷ lệ cao, ngược lại tế bào đáy bộc lộ CK34βE12 mức độ mạnh chiếm tỷ lệ thấp. Kết quả này của chúng tôi là phù hợp với công bố của các tác giả trong nước và nước ngoài khi nghiên cứu về sự bộc lộ p63 đều có nhận xét là: các tế bào đáy luôn bộc lộ p63 với mức độ rất mạnh [11], [50], [54].

*\* Cytokeratin 7*

Kháng thể kháng CK7 được coi là đặc hiệu cho UTBM đường niệu và ung thư biểu mô tuyến nói chung, trong khi các loại UTBM TTL không bộc lộ CK7. Do đó, người ta sử dụng kháng thể kháng CK7 nhằm mục đích phân biệt UTBM đường niệu có nguồn gốc từ TTL với UTBM đường niệu có nguồn gốc từ biểu mô bàng quang hoặc niệu đạo. Các UTBM đường niệu thứ phát từ bàng quang hoặc niệu đạo lan tới TTL bộc lộ CK34βE12 và CK7 nhưng không bộc lộ PSA. Trái lại, UTBM đường niệu nguyên phát của TTL chỉ có 50% khối u có độ mô học cao (kém biệt hóa) bộc lộ CK34βE12, đồng thời không bộc lộ CK7 và PSA [10].

Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.21 cho thấy: biểu mô đường niệu ở vùng tuyến lành tính (vùng ngoài u) bộc lộ CK7 với mức độ rất mạnh ở tất cả các trường hợp (100% trường hợp). Trong khi đó, 2/2 trường hợp UTBM đường niệu nguyên phát của TTL không bộc lộ CK7. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về sự không bộc lộ CK7 trong UTBM đường niệu nguyên phát của TTL là tương tự với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10]. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hưng (2005) [10], trong số 6 trường hợp UTBM đường niệu tại TTL, có 5 trường hợp UTBM đường niệu thứ phát bộc lộ CK7, còn lại một trường hợp là UTBM đường niệu nguyên phát của TTL không bộc lộ CK7. Như vậy, trong UTBM TTL, nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK7 sẽ giúp ích trong việc phân biệt UTBM đường niệu nguyên phát của TTL với UTBM đường niệu thứ phát từ bàng quang hoặc niệu đạo lan tới TTL, đồng thời còn góp phần phân biệt UTBM đường niệu với các loại ung thư biểu mô khác.

*\* Cytokeratin 5/6*

Trong UTBM TTL nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK5/6 trợ giúp cho việc xác định UTBM TTL loại tế bào vảy và/hoặc di căn, xâm lấn của UTBM tế bào vảy từ nơi khác vào TTL. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định hầu hết UTBM tế bào vảy bộc lộ ưu thế với CK trọng lượng phân tử cao dòng 34βE12 và CK5/6. Biểu mô chế tiết TTL ác tính bộc lộ CK5/6 chỉ dưới 10% các trường hợp, biểu mô chế tiết TTL lành tính không bộc lộ CK5/6.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.21 cho thấy: toàn bộ (100% trường hợp) các tế bào biểu mô chế tiết TTL ác tính và lành tính cũng như biểu mô đường niệu lành tính và UTBM đường niệu nguyên phát của TTL đã không bộc lộ CK5/6 khi nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK5/6. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi là phù hợp với các công bố trong y văn về sự không bộc lộ CK5/6 trong UTBM tuyến của TTL [50]. Từ đó, nhuộm HMMD với kháng thể kháng CK5/6 trong UTBM TTL để trợ giúp xác định UTBM TTL loại tế bào vảy, trợ giúp xác định UTBM đường niệu nguyên phát của TTL, trợ giúp phân biệt di căn UTBM tế bào vảy từ nơi khác vào TTL, cũng như xác định nguồn gốc biểu mô chế tiết TTL của tế bào u [11], [53], [54].

*\* Actin đặc trưng cơ*

Trong UTBM TTL, nhuộm HMMD với kháng thể kháng actin đặc trưng cơ để giúp cho việc nhận ra sợi actin tế bào cơ trơn của TTL và cơ trơn thành mạch máu, qua đó trợ giúp đánh giá tình trạng tế bào u xâm nhập vào mô cơ trơn của TTL. Kháng thể kháng actin còn giúp cho việc xác định các tế bào không phải là tế bào cơ như các tế bào nội mô mạch máu, tế bào đáy, tế bào xơ - sợi và tế bào của các tổ chức liên kết khác, từ đó trợ giúp đánh giá tình trạng xâm lấn của tế bào u vào cấu trúc mạch máu và các cấu trúc khác trong TTL.

Kết quả nghiên cứu đánh giá tình trạng và mức độ bộc lộ actin trong UTBM TTL của chúng tôi ở bảng 3.22 cho thấy: các tế bào cơ trơn thuộc mô đệm TTL và cơ trơn thành mạch máu (100% trường hợp) bộc lộ actin ở mức độ mạnh và mức độ rất mạnh. Ngược lại, tế bào xơ, tế bào đáy, tế bào nội mô thuộc mô đệm TTL (100% trường hợp) không bộc lộ actin. Kết quả nghiên cứu đánh giá tình trạng và mức độ bộc lộ actin trong UTBM TTL của chúng tôi là phù hợp với các công bố trong y văn về sự bộc lộ actin trong UTTTL [11].

4.3.2. Tình trạng methyl hóa gen RASSF1A trong ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt và tăng sản lành tính tuyến tiền liệt

Về tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt:

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.23 cho biết: tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến của TTL là 55%, trong tăng sản TTL là 20%. Kết quả về tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* ở nhóm ung thư trong nghiên cứu của chúng tôi không khác biệt nhiều so với các kết quả về tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL của các nghiên cứu đã được công bố như: Bastian P. J. và cộng sự (2004) [145] công bố tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL từ 53% đến 96%. Singal và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL là 49%. Syeed N. [146] và cộng sự (2010) cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL là 34% (17/50). Liu L. và cộng sự (2002) [104] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* là 71% (37/52). Kết quả nghiên cứu của Võ Thị Thương Lan và cộng sự (2016) [107] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM TTL là 32,2% (19/59).

Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.24 và bảng 3.25 cho biết: tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* chiếm tỷ lệ thấp (25%) ở nhóm khối u Gleason độ 2, tỷ lệ tăng cao (66,6%) ở nhóm khối u Gleason độ 3 và 4, nhóm khối u Gleason độ 5 tỷ lệ methyl hóa là 100%. Tỷ lệ methyl hóa cũng tăng cao theo điểm Gleason, nhóm khối u điểm Gleason 2-4 (biệt hóa cao) tỷ lệ methyl hóa là 28,6%, nhóm khối u điểm Gleason từ 5-7 (biệt hóa vừa) tỷ lệ methyl hóa là 50%, nhóm khối u điểm Gleason 8-10 (biệt hóa thấp) tỷ lệ methyl hóa là 100%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả của Lui L. và cộng sự (2002) [104] khi nghiên cứu methyl hóa gen *RASSF1A* ở 50 bệnh nhân UTBM TTL, các tác giả đã đưa ra kết quả sự phân bố về tỷ lệ methyl hóa trong UTBM TTL như sau: nhóm u điểm Gleason 4-6 là 55% (11/20), nhóm u điểm Gleason 7-10 là 83% (25/30), nhóm u kém biệt hóa là 100% (5/5), nhóm khối u di căn là 100% (4/4).

Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.26 cho biết: nhóm khối u có sự xâm lấn vào dây thần kinh trong TTL có tỷ lệ methyl hóa (85,7%) cao hơn nhóm khối u không xâm lấn dây thần kinh (38,5%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả và nhận xét của Kang và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* cao hơn ở nhóm UTTTL có điểm Gleason cao hoặc nồng độ PSA huyết thanh cao khi so sánh với những ung thư tuyến tiền liệt có điểm Gleason thấp hoặc nồng độ PSA huyết thanh thấp (p<0.05). Lui L. và cộng sự (2002) [104] công bố tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL cao hơn trong nhóm các khối u ở giai đoạn tiến triển có sự xâm lấn, nhóm khối u có độ mô học cao, điểm Gleason cao (kém biệt hóa) và nồng độ PSA huyết thanh cao, khi so sánh với các khối u ở giai đoạn sớm (giai đoạn chưa xâm lấn, giai đoạn khu trú), ít ác tính hay độ mô học thấp (biệt hóa cao) và nồng độ PSA huyết thanh thấp. Kawamoto K. và cộng sự (2007) [103] cũng cho biết kết quả tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTTTL là 97/131 (74%), trong tăng sản lành tính là 12/65 (18,5%) và thông báo tỷ lệ methyl hóa tăng lên cùng với điểm Gleason và giai đoạn của bệnh.

So sánh kết quả nghiên cứu xác định tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến của chúng tôi với một số tác giả được trình bày ở bảng bảng 4.2.

Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt của một số tác giả trong nước và nước ngoài

|  |  |
| --- | --- |
| **Tác giả** | **Tỷ lệ methyl hóa**  **gen *RASSF1A* (%)** |
| Chúng tôi (2018). | 11/20 (55%) |
| Agathanggelou A. (2005) [65]. | 53/101 (53%) |
| Cairns P. (2007) [147]. | 38 % - 53% |
| Kang và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 31/37 (84%) |
| Kuzmin và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 11/11 (100%) |
| Koul, S. (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | > 70% |
| Liu L. và cộng sự (2002) [104]. | 37/52 (71%) |
| Võ Thị Thương Lan và cộng sự (2016) [107]. | 19/59 (32,2%) |
| Maruyama và cộng sự (2002) [70]. | 54/101 (53%) |
| Florl và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 88/113 (78%) |
| Singal và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 49% |
| Syeed N. và cộng sự (2010) [146]. | 17/50 (34%) |
| Woodson và cộng sự (2004a), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 59/90 (66%) |
| Woodson và cộng sự (2004b), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88]. | 20/24 (83%) |

Về tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản lành tính tuyến tiền liệt:

Kết quả của chúng tôi ở bảng 3.27 cho biết: tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản TTL là 2/10 (20%)*.* Tỷ lệ này của chúng tôi là tương đương với Singal và cộng sự (2004), trích dẫn theo Dammann R. và cộng sự (2005) [88] (tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản lành tính TTL là 19%) và Kawamoto K. và cộng sự (2007) [103] (tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản lành tính TTL là 18,5%). Kết quả nghiên cứu của Syeed N. và cộng sự (2010) [146] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản TTL là 15,5% (7/45). Kết quả nghiên cứu của Võ Thị Thương Lan và cộng sự (2016) [107] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tăng sản TTL là 10/37 (27%).

Lui L. và cộng sự (2002) [104] đã phân tích 10 mẫu mô tuyến TTL lành tính nằm liền kề với vùng ác tính. Kết quả cho thấy có 4/10 (40%) mẫu mô lành tính bị methyl hóa nhưng ở mức độ thấp hơn so với vùng ác tính liền kề với nó. Các tác giả chỉ ra rằng: sự methyl hóa gen *RASSF1A* chỉ xảy ra ở những mô bình thường khi mà mẫu mô ung thư bên cạnh bị methyl hóa và điều đó xảy ra có thể do các tế bào ung thư đã xâm nhập vào mô lành, một hiện tượng thường xảy ra trong UTBM TTL. Các tác giả cho rằng: khi thấy mẫu mô TTL lành tính bị methyl hóa thì chúng có thể đóng vai trò như là yếu tố chỉ điểm về sự có thể có xâm nhập của các tế bào ung thư vào mô TTL lành tính. Kết quả nghiên cứu của Dammann R. và cộng sự (2001) [89], Agathanggelou A. và cộng sự (2001) [81], Dreijerink K. và cộng sự (2001) [90] cũng đã chỉ ra sự methyl hóa gen *RASSF1A* rất hiếm gặp trong mô TTL bình thường.

Nephew K. P. và cộng sự (2003) [58] cho rằng hiện tượng methyl hóa bất thường của gen ức chế khối u thường xuất hiện từ rất sớm trong quá trình phát sinh nhiều loại ung thư. Đồng thời, sự methyl hóa quá mức các gen ức chế khối u cũng được tìm thấy phổ biến trong các mẫu mô ung thư giai đoạn đầu và ở các mẫu ung thư được phẫu thuật cắt bỏ.

Kết quả của chúng tôi về tỷ lệ methyl hóa trong nhóm tăng sản TTL ở bảng 3.27 cho biết: tỷ lệ methyl hóa trong nhóm tăng sản TTL phối hợp với PIN độ thấp là 2/5 (40%). Trong khi đó, các mẫu tăng sản lành tính còn lại không phát hiện thấy hiện tượng methyl hóa.

Woodson và cộng sự (2004b), trích dẫn theo Dammann R. [88] khi nghiên cứu 90 trường hợp UTTTL nguyên phát, 7 trường hợp tăng sản TTL và 10 trường hợp tân sản nội biểu mô độ cao. Các tác giả cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* như sau: trong UTTTL là 66%, trong tăng sản TTL không thấy bị methyl hóa. Trong một nghiên cứu khác, Woodson và cộng sự (2004a), trích dẫn theo Dammann R. [88] thông báo tỷ lệ methyl hóa trong UTTTL nguyên phát là 20/24 (83%), trong PIN độ cao là 3/10 (30%).

Kết quả nghiên cứu của Aitchison A. và cộng sự (2007) [148] cho biết tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong tân sản nội biểu mô TTL là 7/14 trường hợp.

So sánh kết quả tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến của chúng tôi với kết quả tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* của một số tác giả ở bảng 4.2, chúng tôi thấy kết quả của chúng tôi không khác biệt nhiều so với kết quả của một số tác giả. Trong nghiên cứu này, các mẫu mô sử dụng cho nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* được thu thập ở các giai đoạn bệnh khác nhau, độ Gleason của khối u từ độ 2 tới độ 5, độ biệt hóa (điểm Gleason) của khối u khác nhau, các mẫu mô thu thập trong khoảng thời gian khác nhau. Do đó có thể ảnh hưởng đến việc xác định chính xác tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* và tỷ lệ methyl hóa theo độ biệt hóa, mức độ ác tính và giai đoạn cụ thể của bệnh. Đồng thời, tất cả các mẫu mô TTL được sử dụng trong nghiên cứu đều là dạng mẫu mô đúc trong paraffin, việc giảm chất lượng ADN khi sử dụng mẫu mô đúc trong paraffin cũng có thể làm giảm khả năng phát hiện methyl hóa gen *RASSF1A* ở các mẫu mô ung thư cũng như trong các mẫu mô tăng sản TTL [106].

Trong nghiên cứu này, bước đầu chúng tôi đã xác định được tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong UTBM tuyến của TTL và trong tăng sản lành tính TTL của nam giới người Việt Nam. Đồng thời, chúng tôi đã đối chiếu tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* với một số đặc điểm mô bệnh học UTBM tuyến của TTL như: độ Gleason, điểm Gleason (độ biệt hóa) của khối u và tình trạng u xâm lấn dây thần kinh. Từ đó, có ý nghĩa trong việc góp phần theo dõi và trợ giúp tiên lượng UTBM tuyến của TTL. Việc tăng số lượng mẫu mô UTBM tuyến ở tất cả các giai đoạn bệnh cũng như phân tích thêm một số tỷ lệ methyl hóa ở các gen khác như gen *GSTP1* [146]… sẽ làm rõ hơn về tỷ lệ và mối liên quan giữa methyl hóa gen *RASSF1A* với UTBM tuyến của TTL.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 84 trường hợp ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nguyên phát được phẫu thuật nội soi qua niệu đạo tại Bệnh viện Quân y 103, trong thời gian từ tháng 6/2008 đến tháng 7/2017, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

**1. Về đặc điểm mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt**

+ Xác định được 2 trong 4 típ mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến tiền liệt đó là: ung thư biểu mô tuyến nguyên phát chiếm tỷ lệ 97,6% và ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát chiếm tỷ lệ 2,4%.

+ Xác định được ung thư biểu mô tuyến thể tuyến nang chiếm tỷ lệ 97,6%, thể tuyến ống chiếm tỷ lệ 2,4%. Trong ung thư biểu mô tuyến thể tuyến nang: biến thể tuyến nang thông thường chiếm tỷ lệ 87,5%, biến thể teo đét và biến thể giả tăng sản ít gặp với tỷ lệ lần lượt là 5% và 7,5%, không gặp các biến thể khác.

+ Ung thư biểu mô tuyến phối hợp với tân sản nội biểu mô độ cao chiếm tỷ lệ 73,2%.

+ Gleason độ 3 hay gặp ở vùng mô học chiếm diện tích nhiều nhất trong khối u (46,3%), Gleason độ 4 hay gặp ở vùng mô học chiếm diện tích nhiều thứ nhì (43,9%).

+ Nhóm điểm Gleason 2-4 (biệt hóa cao) chiếm tỷ lệ 17,1%, Gleason 5-7 (biệt hóa vừa) chiếm tỷ lệ 70,7%. Gleason 8-10 (kém biệt hóa) chiếm tỷ lệ 12,2%.

+ Nhóm u có các đặc điểm đặc trưng ác tính chiếm tỷ lệ 69,5%.

**2. Sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch, tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* và đối chiếu với một số đặc điểm mô bệnh họctrong ung thư biểu mô tuyến tiền liệt**

***2.1. Về sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch***

+ Ung thư biểu mô tuyến tiền liệt nguyên phát (33 trường hợp) bộc lộ PSA với tỷ lệ 94%.

+ Toàn bộ (31 trường hợp) ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt bộc lộ PSA ở các mức độ khác nhau: 29% bộc lộ mạnh (Gleason độ 2); 48,4% bộc lộ trung bình (Gleason độ 3); 22,6% bộc lộ yếu (Gleason độ 4 và 5). U xâm nhập dây thần kinh (13 trường hợp): 46,15% bộc lộ PSA ở mức độ yếu, 53,85% bộc lộ PSA ở mức độ trung bình. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát (2 trường hợp) không bộc lộ PSA.

+ Vùng tuyến ung thư (31 trường hợp) không bộc lộ CK34βE12 và p63. Trái lại, vùng tuyến lành tính bộc lộ CK34βE12 và p63.

+ Vùng tuyến lành tính (33 trường hợp) biểu mô đường niệu bộc lộ CK7, nhưng không bộc lộ CK5/6. Ung thư biểu mô đường niệu nguyên phát không bộc lộ CK7 và CK5/6, nhưng lại bộc lộ CK34βE12 và p63.

+ Toàn bộ thành phần cơ trơn tuyến tiền liệt (33 trường hợp) bộc lộ actin. Ngược lại, các thành phần liên kết khác không bộc lộ actin.

***2.2. Về tình trạng methyl hóa gen RASSF1A***

20 trường hợp ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt được làm xét nghiệm methyl hóa đã cho thấy tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* trong ung thư biểu mô tuyếnlà 55%. Tỷ lệ methyl hóa ở nhóm u điểm Gleason 2-4: 28,6%, Gleason 5-7: 50%, Gleason 8-10: 100%, nhóm u không xâm nhập dây thần kinh: 38,5%, nhóm u xâm nhập dây thần kinh: 85,7%.

KIẾN NGHỊ

1. Nên áp dụng các tiêu chuẩn chẩn đoán mô bệnh học, phân loại mô học các khối u tuyến tiền liệt của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2004 và nhuộm hóa mô miễn dịch với các kháng thể kháng PSA, CK34βE12, p63, CK5/6, CK7, actin trong những trường hợp nghi ngờ hoặc khó chẩn đoán.
2. Khi thấy tân sản nội biểu mô tuyến tiền liệt độ cao trên tiêu bản nhuộm H.E, nhưng chưa phát hiện ung thư, cần lấy thêm mẫu mô hoặc cắt thêm nhiều lát mô để tránh bỏ sót ung thư.
3. Bổ sung thêm các dấu chuẩn methyl hóa ADN trên ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt như dấu chuẩn methyl hóa gen *GSTP1*… và nghiên cứu dấu chuẩn hóa gen *RASSF1A* với số lượng mẫu mô ung thư biểu mô tuyến của tuyến tiền liệt với số lượng lớn hơn.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. **Vi Thuật Thắng, Nguyễn Đình Tảo, Võ Thị Thương Lan và cs** (2014). Nghiên cứu hiện tượng tăng methyl hóa của gen *RASSF1A* trong ung thư tuyến tiền liệt tại Bệnh viện 103. *Tạp chí Y dược học lâm sàng 108.*, (9): 77-81.

2. **Vi Thuat Thang, Nguyen Đinh Tao, Nguyen Ngoc Hung et al.** (2017). Study on some histopathological features and expression of some immunohistochemical markers in prostatic carcinoma. *Journal of Military Pharmaco- Medicine.*, (8): 222-227.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sharma S., Zapatero-Rodríguez J., O'Kennedy R. (2017). Prostate cancer diagnostics: Clinical challenges and the ongoing need for disruptive and effective diagnostic tools*. Biotechnology advances.*, 35(2): 135-149.

2. Nielsen M.N. and Borre M. (2016). Diagnostic and therapeutic strategies for prostate cancer. *Seminars in nuclear medicine*, Elsevier, 1-7.

3. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J. et al. (2005). Global cancer statistics, 2002*. CA:* *a cancer journal for clinicians.*, 55(2): 74-108.

4. Baden J., Green G., Painter J. et al. (2009). Multicenter evaluation of an investigational prostate cancer methylation assay*. The Journal of urology.*, 182(3): 1186-1193.

5. Nguyễn Bửu Triều (1991). Ung thư tuyến tiền liệt. Trong: *Bách khoa thư bệnh học*, Trung tâm Quốc gia biên soạn từ điển Bách khoa Việt Nam, Hà Nội, 304-306.

6. Nguyễn Văn Bằng (1998-2001). Tình hình ung thư qua sinh thiết tại Bệnh viện Hữu Nghị*. Công trình nghiên cứu khoa học 1998-2001,* Bộ Y tế - Bệnh viện Hữu Nghị, 115-119.

7. Bùi Diệu (2011). Tìm hiểu về bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Trong: *Những kiến thức cơ bản về phòng chống ung thư*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 187-194.

8. Nguyễn Việt Hải và Trần Đức Hòe (2012). Đặc điểm lâm sàng và chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt. *Tạp chí Y dược lâm sàng 108.*, 7(1): 62-66.

9. Vũ Hô, Lại Phú Thưởng, Đặng Tiến Hoạt và cộng sự (2004). Nhận xét tình hình ung thư ở Thái Nguyên giai đoạn 2001-2003*. Hội thảo Quốc gia về phòng chống ung thư*, Bộ Y tế, 489: 20-26.

10. Nguyễn Văn Hưng (2005). *Nghiên cứu mô bệnh học quá sản lành tính, tân sản nội biểu mô và ung thư biểu mô tuyến tiền liệt*, Luận án tiến sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội.

11. Eble J.N., Sauter G., Epstein J. et al. (2004). In: *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 160-215.

12. Phạm Quốc Thắng, Phan Đặng Anh Thư, Ngô Quốc Đạt và cộng sự (2016). Áp dụng hệ thống phân loại Gleason theo ISUP 2014 trong chẩn đoán carcinoma tuyến tiền liệt*. Hội thảo khoa học giải phẫu bệnh tế bào bệnh học Việt Nam lần thứ VI*, Thành phố Huế ngày 9/10/2016, Hội Giải phẫu Bệnh - Tế bào học Việt Nam, 1-8.

13. Bhavsar T., McCue P., Birbe R. (2013). Molecular diagnosis of prostate cancer: are we up to age*?*. *Seminars in oncology*, Elsevier, 40(3): 259-275.

14. McDermott U., Downing J.R., Stratton M.R. (2011). Genomics and the continuum of cancer care*. New England Journal of Medicine.*, 364(4): 340-350.

15. Underwood J.C. (1996). Male genital tract. In:*General and systematic pathology*, 2th edition, Churchill Livingstone,Philadelphia, 586-644.

16. Robins S. (1974) Pathologic basis of disease. *WB Saunders, Philadelphia.*, 1188-1199.

17. Nguyễn Sào Trung và Ngô Quốc Đạt (2010). Giải phẫu bệnh học ung thư tuyến tiền liệt. *Hội nghị khoa học những cập nhật mới trong chẩn đoán và điều trị ung thư tiền liệt tuyến*, Bệnh viện Việt Đức, ngày 11/12/2010, Hội Tiết niệu Thận học Việt Nam, Hà Nội, 1-24.

18. Vi Thuật Thắng (2002). *Nghiên cứu đặc điểm hình thái mô bệnh học các tổn thương tăng sản tuyến tiền liệt qua bệnh phẩm phẫu thuật*, Luận án Thạc sĩ Y học, Học viện Quân Y, Hà Nội.

19. Frank N.H (2008). Tuyến tiền liệt và các túi tinh. Trong: *Atlas giải phẫu người*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, 384-385.

20. Nguyễn Việt Hải (2013).*Nghiên cứu mô bệnh học và chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt,* Luận án tiến sĩ Y học, Học viện Quân y, Hà Nội.

21. Anderson W.A.D. and Scotti T.M. (1968). Synopsis of Pathology*.* In: *Synopsis of Pathology*, 7th edition, Academic Medicine, Saint Louis,422-426.

22. Bộ môn Mô phôi - Học viện Quân y (2001). *Mô học* (Lưu hành nội bộ), Nhà xuất bản Quân đội Nhân dân, Hà Nội, 328-329.

23. Ovalle K.W. and Nahirney P. (2013). Male reproductive system. In: *Netter's essential histology,* Second Edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 381-402.

24. Humphrey P.A. (2004). Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Modern pathology.*, 17(3): 292-306.

25. McNeal J.E. (1992). Cancer volume and site of origin of adenocarcinoma in the prostate: relationship to local and distant spread*. Human pathology.*, 23(3): 258-266.

26. Bracarda S., Cobelli D.O., Greco C. et al. (2005). Cancer of the prostate*. Critical reviews in oncology/hematology.*, 56(3): 379-396.

27. Nguyễn Văn Hiếu (1999). Ung thư tuyến tiền liệt*.* Trong: *Hướng dẫn thực hành chẩn đoán điều trị ung thư,* Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 254-262.

28. Nguyễn Văn Tảo (1998). U tuyến tiền liệt. Trong: *Tài liệu tập huấn sau đại học*, Bệnh viện 108, Hà Nội, 78-81.

29. Đoàn Hữu Nghị (1993). Ung thư tuyến tiền liệt*.* Trong: *Ung thư học lâm sàng,* Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 481-488.

30. Zhou M. and Magi-Galluzzi C. (2008). Prostatic adenocarcinoma, prostatic intraepithelial neoplasia, and intraductal carcinoma*. Surgical pathology clinics.*, 1(1): 43-75.

31. Wills M.L., Hamper U.M., Partin A.W. et al. (1997). Incidence of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia in sextant needle biopsy specimens*. Urology.*, 49(3): 367-373.

32. Trpkov K. (2015). Contemporary Gleason grading system. In: *Genitourinary Pathology*, Springer, New York, 13-32.

33. Gleason D.F. (1992). Histologic grading of prostate cancer: a perspective*. Human pathology.*, 23(3): 273-279.

34. McNeal J.E., Villers A.A., Redwine E.A. et al. (1990). Histologic differentiation, cancer volume, and pelvic lymph node metastasis in adenocarcinoma of the prostate*. Cancer.*, 66(6): 1225-1233.

35. Montironi R., Mazzucchelli R., Scarpelli M. et al. (2006). Prostate carcinoma II: prognostic factors in prostate needle biopsies*. BJU international.*, 97(3): 492-497.

36. Damjanov I. and Mikuz G. (2007). Tumors of the kidney and the male urogenital system. In: *Cancer Grading Manual*, Springer, 55-61.

37. Srigley J., Amin M., Bostwick D. et al. (2000). Updated Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinomas of the Prostate Gland: A Basis for Checklists*. Archives of Pathology & Laboratory Medicine.*, 124(7): 1034-1039.

38. Vương Diệu Linh (2018). *Nghiên cứu hiện tượng methyl hóa vùng promoter gen GSTP1 trong quá sản lành tính và ung thư tuyến tiền liệt (2018),* Luận án tiến sĩ sinh học*,* Đại học Quốc gia Hà Nội.

39. Humphrey P.A., Moch H., Cubilla A.L. et al. (2016). The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs-part B: prostate and bladder tumours. *European urology*., 70(1): 106-119.

40. Đặng Thế Căn (2002). Hóa mô miễn dịch và ứng dụng tại Bệnh viện K*.* Trong: *Tài liệu tập huấn về ứng dụng hóa mô miễn dịch xác định thụ thể hóc-môn trong ung thư vú*, Bộ Y tế - Bệnh viện K, Hà Nội, 19-26.

41. Nguyễn Phi Hùng (2002). Nguyên lý cơ bản của hoá mô miễn dịch*.* Trong: *Tài liệu tập huấn về ứng dụng hoá mô miễn dịch xác định thụ thể hóc môn trong ung thư vú*, Bệnh viện K Trung ương, Hà Nội, 105-110.

42. Trần Ngọc Dũng (2012). *Nghiên cứu phân loại mô bệnh học và giá trị của hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến giáp*, Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

43. Tạ Văn Tờ (2002). Hoá mô miễn dịch men và ứng dụng trong chẩn đoán mô bệnh học. Trong: *Tài liệu tập huấn về ứng dụng hoá mô miễn dịch xác định thụ thể hóc môn trong ung thư vú*, Bệnh viện K Trung ương, Hà Nội, 111- 126.

44. Hứa Thị Ngọc Hà và Huỳnh Ngọc Linh (2002). Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán giải phẫu bệnh. Trong: *Tài liệu tập huấn về ứng dụng hóa mô miễn dịch xác định thụ thể hóc-môn trong ung thư vú*, Bộ Y tế - Bệnh viện K, Hà Nội, 144-154.

45. Hameed O. and Humphrey P.A. (2005). Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Seminars in diagnostic pathology*, Elsevier., 22(1): 88-104.

46. Varma M. (2011). Immunohistochemistry in prostate neoplasia: pitfalls and progress*. Diagnostic Histopathology.*, 17(10): 447-453.

47. Buchwalow I.B. and Böcker W. (2010). *Immunohistochemistry: basics and methods*, Springer Science & Business Media, Heidelberg.

48. Hứa Thị Ngọc Hà (2002). Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán ung thư. Trong: *Tài liệu tập huấn về ứng dụng hóa mô miễn dịch xác định thụ thể hóc-môn trong ung thư vú*, Bộ Y tế - Bệnh viện K, Hà Nội, 155-161.

49. Cell Marque (2016). *Cell Marque immunohistochemistry to reference guide*, Sierra College Boulevard, Rocklin California.

50. Adeniran A.J. and Humphrey P.A. (2015). Morphologic Updates in Prostate Pathology*. Surgical pathology clinics*., 8(4):539-560.

51. Catalona W.J., Smith D.S., Ornstein D.K. (1997). Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination: enhancement of specificity with free PSA measurements*. Jama.*, 277(18): 1452-1455.

52. Dijkstra S., Mulders PFA., Schalken JA. (2013). Clinical use of novel urine and blood based prostate cancer biomarkers: a review*. Clinical biochemistry*., 47(10-11): 1-8.

53. Hameed O., Humphrey P.A. (2006). Immunohistochemistry in the diagnosis of minimal prostate cancer*. Current Diagnostic Pathology.*,12(4): 279-291.

54. Iczkowski K.A. and Bostwick D.G. (1999). Prostate biopsy interpretation: current concepts, 1999*. Urologic Clinics of North America.*, 26(3): 435-452.

55. Miller R.T. (2001). Focus on Immunohistochemistry-September 2001 p63*. Focus.*, 63.

56. Bùi Thị Mỹ Hạnh (2010). Sự bộc lộ các dấu ấn cơ biểu mô (SMA, CD10, p63) trong ung thư biểu mô ống tại chỗ và xâm nhập vú. *Các báo cáo hội nghị khoa học chào mừng 60 năm ngày truyền thống bệnh viện và đón nhận danh hiệu anh hùng lực lượng vũ trang nhân dân lần 2, ngày 20/10/2010*, Bệnh viện 103, 309-315.

57. Chiam K., RicciardelliC., Bianco-Miotto T. (2012). Epigenetic biomarkers in prostate cancer: Current and future uses*. Cancer letters.*, 342(2): 248-256.

58. Nephew K.P. and Huang T.H.M. (2003). Epigenetic gene silencing in cancer initiation and progression*. Cancer letters.*, 190(2): 125-133.

59. Waggoner D. (2007). Mechanisms of disease: epigenesis. *Seminars in pediatric neurology*, Elsevier, 14: 7-14.

60. Brooks J., Cairns P., Zeleniuch-Jacquotte A. (2009). Promoter methylation and the detection of breast cancer. *Cancer Causes & Control.*, 20(9): 1539-1550.

61. Croce C.M. (2008). Oncogenes and cancer*. New England Journal of Medicine.*, 358(5): 502-511.

62. Toyooka S. and Shimizu N. (2004). Models for studying DNA methylation in human cancer: a review of current status*. Drug Discovery Today: Disease Models.*, 1(1): 37-42.

63. Villar-Garea A., Fraga M.F., Espada J. et al. (2003). Procaine is a DNA-demethylating agent with growth-inhibitory effects in human cancer cells*. Cancer research.*, 63(16): 4984-4989.

64. Attard G., Parker C., Eeles RA. et al. (2015). Prostate cancer*. The Lancet*.,1-13.

65. Agathanggelou A., Cooper W.N., Latif F. (2005). Role of the Ras-association domain family 1 tumor suppressor gene in human cancers*. Cancer research.*, 65(9): 3497-3508.

66. Ahmed H. (2010). Promoter methylation in prostate cancer and its application for the early detection of prostate cancer using serum and urine samples. *Biomarkers in cancer.*, 2010(2): 17-33.

67. Esteller M. (2008). Epigenetics in cancer*. The New England journal of Medicine.*, 358(11): 1148-1159.

68. Li L.C., Okino S.T., Dahiya R. (2004). DNA methylation in prostate cancer*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer.*, 1704(2): 87-102.

69. Maxwell A., McCudden C.R., Wians F. et al. (2015). Recent advances in the detection of prostate cancer using epigenetic markers in commonly collected laboratory samples*. Laboratory Medicine.*, 40(3): 171-178.

70. Maruyama R., Toyooka S., Toyooka K.O. et al. (2001). Aberrant promoter methylation profile of bladder cancer and its relationship to clinicopathological features*. Cancer research.*, 61(24): 8659-8663.

71. Robert M.F., Morin S., Beaulieu N. et al. (2003). DNMT1 is required to maintain CpG methylation and aberrant gene silencing in human cancer cells*. Nature genetics.*, 33(1): 61-65.

72. Harada K., Toyooka S., Maitra A. et al. (2002). Aberrant promoter methylation and silencing of the *RASSF1A* gene in pediatric tumors and cell lines*. Oncogene.*, 21(27): 4345-4349.

73. Yang B., House M.G., Guo M. et al. (2005).Promoter methylation profiles of tumor suppressor genes in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma*. Modern Pathology.*, 18(3): 412-420.

74. Matsuyama T., Kimura M.T., Koike K. et al. (2003). Global methylation screening in the Arabidopsis thaliana and Mus musculus genome: applications of virtual image restriction landmark genomic scanning (Vi‐RLGS)*. Nucleic acids research.*, 31(15): 4490-4496.

75. Robertson K.D. (2005). DNA methylation and human disease*. Nature Reviews Genetics*., 6(8): 597-610.

76. Donninger H., Vos M.D., Clark G.J. (2007). The *RASSF1A* tumor suppressor*. Journal of cell science.*, 120(18): 3163-3172.

77. Li J., Wang F., Protopopov A. et al. (2004). Inactivation of *RASSF1C* during *in vivo* tumor growth identifies it as a tumor suppressor gene*. Oncogene.*, 23(35): 5941-5949.

78. Vander W.L., Adams D.J. (2007). The *Ras-association domain family* (*RASSF*) members and their role in human tumourigenesis*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer.*, 1776(1): 58-85.

79. Volodko N., Gordon M., Salla M. et al. (2014).*RASSF1A* tumor suppressor gene family: biological functions and regulation*. FEBS letters.*, 588(16): 2671-2684.

80. Kim G.H., Ryan J.J., Marsboom G. et al. (2011). Epigenetic mechanisms of pulmonary hypertension*. Pulmonary circulation*., 1(3): 347-356.

81. Agathanggelou A., Honorio S., Macartney D.P. et al. (2001). Methylation associated inactivation of *RASSF1A* from region 3p21. 3 in lung, breast and ovarian tumours*. Oncogene.*, 20(12):1509-1518.

82. Grawenda A., O'neill E. (2015). Clinical utility of *RASSF1A* methylation in human malignancies*. British journal of cancer.*, 113(3): 372-381.

83. Tomizawa Y., Kohno T., Kondo H. et al. (2002). Clinicopathological significance of epigenetic inactivation of *RASSF1A* at 3p21. 3 in stage I lung adenocarcinoma*. Clinical cancer research.*, 8(7): 2362-2368.

84. Amin K.S. and Banerjee P.P. (2012). The cellular functions of *RASSF1A* and its inactivation in prostate cancer, *Journal of carcinogenesis.*, 11(1): 31-35.

85. Pfeifer G.P, Dammann R. (2005). Methylation of the tumor suppressor gene *RASSF1A* in human tumors*. Biochemistry (Moscow).*, 70(5): 576-583.

86. Challouf S., Ziadi S., Zaghdoudi R. et al. (2012). Patterns of aberrant DNA hypermethylation in nasopharyngeal carcinoma in Tunisian patients*. Clinica Chimica Acta.*, 413(7): 795-802.

87. Lo K.W., Chung G.T.Y., To K.F (2012). Deciphering the molecular genetic basis of NPC through molecular, cytogenetic, and epigenetic approaches. *Seminars in Cancer Biology*, Elsevier, 79-86.

88. Dammann R., Schargdasurengin U., Seidel C. et al. (2005). The tumor suppressor *RASSF1A* in human carcinogenesis: an update*. Histology and histopathology.*, 20(2): 645-663.

89. Dammann R., Yang G., Pfeifer G.P. (2001). Hypermethylation of the CpG island of *Ras association domain family 1A* (*RASSF1A*), a putative tumor suppressor gene from the 3p21.3 locus, occurs in a large percentage of human breast cancers*. Cancer research.*, 61(7): 3105-3109.

90. Dreijerink K., Braga E., Kuzmin I. et al. (2001). The candidate tumor suppressor gene, *RASSF1A*, from human chromosome 3p21.3 is involved in kidney tumorigenesis*. Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 98(13): 7504-7509.

91. Byun D.S., Lee M.G., Chae K.S. et al. (2001). Frequent epigenetic inactivation of *RASSF1A* by aberrant promoter hypermethylation in human gastric adenocarcinoma. *Cancer Research.*, 61(19): 7034-7038.

92. Shen W.J., Dai D.Q., Teng Y. et al. (2008). Regulation of demethylation and re-expression of *RASSF1A* gene in gastric cancer cell lines by combined treatment of 5-Aza-CdR and NaB*. World journal of gastroenterology: WJG.*, 14(4): 595-600.

93. Yu M.Y., Tong J.H., Chan P.K. et al. (2003). Hypermethylation of the tumor suppressor gene *RASSFIA* and frequent concomitant loss of heterozygosity at 3p21 in cervical cancers*. International journal of cancer.*, 105(2): 204-209.

94. Dong S.M., Sun D.I., Benoit N.E. et al. (2003). Epigenetic inactivation of *RASSF1A* in head and neck cancer*. Clinical cancer research.*, 9(10): 3635-3640.

95. Jerónimo C., Henrique R., Hoque M.O. et al. (2004). A quantitative promoter methylation profile of prostate cancer*. Clinical Cancer Research.*, 10(24): 8472-8478.

96. Spugnardi M., Tommasi S., Dammann R. et al. (2003). Epigenetic inactivation of *RAS association domain family protein 1(RASSF1A)* in malignant cutaneous melanoma*. Cancer research.*, 63(7): 1639-1643.

97. Murray P.G., Qiu G.H., Fu L. et al. (2004). Frequent epigenetic inactivation of the *RASSF1A* tumor suppressor gene in Hodgkin's lymphoma*. Oncogene.*, 23(6): 1326-1331.

98. Yang B., Guo M., Herman J.G. et al. (2003). Aberrant promoter methylation profiles of tumor suppressor genes in hepatocellular carcinoma*. The American journal of pathology.*, 163(3): 1101-1107.

99. Netto G.J. (2015). Molecular updates in prostate cancer*. Surgical pathology clinics.*, 8(4): 561-580.

100. Ge Y.Z., Xu L.W., Jia R.P. et al. (2013). The association between *RASSF1A* promoter methylation and prostate cancer: evidence from 19 published studies*. Tumor Biology.*, 35(4): 3881-3890.

101. Pan J., Chen J., Zhang B. et al. (2013). Association between *RASSF1A* promoter methylation and prostate cancer: a systematic review and meta-analysis*. PloS one.*, 8(9): e75283.

102. Watanabe Y., Maekawa M. (2010). Methylation of DNA in cancer*. Advances in clinical chemistry.*, 52: 145-167.

103. Kawamoto K., Okino S.T., Place R.F. et al. (2007). Epigenetic modifications of *RASSF1A* gene through chromatin remodeling in prostate cancer*. Clinical Cancer Research.*, 13(9): 2541-2548.

104. Liu L., Yoon J., Dammann R. et al. (2002). Frequent hypermethylation of the *RASSF1A* gene in prostate cancer*. Oncogene.*, 21(44): 6835-6840.

105. Nelson W.G., De Marzo A.M., Isaacs W.B. (2003). Prostate cancer. *The New England journal of medicine*., 349(4):366-381.

106. Vương Diệu Linh, Tạ Văn Tờ, Đặng Bảo Châu và cộng sự (2010). Nghiên cứu hiện tượng methyl hóa promoter gen *GSTP1* ở bệnh nhân ung thư tiền liệt tuyến tại Bệnh viện K. *Hội thảo quốc gia phòng chống ung thư từ 25-26/10/2012*, Hội phòng chống ung thư Việt Nam, 2: 224-229.

107. Vo Thi Thuong Lan, Bui Thi Thuan, Vuong Dieu Linh (2016). [Promoter methylation profile of *GSTP1* and *RASSF1A* in prostate cancerand benign hyperplasia in Vietnamese men.](https://www.pubfacts.com/detail/27511358/Promoter-methylation-profile-of-GSTP1-and-RASSF1A-in-prostate-cancerand-benign-hyperplasia-in-Vietna) *Turk J Med Sci*., 46(1): 228-235.

108. Herman J.G., Graff J.R., Myöhänen S. et al. (1996). Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands*. Proceedings of the national academy of sciences.*, 93(18): 9821-9826.

109. Kim J.S., Chae Y., Ha Y.S. et al. (2012). *Ras association domain family 1A:* a promising prognostic marker in recurrent nonmuscle invasive bladder cancer*. Clinical genitourinary cancer.*, 10(2): 114-120.

110. Shames D.S., Minna J.D., Gazdar A.F. (2007). Methods for detecting DNA methylation in tumors: from bench to bedside*. Cancer letters.*, 251(2): 187-198.

111. Xiong Z. and Laird P.W. (1997). COBRA: a sensitive and quantitative DNA methylation assay*. Nucleic acids research.*, 25(12): 2532-2534.

112. Andrés G., Ashour N., Sánchez-Chapado M. et al. (2013). The study of DNA methylation in urological cancer: present and future*. Actas Urológicas Españolas (English Edition).*, 37(6): 368-375.

113. DeMarzo A.M., Nelson W.G., Isaacs W.B. et al. (2003). Pathological and molecular aspects of prostate cancer*. The Lancet.*, 361(9361): 955-964.

114. Salmond J.M. (2016). Pathology of tumours of the kidney and urinary tract*. Surgery (Oxford).*, 34(10): 487-492.

115. Epstein J.I. (2010). An update of the Gleason grading system*.The Journal of urology.*, 183(2): 433-440.

116. Gilliland F.D., Gleason D.F., Hunt W.C. et al. (2001). Trends in Gleason score for prostate cancer diagnosed between 1983 and 1993*. The Journal of urology.*, 165(3): 846-850.

117. Eisen R.N. (2008). Quality management in immunohistochemistry*. Diagnostic Histopathology.*, 14(7): 299-307.

118. McNeal J.E., Villers A., Redwine E.A. et al. (1991). Microcarcinoma in the prostate: its association with duct-acinar dysplasia*. Human pathology.*, 22(7): 644-652.

119. Hoque M.O., Topaloglu O., Begum S. et al. (2005). Quantitative methylation-specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediment distinguish prostate cancer patients from control subjects*. Journal of Clinical Oncology.*, 23(27): 6569-6575.

120. Ngô Văn Trung (2004). Nghiên cứu các đặc điểm vi thể các khối u tuyến tiền liệt được phẫu thuật tại Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện trường Đại học Y dược Huế từ tháng 1/2000-6/2003. *Hội thảo quốc gia về phòng chống ung thư 2004*, Bộ Y tế, 489: 223-226.

121. Nguyễn Thanh Hải (2016). Giá trị ngưỡng, độ đặc hiệu và độ nhạy của PSA trong phát hiện ung thư tiền liệt tuyến tại Bệnh viện đa khoa Thống Nhất. *Hội thảo quốc gia phòng chống ung thư lần thứ XVIII*, ngày 6-7/10/2016, Hội phòng chống ung thư Việt Nam, 175-178.

122. Grönberg H. (2003). Prostate cancer epidemiology*. The Lancet.*, 361(9360): 859-864.

123. Mostofi F., Sesterhenn I.A., Davis C.C.J. (1992). Prostatic carcinoma: problems in the interpretation of prostatic biopsies*. Human pathology.*, 23(3): 223-241.

124. Mcneal J.E. , Kindrachuk R., Freiha F. et al. (1986). Patterns of progression in prostate cancer*. The Lancet.*, 327(8472): 60-63.

125. Kramer C.E., Epstein J.I. (1993) Nucleoli in low-grade prostate adenocarcinoma and adenosis*. Human pathology.*, 24(6): 618-623.

126. Vasiu R., Olinici C., Coman I. (2005). Signet-ring prostatic carcinoma. Case presentation and review of the literature*. Romanian journal of morphology and embryology.*, 46(2): 161-163.

127. Feneley M.R., Busch C. (1997). Precursor lesions for prostate cancer*. Journal of the Royal Society of Medicine.*, 90(10): 533-539.

128. Kabalin J.N., McNeal J.E., Johnstone I.M. et al. (1995). Serum prostate-specific antigen and the biologic progression of prostate cancer*. Urology.*, 46(1): 65-70.

129. Bostwick D.G. and Qian J. (2004). High-grade prostatic intraepithelial neoplasia*. Modern Pathology.*, 17: 360-379.

130. Bostwick D.G. (1996). Prospective origins of prostate carcinoma: prostatic intraepithelialneoplasia and atypical adenomatous hyperplasia*. Cancer.*, 78(2): 330-336.

131. Alexander E.E., Qian J., Wollan P.C. et al. (1996). Prostatic intraepithelial neoplasia does not appear to raise serum prostate-specific antigen concentration*.Urology.*, 47(5):693-698.

132. Fiorentino M., Capizzi E., Loda M. (2010). Blood and tissue biomarkers in prostate cancer: state of the art*. Urologic Clinics of North America.*, 37(2010): 131-141.

133. Hessels D., Rittenhouse H.G., Schalken J.A. (2005). Molecular diagnostics in prostate cancer*. EAU Update series*., 3(4):200-213.

134. Schrecengost R. and Knudsen K.E. (2013). Molecular pathogenesis and progression of prostate cancer. *Seminars in oncology*, Elsevier, 244-258.

135. Samaratunga H., Delahunt B., Yaxley J. et al. (2014). Clinical significance of cancer in radical prostatectomy specimens: analysis from a contemporary series of 2900 men*. Pathology-Journal of the RCPA.*, 46(1): 11-14.

136. Sgrignoli A., Walsh P., Steinberg G. et al. (1994). Prognostic factors in men with stage D1 prostate cancer: identification of patients less likely to have prolonged survival after radical prostatectomy*. The Journal of urology.*, 152(4): 1077-1081.

137. Hoogland A.M., Kweldam C.F., Leenders V.G.J. (2014). Prognostic histopathological and molecular markers on prostate cancer needle-biopsies: a review*. BioMed research international.*, 2014: 1-12.

138. Christian J.D., Lamm T.C., Morrow J.F. et al. (2005).Corpora amylacea in adenocarcinoma of the prostate: incidence and histology within needle core biopsies. *Modern Pathology.*, 18(1): 36-39.

139. Ro J.Y., Grignon D.J., Ayala A.G. et al. (1990). Mucinous adenocarcinoma of the prostate: histochemical and immunohistochemical studies*. Human pathology.*, 21(6): 593-600.

140. Otero J.R., Gomez B.G., Juanatey F.C. et al. (2013). Prostate cancer biomarkers: an update. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, Elsevier, 1-9.

141. Gittes R. F. (1991). Carcinoma of the prostate*. New England Journal of Medicine.*, 324(4): 234-245.

142. Cadeddu J.A., Pearson J.D., Partin A.W. et al. (1993). Relationship between changes in prostate-specific antigen and prognosis of prostate cancer*. Urology*., 42(4): 383-389.

143. Epstein J.I., Egevad L., Humphrey P.A. et al. (2014). Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference*. The American journal of surgical pathology.*, 38(8): e6-e19.

144. Brimo F. and Epstein J.I. (2012). Immunohistochemical pitfalls in prostate pathology*. Human pathology.*, 43(3): 313-324.

145. Bastian P.J., Yegnasubramanian S., Palapattu G.S. et al. (2004). Molecular biomarker in prostate cancer: the role of CpG island hypermethylation*. European urology.*, 46(6): 698-708.

146. Syeed N., Syed S.A., HamidA. et al. (2010). Promoter methylation profile of *GSTP1* and *RASSF1A* in benign hyperplasia and metastatic prostate cancer patients in a Kashmiri population*. Molecular medicine reports*., 3(5): 883-887.

147. Cairns P. (2007). Gene methylation and early detection of genitourinary cancer: the road ahead*. Nature Reviews Cancer.*, 7(7): 531-543.

148. Aitchison A., Warren A., Neal D. et al. (2007). *RASSF1A* promoter methylation is frequently detected in both pre-malignant and non-malignant microdissected prostatic epithelial tissues*. The prostate.*, 67(6): 638-644.

Phụ lục

|  |  |
| --- | --- |
| BỆNH VIỆN QUÂN Y 103  **Khoa GPB - TB**  ĐT: (069)566.493 |  |

**BIÊN BẢN HỘI CHẨN TIÊU BẢN**

**KÈM THEO PHIẾU TRẢ LỜI KẾT QUẢ MÔ BỆNH HỌC SỐ: ……**

Khoa: .............. Mã số tiêu bản:

Số bệnh án:..............Ngày lấy mẫu:

Họ tên bệnh nhân:

Tuổi:........Giới:....... Đối tượng:

Lấy ở vùng:

Chẩn đoán lâm sàng:

Theo phiếu trả lời mô bệnh học số: ….................của khoa GPB Bệnh viện Quân y 103, chúng tôi đã hội chẩn theo yêu cầu của Bs Vi Thuật Thắng và kết luận như sau:

**A. Mô bệnh học:**

1. Chẩn đoán MBH (tiêu bản nhuộm H.E):
2. Biến thể:
3. Độ Gleason:

- Vùng diện tích lớn nhất (mẫu 1):

Độ 1 □, Độ 2 □, Độ 3 □, Độ 4 □, Độ 5 □.

- Vùng diện tích ít hơn (mẫu 2):

Độ 1 □, Độ 2 □, Độ 3 □, Độ 4 □, Độ 5 □.

1. Điểm Gleason (mẫu 1+ mẫu 2):
2. Đặc điểm đặc trưng ác tính:

- Xâm nhập dây thần kinh: Có □; Không □

- Tăng sinh xơ nhày: Có □; Không □

- Tuyến ung thư giống cầu thận: Có □; Không □

- Kết hợp 2-3 đặc điểm ác tính: Có □; Không □

1. Chất chứa trong tuyến nang ác tính:

- Tinh thể: Có □; Không □

- Chất tiết kết đặc màu hồng: Có □; Không □

- Tinh thể và chất tiết kết đặc màu hồng: Có □; Không □

7. Tổn thương phối hợp:

- Tân sản nội biểu mô độ cao (PIN độ cao): Có □; Không □

- Tân sản nội biểu mô độ thấp (PIN độ thấp): Có □; Không □

**B. Nhuộm hóa mô miễn dịch**

1. PSA: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

2. CK34βE12: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

3. p63: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

4. CK7: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

5. CK5/6: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

6. actin: (4+): □, (3+): □, (2+): □, (1+): □, (-): □.

**C. Xét nghiệm methyl hóa gen *RASSF1A*:**

(+): □. (-): □.

Biên bản hội chẩn kết thúc lúc … giờ…….Ngày …. tháng …. năm.......

**Chữ ký thành viên tham gia hội chẩn.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |