

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN MINH PHÚC

**NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN
GIỮA TỶ LỆ METHYL HÓA GEN *SFRP2*, *RNF180*
VỚI LÂM SÀNG, MÔ BỆNH HỌC
Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ DẠ DÀY**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2021

1. LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

TÁC GIẢ LUẬN ÁN

NCS. Nguyễn Minh Phúc

Lời cảm ơn

Với tất cả sự chân thành và sự kính trọng, tôi xin chân thành cảm ơn:

Đảng ủy, Ban Giám đốc Học viện Quân y.

Phòng Đào tạo Sau đại học - Học viện Quân y.

Ban chủ nhiệm cùng các thầy, cô và cán bộ, viên chức Bộ môn Nội Tiêu hóa, phòng chẩn đoán Sinh học phân tử - bộ môn Sinh học và Di truyền Y học - Học viện Quân y.

Ban Giám đốc, Phòng Kế hoạch tổng hợp, Trung tâm phẫu thuật Tiêu hóa, khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

Đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian học tập.

Đặc biệt, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS Nguyễn Thúy Vinh, PGS.TS Trần Văn Khoa đã tận tâm, tận tình, trực tiếp hướng dẫn và dìu dắt tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Đảng ủy, Ban Giám hiệu, Bộ môn Nội Trường Đại học Y Dược Thái Bình đã tạo mọi điều kiện để tôi hoàn thành luận án.

Xin cảm ơn toàn thể các bệnh nhân trong nghiên cứu đã hợp tác và giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi chân thành ghi nhớ tình cảm yêu thương nhất của bố mẹ hai bên, vợ và hai con, các em và những bạn hữu đã luôn sát cánh đồng viên và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Xin gửi đến tất cả mọi người lòng biết ơn của tôi!

Tác giả luận án

Nguyễn Minh Phúc

MỤC LỤC

Trang phụ bìa	
Lời cam đoan	
Lời cảm ơn	
Mục lục	
Danh mục chữ viết tắt	
Danh mục bảng	
Danh mục biểu đồ	
Danh mục hình ảnh	
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Dịch tễ, các yếu tố nguy cơ ung thư dạ dày	3
1.1.1. Dịch tễ ung thư dạ dày	3
1.1.2. Các yếu tố nguy cơ ung thư dạ dày.....	4
1.2. Bệnh sinh ung thư dạ dày.....	10
1.2.1. Cơ chế gây bệnh của <i>H.pylori</i>	10
1.2.2. Sinh học phân tử trong ung thư biểu mô dạ dày	11
1.3. Chẩn đoán ung thư dạ dày	14
1.3.1. Lâm sàng	14
1.3.2. Cận lâm sàng.....	15
1.3.3. Giải phẫu bệnh	18
1.4. Methyl hóa ADN.....	23
1.4.1. Khái niệm gen	23
1.4.2. CpG và Promoter	24
1.4.3. Methyl hóa ADN.....	24

1.5. Một số phương pháp phát hiện methyl hóa.....	27
1.5.1. Phương pháp giải trình tự bisulfit	27
1.5.2. Phương pháp PCR methyl đặc hiệu (MSP)	27
1.6. Cấu trúc và chức năng của gen <i>SFRP2</i>, <i>RNF180</i>	29
1.6.1. Gen <i>SFRP2</i>	29
1.6.2. Gen <i>RNF180</i>	32
1.7. Nghiên cứu về tình trạng methyl hóa ADN trong ung thư.....	34
1.7.1. Nghiên cứu về methyl hóa gen <i>SFRP2</i> , <i>RNF180</i> trong ung thư biểu mô dạ dày trên thế giới.....	34
1.7.2. Nghiên cứu về tình trạng methyl hóa một số gen ở Việt Nam	37
CHƯƠNG 2 . ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	39
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	39
2.1.1. Nhóm nghiên cứu	39
2.1.2. Nhóm chứng	39
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	40
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:	40
2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu	40
2.3. Quy trình nghiên cứu.....	40
2.3.1. Nhóm nghiên cứu	40
2.3.2. Nhóm chứng	41
2.4. Hóa chất, vật tư, trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu	42
2.4.1. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho nội soi dạ dày.....	42
2.4.2. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho xét nghiệm mô bệnh học	42
2.4.3. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho xét nghiệm methyl hóa	44
2.5. Quy trình kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu.....	46
2.5.1. Nội soi dạ dày, lấy mẫu sinh thiết chẩn đoán mô bệnh học, methyl hóa.....	46
2.5.2. Xử lý mô, nhuộm tiêu bản, đọc kết quả mô bệnh học	47

2.5.3. Xét nghiệm methyl hóa bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl	49
2.6. Chỉ tiêu nghiên cứu	50
2.6.1. Nhóm ung thư biểu mô dạ dày.....	50
2.6.2. Nhóm viêm dạ dày mạn tính.....	51
2.7. Tiêu chuẩn đánh giá.....	52
2.7.1. Chẩn đoán thiếu máu.....	52
2.7.2. Vị trí giải phẫu trong dạ dày	52
2.7.3. Hình ảnh nội soi viêm niêm mạc dạ dày.....	52
2.7.4. Hình ảnh nội soi ung thư biểu mô dạ dày tiến triển.....	53
2.7.5. Chẩn đoán mô bệnh học.....	53
2.7.6. Xét nghiệm methyl hóa gen <i>SFRP2</i> , <i>RNF180</i>	56
2.8. Xử lý số liệu.....	57
2.9. Sơ đồ nghiên cứu	58
2.10. Vấn đề y đức	58
CHƯƠNG 3 . KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	59
3.1. Đặc điểm chung	59
3.1.1. Đặc điểm về giới tính.....	59
3.1.2. Đặc điểm về tuổi	59
3.2. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học nhóm ung thư biểu mô dạ dày và tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2</i>, <i>RNF180</i>	61
3.2.1. Đặc điểm lâm sàng.....	61
3.2.2. Đặc điểm tổn thương ung thư biểu mô dạ dày.....	63
3.2.3. Đặc điểm mô bệnh học	64
3.2.4. Tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2</i> , <i>RNF180</i>	67
3.3. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2</i>, <i>RNF180</i> với lâm sàng, mô bệnh học.....	76
3.3.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học.....	76

3.3.2. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học	79
3.3.3. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học	83
CHƯƠNG 4 . BÀN LUẬN.....	87
4.1. Đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học nhóm ung thư biểu mô dạ dày và tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i>	87
4.1.1. Đặc điểm về giới tính.....	87
4.1.2. Đặc điểm về tuổi	88
4.1.3. Đặc điểm lâm sàng.....	91
4.1.4. Đặc điểm tổn thương trên nội soi dạ dày	98
4.1.5. Đặc điểm mô bệnh học	100
4.1.6. Đặc điểm về giai đoạn ung thư	108
4.1.7. Tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i>	110
4.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với lâm sàng, mô bệnh học.....	113
4.2.1. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với giới tính..	113
4.2.2. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với tuổi	114
4.2.3. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với vị trí ung thư	116
4.2.4. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với dạng tổn thương.....	116
4.2.5. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với thể mô bệnh học	117
4.2.6. Liên quan methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với giai đoạn TNM theo phân loại AJCC (2010)	119
4.2.7. Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2, RNF180</i> với giai đoạn ung thư theo phân loại AJCC (2010)	122

HÀN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI.....	123
KẾT LUẬN	124
KIẾN NGHỊ.....	126
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ	
NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ, KÝ HIỆU VIẾT TẮT TRONG LUẬN ÁN

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
1	ADN	Acide Desoxyribonucleic
2	AJCC	<u>American Joint Committee on Cancer</u> (Ủy ban Hợp nhất Hoa Kỳ về Ung thư)
3	APC	<i>Adenomatous polyposis of the colon</i>
4	ASIR	Age Standardised Incidence Rate (Tỷ lệ mắc bệnh chuẩn hóa theo tuổi)
5	ASMR	Age Standardised Mortality Rate (Tỷ lệ tử vong chuẩn hóa theo tuổi)
6	BMI	Body Mass Index (Chỉ số khối cơ thể)
7	BMP-2	<i>Bone Morphogenetic protein 2</i>
8	Bp	Base pair
9	BRCA1	<i>Breast cancer type 1 susceptibility</i> (gen nhạy cảm với ung thư vú)
10	BS	Bisulfit
11	CACNA2D3	<i>Calcium Voltage-Gated Channel Auxiliary Subunit Alpha2 delta3</i>
12	CagA	Cytotoxin Associated gene A (Yếu tố gây độc tế bào)
13	CDH1	<i>Cadherin 1</i>
14	CDX2	<i>Caudal Type Homeobox2</i>
15	CI	Confidence Interval (Khoảng tin cậy)
16	COX-2	<i>Cyclooxygenase-2 gene</i>

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
17	CRD/FZ	Cysteine Rich Domain/Frizzled Domain
18	CS	Cộng sự
19	<i>CTNNB1</i>	<i>Catenin beta 1</i>
20	<i>DAPK1</i>	<i>Death-associated proreïn kinase 1</i>
21	DNMT	DNA methyltransferase
22	DSR	Dị sản ruột
23	EBV	Epstein - Barr Virus
24	FDA	Food and Drug Administration (Hiệp hội thực phẩm và thuốc Hoa Kỳ)
25	<i>GSTP1</i>	<i>Glutathione S-transferase pi 1</i>
26	HDGC	Hereditary Diffuse Gastric Cancer (Ung thư dạ dày lan tỏa di truyền)
27	H&E	Hematoxylin và Eosin
28	HR	Hazard Ratio (Chỉ số nguy cơ)
29	IARC	International Agency for Research on Cancer (Tổ chức nghiên cứu ung thư Quốc tế)
30	<i>IGFBP7</i>	<i>Insulin like growth factor binding protein 7</i>
31	IGF	Insulin like Growth Factor (Yếu tố tăng trưởng giống Insulin)
32	IL	Interleukin
33	JGCA	Japanese Gastric Cancer Association (Hiệp hội ung thư dạ dày Nhật Bản)
34	LDL -Cholesterol	Low Density Lipoprotein cholesterol (Cholesterol tỷ trọng thấp)

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
35	<i>LMP2A</i>	<i>Latent Membrane protein2A</i>
36	LRP-5	Low Density Lipoprotein Receptoe Related Protein 5
37	LRP-6	Low Density Lipoprotein Receptor Related Protein 6
38	LS	Lâm sàng
39	<i>MeCP-1</i>	<i>Methyl cytosine binding protein 1</i>
40	<i>MeCP-2</i>	<i>Methyl cytosine binding protein 2</i>
41	<i>MGMT</i>	<i>O-6-methylguanine-DNA methyltransferase</i>
42	<i>MLH1</i>	<i>MulL homolog 1</i>
43	MSP	Methylation Specific PCR (PCR đặc hiệu methyl)
44	MSI	Microsatellite Instabiliti (Bất ổn trình tự vi vệ tinh)
45	OR	Odds ratio (Tỷ suất chênh)
46	PKC	Protein Kinase C
47	PTEN	Phosphatase and tensin homologue
48	<i>RAR β</i>	<i>Retinoic acid recepror β</i>
49	<i>RASSF1A</i>	<i>Ras association domain family 1A</i>
50	RNA	Ribonucleic acid
51	<i>RNF180</i>	<i>Ring Finger Proteins 180</i>
52	RR	Relative Risk (Chỉ số nguy cơ)
53	<i>RUNX3</i>	<i>Runt-Related Transcription Factor 3</i>
54	SHP-2	SH2 domain-containing tyrosine phosphatase 2

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
55	<i>SFRP2</i>	<i>Secreted Frizzled Related protein 2</i>
56	SL	Số lượng
57	TCF/LEF	T-cell Factory/Lymphoid Enhancer Factor
58	<i>TET</i>	<i>Ten-eleven Translocation methylcytosine dioxygenase</i>
59	<i>TIMP3</i>	<i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 3</i>
60	<i>TP53</i>	<i>Tumor Protein p53</i>
61	UTBMDD	Ung thư biểu mô dạ dày
62	UTBMT	Ung thư biểu mô tuyến
63	UTDD	Ung thư dạ dày.
64	VacA	Vacuolating Cytotoxin (Độc tố tạo không bào)
65	VDDMT	Viêm dạ dày mạn tính.
66	WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)
67	<i>Wnt</i>	Wingless integrated
68	5-mC	5-methylcytosine

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
1.1.	Phân loại mô bệnh học ung thư biểu mô dạ dày của WHO (2000)	21
1.2.	Vị trí ung thư biểu mô dạ dày và nhóm hạch di căn theo phân loại của JRSGC	22
2.1.	Trình tự các cặp môi sử dụng trong nghiên cứu	44
3.1.	Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính theo giới tính ...	59
3.2.	Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính theo nhóm tuổi .	59
3.3.	Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày theo giới tính và theo nhóm tuổi.....	61
3.4.	Vị trí ung thư trên nội soi	63
3.5.	Thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965)	64
3.6.	Thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000).....	64
3.7.	Tỷ lệ di căn hạch vùng theo mức độ xâm lấn khối u	66
3.8.	Tỷ lệ các giai đoạn TNM theo phân loại AJCC (2010)	66
3.9.	Tỷ lệ các giai đoạn ung thư dạ dày theo phân loại AJCC (2010).....	67
3.10.	Tỷ lệ methyl hóa gen <i>SFRP2</i>	70
3.11.	Tỷ lệ methyl hóa gen <i>RNF180</i>	72
3.12.	Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen.....	75
3.13.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với giới tính, tuổi	76
3.14.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với vị trí ung thư	76

Bảng	Tên bảng	Trang
3.15.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với dạng tổn thương.....	77
3.16.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965).....	77
3.17.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000).....	78
3.18.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với giai đoạn TNM	78
3.19.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>SFRP2</i> với giai đoạn ung thư	79
3.20.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với giới tính, tuổi	79
3.21.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với vị trí ung thư.....	80
3.22.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với dạng tổn thương.....	80
3.23.	Liên quan methyl hóa gen <i>RNF180</i> với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965).....	81
3.24.	Liên quan methyl hóa gen <i>RNF180</i> với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000).....	81
3.25.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với giai đoạn TNM	82
3.26.	Liên quan giữa methyl hóa gen <i>RNF180</i> với giai đoạn ung thư.....	82
3.27.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giới tính, nhóm tuổi	83
3.28.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với vị trí ung thư	83
3.29.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với dạng tổn thương	84

Bảng	Tên bảng	Trang
3.30.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965).....	84
3.31.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000).....	85
3.32.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn TNM.....	85
3.33.	Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn ung thư	86
4.1.	Các triệu chứng cơ năng thường gặp trong ung thư biểu mô dạ dày.....	92
4.2.	Đặc điểm lâm sàng của ung thư biểu mô dạ dày theo phân loại Lauren (1965)	101

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Tên biểu đồ	Trang
3.1.	Phân bố ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính theo nhóm <60 và ≥ 60 tuổi	60
3.2.	Tỷ lệ triệu chứng trong lý do vào viện của bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày	61
3.3.	Triệu chứng toàn thân và cơ năng	62
3.4.	Triệu chứng thực thể	62
3.5.	Dạng tổn thương ung thư biểu mô dạ dày	63

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Thể mô bệnh học Ung thư biểu mô dạ dày theo phân loại Lauren (1965).....	20
1.2.	Thể mô bệnh học theo phân loại của WHO.....	21
1.3.	Gốc methyl từ S-adenosylmethionin (SAM) chuyển cho Cytosin và biến đổi thành adenosylhomocystein S-(SAH).	24
1.4.	Nguyên lý phương pháp phát hiện methyl hóa bằng kỹ thuật MSP.....	28
1.5.	Sơ đồ cấu trúc gen <i>SFRP2</i>	29
1.6.	Hoạt động của <i>Wnt</i>	30
1.7.	Sơ đồ con đường truyền tín hiệu Wnt kinh điển.....	32
1.8.	Vị trí gen <i>SFRP2</i> trên NST số 4, <i>RNF180</i> trên NST số 5.....	33
2.1.	Hệ thống nội soi dạ dày OLYMPUS CV-170 (Nhật Bản)	42
2.2.	Máy xử lý mô Leica ASP 200S (Đức).....	43
2.3.	Máy đúc parafin Leica EG1160 (Đức)	43
2.4.	Máy cắt tiêu bản Leica RM2125 RTS (Đức).....	43
2.5.	Máy dán tiêu bản Leica CV5030 (Đức).....	43
2.6.	Máy ly tâm Eppendorf	45
2.7.	Máy đo độ tinh sạch ADN Quikdrop (Mỹ).....	45
2.8.	Máy PCR Eppendorf ProS (Mỹ).....	46
2.9.	Máy điện di Mupid-one (Nhật Bản).....	46
2.10.	Sơ đồ các bước tiến hành của phương pháp MSP	50
2.11.	Sơ đồ nghiên cứu.....	58

Hình	Tên hình	Trang
3.1.	Ung thư biểu mô thể tế bào nhân (nhuộm H&E x 400).....	65
3.2.	Ung thư biểu mô thể ống nhỏ (nhuộm H&E x 400).	65
3.3.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi nhân gen β -globin lượng ADN tách chiết từ các mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày trước xử lý bisulfit.....	67
3.4.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi nhân gen β -globin lượng ADN tách chiết từ các mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit.....	68
3.5.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi nhân gen β -globin lượng ADN tách chiết từ các mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính trước xử lý bisulfit.....	68
3.6.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi nhân gen β -globin lượng AND tách chiết từ các mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit.....	69
3.7.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen <i>SFRP2</i> (138bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit.....	70
3.8.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi không methyl hóa gen <i>SFRP2</i> (145bp) lượng ADN tách chiết từ mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit.....	71
3.9.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen <i>SFRP2</i> (138bp) lượng ADN tách chiết từ mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit.	71

Hình	Tên hình	Trang
3.10.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen <i>SFRP2</i> (145bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit.	72
3.11.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen <i>RNF180</i> (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit.	73
3.12.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen <i>RNF180</i> (109bp) trong ADN tách chiết từ các mẫu mô Ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit.	74
3.13.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen <i>RNF180</i> (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit.	74
3.14.	Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen <i>RNF180</i> (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô Viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit.	75

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư dạ dày, trong đó ung thư biểu mô dạ dày chiếm tỷ lệ 85-90%, là bệnh ác tính thường gặp ở nước ta và nhiều nước trên thế giới. Theo số liệu của Tổ chức nghiên cứu ung thư Quốc tế công bố trên GLOBOCAN năm 2018, ung thư dạ dày được xếp là loại ung thư phổ biến thứ năm trên thế giới và thứ ba ở Việt Nam [1].

Tiên lượng của bệnh nhân ung thư dạ dày phụ thuộc vào giai đoạn bệnh khi chẩn đoán. Nếu được chẩn đoán ở giai đoạn sớm, bệnh nhân ung thư dạ dày có tiên lượng tốt hơn, với tỷ lệ sống sau 5 năm lên đến 90%, trong khi chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển thì tỷ lệ sống sau 5 năm chỉ khoảng 60% hoặc thấp hơn [2]. Theo Rawla P. (2019), tỷ lệ sống sau 5 năm của bệnh nhân ung thư dạ dày phẫu thuật ở giai đoạn IA, IB là 94% và 88%, còn ở giai đoạn IIIC chỉ là 18% [3]. Hiện nay, mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán nhưng tỷ lệ phát hiện ung thư dạ dày sớm ở nhiều quốc gia vẫn còn rất thấp, khoảng 10-30% cho nên tiên lượng của bệnh nhân ung thư dạ dày vẫn xấu [4], [5], [6]. Nhờ triển khai chương trình khám sàng lọc ung thư dạ dày bằng nội soi, sinh thiết niêm mạc dạ dày định kỳ 6 tháng/lần cho người trên 45 tuổi, tỷ lệ chẩn đoán ung thư dạ dày sớm ở Nhật Bản đã tăng lên rất cao, trên 90% [7]. Tuy vậy, sử dụng nội soi và sinh thiết trong khám sàng lọc ung thư dạ dày cũng có nhiều hạn chế khi triển khai tại cộng đồng do nội soi là phương pháp chẩn đoán xâm lấn. Do đó, việc tìm ra những chỉ dấu sinh học giúp chẩn đoán ung thư dạ dày không xâm lấn là rất cần thiết trong giai đoạn hiện tại và tương lai.

Biến đổi di truyền ngoại gen là những thay đổi biểu hiện gen không liên quan với thay đổi trình tự nucleotid trong gen, bao gồm biến đổi histone và methyl hóa ADN [8]. Methyl hóa ADN được cho là nguyên nhân chính làm giảm hoặc mất biểu hiện gen. Khi các gen ức chế khối u bị giảm hoặc mất biểu hiện sẽ tạo điều kiện cho khối u hình thành và phát triển, do đó methyl

hóa ADN giữ vai trò quan trọng trong quá trình hình thành và phát triển ung thư [9]. Methyl hóa vùng promoter của gen dẫn đến thay đổi biểu hiện gen được tìm thấy ở hầu hết các loại ung thư, bao gồm cả ung thư dạ dày [10].

SFRP2 và *RNF180* là những gen mã hóa protein có chức năng ức chế khối u, được xác định có mối liên quan với nhiều loại ung thư, trong đó có ung thư dạ dày [11], [12]. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận tình trạng tăng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong mẫu mô và/hoặc mẫu huyết thanh của bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày và chỉ ra mối liên hệ có ý nghĩa giữa methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với giai đoạn ung thư dạ dày [13], [14], [15], [16]. Theo Cheung K. F. và cộng sự (2012), Zhang X. và cộng sự (2014), methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* có thể là chỉ dấu sinh học ở mức độ phân tử trong đánh giá nguy cơ và tiên lượng ung thư dạ dày [15], [16].

Ở Việt Nam, mặc dù đã có nghiên cứu về tình trạng methyl hóa một số gen trong ung thư phổi, vú, đại tràng, tiền liệt tuyến nhưng chưa có nghiên cứu về tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong ung thư biểu mô dạ dày, cho nên chúng tôi tiến hành đề tài:

"Nghiên cứu mối liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, mô bệnh học ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày"

Với hai mục tiêu sau:

1. Khảo sát đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học và tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày.
2. Đánh giá mối liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Dịch tễ, các yếu tố nguy cơ ung thư dạ dày

1.1.1. Dịch tễ ung thư dạ dày

Theo số liệu của Tổ chức nghiên cứu ung thư Quốc tế (IARC), năm 2018 trên thế giới có 1.033.701 ca mắc mới và 782.685 ca tử vong do ung thư biểu mô dạ dày (UTBMDD), do đó UTBMDD là loại ung thư phổ biến thứ 5 sau ung thư phổi, vú, đại tràng và tiền liệt tuyến. Ở Việt Nam, với 17.527 ca mắc mới, UTBMDD là loại ung thư phổ biến thứ 3 sau ung thư gan và ung thư phổi [1].

Khoảng 50% số ca UTBMDD gặp ở Đông Á và trên 70% gặp ở các nước đang phát triển [17]. Đánh giá nguy cơ UTBMDD của quốc gia hoặc khu vực trên thế giới dựa vào tỷ lệ mắc bệnh chuẩn hóa theo tuổi (ASIR) của quốc gia hay khu vực đó. Nguy cơ cao khi $ASIR > 20/100.000$ người, nguy cơ trung bình là $10-20/100.000$ người và nguy cơ thấp khi $ASIR < 10/100.000$ người.

Theo số liệu của IARC năm 2018, khu vực Đông Á có nguy cơ mắc UTBMDD cao nhất thế giới, với ASIR ở nam giới là $35,4/100.000$ người và khu vực Tây Phi có nguy cơ mắc UTBMDD thấp nhất với ASIR ở nam giới là $3,3/100.000$ người [18]. Do Việt Nam nằm ở khu vực Đông Nam Á cho nên tỷ lệ mắc bệnh chuẩn hóa theo tuổi của UTBMDD cũng khá cao. Nghiên cứu của Phan Văn Cương và CS (2017) thấy ASIR chung của nước ta là $17/100.000$ người, với tỷ suất mắc UTBMDD ở nam cao hơn nữ, tương ứng là $21,7/100.000$ người và $11,2/100.000$ người [19].

UTBMDD thường gặp ở nam nhiều hơn nữ, với tỷ lệ nam/nữ vào khoảng 2-3/1 [19]. UTBMDD ít gặp ở tuổi trước 40, tỷ lệ tăng lên cùng với tuổi và đạt đỉnh ở lứa tuổi 60-70 [20], [21], [22].

Cùng với những tiến bộ trong tiết trừ *H.pylori*, trong chẩn đoán và điều trị, tỷ lệ tử vong do UTBMDD cũng đã giảm. Kết quả nghiên cứu ở Mỹ của

Wingo P. A. và CS cho thấy, sau 50 năm, tỷ lệ tử vong chuẩn hóa theo tuổi (ASMR) ở nam giới đã giảm từ 24,6/100.000 người xuống còn 2,9/100.000 người và ở nữ giới từ 14,5/100.000 người xuống còn 2,2/100.000 người [23].

Theo vị trí khối u, ung thư biểu mô dạ dày được chia thành UTBMDD tâm vị và UTBMDD không thuộc tâm vị. Trong đó, UTBMDD không thuộc tâm vị có liên quan với nhiễm *H.pylori* và UTBMDD tâm vị có liên quan với béo phì, bệnh trào ngược thực quản [24].

1.1.2. Các yếu tố nguy cơ ung thư dạ dày

❖ *Nhiễm H. pylori*

Năm 1982, Marshal B. J. và Warren J. R. lần đầu tiên phát hiện ra mối liên quan giữa *H.pylori* với viêm dạ dày mạn tính (VDDMT), năm 1994 IARC xếp *H.pylori* vào nhóm I các yếu tố nguy cơ ung thư dạ dày [7], [25]. Nghiên cứu gần đây của Cheung K. S. và CS (2018) thấy tỷ lệ nhiễm *H.pylori* trên thế giới dao động trong khoảng 19-88% [26]. Trong đó, các nước nghèo, mức sống xã hội thấp thường có tỷ lệ nhiễm *H.pylori* cao hơn các nước có phát triển. Theo Hooi J. K. Y. và CS (2017), tỷ lệ nhiễm *H.pylori* ở Nigeria là 87,7%, ở Ấn Độ là 63,5%, ở Việt Nam là 70,3%, ở Đan Mạch là 22,1% [27].

Mối liên quan giữa *H.pylori* với UTBMDD đã được chỉ ra trong nhiều nghiên cứu. Sau ba năm theo dõi những bệnh nhân UTBMDD sớm điều trị bằng cắt hết niêm mạc dạ dày và tiệt trừ *H.pylori* không ngẫu nhiên, Uemura N. và CS (1997) không thấy trường hợp nào được tiệt trừ *H.Pylori* phát triển UTBMDD, trong khi có 9% số trường hợp không tiệt trừ *H.pylori* phát triển UTBMDD [28]. Năm 2001, sau khi phân tích 12 nghiên cứu bệnh-chứng, nhóm hợp tác nghiên cứu Helicobacter và ung thư (Helicobacter and Cancer Collaborative Group-HCCG) đã xác định *H.pylori* là yếu tố nguy cơ của UTBMDD không tâm vị (OR = 2,97 95% CI 2,34-3,77) và không có mối liên quan với UTBMDD tâm vị (OR= 0,99 95% CI 0,72-1,35) [29]. Nghiên cứu của Leung W. K. và CS (2004) thấy tỷ lệ dị sản ruột (DSR) ở người trên 45

tuổi nhiễm *H.pylori* cao gấp hai lần người dưới 45 tuổi với OR=2,13 (95% CI 1,41-3,24) [30]. Tiệt trừ *H.pylori* có thể ngăn ngừa sự tiến triển của các tổn thương tiền ung thư do đó làm giảm tỷ lệ UTBMDD. Kết quả nghiên cứu của Rokkas T. và CS (2007) cho thấy, tiệt trừ *H.pylori* làm giảm có ý nghĩa tỷ lệ viêm teo niêm mạc dạ dày nhưng không làm giảm tỷ lệ DSR [31]. Nghiên cứu của Lee Y. C. và CS (2013) đã chỉ ra rằng, tiệt trừ *H.pylori* làm giảm đáng kể tỷ lệ viêm teo niêm mạc dạ dày (OR=77,2% 95% CI 72,3%-81,2%) nhưng không làm giảm tỷ lệ DSR [32]. Theo Cheung K. S. và CS (2018), *H.pylori* có liên quan với 89% số UTBMDD không tâm vị [26]. Theo Uno Y. (2019), tiệt trừ *H.pylori* có thể làm giảm 30% số UTBMDD ở người trên 50 tuổi [33].

Nghiên cứu của Brenner H. và CS (2000) nhằm xác định mối liên quan giữa yếu tố tiền sử gia đình, nhiễm *H.pylori* với UTBMDD đã chỉ ra rằng, mặc dù có mối liên quan chặt chẽ giữa nhiễm *H.pylori* và tiền sử gia đình có người UTBMDD với UTBMDD nhưng hai yếu tố này độc lập với nhau. Nguy cơ UTBMDD tăng lên ở người nhiễm *H.pylori* chủng *cagA*⁺ và gia đình có người UTBMDD so với người nhiễm *H.pylori* và gia đình không có người UTBMDD với OR=8,2 (95% CI 2,2-30,4) cho UTBMDD và OR=16 (95% CI 3,9-66,4) cho UTBMDD không thuộc tâm vị. Như vậy, nguy cơ UTBMDD tăng rõ khi kết hợp giữa nhiễm *H.pylori* và gia đình có người UTBMDD [34].

❖ **Viêm dạ dày mạn tính**

Không giống như các ung thư biểu mô khác, UTBMDD không xuất hiện ngay từ tế bào bình thường mà là một quá trình phát triển từ từ, thường trên một niêm mạc viêm mạn tính [20]. Theo Correa P. và CS (2012), quá trình phát sinh UTBMDD trải qua nhiều bước, bắt đầu từ VDDMT kéo dài sẽ dẫn đến viêm teo niêm mạc dạ dày, tiếp theo là các biến đổi dị sản, biến đổi loạn sản và cuối cùng là ung thư [35]. Spence A. D. và CS (2017) tiến hành phân tích tổng hợp nhiều nghiên cứu bệnh-chứng thấy tỷ lệ viêm teo niêm mạc dạ dày tiến triển đến UTBMDD dao động từ 0,53-15,24/1000 người trong một

năm, tỷ lệ DSR tiến triển đến UTBMDD dao động từ 0,38-17,08/1000 người trong một năm [36].

❖ ***Chế độ ăn, lối sống***

Muối được cho là yếu tố nguy cơ của UTBMDD từ năm 1959 [37]. Nghiên cứu của D'Elia L. và CS (2012) đã ghi nhận cả mức hấp thu muối “cao” và “trung bình cao” đều làm tăng nguy cơ UTBMDD so với mức hấp thu muối “thấp” với RR tương ứng là 1,68 (95% CI 1,17-2,41) và 1,41 (95% CI 1,03-1,93) [38]. Sau khi phân tích tổng hợp nhằm đánh giá nguy cơ UTBMDD ở những người ăn dưa muối, Ren J. S. và CS (2012) thấy nguy cơ UTBMDD tăng lên ở những người ăn nhiều dưa muối so với người không ăn hoặc ăn rất ít, với OR=1,52 (95% CI 1,37-1,68) trong nghiên cứu tổng thể; OR=1,56 (95% CI 1,39-1,75) trong nghiên cứu bệnh chứng và RR=1,32 (95% CI 1,10-1,59) trong nghiên cứu thuần tập [39].

Rau xanh và hoa quả tươi có thể ngăn ngừa UTBMDD. Theo Lunet N. và CS (2005), ăn rau xanh, hoa quả tươi làm giảm có ý nghĩa UTBMDD với RR tương ứng là 0,88 (95% CI 0,69-1,13) và 0,82 (95% CI 0,73-0,93) [40]. Bertuccio P. và CS (2013) sau khi phân tích các nghiên cứu về mối liên quan giữa chế độ ăn lành mạnh (nhiều hoa quả tươi, rau xanh) và chế độ ăn không lành mạnh (nhiều thịt, chất béo và tinh bột) với UTBMDD đã chỉ ra rằng, nguy cơ UTBMDD ở nhóm ăn chế độ không lành mạnh cao gấp hai lần nhóm ăn chế độ lành mạnh với RR=1,70 (95% CI 1,11-2,59) và RR=0,77 (95% CI 0,55-1,07) tương ứng [41].

Trà xanh có thể ngăn ngừa UTBMDD. Sasazuki S. và CS (2012) phân tích số liệu từ 8 nghiên cứu thuần tập và 3 nghiên cứu bệnh-chứng thấy nguy cơ UTBMDD giảm xuống ở nhóm nữ uống ≥ 5 tách trà xanh/ngày (HR=0,79 95% CI 0,65-0,96) nhưng không thấy mối liên hệ này ở nam giới [42].

Hút thuốc lá có mối liên quan với UTBMDD. Sau khi phân tích số liệu từ 23 nghiên cứu dịch tễ, Praud D. và CS (2018) thấy nguy cơ UTBMDD tăng

lên ở người hút thuốc lá với OR=1,20 (95% CI 1,09-1,32) và tăng cao hơn ở người hút trên 20 điếu/ngày với OR=1,32 (95% CI 1,10-1,58) [43].

Nghiên cứu của Ma K. và CS (2017) thấy nguy cơ UTBMDD tăng lên rõ rệt ở người uống khoảng 30 gam alcohol/ngày với OR=1,39 95% (CI 1,20-1,61) [44]. Nghiên cứu của Sitarz R. và CS (2018) đã xác nhận mối liên quan có ý nghĩa giữa UTBMDD tâm vị với rượu [7].

❖ *Các yếu tố chuyển hóa*

Theo Asano K. và CS (2008), nồng độ cholesterol máu có mối liên quan nghịch đảo với nguy cơ UTBMDD thể ruột và không có mối liên quan với thể lan tỏa. Mối liên quan này không thay đổi sau khi điều chỉnh yếu tố nhiễm *H.pylori* [45]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Stemmermann G. N. và CS (1991), mối liên quan giữa UTBMDD với nồng độ cholesterol thấp lại không được ghi nhận [46]. Theo Jung M. K. và CS (2008), tăng đường huyết, tăng cholesterol tỷ trọng thấp (LDL-cholesterol) làm tăng nguy cơ loạn sản tế bào niêm mạc dạ dày, trong khi các chỉ số BMI, triglycerid và cholesterol toàn phần lại không liên quan đến nguy cơ này [47]. Theo Ikeda F. và CS (2009), HbA1c có mối liên quan ý nghĩa với UTBMDD, tỷ lệ UTBMDD tăng lên ở người có HbA1c $\geq 6,0\%$ và mối liên quan này vẫn tồn tại sau khi điều chỉnh các yếu tố tuổi, giới, nhiễm *H.pylori*, tiền sử loét dạ dày. HbA1c có thể là yếu tố kết hợp với nhiễm *H.pylori* làm tăng nguy cơ UTBMDD [48].

❖ *Thừa cân, béo phì*

Thừa cân, béo phì đã được xác nhận là yếu tố nguy cơ của nhiều loại ung thư. Tuy nhiên, mối liên quan giữa thừa cân, béo phì với UTBMDD trong kết quả nghiên cứu của một số tác giả chưa rõ ràng [49]. Kết quả nghiên cứu của Sjødahl K. và CS (2008) không thấy mối liên quan giữa thừa cân, béo phì với UTBMDD không tâm vị [50], trong khi nghiên cứu của Yang P. và CS (2009) lại thấy thừa cân, béo phì là yếu tố nguy cơ của UTBMDD tâm vị với OR=1,55 (95% CI 1,31-1,84) [51].

Cơ chế giải thích cho mối liên quan giữa thừa cân, béo phì với UTBMDD vẫn chưa thống nhất. Theo Karczewski J. và CS (2019), ba giả thuyết giải thích cho mối liên quan này được thừa nhận nhiều hơn là: i) sự thay đổi thụ thể tiếp nhận yếu tố tăng trưởng giống Insulin-1 (IGF-1); ii) tình trạng viêm mạn tính; iii) sự thay đổi chuyển hóa hormon sinh dục [52].

❖ ***Yếu tố di truyền***

Vai trò của yếu tố di truyền trong UTBMDD đã được chỉ ra trong nhiều nghiên cứu. Năm 1998, Guilford P. và CS báo cáo trường hợp ung thư dạ dày lan tỏa di truyền (Hereditary Diffuse Gastric Cancer-HGDC) đầu tiên sau khi phát hiện tình trạng đột biến G→T ở vị trí exon 7 của gen *CDH1* (*E-cadherin*) [53]. Tiến hành nghiên cứu 42 gia đình có người ung thư dạ dày lan tỏa di truyền, Brook W. A. R. và CS (2004) đã phát hiện đột biến dòng mầm gen *CDH1* (*E-cadherin*) ở 48% số gia đình có nhiều người ung thư dạ dày và trong đó có ít nhất một người dưới 50 tuổi bị ung thư dạ dày lan tỏa [54].

Nghiên cứu của Yaghoobi M. và CS (2010) thấy, nguy cơ UTBMDD tăng lên từ 1,5-3,5 lần ở những người trong gia đình có thành viên UTBMDD [55].

❖ ***Đa hình di truyền của chủ thể***

Mối liên quan giữa yếu tố đa hình di truyền của chủ thể với UTBMDD đã được chỉ ra trong nhiều nghiên cứu, tuy nhiên vấn đề này vẫn chưa được thống nhất. Theo El-Omar E. M. và CS (2000), đa hình cụm gen interleukin-1 làm tăng sản xuất *IL-1 β* , một cytokin tiền viêm và làm giảm tiết dịch dạ dày, có liên quan với tăng nguy cơ UTBMDD. Các yếu tố di truyền của chủ thể làm tăng sản xuất *IL-1 β* có thể giải thích hiện tượng vì sao có người nhiễm *H.pylori* thì dẫn đến UTBMDD nhưng có người lại không [56]. Theo Persson C. và CS (2011), mặc dù các gen liên quan đến đáp ứng viêm như *IL-1 β* , *IL-1RN*, *IL-8*, *IL-10* và nhân tố hoạt tử khối u (TNF- α) đã được nhiều nghiên cứu đề cập tới nhưng kết quả của các nghiên cứu trên quần thể châu Á và quần thể ngoài châu Á lại có sự khác biệt [57]. Nghiên cứu trên quần thể châu Á thấy

nguy cơ UTBMDD tăng lên ở người mang *IL10-1082G* nhưng lại giảm xuống ở người mang *IL1B-31C*. Ở quần thể ngoài châu Á, nguy cơ UTBMDD tăng lên ở người mang *IL1RN2* và giảm xuống ở người mang *IL10-1082G*. Nghiên cứu ở quần thể ngoài châu Á thấy nguy cơ UTBMDD tăng lên ở người mang *IL1B-511T*, *IL1B-31C* và *IL1RN2* nhưng không thấy mối liên hệ này ở quần thể châu Á. Nguy cơ UTBMDD không tâm vị giảm xuống ở người mang *IL1B-31C* và tăng lên ở người mang *IL1RN2* trong quần thể châu Á. Nguy cơ UTBMDD thể ruột giảm có ý nghĩa ở người mang *IL1B-511T* và *IL1B-31C* nhưng nguy cơ này lại tăng lên ở người mang *IL1RN2* trên quần thể châu Á. Nghiên cứu quần thể ngoài châu Á thấy tăng nguy cơ UTBMDD ở người mang *IL1RN2* và *TNFA-308A* và giảm nguy cơ UTBMDD thể lan tỏa ở người mang *IL10-1082G* [57].

❖ **Giới tính**

Kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả đã chỉ ra mối liên quan giữa giới tính với UTBMDD. Tỷ lệ mắc bệnh ở nam giới luôn cao hơn nữ giới trong UTBMDD nói chung và vị trí ung thư nói riêng. Theo Suryawala K. và CS (2015), nguy cơ UTBMDD ở nam giới cao hơn có ý nghĩa so với nữ giới với tỷ lệ nam/nữ là 2/1 [58]. Nghiên cứu của Lagergren F. và CS (2018) thấy tỷ lệ UTBMDD không thuộc tâm vị ở nam giới cao gấp 1,5 lần nữ giới và tỷ lệ UTBMDD tâm vị ở nam giới cao gấp 3,2 lần nữ giới [59]. Theo Camargo M. C. và CS (2012), nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ UTBMDD ở nữ giới thấp hơn nam giới là do hormon sinh dục nữ (estrogen) có thể bảo vệ cơ thể trước nguy cơ UTBMDD [60]. Nghiên cứu gần đây của Li H. và CS (2019) đã chỉ ra rằng, cùng với tỷ lệ mắc UTBMDD ở nữ giới thấp hơn ở nam giới, tiên lượng UTBMDD ở nữ giới cũng tốt hơn so với UTBMDD ở nam giới [61].

❖ **Nhóm máu, thiếu máu ác tính**

Mối liên quan giữa nhóm máu, bệnh thiếu máu ác tính Biermer với UTBMDD đã được ghi nhận trong một số nghiên cứu. Nghiên cứu của Mao

Y. và CS (2019) đã chỉ ra rằng, nguy cơ UTBMDD tăng lên ở người có nhóm máu A với OR=1,13 (95% CI 1,02-1,24) và nhóm máu AB với OR=1,18 (95% CI 1,02-1,36) [62]. Nghiên cứu của Yu H. và CS (2019) thấy bệnh nhân UTBMDD nhóm máu O có tiên lượng tốt hơn các nhóm máu khác, với HR=0,78 (95% CI 0,74-3,96) [63]. Nghiên cứu của Lahmidani N. và CS (2018) đã chỉ ra mối liên quan giữa bệnh Biermer với UTBMDD. Hàng năm, tỷ lệ mắc mới UTBMDD ở người bệnh Biermer khoảng 0,1-0,5% [64].

❖ *Cắt đoạn dạ dày*

Tỷ lệ ung thư dạ dày ở phần dạ dày còn lại tăng dần lên theo thời gian. Nguyên nhân có thể do trào ngược dịch mật vào dạ dày gây viêm teo niêm mạc dạ dày mạn tính. Theo một số nghiên cứu, tỷ lệ ung thư mồm cụt dạ dày sau cắt đoạn dạ dày do loét vào khoảng 1-2% [64], [65], nguy cơ ung thư mồm cụt dạ dày sau phẫu thuật theo phương pháp Billroth II cao hơn Billroth I [20].

❖ *Nhiễm Epstein-Barr virus*

Mối liên quan giữa EBV với UTBMDD đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu. Theo Lahmidani N. và CS (2018), khoảng 5-15% số UTBMDD có liên quan với EBV nhưng vai trò của EBV trong UTBMDD vẫn chưa được hiểu rõ [64]. Nghiên cứu của Uozaki H. và CS (2007) cho thấy, UTBMDD liên quan với EBV thường gặp ở nam giới, trẻ tuổi, có tổn thương dạng trợt hoặc loét ở phần trên của dạ dày [66].

1.2. Bệnh sinh ung thư dạ dày

1.2.1. Cơ chế gây bệnh của H.pylori

H.pylori cư trú tại niêm mạc dạ dày gây ra tình trạng viêm, từ đó dẫn đến tập trung bạch cầu đa nhân trung tính. Theo Zhang Q. B. và CS (1996), khi bạch cầu đa nhân trung tính bị kích hoạt sẽ giải phóng các gốc oxy tự do và những gốc oxy tự do này có thể phá hủy lớp niêm mạc dạ dày [67]. Nghiên cứu của Pignatelli B. và CS (1998) đã chỉ ra rằng, viêm teo niêm mạc dạ dày và loạn sản là những tổn thương sớm của UTBMDD, những tổn thương này

dẫn đến tăng sản xuất các gốc oxy và nitơ phản ứng, làm phá hủy ADN và tổ chức, từ đó gây ra UTBMDD [68].

Yếu tố độc lực của *H.pylori*. bao gồm *cagA* (cytotoxin Associated gene) và *vacA* (vacuolating cytotoxin A) đã được chứng minh có liên quan với UTBMDD. Khi *cagA* đi vào trong tế bào biểu mô sẽ phát tín hiệu tăng sinh và vận động cũng như sản xuất các cytokin, khi *vacA* đi vào trong tế bào biểu mô sẽ tạo không bào và ảnh hưởng tới các ty thể, từ đó làm chết tế bào. Theo Hatakeyama M. (2017), *H.pylori* có 2 chủng là chủng *cagA*⁺ và chủng *cagA*⁻ [69]. Higashi H. và CS (2002) dựa trên tình trạng tyrosin phosphoryl hóa ở vị trí liên kết với SHP-2 chia *H.pylori* chủng *cagA*⁺ thành hai phân nhóm là chủng *cagA*⁺ Đông Á và chủng *cagA*⁺ phương Tây. Chủng *cagA*⁺ phương Tây có đặc trưng là sự xuất hiện chuỗi liên kết SHP-2 trong khi chủng *cagA*⁺ Đông Á lại đặc trưng bởi chuỗi SHP-2 riêng biệt. Nhiễm chủng *cagA*⁺ Đông Á có nguy cơ UTBMDD cao hơn nhiễm chủng *cagA*⁺ phương Tây [70].

Nghiên cứu của Guo X. L. và CS (2003) đã chỉ ra mối liên quan giữa *COX-2* với UTBMDD khi thấy *COX-2* biểu hiện vượt mức trong UTBMDD và biểu hiện của *COX-2* trong UTBMDD do nhiễm *H.pylori* chủng *cagA*⁺ cao hơn nhiều so với UTBMDD không do nhiễm *H.pylori* chủng *cagA*⁺ [71]. Theo Shao Y. và CS (2014), sự kết hợp giữa tăng mỡ máu với nhiễm *H.pylori* dẫn đến tăng biểu hiện của *COX-2* có liên quan đến quá trình hình thành và phát triển UTBMDD [72].

1.2.2. Sinh học phân tử trong ung thư biểu mô dạ dày

1.2.2.1. *CDH1* (*E-Cadherin gene*)

CDH1 là protein bám dính tế bào, xuất hiện ở các chỗ ghép nối của biểu mô. *CDH1* cần thiết cho sự phát triển, biệt hóa tế bào và duy trì cấu trúc biểu mô. Các đột biến dòng mầm của *CDH1* gây ra ung thư biểu mô dạ dày lan tỏa di truyền (HDGC-Hereditary Diffuse Gastric Cancer). Theo Machado J. C. và CS (2001), methyl hóa vùng promoter gen *CDH1* gặp ở 56,3% số UTBMDD

thể lan tỏa và 28,6% số UTBMDD thể ruột [73]. Những người mang đột biến dòng mầm *CDH1* có 70% nguy cơ mắc UTBMDD lan tỏa di truyền. Methyl hóa quá mức gen *CDH1* xuất hiện trong ít nhất 50% số ca UTBMDD lan tỏa di truyền [74] và trạng thái bất hoạt gen *CDH1* do methyl hóa là biểu hiện sớm nhất trong sự hình thành và phát triển UTBMDD lan tỏa di truyền [75].

1.2.2.2. Tumor Protein p53 (*TP53*)

Tumor protein p53 (*TP53*) là gen bị đột biến nhiều nhất trong các bệnh ung thư ở người, bao gồm cả ung thư dạ dày. *TP53* có chức năng ức chế khối u thông qua vai trò trì hoãn chu kỳ tế bào và gây chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Tỷ lệ đột biến gen *TP53* ở UTBMDD thay đổi từ 0 đến 76%, trong đó đột biến G:C→A:T tại vị trí các CpG là loại phổ biến nhất, không phụ thuộc vào thể mô bệnh học của UTBMDD. Đột biến gen *TP53* trong UTBMDD tâm vị gặp nhiều hơn UTBMDD không tâm vị và phổ biến hơn ở ung thư di căn so với ung thư nguyên phát. Nghiên cứu của Shiao Y. H. và CS (1993) thấy gen *TP53* thay đổi ở 25% dạ dày bình thường, 50% DSR, 66,7% loạn sản và 75% UTBMDD [76].

1.2.2.3. gen β -Catenin (*CTNNB1*)

Gen β -Catenin giữ vai trò quan trọng trong điều hòa con đường truyền tín hiệu Wnt. Lượng β -Catenin tăng lên trong tế bào chất có thể xuất hiện nhờ sự bám với phối tử của Wnt hoặc do đột biến gen *APC*, *AXIN1*, *CTNNB1*. Theo Polakis P. (2000), các đột biến gen β -Catenin làm ảnh hưởng đến vùng công protein của nó dẫn đến tình trạng kháng lại sự điều hòa của gen *APC*. Trạng thái không ổn định của gen β -Catenin làm thay đổi con đường truyền tín hiệu Wnt từ đó sẽ gây ra ung thư [77]. Nghiên cứu của Park W. S. và CS (1999) đã ghi nhận tình trạng đột biến gen β -Catenin gặp ở 26,7% UTBMDD thể ruột nhưng không gặp trong thể lan tỏa [78].

1.2.2.4. *Runt-Related Transcription Factor 3 (RUNX3)*

RUNX3 là gen có chức năng ức chế khối u và bị bất hoạt bởi methyl hóa vùng promoter [79]. Nghiên cứu của Kim T. Y. và CS (2004) trên 75 ca UTBMDD nguyên phát thấy tỷ lệ methyl hóa gen *RUNX3* là 64% [80].

1.2.2.5. *Caudal Type Homeobox 2 (CDX2)*

CDX2 là gen mã hóa yếu tố phiên mã định hướng sự phát triển, biệt hóa của tế bào ruột. Gen *CDX2* không chỉ thúc đẩy tăng sinh và biệt hóa các tế bào biểu mô ruột bằng việc hoạt hóa phiên mã các gen đặc hiệu mà còn ức chế sinh trưởng thông qua hoạt hóa gen *CDKN1A (p21)*. *CDX2* có vai trò ức chế khối u trong quá trình phát triển ung thư ruột. *CDX2* biểu hiện trong tế bào niêm mạc ruột nhưng không biểu hiện trong tế bào biểu mô dạ dày. Sự biểu hiện của *CDX2* ở niêm mạc dạ dày có DSR đã gợi ý *CDX2* có vai trò trong DSR và tiếp theo là phát triển UTBMDD. Nghiên cứu của Liu Q. và CS (2007) đã chỉ ra rằng, giảm biểu hiện gen *CDX2* trong DSR hoặc loạn sản có thể là nguy cơ cao đối với UTBMDD và mặc dù DSR có liên quan với UTBMDD thể ruột nhiều hơn thể lan tỏa nhưng biểu hiện của *CDX2* trong UTBMDD thể ruột lại tương đương với thể lan tỏa [81]. Park D. Y. và CS (2010) cũng thấy giảm biểu hiện của gen *CDX2* trong UTBMDD sớm [82].

1.2.2.6. *Tính bất ổn vi vệ tinh*

Bất ổn trình tự vi vệ tinh (Microsatellite Instability - MSI) là trạng thái mất ổn định của bộ gen có liên quan với gen sửa chữa bắt cặp sai, được phát hiện lần đầu trong ung thư đại tràng. Theo Kim T. Y. và CS (2004), bất ổn trình tự vi vệ tinh hay gặp trong UTBMDD [83]. Kết quả nghiên cứu của Fleisher A. S. và CS (1999) đã chỉ ra rằng, tỷ lệ methyl hóa gen *hMLH1* tăng cao trong UTBMDD có bất ổn trình tự vi vệ tinh và hiếm gặp bất ổn trình tự vi vệ tinh ở dạ dày không ung thư [84]. Theo Leung S. Y. và CS (1999), methyl hóa vùng promoter làm bất hoạt gen *hMLH1* là nguyên nhân làm tăng cao tỷ lệ bất ổn trình tự vi vệ tinh trong UTBMDD [85].

1.2.2.7. *Biến đổi di truyền ngoại gen*

Biến đổi di truyền ngoại gen là những thay đổi biểu hiện gen không liên quan đến thay đổi trình tự nucleotid, có thể di truyền, bao gồm methyl hóa ADN, sửa đổi histon và biến đổi các RNA không mã hóa. Biến đổi di truyền ngoại gen được ghi nhận có liên quan đến hầu hết các bệnh ung thư, trong đó có UTBMDD. Methyl hóa ADN gây ra tình trạng bất hoạt quá trình phiên mã của các gen ức chế khối u, có vai trò quan trọng với UTBMDD. Tình trạng tăng methyl hóa xuất hiện ở giai đoạn sớm và tăng lên cùng với sự tiến triển của UTBMDD. Nghiên cứu của Kang G. H. và CS (2003) đã chỉ ra những thay đổi methyl hóa xuất hiện trong quá trình phát triển của UTBMDD. Trong đó, methyl hóa gen *APC*, *E-cadherin* và *MGMT* xuất hiện ở giai đoạn sớm, tiếp theo là gen *DAP-kinase*, *P14*, *THBS1* và *TIMP-3*, sau đó là *COX-2*, *MLH1* và *p16*, methyl hóa gen *RASSF1A* và *GSTP1* xuất hiện ở giai đoạn muộn [86].

1.3. Chẩn đoán ung thư dạ dày

1.3.1. *Lâm sàng*

1.3.1.1. *Giai đoạn sớm*

UTBMDD sớm không có triệu chứng lâm sàng đặc hiệu, thường biểu hiện giống những bệnh dạ dày, bệnh ổng tiêu hóa lành tính khác cho nên dễ bị bỏ sót. Mặc dù không có triệu chứng lâm sàng đặc hiệu, nhưng nếu được khám sàng lọc có thể phát hiện 50-60% số trường hợp [20].

1.3.1.2. *Giai đoạn tiến triển*

Tương tự như UTBMDD sớm, UTBMDD tiến triển cũng không có triệu chứng lâm sàng đặc hiệu. Bệnh thường biểu hiện với những triệu chứng sau:

- Đau thượng vị: Là triệu chứng hay gặp nhất, với đặc điểm đau không có chu kỳ, không giảm đau sau khi dùng thuốc kháng a xít.
- Đầy bụng, ợ hơi, chướng tiêu: Xuất hiện thường xuyên hơn ở bệnh nhân UTBMDD ở giai đoạn tiến triển. Biểu hiện có thể giảm khi dùng thuốc nhưng tái phát nhanh.

- Sút cân: Khoảng 90% số trường hợp UTBMDD có biểu hiện sút cân.
- Nôn, buồn nôn
- Thiếu máu: Biểu hiện triệu chứng phụ thuộc vào mức độ thiếu máu.
- Xuất huyết tiêu hóa: Gặp ở khoảng 20% số trường hợp UTBMDD.
- Khi ung thư di căn xa hoặc lan tràn ổ bụng, có thể gặp bệnh nhân đến khám vì cổ trướng, hoàng đản, ho ra máu, đau ngực, rong kinh...
- Khám thực thể: Có thể sờ thấy khối u ổ bụng, hạch thượng đòn, ...

1.3.2. Cận lâm sàng

1.3.2.1. Chụp Xquang dạ dày có thuốc cản quang

Được sử dụng trong chẩn đoán bệnh lý dạ dày từ lâu, bao gồm chụp thông thường và chụp đối quang kép. Phương pháp chụp đối quang kép có thể phát hiện khoảng 87% tổn thương dạ dày.

1.3.2.2. Nội soi dạ dày ống mềm và sinh thiết

Nội soi dạ dày có thể biết được vị trí, số lượng tổn thương và hình ảnh đại thể của UTBMDD, đồng thời có thể sinh thiết làm mô bệnh học. Theo Nguyễn Thị Quỳ (2007), tỷ lệ chẩn đoán UTBMDD bằng nội soi sinh thiết có nhuộm màu niêm mạc với dung dịch Indigocarmin phù hợp với chẩn đoán mô bệnh học là 92%, trong khi nội soi sinh thiết thông thường chỉ đạt tỷ lệ 68,3% [87].

Hình ảnh nội soi UTBMDD tiến triển gồm những dạng tổn thương sau [20]:

- Dạng sùi: Khối u có ranh giới rõ, phát triển lồi vào trong lòng dạ dày. U có dạng như một polyp có cuống, hoặc thực sự là polyp bị ung thư hóa. Bề mặt u có những nhú nhỏ, dễ chảy máu. Nền khối u có chân rộng giống như một cái nấm. Khi chiếm diện rộng bề mặt niêm mạc dạ dày, những nhú nhỏ sùi lên giống súp lơ, bờ u không đều, chỗ lồi chỗ lõm.

- Dạng loét: Thường có kích thước lớn, có khi đường kính đến 10cm. Loét thường ở trung tâm tổn thương, bờ tổn thương gồ ghề, nổi cao, nền ổ loét có những điểm chảy máu rỉ rả.

- Dạng thâm nhiễm: Xu hướng thâm nhiễm lan rộng, chia 2 thể chính:

+ Loét thâm nhiễm: Khối u vừa có loét, vừa có thâm nhiễm. Loét không có giới hạn, bờ ổ loét xen kẽ với niêm mạc lành, đáy ổ loét xâm lấn xuống thành dạ dày tạo mảng cứng, mất nhu động.

+ Thể xơ đét: Ở giai đoạn sớm, chỉ thấy dày lên như dạng viêm kèm xơ hóa. Khi ung thư phát triển, thành dạ dày cứng làm cho dạ dày nhỏ lại, niêm mạc có những nếp nhăn song song theo chiều dọc dạ dày và các vết xước hay loét nhỏ. Có thể sùi từng vùng như dạng polyp.

1.3.2.3. Siêu âm nội soi

Là kỹ thuật kết hợp giữa nội soi tiêu hóa với siêu âm đầu dò tần số cao (7,5-12MHz), cho phép quan sát các lớp của thành ống tiêu hóa, các hạch lân cận và tổ chức xung quanh. Siêu âm nội soi rất có giá trị khi xác định giai đoạn xâm lấn khối u và di căn hạch với tỷ lệ chính xác là 79-92% [20].

1.3.2.4. Chụp cắt lớp vi tính

Hiện nay, chụp cắt lớp vi tính (CT-Scanner) được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán ung thư nói chung, trong đó có UTBMDD. Chụp cắt lớp vi tính có ưu điểm trong xác định vị trí, tính chất khu trú hay lan tràn của ung thư nhưng lại hạn chế trong chẩn đoán giai đoạn xâm lấn khối u và giai đoạn di căn hạch vùng. Do đó, chụp cắt lớp vi tính không sử dụng để chẩn đoán giai đoạn UTBMDD trước mổ. Nghiên cứu của Lê Thanh Sơn và CS (2016) thấy chụp cắt lớp vi tính có tỷ lệ xác định đúng giai đoạn T là 69,7%, giai đoạn N là 65,15% [88]. Nghiên cứu của Phạm Văn Bình và CS (2017) thấy chụp cắt lớp đa dãy có độ chính xác trong chẩn đoán giai đoạn xâm lấn khối u (T) là 80%, giai đoạn di căn hạch vùng N là 47,3%. Không phát hiện di căn xa trong tổng số 55 bệnh nhân UTBMDD [89].

1.3.2.5. Siêu âm ổ bụng

Mặc dù có độ nhạy và độ đặc hiệu không cao trong chẩn đoán UTBMDD, nhưng siêu âm ổ bụng có thể phát hiện được tình trạng di căn gan, dịch ổ bụng do đó giúp tiên lượng cuộc mổ.

1.3.2.6. Soi ổ bụng

Soi ổ bụng cho phép quan sát và đánh giá trực tiếp bề mặt gan, phúc mạc, hạch bạch huyết... cho nên có thể xác định, đánh giá được tình trạng khối u xâm lấn vào cơ quan lân cận hoặc di căn gan, di căn phúc mạc. Đồng thời, khi soi ổ bụng có thể sinh thiết vùng tổn thương để chẩn đoán mô bệnh học, từ đó đưa ra chỉ định phẫu thuật hoặc can thiệp nội soi.

1.3.2.7. Chụp cắt lớp phát xạ

Chụp cắt lớp phát xạ dựa trên nguyên lý mô ung thư có mức độ chuyển hóa glucose cao hơn mô bình thường. Sau khi tiêm chất FDG (2-18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose), FDG sẽ đi vào trong tế bào ung thư, tại đây gốc phospho hóa bị giữ lại, phát xạ, được ghi hình bằng đầu dò gamma. Chụp cắt lớp phát xạ có độ nhạy và độ đặc hiệu là 43% và 82% trong đánh giá giai đoạn T, độ nhạy 56% trong đánh giá giai đoạn N. Theo Bosch K. D. và CS (2019), độ nhạy của chụp cắt lớp phát xạ trong chẩn đoán UTBMDD thể ruột là 95,5% và cần nghiên cứu sâu hơn trong chẩn đoán giai đoạn di căn hạch vùng và trong đánh giá, tiên lượng sau điều trị của bệnh nhân UTBMDD [90].

1.3.2.8. Các chất chỉ điểm khối u

Kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả đã chỉ ra mối liên quan giữa chất chỉ điểm khối u như Carcinom Embryonic Antigen (CEA), Carbohydrat Antigen 19-9 (CA 19-9), Carbohydrat Antigen 72-4 (CA 72-4) với UTBMDD. Trong đó, CEA và CA 72-4 có ý nghĩa trong chẩn đoán, theo dõi sau điều trị và tiên lượng bệnh [65]. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Hoa và CS (2018) thấy, nhóm bệnh nhân UTBMDD có nồng độ CEA huyết thanh là $15,66 \pm 43,71$ ng/ml, nồng độ CA 19-9 là $67,94 \pm 66,0$ u/ml và CA 72-4 là $30,33 \pm 66,0$ u/ml, cao hơn nhóm chứng với $p < 0,05$. Giá trị chẩn đoán tăng cao khi kết hợp cả 3 chỉ số so với xét nghiệm đơn lẻ từng chỉ số [91]. Trong nghiên cứu của Polat E. Vaf CS (2014), nồng độ CEA và CA125 huyết thanh ở nhóm UTBMDD cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng, $p < 0,01$ [92].

1.3.2.9. Mô bệnh học

Mô bệnh học là phương pháp chẩn đoán chính xác nhất trong ung thư nói chung và UTBMDD nói riêng. Mô bệnh học trước mổ có giá trị chẩn đoán xác định, mô bệnh học sau mổ giúp chẩn đoán chính xác thể bệnh, giai đoạn bệnh, kiểm tra lại kết quả sinh thiết [65].

1.3.3. Giải phẫu bệnh

1.3.3.1. Ung thư biểu mô dạ dày giai đoạn sớm

❖ Hình ảnh đại thể

Hầu hết UTBMDD sớm có kích thước khoảng 2-5cm, có thể đơn độc hoặc nhiều ổ. UTBMDD sớm loại nhiều ổ là khi mỗi ổ được chứng minh bằng mô bệnh học và cách biệt nhau bởi niêm mạc bình thường [20]. Hiệp hội ung thư dạ dày Nhật Bản chia UTBMDD sớm thành ba typ [93]:

- Typ 0-I (dạng lõm): Tổ chức ung thư lõm lên trên niêm mạc với độ dày hơn hai lần độ dày của niêm mạc bình thường, chạm vào dễ chảy máu.

- Typ 0-II (dạng phẳng), gồm 3 phân typ:

- + Typ 0-IIa (phẳng lõm): Tổ chức ung thư gò cao hơn niêm mạc xung quanh với độ dày ít hơn hai lần độ dày niêm mạc bình thường.

- + Typ 0-IIb (phẳng dẹt): Tổ chức ung thư phát triển tạo thành mảng chắc, không nổi cao hơn niêm mạc dạ dày.

- + Typ 0-IIc (phẳng lõm): Tổ chức ung thư hơi lõm xuống, thấp hơn niêm mạc xung quanh, đôi khi có thể hoại tử, xuất tiết.

- Typ 0-III (dạng loét): Tổn thương có độ sâu rõ, bờ gò ghè, bản, niêm mạc quanh ổ loét không đều, các nếp niêm mạc có thể tập trung, riêng rẽ hay cắt cụt.

❖ Hình ảnh vi thể

Phân loại mô bệnh học UTBMDD sớm cũng tuân thủ theo quy định của UTBMDD tiến triển. Theo các tác giả Nhật Bản, loạn sản mức độ nặng được xếp thuộc UTBMDD sớm.

1.3.3.2. Ung thư biểu mô dạ dày giai đoạn tiến triển

❖ Hình ảnh đại thể

Hình ảnh đại thể của UTBMDD được Bormann phân loại từ năm 1926. Theo Bormann, UTBMDD tiến triển gồm 4 typ:

+ Typ I (thể sùi): U sùi vào trong lòng dạ dày, cứng, mặt không đều, tại đỉnh và trung tâm khối u có loét dễ chảy máu khi chạm vào.

+ Typ II (thể loét không xâm lấn): Loét hình tròn bát, bờ có thể nhô cao, sắc, nhám nhở, thành ổ loét có thể nhẵn và thẳng đứng.

+ Typ III (thể loét xâm lấn): Loét không rõ giới hạn do bờ ổ loét xen lẫn niêm mạc lành bên cạnh, đáy ổ loét thâm nhiễm cứng xung quanh.

+ Typ IV (thể thâm nhiễm): Giới hạn tổn thương không rõ, niêm mạc có thể không đều, sần loét nhỏ nên bề mặt mất nhẵn bóng; ít khi tổn thương khu trú tại một vùng dạ dày mà thường lan rộng.

Trên thực tế, các tổn thương sùi, loét, thâm nhiễm có thể xen kẽ với các mức độ khác nhau, cho nên đôi khi khó xếp loại chính xác [20].

Hiệp hội ung thư dạ dày Nhật Bản (JGCA) dựa theo phân loại của Bormann chia UTBMDD tiến triển thành 5 typ [93].

+ Typ I: Khối u dạng polyp, ranh giới rõ ràng với niêm mạc xung quanh.

+ Typ II: Khối u dạng loét, bờ cao, ranh giới rõ rệt.

+ Typ III: Khối u dạng loét, bờ cao, ranh giới không rõ.

+ Typ IV: Khối u thâm nhiễm, thành dạ dày dày lên và cứng, ranh giới không rõ ràng.

+ Typ V: Khối u không thể xếp vào 4 typ trên.

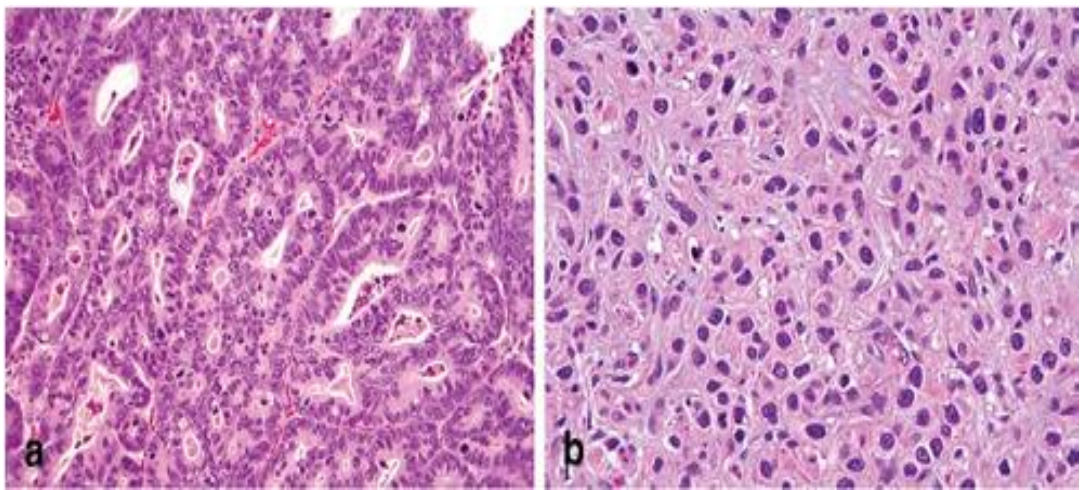
❖ Thể mô bệnh học

- Theo phân loại Lauren (1965) [94], [95] UTBMDD có hai thể chính

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

+ Thể lan tỏa: Thường không tạo thành tuyến mà phân tán thành đám hoặc riêng lẻ từng tế bào trong các lớp thành dạ dày. Mô đệm xơ hóa nhiều làm thành dạ dày dày lên.

Phân loại theo Lauren (1965) được sử dụng rộng rãi trên thế giới, được các nhà dịch tễ học chấp nhận, vì thể ruột thường gặp ở hàng vị, luôn kết hợp với DSR và yếu tố môi trường, trong khi thể lan tỏa hay gặp ở thân vị và người trẻ tuổi, không kết hợp với DSR và có thể liên quan đến yếu tố di truyền. Phân loại này có ích trong xử trí phẫu thuật và tiên lượng bệnh [20].



Hình 1.1. Thể mô bệnh học ung thư biểu mô dạ dày theo phân loại Lauren (1965)

a. Ung thư biểu mô dạ dày thể ruột

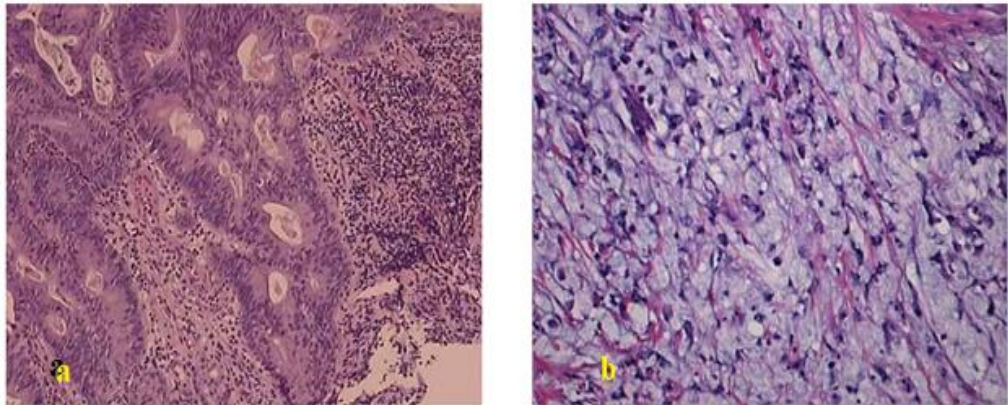
b. Ung thư biểu mô dạ dày thể lan tỏa

* Nguồn: Theo Tang L. H và CS (2015) [94]

- Năm 2000, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đưa ra phân loại ung thư dạ dày mới. Trong phân loại này, WHO đã gộp phân loại Lauren (gồm thể ruột và thể lan tỏa), bổ sung typ mô bệnh học ung thư biểu mô tế bào nhỏ vào bảng phân loại và mã hóa các typ mô bệnh học. Như vậy, theo phân loại này, cùng với thể ruột và thể lan tỏa, ung thư biểu mô dạ dày có 9 thể: thể nhú; thể ống nhỏ; thể nhầy; thể tế bào nhẵn; thể tuyến vảy; thể tế bào vảy; thể tế bào nhỏ; thể không biệt hóa; và các loại ung thư khác (Bảng 1.1) [20], [96].

Bảng 1.1. Phân loại mô bệnh học ung thư biểu mô dạ dày của WHO (2000)

Thể mô bệnh học	Mã số bệnh
1. UTBMT thể nhú (papillary)	8260/3
2. UTBMT thể ống nhỏ (tubular)	8211/3
3. UTBMT thể nhầy (mucinous)	8480/3
4. UTBM thể tế bào nhẫn (Signet-ring cell carcinoma)	8490/3
5. UTBM tuyến vảy (Adenosquamous carcinoma)	8560/3
6. UTBM tế bào vảy (Squamous cell carcinoma)	8070/3
7. UTBM tế bào nhỏ (Small cell carcinoma)	8041/3
8. UTBM không biệt hóa (Undifferentiated carcinoma)	8020/3
9. Các loại ung thư khác	



Hình 1.2. Thể mô bệnh học theo phân loại của WHO

a. UTBM thể ống nhỏ **b.** UTBM thể nhầy

* Nguồn: Theo Hu B. và CS (2012) [2]

1.3.3.3. Phân loại giai đoạn ung thư dạ dày

❖ **Phân loại của Adachi (1994)**

Adachi áp dụng phân loại của Dukes vào phân loại giai đoạn UTBDD [65]:

- Dukes A: Ung thư niêm mạc, dưới niêm mạc và lớp cơ.
- Dukes B: Ung thư lan tới thanh mạc.
- Dukes C:
 - + Ca: Di căn 1-6 hạch.
 - + Cb: Di căn từ 7 hạch trở lên.

❖ **Phân loại của Hiệp hội ung thư dạ dày Nhật Bản**

JGCA phân giai đoạn ung thư dạ dày như trình bày tại Bảng 1.2 [93].

Bảng 1.2. Giai đoạn ung thư dạ dày theo phân loại của JGCA

	N0	N1	N2	N3
T1a (M), T1b (SM)	IA	IB	IIA	IIB
T2 (MP)	IB	IIA	IIB	IIIA
T3 (SS)	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T4a (SE)	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4b (SI)	IIIB	IIIB	IIIC	IIIC
M1 (bất cứ T, bất cứ N)	IV			

* Nguồn: Theo Hiệp hội ung thư dạ dày Nhật Bản (2011)[93]

Trong đó: M là khi khối u giới hạn ở niêm mạc; SM - khối u giới hạn ở lớp dưới niêm mạc; MP - khối u xâm lấn lớp cơ; SS - khối u xâm lấn lớp dưới thanh mạc; SE - khối u xâm lấn lớp thanh mạc; SI - khối u xâm lấn cấu trúc liền kề; N0 là khi không có di căn hạch vùng; N1 - di căn 1 đến 2 hạch vùng; N2 - di căn 3-6 hạch vùng; N3 - di căn 7 hạch vùng hoặc nhiều hơn; M1 là khi có di căn xa; M0 - không có di căn xa.

❖ **Phân giai đoạn của AJCC (2010)**

AJCC (2010) [97] phân giai đoạn TNM và giai đoạn ung thư như sau:

* *Giai đoạn xâm lấn khối u nguyên phát - T (primary tumor)*

- Tx: Không đánh giá được u nguyên phát.
- T0: Không có u nguyên phát.
- Tis: Ung thư tại chỗ.
- T1: U khu trú ở lớp niêm mạc, cơ niêm và/hoặc dưới niêm mạc.
- + T1a: U xâm lấn đến lớp niêm mạc hoặc cơ niêm.
- + T1b: U xâm lấn lớp dưới niêm mạc.
- T2: U lan tới lớp cơ.

- T3: U xâm lấn mô liên kết dưới thanh mạc.
- T4: U xâm lấn thanh mạc (phức mạc tạng) hoặc vào cấu trúc lân cận.
 - + T4a: U xâm lấn thanh mạc (phức mạc tạng).
 - + T4b: U xâm lấn cấu trúc lân cận.

* *Giai đoạn di căn hạch vùng - N (regional nodes)*

- Nx: Không đánh giá được di căn hạch vùng.
- N0: Không di căn hạch vùng.
- N1: Di căn 1-2 hạch vùng.
- N2: Di căn 3-6 hạch vùng.
- N3: Di căn ≥ 7 hạch vùng.

* *Giai đoạn di căn - M (Metastases)*

- M0: Không có di căn xa; M1: Có di căn xa.

* *Giai đoạn ung thư*

- Giai đoạn 0: TisN0M0.
- Giai đoạn IA: T1N0M0.
- Giai đoạn IB: T2N0M0; T1N1M0.
- Giai đoạn IIA: T3N0M0; T2N1M0; T1N2M0.
- Giai đoạn IIB: T4aN0M0; T3N1M0; T2N2M0; T1N3M0.
- Giai đoạn IIIA: T4aN1M0; T3N2M0; T2N3M0.
- Giai đoạn IIIB: T4bN0M0; T4bN1M0; T4aN2M0; T3N3M0.
- Giai đoạn IIIC: T4aN3M0; T4bN2M0; T4bN3M0.
- Giai đoạn IV: Bất cứ giai đoạn T nào, bất cứ giai đoạn N nào, M1.

1.4. Methyl hóa ADN

1.4.1. Khái niệm gen

Gen là toàn bộ trình tự axit nucleic cần thiết để tổng hợp một sản phẩm gen chức năng (polypeptid hoặc ARN). Gen có cấu tạo gồm ba vùng chính: Vùng điều khiển, vùng mang thông tin di truyền (vùng mã hóa) và vùng kết thúc. Vùng điều khiển nằm ở đầu 5' và vùng kết thúc nằm ở đầu 3' của gen.

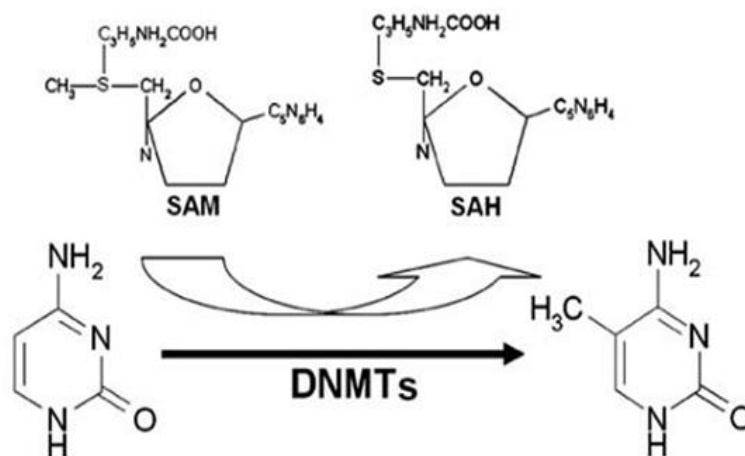
1.4.2. CpG và Promoter

CpG là cặp dinucleotid gồm cytosin và guanin. Đảo CpG là vùng tập trung nhiều CpG, có kích thước từ 0,5 kb đến vài kb nằm ở vùng 5' kéo dài đến exon đầu tiên của gen. Methyl hóa ADN thường gặp tại các đảo CpG thuộc vùng promoter của gen, do đó khi đánh giá tình trạng methyl hóa ADN thường xem xét tại vùng promoter.

Promoter bao gồm trình tự nucleotid nằm về phía đầu 5' của vị trí khởi đầu phiên mã gen, đóng vai trò điều khiển quá trình phiên mã nhờ khả năng đảm bảo các vị trí nhận biết cho các protein tham gia vào việc điều khiển biểu hiện gen như enzym RNA polymerase, các yếu tố phiên mã. Promoter giữ vai trò như một công tắc bật gen. Mỗi gen cần có promoter để hoạt động hoặc bắt đầu biểu hiện. Nếu promoter không hoạt động thì gen sẽ không hoạt động [98].

1.4.3. Methyl hóa ADN

Methyl hóa ADN là hiện tượng 1 gốc methyl (-CH₃) được thêm vào Cacbon ở vị trí số 5 của Cytosin trong CpG nằm gần phía đầu 5' của vùng promoter dưới xúc tác của enzym DNA methyltransferase (DNMTs), với S-adenosyl là chất nhường nhóm methyl [99], [100].



Hình 1.3. Gốc methyl từ S-adenosylmethionin (SAM) chuyển cho Cytosin và biến đổi thành adenosylhomocystein S-(SAH).

* Nguồn: theo Luczak M. W. và CS (2006) [100]

1.4.3.1. Cơ chế bất hoạt gen thông qua methyl hóa

Hiện nay, có ba cơ chế được đưa ra để giải thích cho hiện tượng gen bị giảm hoặc mất biểu hiện khi bị methyl hóa, bao gồm:

- Cơ chế thứ nhất: Liên quan đến sự can thiệp trực tiếp vào tương tác giữa nhân tố phiên mã với các vị trí bám đặc hiệu của chúng trên promoter. Một số nhân tố phiên mã như *AP-2*, *c-Myc/Myn*, *CREB*, *E2F*, và *NF-kB* có thể nhận diện các promoter chứa CpG, và sự gắn của chúng với promoter bị ức chế bởi methyl hóa. Một số nhân tố phiên mã khác như *Sp1*, *CTF* lại không nhạy cảm với methyl hóa tại vị trí bám của chúng. Ngoài ra, nhiều nhân tố phiên mã có vị trí bám đặc hiệu mà tại đó không có CpG [101].

- Cơ chế thứ hai: Các chất ức chế phiên mã bám trực tiếp vào các promoter đã bị methyl hóa. Hai nhân tố như *MeCP-1* và *MeCP-2* (methyl cytosine binding proteins 1 và 2) đã được xác định và được chỉ ra là có thể gắn vào các CpG bị methyl hóa theo nhiều khả năng khác nhau. *MeCP-1* và *MeCP-2* bám vào ADN chứa nhiều vị trí CpG bị methyl hóa đối xứng và các tế bào khiếm khuyết protein *MeCP-1* dẫn đến giảm đáng kể sự ức chế đối với các gen bị methyl hóa [101].

- Cơ chế thứ ba: Cho phép methyl hóa có thể ức chế phiên mã là việc thay đổi cấu trúc chromatin. Keshet và CS đã chuyển các cấu trúc plasmid M13 chứa gen *β -globin* của người cũng như một số gen nhân thực khác sau khi bị methyl hóa bằng enzym vào tế bào L của chuột. Sau khi được ổn định và nhân lên trong tế bào nuôi cấy, các trình tự ADN bị methyl hóa được thử độ nhạy với DNase-1, kết quả là tất cả các trình tự ADN này được phát hiện nằm trong vùng chromatin hoạt động, trái ngược với sự thật rằng các trình tự ADN đã bị methyl hóa *in vitro* trước khi chuyển vào tế bào phải nằm trong vùng chromatin bất hoạt phiên mã và tránh được DNase-1 (dẫn theo Singal R. và CS [101]). Thí nghiệm sử dụng vi tiêm một số trình tự gen có/không bị methyl hóa vào nhân đã chỉ ra rằng, methyl hóa ức chế phiên mã chỉ xảy ra

sau khi chromatin đã được cố định. Kể cả một yếu tố kích thích phiên mã mạnh như *GAL4-VP16* cũng không thể đối kháng lại với hiệu ứng của chromatin khi nó đã chuyển sang trạng thái bất hoạt do methyl hóa. Vì thế, cùng với giúp ổn định trạng thái bất hoạt, methyl hóa còn ngăn cản kích hoạt trở lại bằng cách ngăn chặn khả năng tiếp cận của các nhân tố phiên mã [101].

1.4.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến methyl hóa

❖ Tuổi

Kết quả nghiên cứu của một số tác giả đã chỉ ra mối liên quan giữa tuổi với tình trạng methyl hóa của một số gen. Nghiên cứu của Kang G.H và CS (2003) thấy tỷ lệ methyl hóa gen *DAPK*, *CDH1*, *p14*, *THBS1*, và *TIMP-3* tăng lên cùng với tuổi [102].

❖ Trà xanh và hoạt động thể chất

Hoạt động thể chất và uống trà xanh có mối liên quan với methyl hóa. Theo của Yuasa Y. và CS (2009), tỷ lệ methyl hóa gen *CDX2* và *BMP-2* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD ít uống trà xanh cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân UTBMDD uống nhiều trà xanh. Điều này được giải thích là do trà xanh chứa hoạt chất có thành phần thuộc nhóm polyphenol như 2-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) có thể ức chế hoạt động của enzym DNMTs. Trong nghiên cứu này, Yuasa Y. và CS (2009) cũng thấy tình trạng methyl hóa gen *CACNA2D3* xảy ra thường xuyên hơn ở nhóm bệnh nhân UTBMDD không hoạt động thể chất so với nhóm bệnh nhân có hoạt động thể chất [103].

❖ *H. pylori*

Kết quả nghiên cứu của một số tác giả đã chỉ ra mối liên quan giữa nhiễm *H.pylori* với tình trạng methyl hóa một số gen. Nghiên cứu của Maekita T. và CS (2006) thấy *H. pylori* làm tăng methyl hóa dẫn đến giảm hoặc mất biểu hiện của các gen ức chế khối u, từ đó gây ra UTBMDD [104]. Theo Leung W. K. và CS (2006), tiệt trừ *H.pylori* làm giảm methyl hóa ADN dẫn đến quá trình phát sinh UTBMDD bị ngừng lại hoặc đảo ngược [105].

❖ *Nhiễm Epstein–Barr Virus*

Theo Fukayama M. (2010), gen ức chế khối u thường bị methyl hóa trong UTBMDD liên quan với EBV [106]. Cơ chế được đề xuất là EBV làm tăng biểu hiện gen *LMP2A* thông qua quá trình phosphoryl hóa *STAT3* dẫn đến làm tăng biểu hiện của enzym DNMT1, từ đó làm mất biểu hiện của gen *PTEN*, vì thế gen *LMP2A* có vai trò then chốt trong quá trình phát sinh UTBMDD liên quan với EBV [106], [107].

1.5. Một số phương pháp phát hiện methyl hóa

1.5.1. Phương pháp giải trình tự bisulfit

Năm 1992, Frommer và CS đã giới thiệu phương pháp giải trình tự bisulfit theo nguyên lý: ADN biến tính bằng sodium bisulfit bị khử amin tại vị trí số 4 của cytosin sẽ chuyển cytosin thành uracil. Sau khi PCR những ADN đã xử lý bisulfit này, các uracil sẽ bị biến đổi thành thymin. Các cytosin methyl hóa ở vị trí số 5 sẽ không bị khử amin bởi sodium bisulfit và chuyển thành cytosin sau khi PCR. Ngược lại, sau khi PCR những ADN đã xử lý bisulfit, các cytosin không bị methyl hóa sẽ chuyển thành thymin, trong khi những cytosin bị methyl hóa không bị thay đổi. Bởi vì toàn bộ cytosin không nằm trong CpG không bị methyl hóa, trong khi chỉ có cytosin bị methyl hóa của CpG vẫn giữ là cytosin khi giải trình tự, cho nên, so sánh với trình tự ADN ban đầu sẽ phát hiện cytosin nào bị methyl hóa [108].

1.5.2. Phương pháp PCR methyl đặc hiệu (MSP)

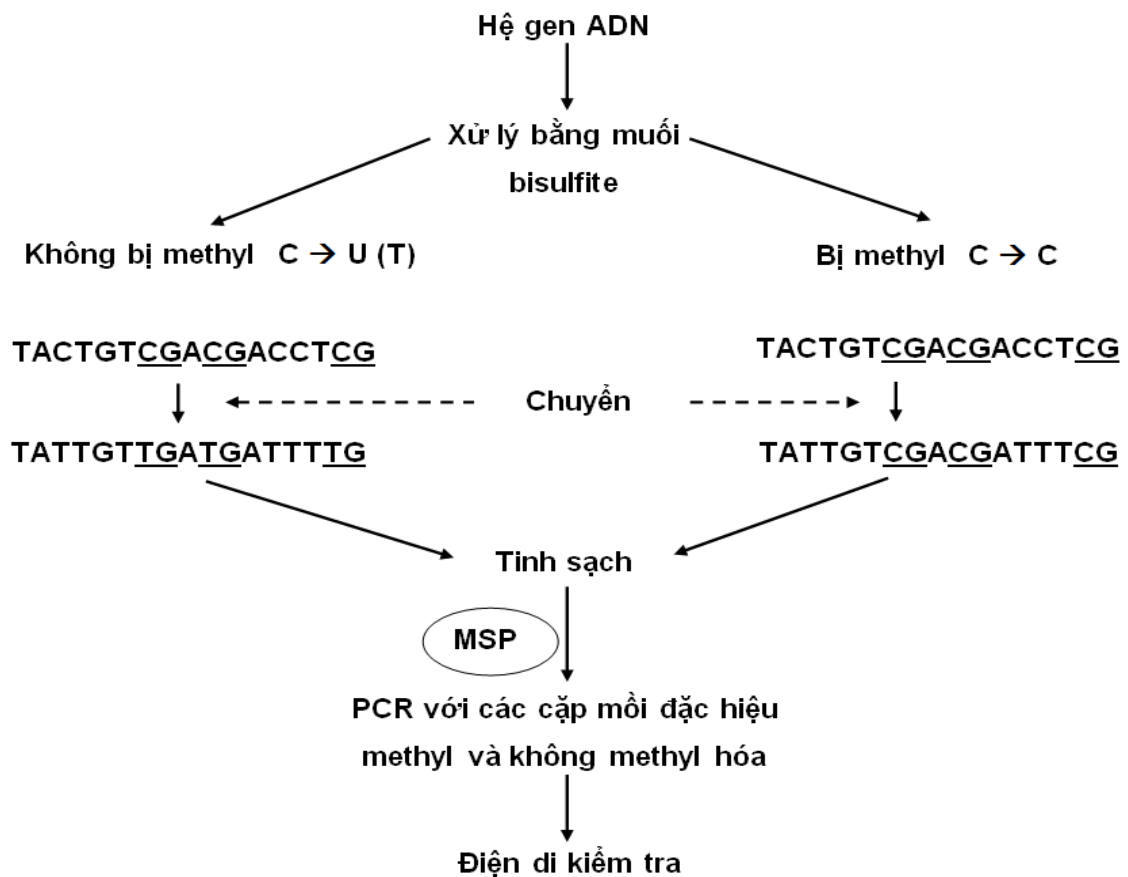
Phương pháp MSP lần đầu tiên được Herman và CS mô tả năm 1996, theo nguyên lý: với một trình tự chứa các CpG trên gen, alen chứa các CpG bị methyl hóa và alen chứa các CpG không bị methyl hóa sẽ cho ra các trình tự khác nhau sau xử lý bisulfit. Khi cặp mồi đặc hiệu methyl hóa bắt cặp bổ xung với trình tự có CpG bị methyl hóa nhưng không bổ xung với chính trình tự đó ở CpG không bị methyl hóa được dùng cho PCR, chỉ alen chứa các CpG bị methyl hóa được khuếch đại. Nguyên lý tương tự với cặp mồi đặc hiệu không

methyl hóa. Khi phân tích kết quả, nếu sản phẩm PCR có kích thước mong đợi xuất hiện trên kết quả điện di gel agarose, sẽ kết luận có methyl hóa hay không methyl hóa tùy thuộc vào cặp mồi đặc hiệu được sử dụng. Thông thường, cặp mồi đặc hiệu với trình tự methyl hóa và không methyl hóa được sử dụng cho cùng một gen, và sản phẩm khuếch đại được điện di trên gel để so sánh [108].

Quy trình của MSP bao gồm 2 bước: Xử lý bisulfit với đối với mẫu AND, và PCR với các cặp mồi đặc hiệu methyl hóa và không methyl hóa.

- Ưu điểm: Có thể phát hiện methyl hóa trong mô tươi hoặc đông lạnh. Có thể thực hiện tại hầu hết các phòng thí nghiệm được trang bị máy PCR.

- Nhược điểm: Khả năng phát hiện chính xác trạng thái methyl hóa của gen phụ thuộc vào độ cân trọng khi thiết kế mồi cũng như các bước khác.



Hình 1.4. Nguyên lý phát hiện methyl hóa bằng phương pháp MSP

* Nguồn: theo Toyooka S. và CS. (2004) [109]

1.6. Cấu trúc và chức năng của gen *SFRP2*, *RNF180*

1.6.1. Gen *SFRP2*

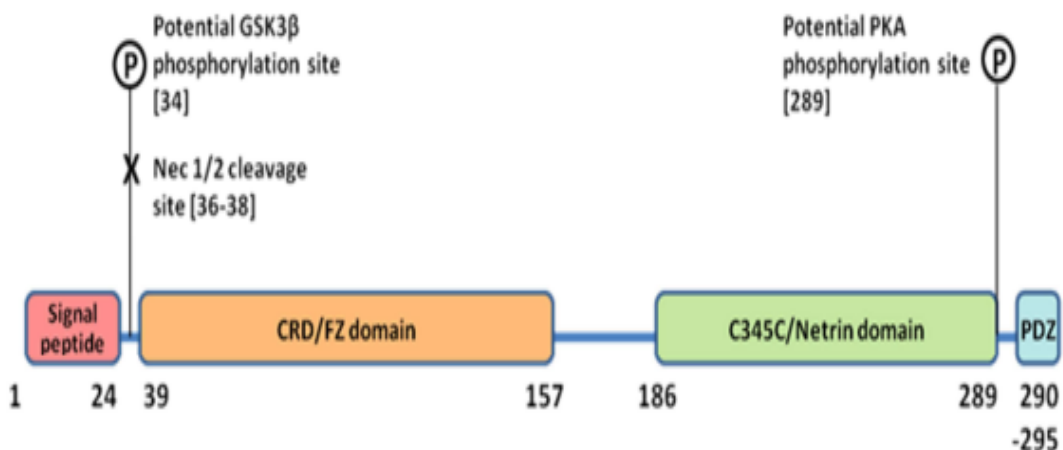
- Gen *SFRP2* là thành viên trong họ gen *SFRPs*, nằm tại vị trí 4q31.3 trên nhiễm sắc thể số 4 (Hình 1.8), có cấu trúc gồm 3 vùng (Hình 1.5) [110]:

- Vùng CRD/FZ (Cystein Rich Domain/Frizzled Domain): Có vai trò trong tương tác protein-protein. Bắt đầu ở đầu N có đoạn tín hiệu kỵ nước gồm 24 acid amin, có vai trò hướng protein *SFRP2* tới con đường tiết.

- Vùng C345C/Netrin: Là vùng liên kết phụ của tương tác *SFRP2*-*Wnt*.

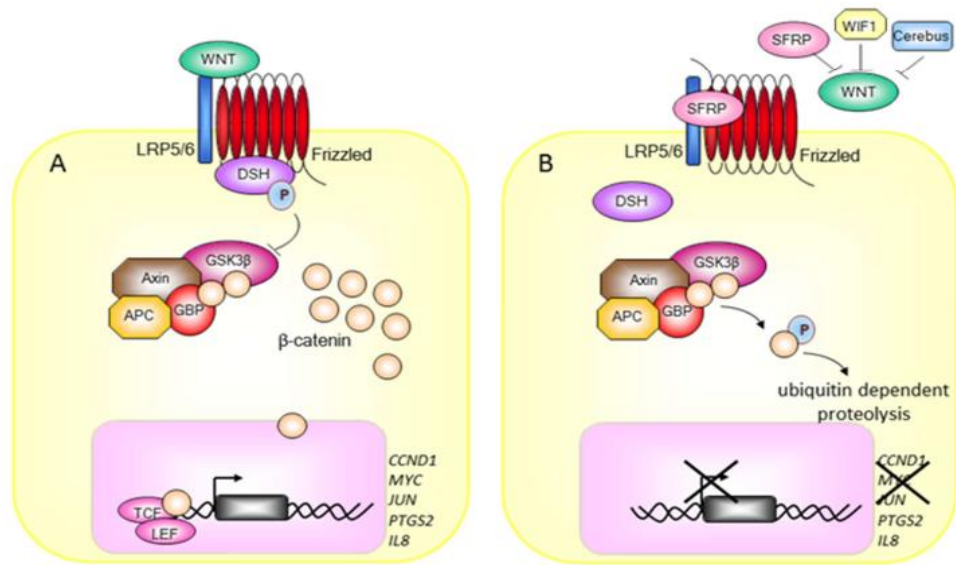
- Vùng đảo PDZ: Là một trình tự ngắn được nhận biết bởi protein PDZ như DVL và một số protein khác có khả năng tương tác với phần phía trong tế bào chất của Frizzled.

- Gen *SFRP2* là gen ức chế khối u do có chức năng đối kháng *Wnt* bằng cách liên kết trực tiếp và cô lập các phối tử *Wnt*, hoặc liên kết trực tiếp với phức hợp *Wnt*-thụ thể. Hoạt tính của *SFRP2* có thể thúc đẩy ngược con đường tín hiệu *Wnt* [110], [111]. Theo Kima H. và CS (2018), methyl hóa làm bất hoạt gen *SFRP2* có liên quan với ung thư tiền liệt tuyến, gan và dạ dày [111].



Hình 1.5. Sơ đồ cấu trúc gen *SFRP2*

* Nguồn: Theo O'Donovan D. S. và CS. (2014) [110]



Hình 1.6. Hoạt động của *Wnt*

* Nguồn: Theo O'Donovan D. S. và CS. (2014) [110]

Hình A: Liên kết giữa *Wnt* với phức hợp thụ thể bề mặt tế bào của nó, bao gồm Frizzled (FZD - Frizzled Domain) và 1 trong 2 protein, LRP-5 hoặc 6 (Low Density Lipoprotein Receptor Related Protein 5, 6) sẽ khởi động một loạt các tín hiệu giúp hoạt hóa DVL (Disheveled) và giải phóng β -catenin khỏi phức hợp ức chế bao gồm Axin, APC và GSK3B. Sau khi dephosphoryl hóa và được giải phóng, β -catenin di chuyển tới nhân, tại đây chúng tương tác với thành viên của họ nhân tố phiên mã TCF/LEF (T-cell Factory/Lymphoid Enhancer Factor) để kích hoạt sự biểu hiện của các gen liên quan tới sự tồn tại, sinh sản và biệt hóa tế bào.

Hình B: Tín hiệu *Wnt* được điều khiển bởi một số chất điều hòa âm tính như *SFRPs* (*SFRP1-SFRP5*), yếu tố ức chế *Wnt1* (*Wnt* inhibitory factor 1 - WIF1) và Ceberus. Họ gen *SFRPs* là các glycoprotein hòa tan chứa vùng giàu cysteine (CRD) có cấu trúc tương tự vùng liên kết với *Wnt* ngoại bào của thụ thể FZD. Do vậy các *SFRPs* có thể điều chỉnh con đường truyền tín hiệu *Wnt* bằng cách cô lập *Wnt* thông qua CRD của chúng hoặc tác động như các chất ức chế ưu thế âm, tạo thành phức hợp bất hoạt với các thụ thể FZD.

* Con đường truyền tín hiệu *Wnt*

Các *Wnt* có chức năng như các phối tử cho họ thụ thể xuyên màng Frizzled. Khi bám vào các thụ thể Frizzled, các *Wnt* có thể hoạt hóa con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển; con đường *Wnt/PCP*; con đường *Wnt/calcium*.

❖ Con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển

Là con đường liên quan nhiều nhất đến phát sinh ung thư. Hoạt hóa con đường này dẫn đến tăng ổn định sự có mặt của β -catenin. Bình thường β -catenin nằm ở tế bào chất, khi con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển được kích hoạt, nó sẽ chuyển đến nhân, ở đó β -catenin hoạt động như là nhân tố phiên mã để kích hoạt quá trình phiên mã rất nhiều gen đích khác. Các gen này là những yếu tố thúc đẩy trực tiếp sự chuyển dạng ác tính, duy trì sự hoạt động của các gen này là nguyên nhân gây ra ung thư [112].

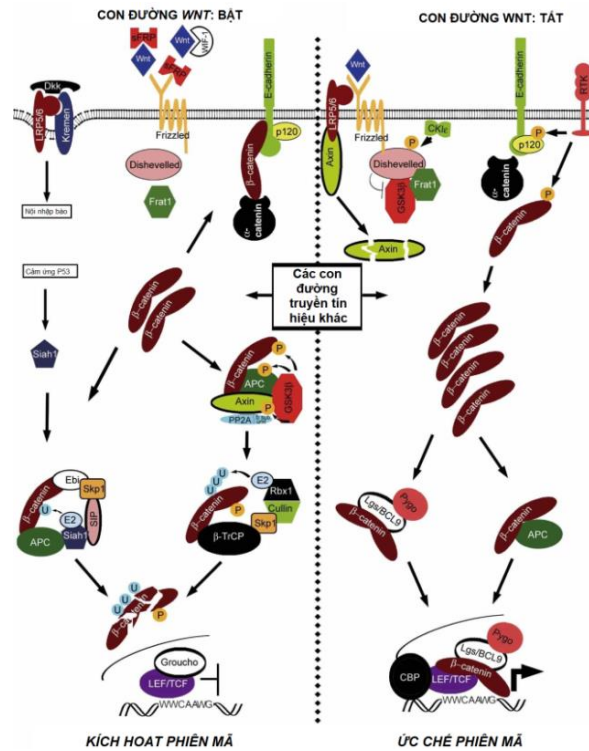
Bình thường, con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển được kiểm soát chặt chẽ bằng trạng thái hoạt động “bật” và “tắt”. Sự phát triển khối u là do *bất hoạt một cách không phù hợp* công tắc “tắt” hoặc là *kích hoạt một cách không phù hợp* công tắc “bật” [112].

❖ Con đường truyền tín hiệu *Wnt* không kinh điển

Vai trò của con đường truyền tín hiệu *Wnt* không kinh điển trong hình thành, phát triển ung thư vẫn chưa được hiểu rõ. Trong một số trường hợp, nó có thể đối kháng lại con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển. Một số bằng chứng chỉ ra rằng, các protein *Wnts* hoạt động thông qua con đường truyền tín hiệu không kinh điển có thể kích thích khối u phát triển.

Con đường tín hiệu *Wnt/planar cell polarity (Wnt/PCP)* điều tiết quá trình phân cực tế bào thông qua việc biến đổi bộ khung tế bào.

Con đường truyền tin *Wnt/calcium (Wnt/Ca₂₊)* được kích hoạt thông qua một protein G thành phần và gây ra tăng can-xi nội bào rồi kích hoạt protein kinase C (PKC). Hiện nay, chức năng của con đường này vẫn chưa được hiểu biết rõ ràng [112].



Hình 1.7. Sơ đồ con đường truyền tín hiệu *Wnt* kinh điển và cơ chế điều hòa tín hiệu *Wnt*

* Nguồn: Theo Ilyas M. (2005) [112]

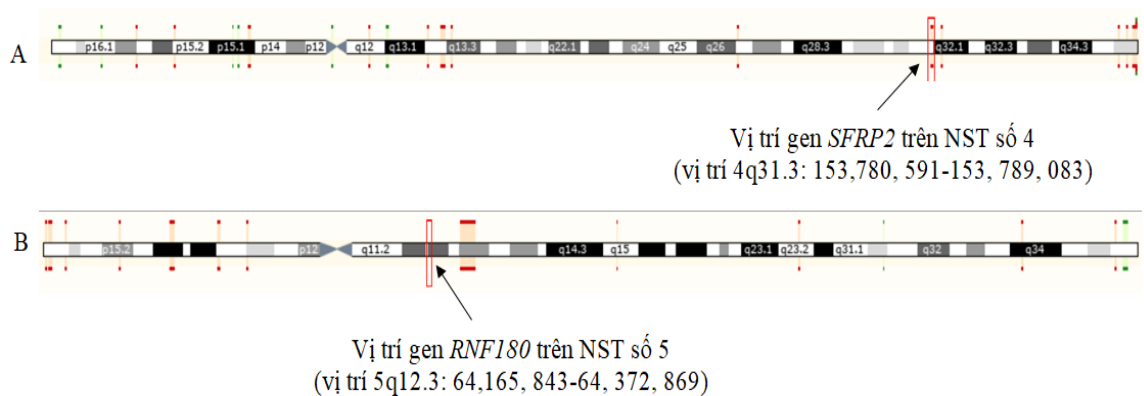
1.6.2. Gen *RNF180*

- Gen *RNF180* (*Ring Finger Proteins 180*) là thành viên mới của họ gen *RNF* (có tên khác là Rines-RING finger protein in neural stem cell), nằm tại vị trí 5q12.3 trên nhiễm sắc thể số 5 (Hình 1.8), có chức năng như một E3 ubiquitin ligase [113]. Biểu hiện cao của gen *RNF180* sẽ ức chế sự phát triển của tế bào và gây ra quá trình chết theo chương trình nhờ tăng biểu hiện của các chất chống tăng sinh *MTSS1*, *CDKN2A* và chất trung gian *TIMP3* [15].

Vai trò của E3 ubiquitin ligase đã được xác định trong nhiều quá trình sinh học, như điều hòa chu trình tế bào, tăng sinh tế bào và chết theo chương trình. Theo Hou Y. và CS. (2015), hệ thống ubiquitin-proteasome giữ vai trò quan trọng trong việc điều hòa nhiều lộ trình trong tế bào bằng cách kiểm soát mức độ, hoạt tính và định khu nội bào của nhiều loại protein. Việc gắn ubiquitin vào protein đích được thực hiện dưới xúc tác của 3 loại enzym, E2,

E3, E1. Trong đó, E1 là enzym tập hợp ubiquitin, E2 là enzym liên hợp ubiquitin có chức năng chuyển ubiquitin đến protein mục tiêu, và E3 là ligase ubiquitin hoạt động như một giá thể, có thể tương tác với E2 và chuyển ubiquitin từ E2 sang protein đích. Quá trình này có thể đảo ngược thông qua hoạt động của các deubiquitinase (DUB) loại bỏ các chuỗi ubiquitin liên kết với protein đích. Các deubiquitinase cũng tham gia vào quá trình xử lý và tái chế ubiquitin. Trong quá trình này, các E3 ubiquitin ligase thực hiện vai trò quan trọng khi liên kết có chọn lọc với cơ chất protein [114].

Trong bộ gen người có hơn 600 E3 ubiquitin ligase, được chia thành các phân lớp dựa trên các đặc điểm cấu trúc và hóa sinh của chúng, bao gồm: HECT (homologous to E6-AP carboxy terminus) và RING (really interesting new gene) finger và các domain U-box. Trong quá trình chuyển ubiquitin đến các cơ chất mục tiêu, RING và HECT E3 ubiquitin ligase sử dụng các cơ chế xúc tác khác nhau để thúc đẩy quá trình này. Các RING E3 ubiquitin ligase có thể thúc đẩy việc chuyển trực tiếp ubiquitin từ E2 đến cơ chất mục tiêu, trong khi các HECT E3 ubiquitin ligase tương tác với cognate E2, sau đó hình thành liên kết thiolester với ubiquitin, cuối cùng mới chuyển ubiquitin đến mục tiêu [114].



Hình 1.8. Vị trí gen *SFRP2* trên NST số 4, *RNF180* trên NST số 5

* Nguồn: Genome assembly: GRCh38.p13 (GCA_000001405.28)

A. Gen *SFRP2*

B. Gen *RNF180*

1.7. Nghiên cứu về tình trạng methyl hóa ADN trong ung thư

1.7.1. Nghiên cứu về methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong ung thư biểu mô dạ dày trên thế giới

1.7.1.1. Nghiên cứu về methyl hóa gen *SFRP2* với ung thư biểu mô dạ dày

- Cheng Y. Y. và CS (2007) nghiên cứu tình trạng methyl hóa của 4 gen trong họ *SFRPs* thấy, biểu hiện của gen *SFRP2* giảm đáng kể trong mẫu mô UTBMDD so với mẫu mô không ung thư liền kề, với $p < 0,01$. Methyl hóa gen *SFRP2* phát hiện ở 73,3% mẫu mô UTBMDD, 37,5% mẫu mô loạn sản và 20% mẫu mô bình thường lân cận. Điều trị bằng thuốc demethyl hóa đã khôi phục biểu hiện của gen *SFRP2* trong các dòng tế bào UTBMDD. Nghiên cứu cũng ghi nhận methyl hóa gen *SFRP2* ở 66,7% mẫu huyết tương của bệnh nhân ung thư, và không thấy ở người bình thường. Kết luận, methyl hóa làm bất hoạt gen *SFRP2* là sự kiện xảy ra sớm, là nguyên nhân phát sinh UTBMDD và có thể là dấu chuẩn sinh học tiềm năng để phát hiện UTBMDD [13].

- Nghiên cứu của Kinoshita T. và CS (2011) về mức độ biểu hiện của các gen *SFRPs* thấy: biểu hiện của gen *SFRP1* và gen *SFRP5* giảm đáng kể trong UTBMDD so với mô dạ dày bình thường, có tình trạng tăng methyl hóa gen *SFRP1* trong toàn bộ 35 mẫu mô UTBMDD và mô không ung thư, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* là 83% số mô UTBMDD và 69% số mô bình thường, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP5* là 43% và 54% ở các nhóm tương ứng [14].

- Zhang X. và CS (2014) nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *SFRP2* trong huyết thanh của 57 bệnh nhân UTBMDD và 42 bệnh nhân không ung thư thấy: nhóm UTBMDD có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* là 71,93%, nhóm không ung thư có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* là 42,86%. Nghiên cứu cũng ghi nhận không có mối liên hệ ý nghĩa giữa methyl hóa gen *SFRP2* với kích thước khối u, độ biệt hóa khối u, di căn hạch vùng, di căn ung thư và giai đoạn ung thư. Kết luận, methyl hóa gen *SFRP2* làm tăng nguy cơ UTBMDD với $OR = 2,65$ (95% CI 1,08-6,49) [16].

- Nghiên cứu của Wang H. và CS (2017) trên 92 mẫu mô UTBMDD và 40 mẫu mô dạ dày lành tính nhằm xác định mối liên quan giữa đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *DKK2* với tiên lượng UTBMDD. Kết quả nghiên cứu thấy tỷ lệ methyl hóa trung bình gen *SFRP2* là 27,63% (dao động từ 9,00 đến 53,33%), methyl hóa gen *SFRP2* ở mẫu UTBMDD cao hơn có ý nghĩa so với mẫu chứng. Kết luận, đồng methyl hóa gen *SFRP2* và *DKK2* có thể là chỉ dấu tiềm năng cho tiên lượng UTBMDD [115].

- Nghiên cứu của Yan H. và CS (2020) trên 148 bệnh nhân UTBMDD nhằm xác định giá trị của methyl hóa gen *SFRP2* trong tiên lượng UTBMDD. Nghiên cứu đã ghi nhận mối liên quan chặt chẽ giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn di căn hạch ($p < 0,001$), di căn ung thư ($p < 0,001$) và giai đoạn ung thư ($p < 0,01$) [116].

1.7.1.2. Nghiên cứu methyl hóa gen *RNF180* với ung thư biểu mô dạ dày

- Cheung K. F. và CS (2012) nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RNF180* ở 198 mẫu mô UTBMDD, 20 mẫu mô dạ dày có DSR và 23 mẫu mô dạ dày ở người khỏe mạnh thấy: tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở mẫu mô UTBMDD là 76% (150/198); ở mẫu mô DSR là 55% (11/20); không phát hiện methyl hóa gen *RNF180* ở tất cả mẫu mô dạ dày người khỏe mạnh. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, UTBMDD methyl hóa gen *RNF180* ở các vị trí CpG (-116, -80, +97 và +102) có tiên lượng xấu. Kết luận, gen *RNF180* có chức năng ức chế khối u thông qua sự kìm chế tăng sinh tế bào và gây chết theo chương trình. Methyl hóa gen *RNF180* có thể là chỉ dấu sinh học cho chẩn đoán UTBMDD, mất biểu hiện gen *RNF 180* có thể là tiên lượng xấu cho bệnh nhân UTBMDD [15].

- Zhang X. và CS (2014) nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RNF180* trong huyết thanh của 57 bệnh nhân UTBMDD và 42 người không ung thư thấy: tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD là 57,89% (33/57), ở nhóm không UTBMDD là 23,81% (10/42). Tác giả đã xác nhận có mối liên

hệ giữa methyl hóa gen *RNF180* với kích thước khối u ($p < 0,05$), với độ biệt hóa khối u ($p < 0,05$), giai đoạn di căn hạch ($p < 0,01$), giai đoạn di căn xa ($p < 0,05$), và giai đoạn ung thư ($p < 0,05$). Kết luận, methyl hóa gen *RNF180* làm tăng nguy cơ UTBMDD, với $OR = 3,528$ (95% CI 0,54-0,86) [16].

- Nghiên cứu của Han F. và CS (2015) trên 513 mẫu mô thu được qua nội soi, trong đó có 168 mẫu mô dạ dày bình thường, 186 mẫu mô viêm teo niêm mạc và 159 mẫu mô UTBMDD. Ngoài ra tác giả cũng nghiên cứu trên 55 cặp mẫu mô dạ dày ung thư và mô dạ dày lành tính liền kề từ phần dạ dày ung thư cắt bỏ ở bệnh nhân UTDD. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTDD cao hơn nhóm viêm teo niêm mạc dạ dày ($p < 0,021$), tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm viêm teo niêm mạc dạ dày cao hơn nhóm chứng ($p < 0,001$). Nghiên cứu cũng chỉ ra không có sự khác biệt về tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* khi có nhiễm *H.pylori* hoặc không nhiễm *H.pylori* trong nhóm UTDD và nhóm viêm teo niêm mạc dạ dày [117].

- Nghiên cứu của Han F. và CS (2020) trên 164 bệnh nhân UTDD thấy, tỷ lệ methyl hóa trung bình gen *RNF180* ở mẫu UTDD là 30% (dao động từ 22% đến 48%) cao hơn có ý nghĩa so với mẫu dạ dày không ung thư liền kề ($p < 0,001$). Nghiên cứu cũng ghi nhận không có mối liên hệ giữa methyl hóa gen *RNF180* với các yếu tố như: tuổi, giới, hút thuốc lá, di căn hạch, độ biệt hóa, thể mô bệnh học theo Lauren, độ sâu xâm lấn khối u, di căn ung thư và giai đoạn ung thư [12].

1.7.1.3. Nghiên cứu đồng methyl hóa gen *SFRP2* và *RNF180* với ung thư biểu mô dạ dày

- Zhang X. và CS (2014) nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *RNF180*, *SFRP2* trong huyết thanh của 57 bệnh nhân UTBMDD và 42 người không ung thư thấy: nguy cơ UTBMDD tăng lên rất cao ở nhóm đồng methyl hóa gen *SFRP2* và *RNF180* với $OR = 5,57$ (95% CI 2,13-14,57). Kết luận, đồng methyl hóa hai gen có thể là chỉ thị sinh học trong chẩn đoán UTBMDD [16].

1.7.2. Nghiên cứu về tình trạng methyl hóa một số gen ở Việt Nam

- Nghiên cứu của Dimberg J. và CS (2013) về tình trạng methyl hóa gen *APC* và gen *IGFBP7* trên 49 bệnh nhân ung thư đại tràng thấy tỷ lệ methyl hóa gen *APC* là 44,9%, và gen *IGFBP7* là 89,6% [118].

- Nghiên cứu của Trương Kim Phượng và CS (2015) trên 95 mẫu mô ung thư vú và 20 mẫu mô lành tính thấy tỷ lệ methyl hóa gen *GSTP1* là 43,2% ở mẫu mô ung thư vú, và không thấy ở mẫu mô lành tính [119].

- Nghiên cứu của Vi Thuật Thắng (2018) đã ghi nhận tỷ lệ methyl hóa gen *RASSF1A* ở nhóm ung thư tiền liệt tuyến là 55%, ở nhóm tăng sản tiền liệt tuyến là 20%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra mối tương quan có ý nghĩa giữa methyl hóa gen *RASSF1A* với một số đặc điểm mô bệnh học như độ biệt hóa, tình trạng u xâm nhập dây thần kinh [120].

- Nghiên cứu của Vũ Lan Trang và CS (2018) trên 79 cặp mẫu mô ung thư - mẫu mô lành tính liền kề của bệnh nhân ung thư vú thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *BRCA1*, *RASSF1A* và *GSTP1* lần lượt là 58,23%, 74,68% và 59,49% mẫu mô ung thư, trong khi tỷ lệ methyl hóa gen *BRCA1*, *RASSF1A* và *GSTP1* ở mẫu mô lành tính liền kề tương ứng là 51,90%, 63,29% và 35,44%. Theo các tác giả, methyl hóa gen *BRCA1*, *RASSF1A* và *GSTP1* có thể là chỉ dấu sinh học cho chẩn đoán và phân loại ung thư vú ở phụ nữ Việt Nam trong tương lai [121].

- Nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Quang (2020) trên 139 bệnh nhân ung thư phổi thấy, tỷ lệ methyl hóa các gen *EGFR*, *BRCA1*, *MGMT*, *MLH1* và *RASSF1A* tương ứng là 23,7%, 29,5%, 33,1%, 20,1% và 29,5%. Tác giả cũng chỉ ra tỷ lệ methyl hóa gen *MGMT* và *RASSF1A* cao hơn ở khối u di căn, và tình trạng methyl hóa gen *RASSF1A* cao hơn ở những người không hút thuốc và xảy ra đồng thời với methyl hóa gen *BRCA1* và *MLH1* [122].

Như vậy, mặc dù có sự khác nhau về gen nghiên cứu, cách thu thập mẫu nghiên cứu và loại ung thư nghiên cứu trong các nghiên cứu của các tác giả ở

trong và ngoài nước nhưng kết quả các nghiên cứu đều thống nhất ghi nhận tình trạng tăng methyl hóa các gen nghiên cứu trong các bệnh ung thư. Một số nghiên cứu đã chỉ ra mối liên hệ có ý nghĩa giữa methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với UTBMDD, và methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* có thể là chỉ dấu sinh học nhiều tiềm năng trong chẩn đoán, tiên lượng UTBMDD. Ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong các bệnh ung thư nói chung và UTBMDD nói riêng cho nên cần nghiên cứu về tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* để xác định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với UTBMDD là cần thiết.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Nhóm nghiên cứu

Bao gồm 98 bệnh nhân UTBMDD nguyên phát điều trị phẫu thuật cắt bỏ khối u tại Trung tâm phẫu thuật Tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 12/2015 đến tháng 12/2018.

2.1.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân UTBMDD có chỉ định phẫu thuật cắt dạ dày điều trị triệt căn.
- Bệnh nhân UTBMDD nguyên phát thể ruột hoặc thể lan tỏa.
- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân ung thư dạ dày sau cắt đoạn dạ dày.
- Bệnh nhân UTBMDD thứ phát và/hoặc có một ung thư khác phối hợp.
- Bệnh nhân UTBMDD đã điều trị bằng hóa chất hoặc xạ trị.

2.1.2. Nhóm chứng

- Bao gồm 40 bệnh nhân có chẩn đoán là VDDMT bằng nội soi dạ dày tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình và xét nghiệm mô bệnh học tại khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 10/2018 đến tháng 10/2019.

2.1.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, có độ tuổi từ 35 đến 85 tuổi.
- Có chẩn đoán VDDMT trên nội soi dạ dày.
- Có chẩn đoán mô bệnh học là VDDMT.

2.1.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân có bệnh tim mạch, hô hấp mạn tính, xơ gan, suy thận mạn.
- Bệnh nhân viêm dạ dày cấp, xuất huyết tiêu hóa, loét dạ dày-tá tràng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu tiến cứu kết hợp hồi cứu, mô tả cắt ngang có đối chứng.

2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

Ước lượng cỡ mẫu dựa trên tỷ lệ của nghiên cứu trước theo công thức:

$$n = z^2 \frac{p \cdot (1 - p)}{d^2}$$

Trong đó:

- n: Cỡ mẫu nghiên cứu
- $Z_{1-\alpha/2}$: Trị số tùy thuộc mức độ tin cậy của ước lượng. Với độ tin cậy là 95% thì $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$ ($\alpha = 0,05$).

- d: Tỷ lệ sai số cho phép. Ước lượng sai số là 10% ($\epsilon = 0,1$).

- p: Dự đoán tỷ lệ UTBMDD có methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*.

Theo kết quả nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* là 71,93%, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* là 57,89% [16].

Thay vào công thức ước lượng cỡ mẫu:

- Theo tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* :

$$n = 1,96^2 \frac{0,7193(1-0,7193)}{0,01} = 78$$

- Theo tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* :

$$n = 1,96^2 \frac{0,5789(1-0,5789)}{0,01} = 94$$

Như vậy, cỡ mẫu tối thiểu của nghiên cứu là 94 bệnh nhân UTBMDD.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn 98 bệnh nhân UTBMDD.

2.3. Quy trình nghiên cứu

2.3.1. Nhóm nghiên cứu

- Thu thập thông tin: Họ tên; tuổi; giới tính.
- Thăm khám lâm sàng, bao gồm:

+ Hỏi lý do vào viện: Đau thượng vị; sút cân; nôn, buồn nôn; xuất huyết tiêu hóa; lý do khác.

+ Hỏi các triệu chứng cơ năng: Đau thượng vị; sút cân; nôn, buồn nôn; xuất huyết tiêu hóa; đầy bụng, ợ hơi, ợ chua; biểu hiện khác.

+ Khám thực thể tìm các triệu chứng: Ấn thượng vị đau; cổ trướng; gan to; hạch nách, hạch thượng đòn, hạch cổ; u thượng vị.

- Thu thập kết quả một số kết quả cận lâm sàng:

+ Công thức máu ngày bệnh nhân vào viện.

+ Chẩn đoán nội soi dạ dày trước mổ:

◦ Vị trí tổn thương: Tâm vị; phình vị; thân vị; hang vị.

◦ Dạng tổn thương: Dạng sùi; dạng loét; dạng thâm nhiễm; dạng sùi có thâm nhiễm; dạng loét có thâm nhiễm.

- Chẩn đoán sau phẫu thuật: Chẩn đoán giai đoạn M.

- Lấy phần dạ dày ung thư bị cắt bỏ:

◦ Lấy mẫu mô từ khối u (cùng vị trí với mẫu mô làm mô bệnh học) làm xét nghiệm methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl với cặp môi đặc hiệu methyl hóa và không methyl hóa.

◦ Lấy mẫu mô, xử lý, chuyển đúc, cắt, nhuộm H&E để chẩn đoán thể mô bệnh học, giai đoạn xâm lấn khối u.

- Hạch vùng: Chẩn đoán mô bệnh học giai đoạn di căn hạch vùng.

2.3.2. Nhóm chứng

- Nội soi dạ dày có chẩn đoán VDDMT.

- Thu thập thông tin: Họ tên; tuổi; giới tính.

- Sinh thiết niêm mạc dạ dày tại vùng tổn thương, bao gồm:

◦ Hai mẫu tại cùng vị trí để chẩn đoán mô bệnh học.

◦ Hai mẫu (tại cùng vị trí lấy mẫu mô bệnh học) làm xét nghiệm methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl với cặp môi methyl hóa và không methyl hóa.

2.4. Hóa chất, vật tư, trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

2.4.1. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho nội soi dạ dày

- Dung dịch sát khuẩn dụng cụ Cidex OPA.
- Dung dịch cố định bệnh phẩm formol 10%.
- Kim sinh thiết FB-25K-1 (hãng Olympus Nhật Bản).
- Ống đựng mẫu sinh thiết có nắp đậy kín, có dán nhãn ghi tên, tuổi bệnh nhân, ngày, giờ thực hiện.
- Bình chứa nitơ lỏng.
- Hệ thống nội soi dạ dày OLYMPUS CV-170 (Nhật Bản)



Hình 2.1. Hệ thống nội soi dạ dày OLYMPUS CV-170 (Nhật Bản)

2.4.2. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho xét nghiệm mô bệnh học

- Dung dịch formol đậm trung tính 10%.
- Cồn 80°, 90°, 100°.
- Dung dịch Hematoxylin Harris.
- Cồn acid 0,5%.
- Dung dịch Lithium-Carbonate bão hòa.
- Dung dịch Eosin 1%.
- Dung dịch Xylen.
- 3 bể Xylen đánh số thứ tự I, II, III.
- Kính hiển vi quang học với các độ phóng đại từ 40 - 400 lần.

- Máy xử lý mô Leica ASP 200S (hãng Leica Biosystems-Đức).
- Máy đúc parafin Leica EG 1160 (hãng Leica Biosystems-Đức).
- Máy cắt bệnh phẩm Leica RM2125 (hãng Leica Biosystems-Đức).
- Máy dán mảnh cắt Leica 5030 (hãng Leica Biosystems-Đức).



Hình 2.2. Máy xử lý mô
Leica ASP 200S (Đức)



Hình 2.3. Máy đúc parafin
Leica EG1160 (Đức)



Hình 2.4. Máy cắt tiêu bản
Leica RM2125 RTS (Đức)



Hình 2.5. Máy dán tiêu bản
Leica CV5030 (Đức)

2.4.3. Hóa chất, vật tư, thiết bị dùng cho xét nghiệm methyl hóa

2.4.3.1. Các cặp mồi sử dụng

- Cặp mồi nhân gen β -globin có trình tự nucleotid như trình bày tại Bảng 2.1 được thiết kế bằng phần mềm primer3plus, sau đó đặt hãng Intergrated DNA Technologies (Mỹ) tổng hợp.

- Trình tự các cặp mồi đặc hiệu methyl hóa và không methyl hóa gen *SFRP2* tham khảo từ nghiên cứu của Zou H. và CS (2005) [123], gen *RNF180* tham khảo từ nghiên cứu của Cheung K. F. và CS (2012) [15] như trình bày tại Bảng 2.1 được tổng hợp bởi hãng Intergrated DNA Technologies (Mỹ).

Bảng 2.1. Trình tự các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Cặp mồi	Trình tự nucleotid (5' - 3')	Kích thước
<i>Trình tự cặp mồi đặc hiệu nhân gen β-globin</i>		
<i>β-globin F</i>	TGTCAGAAGCAAATGTAAGCAAT	97bp
<i>β-globin R</i>	GTTGGCCAATCTACTCCCAG	
<i>Trình tự cặp mồi đặc hiệu methyl, không methyl gen <i>SFRP2</i>, <i>RNF180</i></i>		
<i>RNF180 MF</i>	GGAGAAAAATTTTTTTACGGTTTC	109bp
<i>RNF180 MR</i>	CACGTCTACGAATTCCCAC	
<i>RNF180 UF</i>	AGGGAGAAAAATTTTTTTATGGTTTT	109bp
<i>RNF180 UR</i>	CACATCTACAAATTCCCACCC	
<i>SFRP2 MF</i>	GGGTCGGAGTTTTTCGGAGTTGCGC	138bp
<i>SFRP2 MR</i>	CCGCTCTCTTCGCTAAATACGACTCG	
<i>SFRP2 UF</i>	TTTTGGGTTGGAGTTTTTTGGAGTTGTGT	145bp
<i>SFRP2 UR</i>	AACCCACTCTTTCACAAATACAACCTCA	

2.4.3.2. Hóa chất cho kỹ thuật PCR

- Master mix chạy kiểm tra bisulfit: GoTaq Green Matermix 2X (dNTPs, Tag polymerase, MgCL₂, buffer) (hãng Promega - Mỹ).

- Master mix chạy MSP: EpiTect MSP Master Mix (hãng Qiagen - Đức).

- Nước đã khử ion.
- Hóa chất chạy điện di: Agarose, TBE 1X, ethidium bromide.

2.4.3.3. Kit tách chiết mô và chuyển bisulfit

- Kit tách chiết ADN từ mẫu mô UTBMDD, VDDMT: QIAamp DNA Blood Mini kit (hãng Qiagen-Đức).
- Kit xử lý bisulfit: EpiTect Bisulfite kit (hãng Qiagen-Đức).

2.4.3.4. Vật tư, trang thiết bị, máy móc

- Buồng thao tác ADN.
- Máy cô đặc ADN Speed vac Eppendorf AG 5305 (Đức).
- Máy đo độ tinh sạch ADN Quikdrop Spectroprotometer (Mỹ).
- Máy PCR Eppendorf ProS (Mỹ).
- Máy điện di Mupid-one (Nhật Bản).
- Máy soi và chụp ảnh điện di UPV Biodoc-It (Mỹ).
- Máy ly tâm thường, máy ly tâm lạnh.
- Micropipet các loại: 1 μ l, 10 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 500 μ l, 1.000 μ l.
- Bình nitơ lỏng, ống Eppendorf, tip pipet các loại, ống fancel 15, 50ml.



Hình 2.6. Máy ly tâm Eppendorf
AG5452 (Mỹ)



Hình 2.7. Máy đo độ tinh sạch
ADN Quikdrop (Mỹ)



Hình 2.8 Máy PCR Eppendorf
ProS (Mỹ)



Hình 2.9. Máy điện di
Mupid-one (Nhật Bản)

2.5. Quy trình kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu

2.5.1. Nội soi dạ dày, lấy mẫu sinh thiết chẩn đoán mô bệnh học, methyl hóa

2.5.1.1. Chuẩn bị máy nội soi, tìm sinh thiết và bệnh nhân

- Bệnh nhân nhịn ăn tối thiểu 06 giờ trước khi nội soi.
- BN được giải thích kỹ về lợi ích, tai biến có thể xảy ra trong quá trình thực hiện thủ thuật.

- Chuẩn bị máy nội soi, tìm sinh thiết FB-25K-1, ống đựng mẫu sinh thiết có dán nhãn, bình chứa ni tơ lỏng.

2.5.1.2. Tiến hành nội soi và sinh thiết

Bệnh nhân nằm nghiêng trái, chân trái duỗi, chân phải co, đầu hơi cao và hơi cúi. Đặt ngậm miệng vào giữa hai cung răng, bảo bệnh nhân ngậm chặt. Đưa ống soi qua miệng vào thực quản. Sau khi qua thực quản, đẩy ống soi luôn qua tâm vị, bơm hơi và quan sát kỹ niêm mạc hang vị và lỗ môn vị, xác định tổn thương, chụp ảnh. Tiếp tục điều chỉnh ống soi qua lỗ môn vị, quan sát niêm mạc hành tá tràng, tá tràng. Sau khi quan sát kỹ niêm mạc hành tá tràng, tá tràng thì rút ống soi ra. Khi rút ống soi ra đến hang vị, thực hiện kỹ thuật soi ngược để quan sát bờ cong lớn và vùng phình vị. Trả ống soi về tư

thể thẳng, điều chỉnh ống soi về các vị trí hang vị, thân vị để sinh thiết niêm mạc dạ dày [124], [125].

- Lấy mẫu sinh thiết niêm mạc dạ dày để xét nghiệm MBH và methyl hóa (04 mẫu tại vùng tổn thương, trong đó 2 mẫu tại cùng vị trí làm xét nghiệm MBH, hai mẫu tại cùng vị trí làm xét nghiệm methyl hóa) [125], [126], [127]:

+ Hang vị: Cách lỗ môn vị từ 3-5cm.

+ Thân vị: Cách tâm vị 10cm.

- Yêu cầu với mẫu sinh thiết: Là mô sống không phải là chất nhầy.

- Mẫu làm xét nghiệm mô bệnh học: Được cố định bằng dung dịch formol đậm trung tính 10%, sau đó gửi đến khoa Giải phẫu bệnh-Bệnh viện Quân y 103 xử lý, chuyển đúc, cắt, nhuộm H&E, đọc kết quả.

- Mẫu làm xét nghiệm methyl hóa: Đặt vào ống Eppendorf, bảo quản ở nhiệt độ âm 20°C, chuyển đến Labo Sinh học phân tử-Bộ môn Sinh học và Di truyền Y học-Học viện Quân y.

2.5.2. Xử lý mô, nhuộm tiêu bản, đọc kết quả mô bệnh học

- Phẫu tích bệnh phẩm từ phần dạ dày ung thư bị cắt bỏ lấy mẫu để chẩn đoán mô bệnh học, xét nghiệm methyl hóa theo quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh, tế bào học của Bộ Y tế [128].

Do giới hạn của nghiên cứu, cho nên bệnh phẩm được lấy nhiều mẫu có kích thước khoảng 1cm³ tại khối u, sau đó phân tách thành hai mẫu mô tương đương nhau:

° Mẫu mô làm xét nghiệm methyl hóa được cho vào lọ riêng có dán nhãn ghi tên, tuổi bệnh nhân, và bảo quản ở nhiệt độ âm 20°C cho đến khi kết quả mô bệnh học của mẫu mô (lấy cùng vị trí) xác định là UTBMDD thì được chuyển sang Labo Sinh học phân tử - Bộ môn Sinh học và Di truyền Học viện Quân y làm xét nghiệm methyl hóa.

° Mẫu mô làm xét nghiệm mô bệnh học sẽ tiến hành các bước theo quy trình xét nghiệm mô bệnh học.

- Xét nghiệm mô bệnh học:
 - Cắt 04 lát qua thành dạ dày ở trung tâm khối u và vùng niêm mạc xung quanh (lấy theo hết bề dày thành dạ dày có u).
 - Hạch vùng hoặc nhóm hạch.
 - + Cố định mẫu mô sau phẫu tích bằng dung dịch formol trung tính 10%.
 - + Xử lý mẫu mô bằng máy xử lý mô Leica ASP200S (hãng Leica Biosystems-Đức).
 - + Đúc parafin bằng máy Leica EG1160 (hãng Leica Biosystems-Đức).
 - + Cắt bệnh phẩm với độ dày 3 μm bằng máy Leica RM2125 RTS (hãng Leica Biosystems-Đức).
 - + Nhuộm H&E theo các bước:
 - Tẩy parafin trong 3 bể Xylen I, II, III, mỗi bể 3-5 phút. Sau đó khử Xylen trong 3 bể cồn 100°, 90°, 80°, mỗi bể nhúng 20 lần hoặc để từ 2 phút.
 - Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ nhàng trong 5 phút.
 - Nhuộm nhân bằng Hematoxylin Harris trong thời gian từ 3- 5 phút.
 - Rửa dưới vòi nước chảy trong 5 phút.
 - Kiểm tra màu của nhân qua kính hiển vi.
 - Biệt hóa qua cồn acid 0,5% vài giây.
 - Rửa dưới vòi nước chảy 5 phút.
 - Làm xanh nhân trong dung dịch Lithium-Carbonate bão hòa 1 phút.
 - Rửa dưới vòi nước chảy 5 phút.
 - Nhuộm bào tương bằng Eosin 1% trong thời gian 30 giây đến 1 phút.
 - Rửa nhanh dưới vòi nước chảy.
 - Loại nước, phẩm thừa: nhúng tiêu bản lần lượt qua các lọ cồn 90°, 100°.
 - Làm trong tiêu bản bằng Xylen và gắn lamên bằng keo gắn.
 - Dán mảnh cắt bằng máy Leica 5030 (hãng Leica Biosystems-Đức).
 - Nhận định tổn thương: Dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40-400 lần.

2.5.3. Xét nghiệm methyl hóa bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl (MSP)

2.5.3.1. Bước 1: Tách chiết ADN và xác định nồng độ, độ tinh sạch ADN

- Tách chiết ADN từ mẫu mô bằng bộ kit QIAamp DNA Blood Mini kit (hãng Qiagen-Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Lượng ADN thu được sau khi tách chiết được kiểm tra nồng độ, độ tinh sạch bằng máy Quick drop, lưu trữ ở nhiệt độ âm 20°C đến khi xử lý bisulfit.

2.5.3.2. Bước 2: Xử lý bisulfit

- Lượng ADN tách chiết từ mẫu mô được xử lý bisulfit bằng Kit Epitect Bisulfite kit (hãng Qiagen-Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Đánh giá quá trình xử lý bisulfit: Lượng ADN tổng số thu được sau xử lý bisulfit dùng làm khuôn cho phản ứng PCR với cặp môi nhân gen β -globin (Bảng 2.1).

- Lượng ADN thu được sau xử lý bisulfit được lưu trữ ở nhiệt độ âm 20°C để làm xét nghiệm PCR với các cặp môi đặc hiệu methyl.

2.5.3.3. Bước 3: Kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl.

Sử dụng các cặp môi đặc hiệu methyl hóa và không methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* được tổng hợp bởi hãng IDT-Mỹ (Bảng 2.1)

- Thành phần phản ứng PCR sau khi được điều chỉnh và tối ưu: 12,5 μ l Mastermix; 0,5 μ l mỗi môi; 2 μ l ADN đã được xử lý bisulfit; H₂O vừa đủ để tổng thể tích phản ứng là 25 μ l.

- Chu trình nhiệt của phản ứng PCR đặc hiệu methyl:

+ Gen *SFRP2*: Ban đầu, 95°C trong 5 phút, sau đó lặp lại 35 chu kỳ với chu trình nhiệt: 95°C trong 30 giây, 55°C trong 60 giây, 72°C trong 30 giây, và kết thúc ở 72°C trong 10 phút.

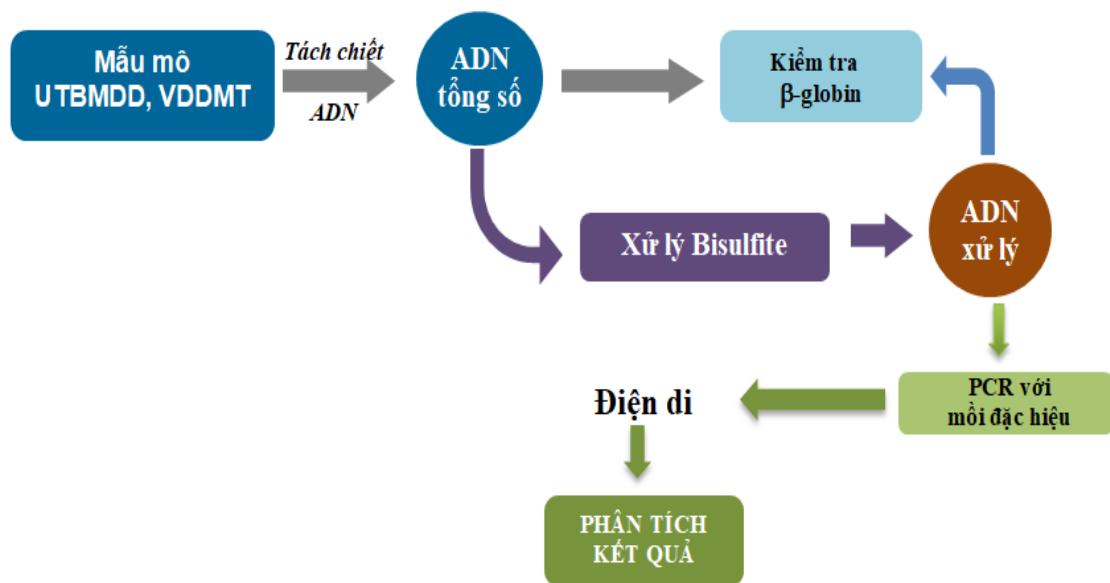
+ Gen *RNF180*: Ban đầu, 95°C trong 5 phút, sau đó lặp lại 35 chu kỳ với chu trình nhiệt: 95°C trong 30 giây, 55°C trong 60 giây, 72°C trong 30 giây, và kết thúc ở 72°C trong 10 phút.

2.5.3.4. Bước 4: Điện di

- Điện di được sử dụng để xác định sự có mặt của ADN, đồng thời phân biệt sự khác nhau về kích thước giữa những đoạn ADN quan tâm.

- Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel Agarose trong 30 phút với hiệu điện thế 100v và cường độ dòng điện 100mA, nhuộm Ethidium bromide, soi UV, chụp ảnh và phân tích kết quả.

QUY TRÌNH THỰC HIỆN KỸ THUẬT MSP



Hình 2.10. Sơ đồ các bước tiến hành của phương pháp MSP

2.6. Chỉ tiêu nghiên cứu

2.6.1. Nhóm ung thư biểu mô dạ dày

- Đặc điểm giới tính, tuổi:

+ Xác định tỷ lệ UTBMDD ở nam và ở nữ.

+ Xác định tỷ lệ UTBMDD theo nhóm tuổi: <40; 40-49; 50-59; 60-69; ≥70.

+ Xác định tỷ lệ UTBMDD theo nhóm <60 tuổi, và ≥60 tuổi.

- Đặc điểm lâm sàng:

+ Xác định tỷ lệ của mỗi triệu chứng là lý do bệnh nhân vào viện.

+ Xác định tỷ lệ của mỗi triệu chứng toàn thân, cơ năng, thực thể.

- *Kết quả chẩn đoán nội soi dạ dày:*
- + Xác định tỷ lệ của từng vị trí tổn thương.
- + Xác định tỷ lệ của từng dạng tổn thương.
- *Xác định tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có thiếu máu.*
- *Đặc điểm mô bệnh học:*
- + Xác định tỷ lệ các thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965).
- + Xác định tỷ lệ các thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000).
- + Xác định tỷ lệ các giai đoạn T, N theo phân loại AJCC (2010).
- + Đánh giá sự phân bố giai đoạn di căn hạch theo giai đoạn xâm lấn khối u.
- *Xác định tỷ lệ UTBMDD có di căn xa theo chẩn đoán phẫu thuật.*
- *Xác định tỷ lệ các giai đoạn ung thư theo phân loại AJCC (2010).*
- *Đặc điểm methyl hóa gen SFRP2, RNF180:*
- + Xác định tỷ lệ methyl hóa và không methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*.
- + Xác định tỷ lệ đồng methyl hóa hai gen *SFRP2* và *RNF180* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD.
- + Xác định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*, đồng methyl hóa 2 gen với các yếu tố tuổi, giới tính của bệnh nhân UTBMDD.
- + Xác định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*, đồng methyl hóa 2 gen với vị trí tổn thương, dạng tổn thương UTBMDD.
- + Xác định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*, đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965), phân loại WHO (2000).
- + Xác định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*, đồng methyl hóa 2 gen với các giai đoạn TNM, giai đoạn ung thư theo phân loại AJCC (2010).

2.6.2. Nhóm viêm dạ dày mạn tính

- *Đặc điểm về giới tính, tuổi:*
- + Xác định tỷ lệ VDDMT ở nam và ở nữ.

+ Xác định tỷ lệ VDDMT theo nhóm tuổi <40; 40-49; 50-59; 60-69; ≥70.

+ Xác định tỷ lệ VDDMT theo nhóm <60 tuổi, và ≥60 tuổi.

- *Chẩn đoán mô bệnh học*: Viêm dạ dày mạn tính.

- *Đặc điểm methyl hóa gen SFRP2, RNF180*: Xác định tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2, RNF180*.

2.7. Tiêu chuẩn đánh giá

2.7.1. Chẩn đoán thiếu máu

Khối lượng huyết sắc tố <120g/lít.

2.7.2. Vị trí giải phẫu dạ dày

- *Tâm vị*: Nằm trong khoảng 1cm trên đến 2cm dưới đường nối thực quản-dạ dày.

- *Không thuộc tâm vị*:

+ *Phình vị*: Là phần phình to hình chỏm cầu, ở bên trái lỗ tâm vị.

+ *Thân vị*: Nối tiếp phía dưới phình vị, hình ống, có hai bờ là bờ cong lớn và bờ cong nhỏ.

+ *Hang vị*: Tiếp nối với thân vị, chạy sang phải và hơi ra sau.

2.7.3. Hình ảnh nội soi viêm niêm mạc dạ dày

Chẩn đoán VDDMT trên nội soi theo phân loại Sydney [125], [127]

- *Viêm dạ dày phù nề xung huyết*: Những đám xung huyết, trên có những hạt nhỏ li ti, niêm mạc mất tính chất nhẵn bóng, đôi khi thấy đám xuất tiết. Niêm mạc mủn và có những chấm đỏ chạy dọc vùng hang vị tới lỗ môn vị.

- *Viêm dạ dày trào ngược dịch mật*: Niêm mạc xung huyết đỏ rực, có dịch mật trào ngược qua lỗ môn vị.

- *Viêm dạ dày trợt phẳng*: Có ít hay nhiều vết trợt nông phẳng, đáy có màng tơ huyết phủ. Vết trợt có thể tạo thành một đường bao quanh lỗ môn vị.

- *Viêm dạ dày trợt lồi*: Viêm trợt lồi lên trên niêm mạc như hạt đậu, tập trung dọc theo các nếp niêm mạc.

- Viêm dạ dày teo: Thấy các mạch máu nổi rõ ngay khi chưa bơm hơi, niêm mạc dạ dày nhạt màu, các nếp niêm mạc teo mỏng.

- Viêm dạ dày chảy máu: Những chấm chảy máu nhỏ màu đỏ, hoặc nâu sẫm. Những mảng màu đen trên niêm mạc phù nề, có thể thấy máu trong dạ dày.

- Viêm dạ dày phì đại: Nếp niêm mạc thô, to, các nếp niêm mạc chồng lên nhau, trên đỉnh các nếp niêm mạc có trọt nông.

2.7.4. Hình ảnh nội soi ung thư biểu mô dạ dày tiến triển

Hình ảnh đại thể trên nội soi của ung thư biểu mô dạ dày tiến triển [20]

- Dạng loét: Tổn thương thường lớn, có khi đường kính đến 10cm. Loét thường ở trung tâm tổn thương, bờ tổn thương gồ ghề, nổi cao trên nền niêm mạc dạ dày xung quanh, nền ổ loét thường có những điểm chảy máu rỉ rả.

- Dạng sùi: U có ranh giới rõ, phát triển lồi vào trong lòng dạ dày. U giống như một polyp có cuống hoặc thực sự là polyp bị ung thư hóa. Bề mặt u có những nhú nhỏ, dễ chảy máu. Nền khối u có chân rộng, giống như một cái nấm. Khi khối u chiếm một diện lớn bề mặt niêm mạc dạ dày, những nhú nhỏ trở thành khối sùi giống như kiểu sùi súp lơ, bờ u không đều (có các rãnh lồi lõm) do chỗ bị hoại tử bị rụng đi gây chảy máu rỉ rả.

- Dạng thâm nhiễm: có hai dạng

+ Loét thâm nhiễm: Khối u vừa có tổn thương loét, vừa có tổn thương thâm nhiễm. Loét không có giới hạn, bờ loét xen kẽ với niêm mạc lành, đáy loét xâm lấn thành dạ dày tạo thành mảng cứng, mất nhu động.

+ Thể xơ đét: Thời kỳ sớm, thành dạ dày dày lên như dạng viêm kèm xơ hóa. Khi ung thư phát triển, thành dạ dày dày lên, niêm mạc có những nếp nhăn song song theo chiều dọc dạ dày và các vết xước hay loét nhỏ.

- Dạng sùi có thâm nhiễm: Tổn thương kết hợp dạng sùi và thâm nhiễm.

2.7.5. Chẩn đoán mô bệnh học

2.7.5.1. Chẩn đoán thể mô bệnh học

- Theo phân loại Lauren (1965) [20], [95]

+ Thể ruột: Bao gồm các tuyến loại ruột tân sản, giống ung thư biểu mô tuyến đại tràng. Tế bào u dính liền nhau, thường chứa không bào nhày ở cực ngọn, có thể có cả chất nhày trong lòng tuyến.

+ Thể lan tỏa: Thường không tạo thành tuyến mà phân tán thành đám hay riêng lẻ từng tế bào trong các lớp thành dạ dày. Mô đệm xơ hóa nhiều làm thành dạ dày dày lên.

- Theo phân loại WHO (2000) [20], [96]

+ UTBMT thể ống nhỏ: Gồm các ống đơn thuần hoặc chia nhánh, đôi khi có các cấu trúc nang nhỏ giống như tế bào tuyến hang vị. Các tuyến có thể giãn thành nang và chứa chất nhày hoặc viêm hoại tử. Các tế bào u hình trụ, hình khối hoặc dẹt chứa lượng chất nhày nội bào khác nhau.

+ UTBMT thể nhày: Các tuyến thường giãn thành nang và có thể phá vỡ tràn vào tổ chức kẽ tạo thành bể chất nhày. Đôi khi gặp các tế bào hình nhẫn, nếu số lượng tế bào nhẫn chiếm trên 50% thì xếp thành UTBM tế bào nhẫn, ngược lại thì xếp vào UTBM tuyến nhày.

+ UTBMT thể tế bào nhẫn: Thành phần chủ yếu là tế bào nhẫn chứa chất nhày nội bào (chiếm trên 50% các tế bào khối u).

+ UTBMT thể không biệt hóa: Có dưới 5% cấu trúc tuyến, hoặc mất sự biệt hóa về cấu trúc và chức năng, gồm các đám tế bào dày đặc tế bào u hoặc thể u dính nhau.

+ UTBMT thể nhú: Gồm các cấu trúc biểu mô dạng ngón tay với lõi xơ-mạch; các nhú này có thể mảnh và phủ bởi một lớp tế bào biểu mô phủ. Các tế bào u hình trụ hoặc lập phương, nhân ở cực đáy.

+ UTBMT thể tế bào vảy: Tế bào vảy phát sinh từ các ổ dị sản vảy, có thể phát sinh từ các tế bào trụ.

+ UTBMT thể tuyến vảy: Có sự biệt hóa vảy, cầu sừng, cầu nối gian bào.

+ UTBMT thể tế bào nhỏ: Tế bào khối u có khuynh hướng tạo thành các đám, dây, bè hoặc thể dạng nang, được các dải mảnh tổ chức liên kết mạch

máu chia tách. Các tế bào u giống như lympho bào nhỏ hoặc loại tế bào trung gian, đặc trưng bởi tế bào đa diện hoặc dạng thoi, bào tương hẹp, nhân tăng sắc với chất lỗ rỗng - thường biểu hiện nhân có đường gờ.

2.7.5.2. *Chẩn đoán mô bệnh học viêm dạ dày mạn tính*

Do điều kiện và mục đích sử dụng trong nghiên cứu này, kết quả mô bệnh học chỉ đánh giá có viêm mạn tính hay không có viêm mạn tính; có viêm teo hay không có viêm teo và có DSR hay không có DSR:

- Có tổn thương viêm mạn tính: Gia tăng số lượng bạch cầu lympho và tương bào trong mô đệm [126].

- Có viêm teo: Giảm số lượng tuyến ở hang vị hoặc thân vị.

- Có DSR: Khi tế bào biểu mô tuyến cổ nhày bị thay thế bởi tế bào biểu mô ruột [126].

2.7.5.3. *Chẩn đoán giai đoạn TNM*

Chẩn đoán giai đoạn xâm lấn khối u, giai đoạn di căn hạch vùng và giai đoạn di căn ung thư theo phân loại AJCC (2010) [97]

- Giai đoạn xâm lấn khối u nguyên phát - T (primary tumor)

- + Tx: Không đánh giá được u nguyên phát.

- + T0: Không có u nguyên phát.

- + Tis: Ung thư tại chỗ.

- + T1: U khu trú ở lớp niêm mạc, cơ niêm và/hoặc dưới niêm mạc.

- T1a: U xâm lấn đến lớp niêm mạc hoặc cơ niêm.

- T1b: U xâm lấn lớp dưới niêm mạc.

- + T2: U lan tới lớp cơ.

- + T3: U xâm lấn mô liên kết dưới thanh mạc, chưa xâm lấn phúc mạc tạng hoặc cấu trúc lân cận.

- + T4: U xâm lấn thanh mạc (phúc mạc tạng) hoặc vào cấu trúc lân cận.

- T4a: U xâm lấn thanh mạc.

- T4b: U xâm lấn cấu trúc lân cận.

- Giai đoạn di căn hạch vùng - N (regional nodes)
- + Nx: Không đánh giá được di căn hạch vùng.
- + N0: Không di căn hạch vùng.
- + N1: Di căn 1-2 hạch vùng.
- + N2: Di căn 3-6 hạch vùng.
- + N3: Di căn ≥ 7 hạch vùng.
 - ° N3a: Di căn 7-15 hạch vùng.
 - ° N3b: Di căn ≥ 16 hạch vùng.
- Giai đoạn di căn ung thư - M (Metastases)
- + M0: Không có di căn xa.
- + M1: Có di căn xa.

2.7.5.4. Chẩn đoán giai đoạn ung thư

Chẩn đoán giai đoạn ung thư ở bệnh nhân UTBMDD theo tiêu chuẩn phân loại của AJCC (2010) [97]

- Giai đoạn 0: TisN0M0.
- Giai đoạn IA: T1N0M0.
- Giai đoạn IB: T2N0M0; T1N1M0.
- Giai đoạn IIA: T3N0M0; T2N1M0; T1N2M0.
- Giai đoạn IIB: T4aN0M0; T3N1M0; T2N2M0; T1N3M0.
- Giai đoạn IIIA: T4aN1M0; T3N2M0; T2N3M0.
- Giai đoạn IIIB: T4bN0M0; T4bN1M0; T4aN2M0; T3N3M0.
- Giai đoạn IIIC: T4aN3M0; T4bN2M0; T4bN3M0.
- Giai đoạn IV: Bất cứ giai đoạn T nào, bất cứ giai đoạn N nào, M1.

2.7.6. Xét nghiệm methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

- Đánh giá nồng độ và độ tinh sạch của lượng ADN thu được sau tách chiết bằng máy đo độ tinh sạch ADN Quikdrop Spectroprotometer (Mỹ) theo quy trình sử dụng của nhà sản xuất. Chất lượng ADN đảm bảo cho xử lý bisulfit khi:

- + Chỉ số nồng độ của ADN: Từ 1ng-2 μ g trong tổng thể tích 20 μ l.

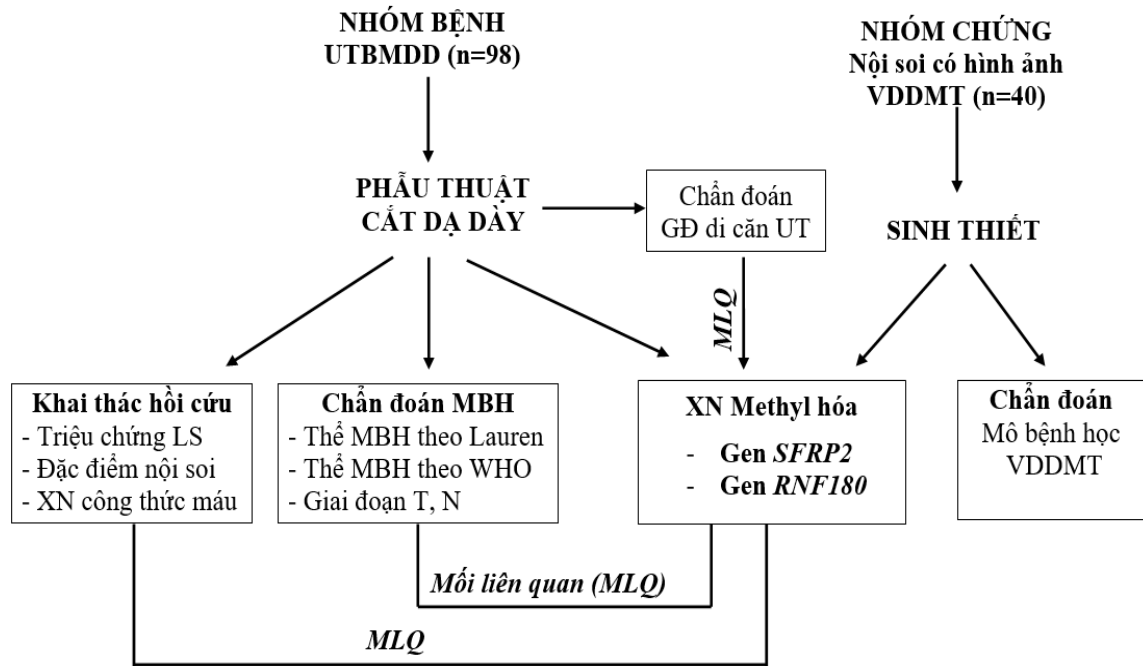
- + Chỉ số độ tinh sạch A260/280: Từ 1,9-2,0.
- Đánh giá chất lượng xử lý bisulfit ADN thu được sau tách chiết:
 - + Trước xử lý bisulfit:
 - Chất lượng ADN đảm bảo cho xử lý bisulfit khi hình ảnh điện di thấy xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp.
 - Chất lượng ADN không đảm bảo cho xử lý bisulfit khi không thấy xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp.
 - + Sau xử lý bisulfit:
 - Xử lý bisulfit xảy ra hoàn toàn khi hình ảnh điện di không xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp.
 - Xử lý bisulfit không hoàn toàn khi hình ảnh điện di xuất hiện băng có kích thước 97bp.
- Đánh giá tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*:
 - + Có methyl hóa gen *SFRP2* khi hình ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi methyl hóa xuất hiện băng điện di có kích thước 138bp.
 - + Không methyl hóa gen *SFRP2* khi hình ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi không methyl hóa xuất hiện băng điện di có kích thước 145bp.
- Đánh giá tình trạng methyl hóa gen *RNF180*:
 - + Có methyl hóa gen *RNF180* khi hình ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi methyl hóa xuất hiện băng điện di có kích thước 109bp.
 - + Không methyl hóa gen *RNF180* khi hình ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi không methyl hóa xuất hiện băng điện di có kích thước 109bp.

2.8. Xử lý số liệu

- Các dữ liệu được mã hóa, nhập liệu bằng phần mềm EpiData 3.1, xử lý số liệu bằng phần mềm thống kê SPSS v22.0.
- Giá trị các chỉ số được trình bày dưới dạng số lượng, tỷ lệ %, giá trị trung bình (\pm độ lệch chuẩn).
- Đánh giá nguy cơ: Có nguy cơ khi OR >1 (95% CI).

- So sánh các tỷ lệ (khoảng tin cậy 95%): Sử dụng test Khi bình phương; trường hợp biến số có số lượng mẫu nhỏ hơn 5, sử dụng test Fisher's Exact.
- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.9. Sơ đồ nghiên cứu



Hình 2.11. Sơ đồ nghiên cứu

2.10. Vấn đề y đức

Toàn bộ bệnh nhân trong nghiên cứu được giải thích rõ về mục đích, ý nghĩa của nghiên cứu, đồng ý tham gia nghiên cứu.

+ *Bệnh nhân ung thư dạ dày:*

Các mẫu xét nghiệm methyl hóa và mô bệnh học được lấy từ phần dạ dày ung thư bị cắt bỏ, bệnh nhân không phải trả chi phí cho các xét nghiệm này cho nên không gây ảnh hưởng tới người bệnh.

+ *Bệnh nhân viêm dạ dày mạn:*

Kết quả MBH là tiêu chuẩn vàng cho chẩn đoán VDDMT. Khi tham gia nghiên cứu, bệnh nhân không phải trả chi phí xét nghiệm MBH và methyl hóa nhưng được sử dụng kết quả xét nghiệm MBH và methyl hóa (nếu cần).

Do đó, nghiên cứu này không vi phạm y đức trong nghiên cứu khoa học.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung

3.1.1. Đặc điểm về giới tính

Bảng 3.1. Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính
theo giới tính

Giới tính	Nhóm UTBMDD		Nhóm VDDMT		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Nam	68	69,39	27	67,50	>0,05
Nữ	30	30,61	13	32,50	
Tổng	98	100	40	100	

Tỷ lệ nam trong nhóm UTBMDD là 69,39%, nhóm VDDMT là 67,5%; tỷ lệ nữ trong nhóm VDDMT là 32,5%, nhóm UTBMDD là 30,61%, $p > 0,05$. Trong nhóm UTBMDD, tỷ lệ nam/nữ = 2,3/1.

3.1.2. Đặc điểm về tuổi

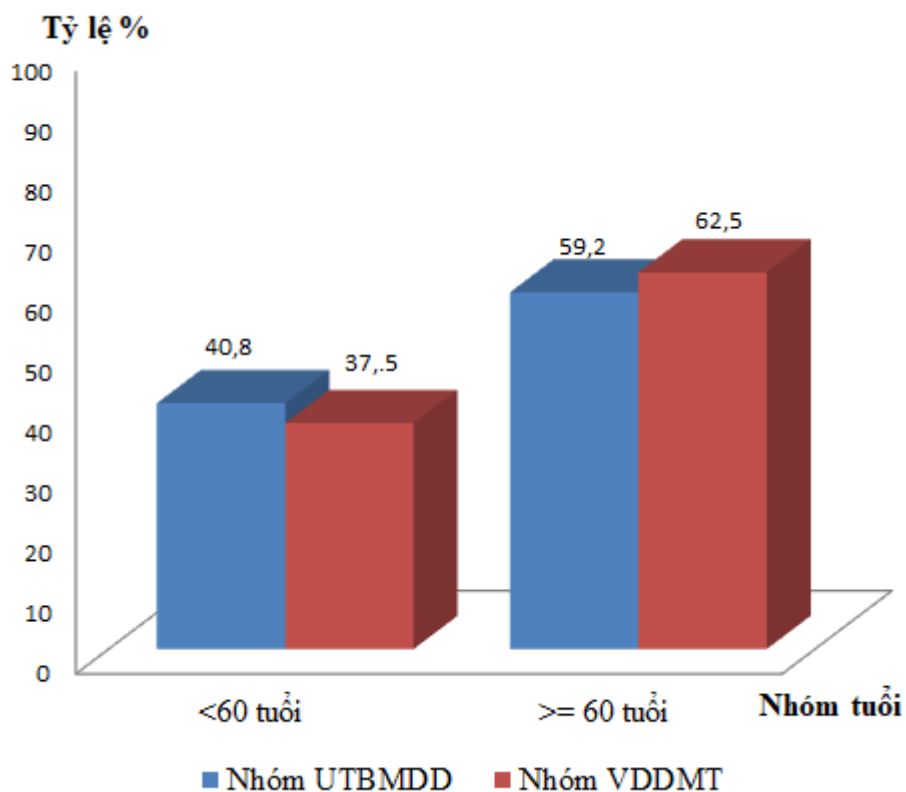
Bảng 3.2. Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính
theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	Nhóm UTBMDD		Nhóm VDDMT		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<40	3	3,06	2	5,0	>0,05
40-49	7	7,14	4	10,0	
50-59	30	30,61	9	22,50	
60 - 69	34	34,69	21	52,50	
≥ 70	24	24,49	4	10,0	
Tổng	98	100	40	100,0	
Tuổi trung bình	$61,5 \pm 10,88$		$59,0 \pm 8,82$		>0,05

Tuổi trung bình UTBMDD có xu hướng cao hơn VDDMT ($61,5 \pm 10,88$ tuổi so với $59,0 \pm 8,82$ tuổi), với $p > 0,05$.

Sự khác biệt về các độ tuổi <40, 40-49, 50-59, 60-69 và ≥ 70 tuổi giữa nhóm UTBMDD và VDDMT không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

Tuổi trung bình của 98 bệnh nhân UTBMDD là $61,5 \pm 10,88$ (dao động từ 35-85 tuổi). Trong đó, nhóm 60-69 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (34,69%), tiếp theo là nhóm 50-59 tuổi (30,61%), ít gặp nhóm <50 tuổi (10,20%).



Biểu đồ 3.1. Phân bố ung thư biểu mô dạ dày và viêm dạ dày mạn tính theo nhóm <60 tuổi và ≥ 60 tuổi

Trong nhóm <60 tuổi, tỷ lệ UTBMDD có xu hướng cao hơn VDDMT, tương ứng là 40,82% so với 37,50%; trong nhóm ≥ 60 tuổi, tỷ lệ VDDMT có xu hướng cao hơn UTBMDD, tương ứng là 62,50% so với 59,18%.

Sự khác biệt về tỷ lệ UTBMDD và nhóm VDDMT trong nhóm <60 tuổi và ≥ 60 tuổi không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

Bảng 3.3. Tỷ lệ ung thư biểu mô dạ dày theo giới tính và theo nhóm tuổi

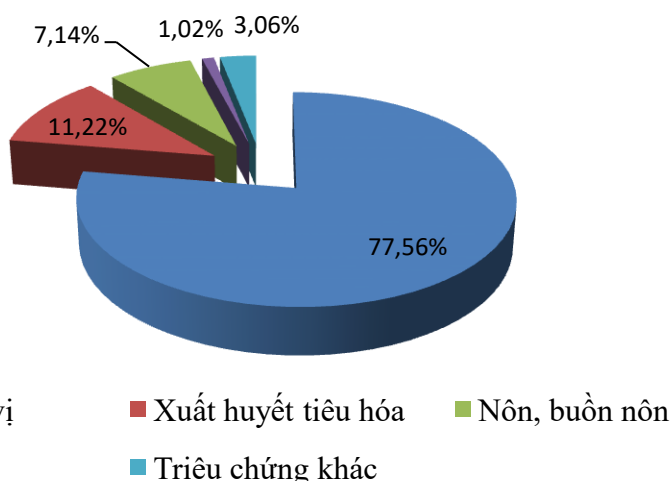
Nhóm tuổi \ Giới	Nam (n=68)		Nữ (n=30)	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
< 40	2	2,94	1	3,33
40-49	5	7,35	2	6,67
50-59	19	27,94	11	36,67
60-69	27	39,71	7	23,33
≥ 70	15	22,06	9	30,0
Tuổi trung bình	61,34 ± 10,16		61,87 ± 12,55	

Tuổi trung bình UTBMDD ở nam là $61,34 \pm 10,16$ tuổi, trong đó nhóm 60-69 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (39,71%). Tuổi trung bình UTBMDD ở nữ là $61,87 \pm 12,55$ tuổi, trong đó nhóm 50-59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (36,67%).

3.2. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học nhóm ung thư biểu mô dạ dày và tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

3.2.1. Đặc điểm lâm sàng

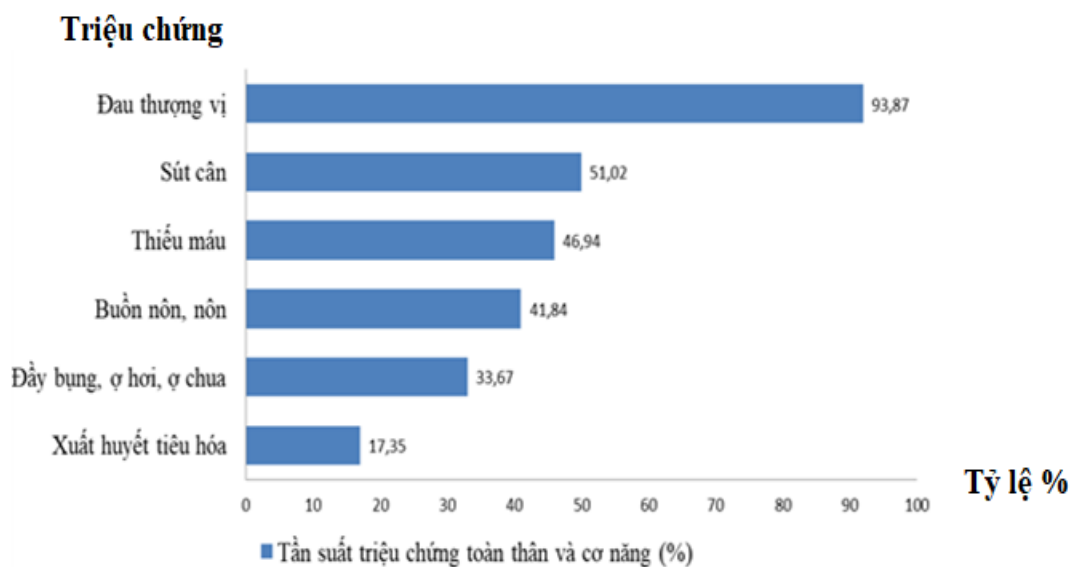
3.2.1.1. Lý do vào viện



Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ các lý do vào viện của bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày

Đau thượng vị chiếm tỷ lệ 77,56%; tiếp theo là xuất huyết tiêu hóa (11,22%) và nôn, buồn nôn (7,14%), ít gặp sút cân (1,02%).

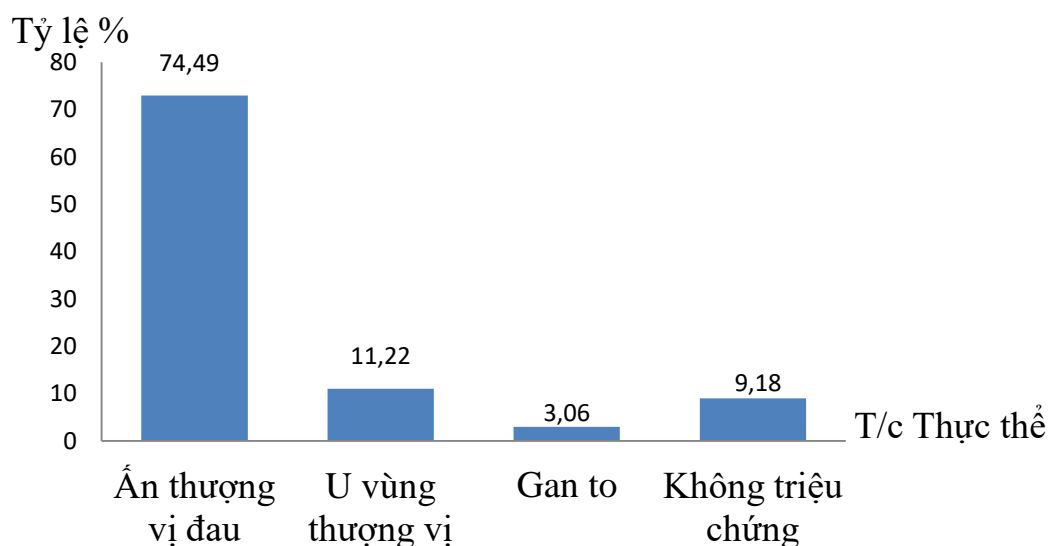
3.2.1.2. Triệu chứng toàn thân và cơ năng



Biểu đồ 3.3. Triệu chứng toàn thân và cơ năng (n=98)

Tỷ lệ đau thượng vị là 93,87%. Các triệu chứng khác như sút cân; thiếu máu; buồn nôn, nôn; đầy bụng, ợ hơi, ợ chua; xuất huyết tiêu hóa ít gặp hơn với tỷ lệ tương ứng là 51,02%, 46,94%, 41,84%, 33,67% và 17,35%.

3.2.1.3. Triệu chứng thực thể



Biểu đồ 3.4. Triệu chứng thực thể (n=98)

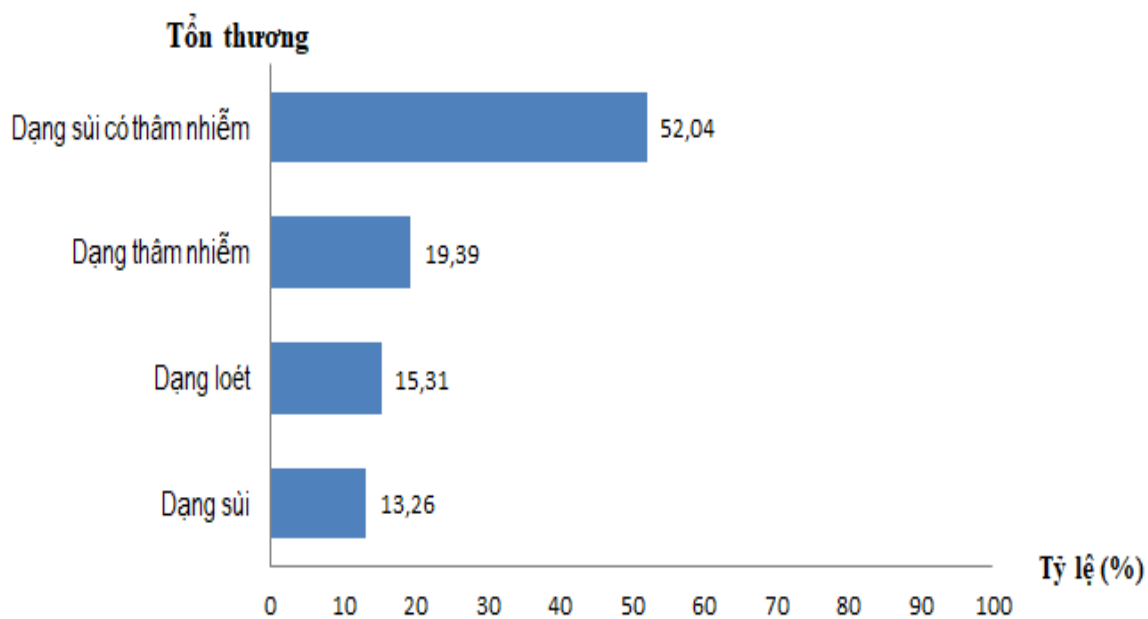
Tỷ lệ ấn thượng vị là 74,49%, các triệu chứng khác ít gặp hơn. Có 9,18% số bệnh nhân UTBMDD không có triệu chứng thực thể.

3.2.2. Đặc điểm tổn thương ung thư biểu mô dạ dày

Bảng 3.4. Vị trí ung thư trên nội soi

Vị trí ung thư (n=98)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>Tâm vị</i>	2	2,04
<i>Không tâm vị</i>	96	97,96
Thân vị	47	47,96
Hang vị	49	50,0
Tổng	98	100,0

Hầu hết là UTBMDD không thuộc tâm vị, chiếm tỷ lệ 97,96%. Trong đó, tổn thương ở vị trí hang vị gặp nhiều nhất, chiếm 50% tổng số bệnh nhân UTBMDD.



Biểu đồ 3.5. Dạng tổn thương ung thư biểu mô dạ dày (n=98)

Tổn thương dạng sùi có thâm nhiễm gặp nhiều nhất, chiếm tỷ lệ 52,04%, tiếp theo là dạng thâm nhiễm (19,39%), dạng loét (15,31%). Ít gặp nhất là tổn thương dạng sùi (13,26%).

3.2.3. Đặc điểm mô bệnh học

Bảng 3.5. Thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965)

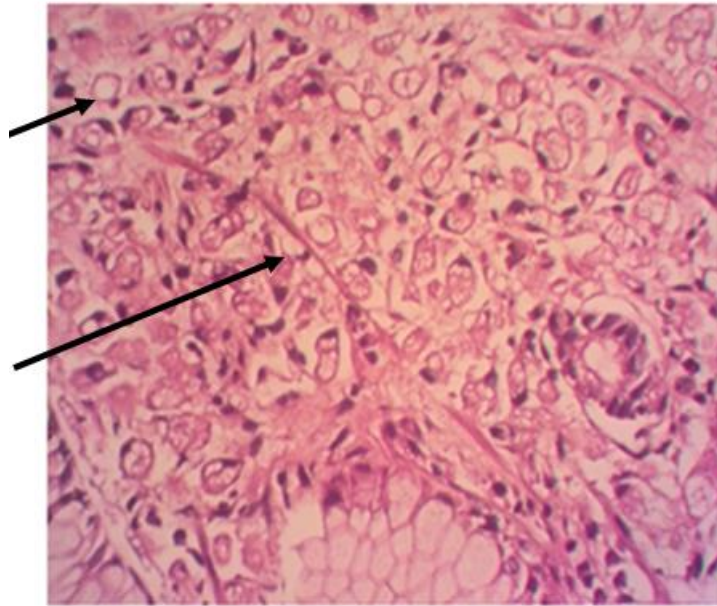
Thể mô bệnh học (n=98)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Thể ruột	52	53,06
Thể lan tỏa	46	46,94
Tổng	98	100,0

Theo phân loại Lauren (1965), UTBMDD thể ruột gặp nhiều hơn thể lan tỏa với tỷ lệ tương ứng là 53,06% và 46,94%.

Bảng 3.6. Thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000)

Thể mô bệnh học (n=98)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Thể ống nhỏ	51	52,04
Thể nhày	8	8,16
Thể tế bào nhẵn	17	17,35
Thể không biệt hóa	22	22,45
Tổng	98	100,0

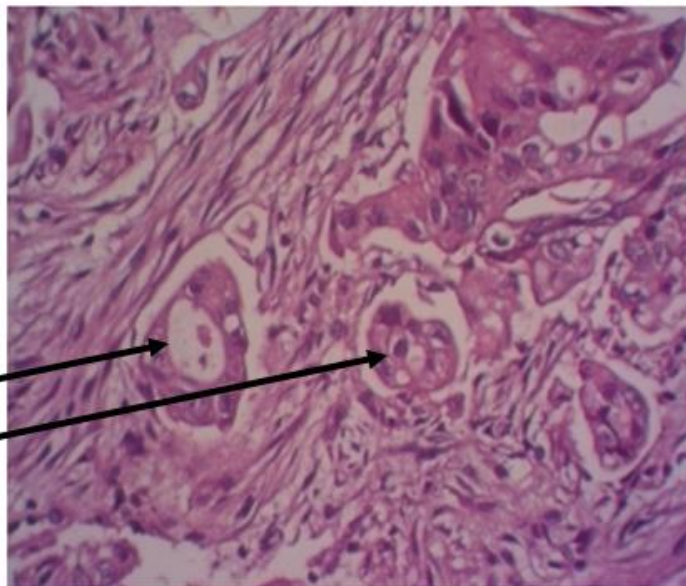
Theo phân loại của WHO (2000), tỷ lệ UTBMDD thể ống nhỏ là 52,04%, tiếp theo là thể không biệt hóa và thể tế bào nhẵn tương ứng là 22,45% và 17,35%, tỷ lệ thể nhày là 8,16%. Không gặp thể nhú, thể vảy, thể tế bào vảy, thể tế bào nhỏ và các thể ung thư biểu mô khác.



Hình 3.1. Ung thư biểu mô thể tế bào nhân (nhuộm H&E x 400)

Mũi tên: Tế bào u có nhân nhỏ nằm sát về 1 phía, bào tương có chứa chất nhầy

(Bệnh nhân: Phạm Ngọc S. 64 tuổi, mã tiêu bản R2809).



Hình 3.2. Ung thư biểu mô thể ống nhỏ (nhuộm H&E x 400)

Mũi tên: Tế bào u tạo thành các ống tuyến méo mó nằm trong mô đệm xơ.

(Bệnh nhân: Nguyễn Quốc L. 41 tuổi, mã tiêu bản S2646).

Bảng 3.7. Tỷ lệ di căn hạch vùng theo mức độ xâm lấn khối u

Độ xâm lấn Di căn hạch	T2		T3		T4	
	SL	%	SL	%	SL	%
N0	3	15,0	2	4,26	1	3,23
N1	6	30,0	7	14,89	5	16,13
N2	11	55,0	32	68,09	20	64,51
N3	0	0,0	6	12,76	5	16,13
Tổng	20	100,0	47	100,0	31	100,0

Ở giai đoạn T2, tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 là 15,0%, giai đoạn N1 là 30,0%, giai đoạn N2 là 55,0%. Không gặp di căn hạch ở giai đoạn N3.

Ở giai đoạn T3, tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 4,26%, di căn hạch ở giai đoạn N1 là 14,89%, giai đoạn N2 là 68,09%, giai đoạn N3 là 12,76%.

Ở giai đoạn T4, tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 là 3,23%, giai đoạn N1 là 16,13%, giai đoạn N2 là 64,51%, giai đoạn N3 là 16,13%.

Bảng 3.8. Tỷ lệ các giai đoạn TNM theo phân loại AJCC (2010)

Giai đoạn (n=98)		Số lượng	Tỷ lệ (%)
Giai đoạn xâm lấn khối u	T2	20	20,41
	T3	47	47,96
	T4	31	31,63
Giai đoạn di căn hạch vùng	N0	6	6,12
	N1	18	18,37
	N2	63	64,29
	N3	11	11,22
Giai đoạn di căn	M0	94	95,92
	M1	4	4,08
Tổng		98	100,0

Giai đoạn T3 gặp nhiều nhất (47,96%), T2 gặp ít nhất (20,41%); giai đoạn N2 gặp nhiều nhất (64,29%), ít gặp N0 (6,12%); hầu hết UTBMDD chưa có di căn xa (95,92%).

Bảng 3.9. Tỷ lệ các giai đoạn ung thư theo phân loại AJCC (2010)

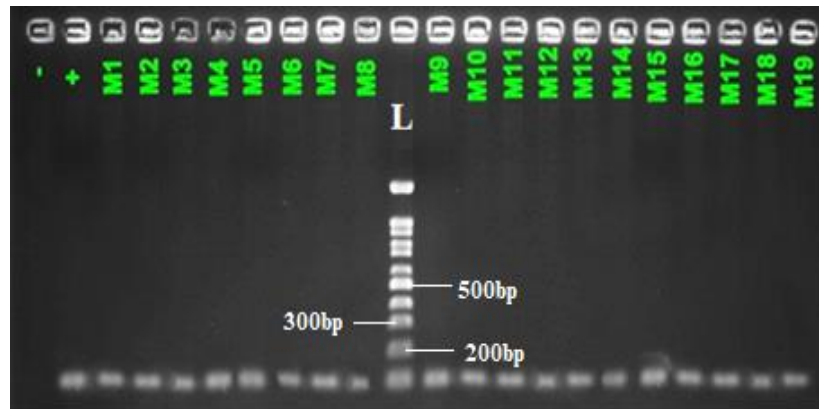
Giai đoạn ung thư (n=98)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Giai đoạn I	4	4,08
Giai đoạn II	25	25,51
Giai đoạn III	65	66,33
Giai đoạn IV	4	4,08
Tổng	98	100,0

UTBMDD phẫu thuật ở giai đoạn III chiếm tỷ lệ cao nhất (66,33%), tiếp theo là giai đoạn II (25,51%). Hiếm gặp UTBMDD ở giai đoạn I (4,08%).

3.2.4. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

3.2.4.1. Đánh giá chất lượng xử lý bisulfit

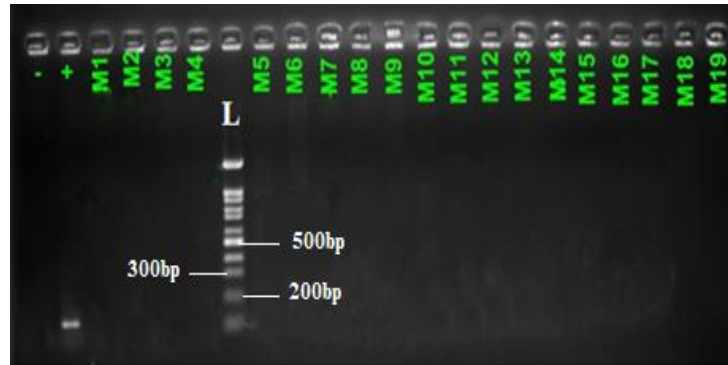
❖ Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin



Hình 3.3. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ các mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày trước xử lý bisulfit

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 97bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

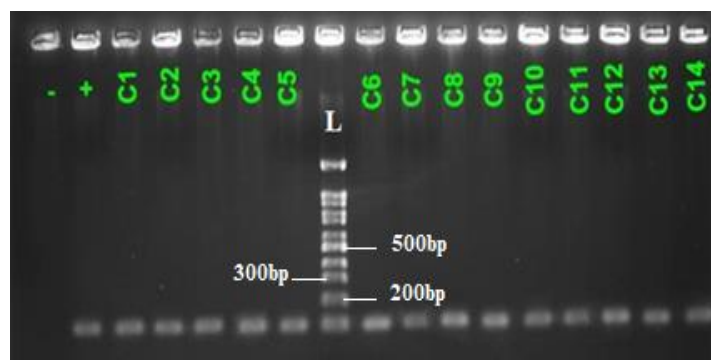
Hình ảnh điện di sản phẩm PCR lượng ADN tách chiết từ mẫu mô UTBMDD (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19) với cặp mồi nhân gen β -globin thấy xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp (Hình 3.3).



Hình 3.4. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ các mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày sau xử lý bisulfit

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn; (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 97bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

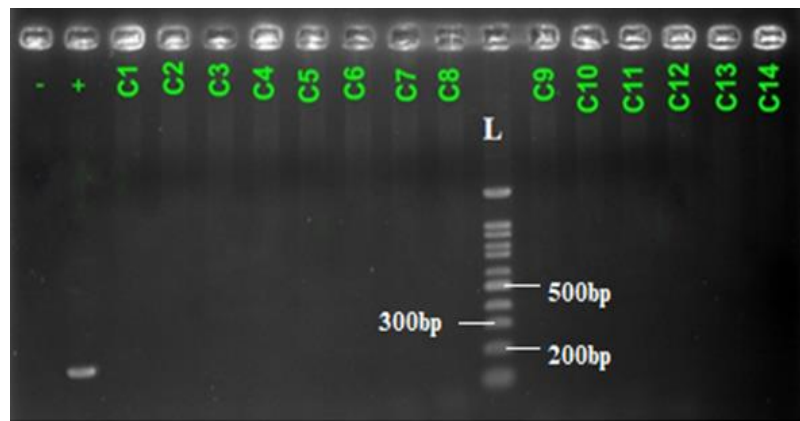
Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ các mẫu mô UTBMDD (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19) không thấy xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp (Hình 3.4).



Hình 3.5. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ các mẫu mô viêm dạ dày mạn tính trước xử lý bisulfit

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 97bp; L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14 : Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ mẫu mô VDDMT (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14) xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp (Hình 3.5).



Hình 3.6. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin trong ADN tách chiết từ các mẫu mô viêm dạ dày mạn tính sau xử lý bisulfit

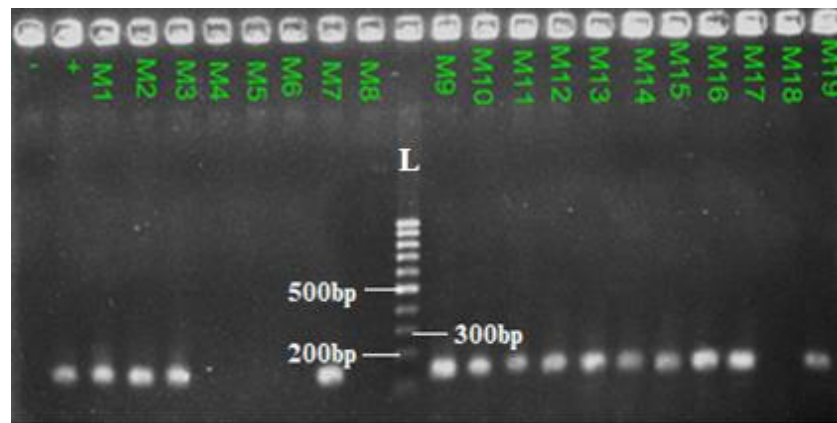
Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 97bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14: Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi nhân gen β -globin lượng ADN tách chiết từ các mẫu mô VDDMT (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14) sau xử lý bisulfit không thấy xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp (Hình 3.6).

3.2.4.2. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*Bảng 3.10. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*

Tình trạng methyl hóa	Nhóm UTBMDD		Nhóm VDDMT		OR (95% CI)
	SL	%	SL	%	
Có methyl hóa	73	74,49	13	32,50	6,06 (2,72-13,30)
Không methyl hóa	25	25,51	27	67,50	
Tổng	98	100,0	40	100,0	
$\chi^2 = 21,33, p < 0,01$					

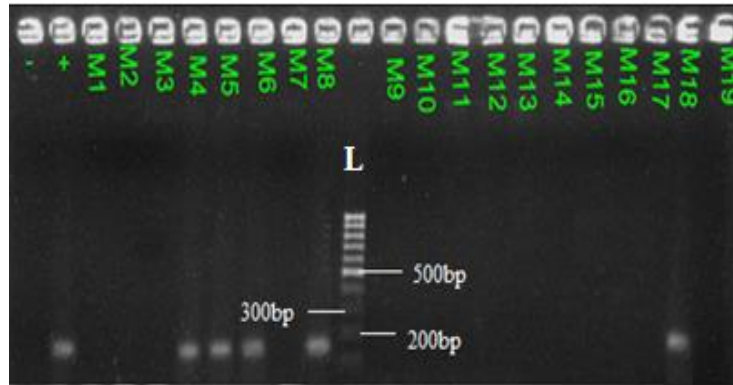
Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm UTBMDD cao hơn VDDMT, tương ứng là 74,49% và 32,50%, $p < 0,01$. (OR= 6,06 95% CI 2,72-13,30).

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với các cặp môi methyl hóa

Hình 3.7. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen *SFRP2* (138bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 138bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

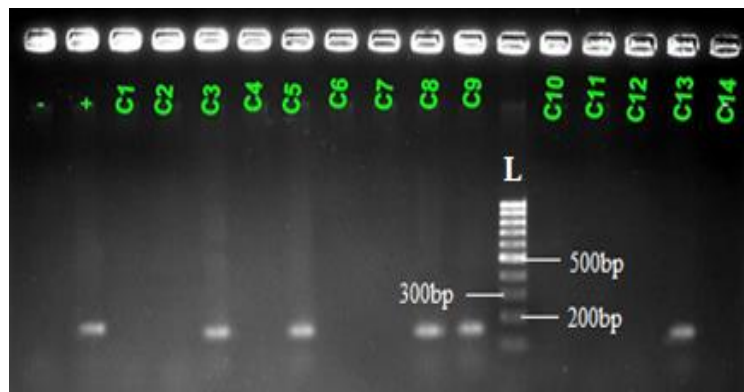
Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen *SFRP2* trong ADN tách chiết từ mẫu mô UTBMDD thấy có methyl hóa tại giếng M1, M2, M3, M7, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M19 (xuất hiện băng 138bp) (Hình 3.7)



Hình 3.8. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *SFRP2* (145bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (bằng ADN có kích thước 145bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

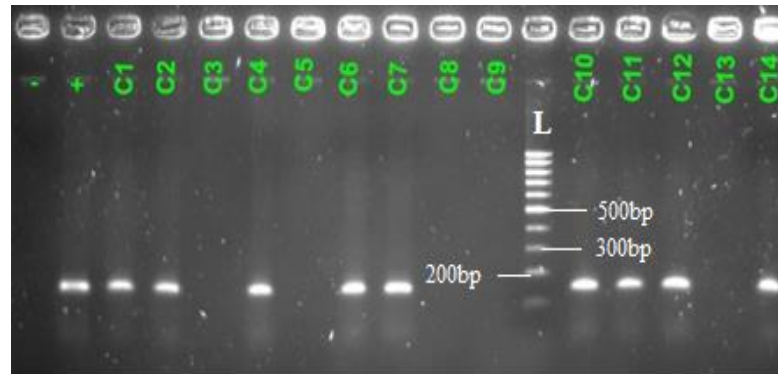
Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *SFRP2* trong ADN tách chiết từ mẫu mô UTBMDD sau xử lý bisulfit thấy không methyl hóa tại giếng M4, M5, M6, M8, M18 (xuất hiện băng 145bp) (Hình 3.8).



Hình 3.9. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen *SFRP2* (138bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô viêm dạ dày mạn tính

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (bằng ADN có kích thước 138bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14: Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen *SFRP2* trong ADN tách chiết từ mẫu mô VDDMT sau xử lý bisulfit thấy có methyl hóa tại giếng C3, C5, C8, C9, C13 (xuất hiện băng 138bp) (Hình 3.9).



Hình 3.10. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *SFRP2* (145bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô viêm dạ dày mạn tính

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 145bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14: Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *SFRP2* trong ADN tách chiết từ mẫu mô VDDMT sau xử lý bisulfit thấy, không methyl hóa tại giếng C1, C2, C4, C6, C7, C10, C11, C12, C14 (xuất hiện băng 145bp) (Hình 3.10).

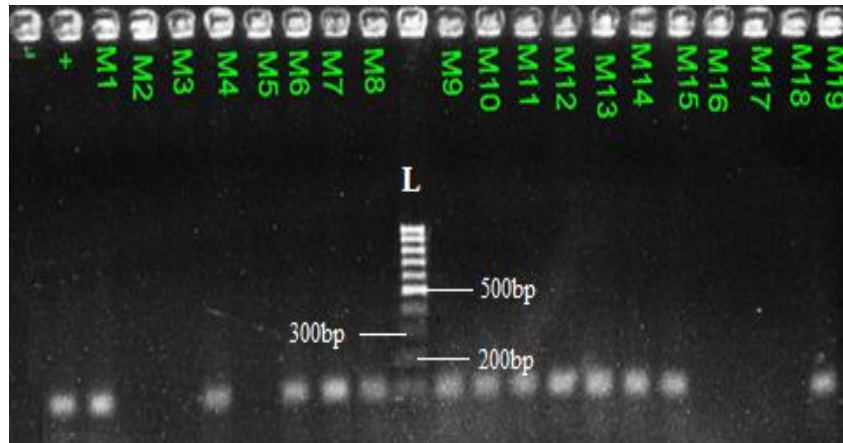
3.2.4.3. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180*

Bảng 3.11. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180*

Tình trạng methyl hóa gen <i>RNF180</i>	Nhóm UTBMDD		Nhóm VDDMT		OR (95% CI)
	SL	%	SL	%	
Có methyl hóa	60	61,22	9	22,50	5,44 (2,33 - 12,68)
Không methyl hóa	38	38,78	31	77,50	
Tổng	98	100,0	40	100,0	
$\chi^2 = 17,04, p < 0,01$					

UTBMDD có tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao hơn VDDMT (61,22% so với 22,50%), $p < 0,01$. (OR=5,44 95% CI 2,33-12,68).

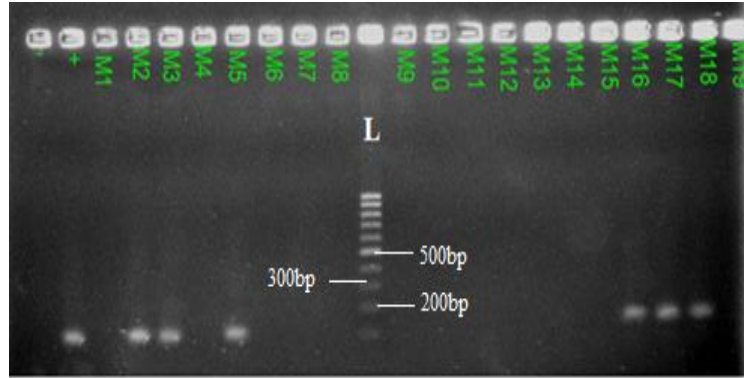
❖ Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với các cặp môi methyl hóa



Hình 3.11. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen *RNF180* (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (bằng ADN có kích thước 109bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

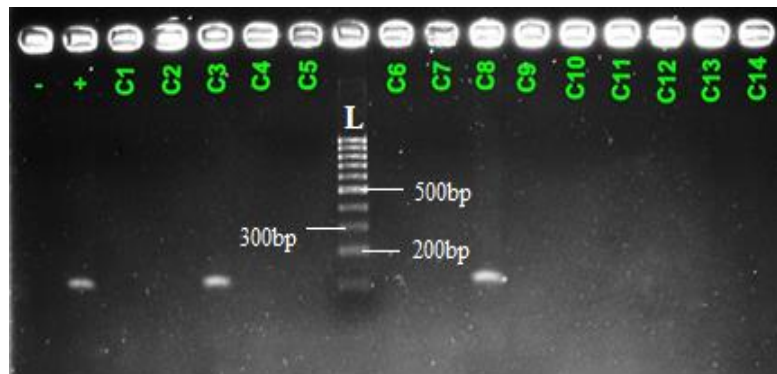
Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp môi methyl hóa gen *RNF180* trong ADN tách chiết từ mẫu mô UTBMDD thấy có methyl hóa tại giếng M1, M4, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M12, M13, M14, M15, M19 (xuất hiện băng 109 bp) (Hình 3.11).



Hình 3.12. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *RNF180* (109bp) trong ADN tách chiết từ các mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn; (+): Chứng dương (bằng ADN có kích thước 109bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; M1-M19: Mẫu mô ung thư biểu mô dạ dày được đánh số từ 1 đến 19.

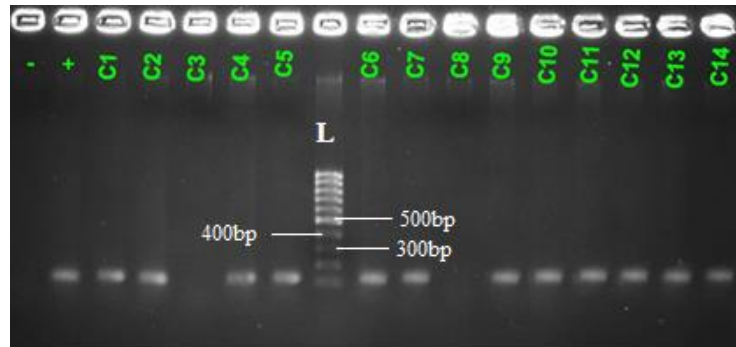
Hình ảnh điện di sản phẩm MSP với cặp mồi không methyl gen *RNF180* trong ADN tách chiết từ các mẫu mô UTBMDD sau xử lý bisulfit thấy không methyl hóa tại giếng M2, M3, M5, M16, M17, M18 (xuất hiện băng 109bp) (Hình 3.12).



Hình 3.13. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen *RNF180* (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô viêm dạ dày mạn tính

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (bằng ADN có kích thước 109bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14: Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen *RNF180* trong ADN tách chiết từ mẫu mô VDDMT thấy có methyl hóa tại giếng C3, C8 (xuất hiện băng 109bp) (Hình 3.13).



Hình 3.14. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi không methyl hóa gen *RNF180* (109bp) trong ADN tách chiết từ mẫu mô viêm dạ dày mạn tính

Trong đó: (-): Chứng âm (nước thay cho ADN khuôn); (+): Chứng dương (băng ADN có kích thước 109bp); L: Thang chuẩn ADN 100bp; C1-C14: Mẫu mô viêm dạ dày mạn tính được đánh số từ 1 đến 14.

Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi methyl hóa gen *RNF180* trong ADN tách chiết từ mẫu mô VDDMT thấy không methyl hóa tại giếng C1, C2, C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11, C12, C13, C14 (xuất hiện băng 109bp) (Hình 3.14).

3.2.4.4. Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen *SFRP2*, *RNF180*

Bảng 3.12. Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen

Tình trạng đồng methyl hóa	Nhóm UTBMDD		Nhóm VDDMT		OR (95%CI)
	SL	%	SL	%	
Đồng methyl hóa 2 gen	53	66,25	6	37,50	3,27 (1,07 - 9,96)
Methyl hóa 1 trong 2 gen	27	33,75	10	62,50	
Tổng	80	100,0	16	100,0	
$\chi^2 = 4,65, p < 0,01$					

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở nhóm UBM TDD cao hơn methyl hóa 1 trong 2 gen (66,25% so với 33,75%), $p < 0,01$. (OR= 3,27 95% CI 1,07 - 9,96).

3.3. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, mô bệnh học

3.3.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với lâm sàng, mô bệnh học

Bảng 3.13. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giới tính, tuổi

Methyl hóa		n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
			SL	%	SL	%	
Giới tính	Nam	68	51	75,0	17	25,0	>0,05
	Nữ	30	22	73,33	8	26,67	
$\chi^2 = 0,03; p = 0,86$							
Nhóm tuổi	<60	40	33	82,50	7	17,50	>0,05
	≥ 60	58	40	68,97	18	31,03	
$\chi^2 = 2,28$							

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nam có xu hướng cao hơn nữ, tương ứng là 75,0% so với 73,33%, $p > 0,05$.

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm < 60 tuổi cao hơn nhóm ≥ 60 tuổi, tương ứng là 82,50% so với 68,97%, $p > 0,05$.

Bảng 3.14. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với vị trí ung thư

Methyl hóa		n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
			SL	%	SL	%	
Tâm vị		2	2	100,0	0	0,0	>0,05
Không tâm vị		96	71	73,96	25	26,04	
Fisher's Exact test							

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm UTBMDD tâm vị cao hơn so với nhóm không tâm vị (100% và 73,96%), $p > 0,05$.

Bảng 3.15. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với dạng tổn thương

Tổn thương \ Methyl hóa	n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
		SL	%	SL	%	
Loét	15	10	66,67	5	33,33	>0,05
Sùi	13	10	76,92	3	23,08	
Thâm nhiễm	19	16	84,21	3	15,79	
Sùi có thâm nhiễm	51	37	72,55	14	27,45	
$\chi^2 = 1,57$						

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao nhất ở dạng thâm nhiễm (84,21%), tiếp theo là dạng sùi và dạng sùi có thâm nhiễm (tương ứng là 76,92% và 72,55%). Tỷ lệ methyl hóa thấp nhất ở dạng loét (66,67%), $p > 0,05$.

Bảng 3.16. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965)

Thể MBH \ Methyl hóa	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
	SL	%	SL	%	
Thể ruột	42	80,77	10	19,23	>0,05
Thể lan tỏa	31	67,39	15	32,61	
Tổng	73	74,49	25	25,51	
$\chi^2 = 2,30$					

Theo phân loại Lauren (1965), tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở thể ruột có xu hướng cao hơn thể lan tỏa (80,77% so với 67,39%), $p > 0,05$.

Bảng 3.17. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000)

Thể MBH \ Methyl hóa	Có methyl hóa		Không methyl hóa		P
	SL	%	SL	%	
Thể ống nhỏ	40	78,43	11	21,57	>0,05
Thể nhày	6	75,0	2	25,0	
Thể tế bào nhẫn	11	64,71	6	35,29	
Thể không biệt hóa	16	72,73	6	27,27	
Tổng	73	74,49	25	25,51	
$\chi^2 = 1,31$					

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở thể ống nhỏ là 78,43%, thể nhày (75,0%), thể không biệt hóa (72,73%), thể tế bào nhẫn (64,71%), $p > 0,05$.

Bảng 3.18. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn TNM

Giai đoạn \ Methyl hóa	Có methyl hóa		Không methyl hóa		P
	SL	%	SL	%	
Giai đoạn xâm lấn khối u					
T1-T2	11	55,0	9	45,0	<0,05*
T3-T4	62	79,49	16	20,51	
Giai đoạn di căn hạch					
N0-N1	11	45,83	13	54,17	<0,01**
N2-N3	62	83,78	12	16,22	
Giai đoạn di căn					
M0	69	73,40	25	26,60	>0,05***
M1	4	100,0	0	0,0	
*: $\chi^2 = 5,02$; **: $\chi^2 = 13,7$; ***: Fisher's Exact test;					

Giai đoạn T3-T4 có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao hơn giai đoạn T1-T2 (79,49% so với 55,0%), $p < 0,05$;

Giai đoạn N2-N3 có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao hơn giai đoạn N0-N1 (83,78% so với 45,83%), $p < 0,01$.

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở giai đoạn M1 cao hơn giai đoạn M0, $p > 0,05$.

Bảng 3.19. Liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn ung thư

Methyl hóa Giai đoạn ung thư	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
	SL	%	SL	%	
I-II	14	48,28	15	51,72	<0,01
III-IV	59	85,51	10	14,49	
$\chi^2 = 14,9$					

Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở giai đoạn III-IV cao hơn giai đoạn I-II, tương ứng là 85,51% và 48,28%, $p < 0,01$.

3.3.2. Liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với lâm sàng, mô bệnh học

Bảng 3.20. Liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giới tính, tuổi

Methyl hóa Nhóm tuổi, giới	n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p	
		SL	%	SL	%		
Giới tính	Nam	68	43	63,24	25	36,76	>0,05
	Nữ	30	17	56,67	13	43,33	
$\chi^2 = 0,38$							
Nhóm tuổi	< 60	40	24	60,0	16	40,0	>0,05
	≥ 60	58	36	62,07	22	37,93	
$\chi^2 = 0,04$							

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nam có xu hướng cao hơn nữ, tương ứng là 63,24% so với 56,67%, $p > 0,05$.

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm ≥ 60 tuổi có xu hướng cao hơn nhóm < 60 tuổi, tương ứng là 62,07% so với 60,0%, $p > 0,05$.

Bảng 3.21. Liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với vị trí ung thư

Methyl hóa Vị trí	n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
		SL	%	SL	%	
Tâm vị	2	2	100,0	0	0,0	>0,05
Không tâm vị	96	58	60,42	38	39,58	

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm ung thư biểu mô dạ dày tâm vị cao hơn nhóm ung thư biểu mô dạ dày không thuộc tâm vị, $p > 0,05$.

Bảng 3.22. Liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với dạng tổn thương

Methyl hóa Dạng tổn thương	n	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
		SL	%	SL	%	
Loét	15	8	53,33	7	46,67	>0,05
Sùi	13	6	46,15	7	53,85	
Thâm nhiễm	19	12	63,16	7	36,84	
Sùi có thâm nhiễm	51	34	66,67	17	33,33	
$\chi^2 = 2,30$						

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở dạng sùi có thâm nhiễm là 66,67%, ở dạng thâm nhiễm và dạng loét tương ứng là 63,16% và 53,33%, ở dạng sùi là 46,15%, với $p > 0,05$.

Bảng 3.23. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965)

Thế MBH \ Methyl hóa	Có methyl hóa		Không methyl hóa		P
	SL	%	SL	%	
Thế ruột	34	65,38	18	34,62	> 0,05
Thế lan tỏa	26	56,52	20	43,48	
Tổng	60	61,22	38	38,78	
$\chi^2 = 0,81$					

Theo phân loại Lauren (1965), tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở thể ruột có xu hướng cao hơn thể lan tỏa (65,38% so với 56,52%), $p > 0,05$.

Bảng 3.24. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000)

Thế MBH \ Methyl hóa	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
	SL	%	SL	%	
Thế ống nhỏ	33	64,71	18	35,29	>0,05
Thế nhày	6	75,0	2	25,0	
Thế tế bào nhẫn	10	58,82	7	41,18	
Thế không biệt hóa	11	50,0	11	50,0	
Tổng	60	61,22	38	38,78	
$\chi^2 = 2,11$					

Theo phân loại WHO (2000), tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở thể nhày là 75,0%, ở thể ống nhỏ và thể tế bào nhẫn là 64,71% và 58,82%, ở thể không biệt hóa là 50,0%, với $p > 0,05$.

Bảng 3.25. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn TNM

Methyl hóa Giai đoạn	Có methyl hóa		Không methyl hóa		P
	SL	%	SL	%	
<i>Giai đoạn xâm lấn khối u</i>					
T1-T2	7	35,0	13	65,0	<0,05*
T3-T4	53	67,95	25	32,05	
<i>Giai đoạn di căn hạch</i>					
N0-N1	4	16,67	20	83,33	<0,01**
N2-N3	56	75,68	18	24,32	
<i>Giai đoạn di căn</i>					
M0	56	59,57	38	40,43	>0,05***
M1	4	100,0	0	0,0	
*: $\chi^2 = 7,28$; **: $\chi^2 = 26,58$; ***: Fisher's Exact test;					

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở giai đoạn T3-T4 cao hơn giai đoạn T1-T2, tương ứng là 67,95% và 35,0%, $p < 0,05$. Giai đoạn N2-N3 có tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao hơn giai đoạn N0-N1, tương ứng là 75,68% và 16,67%, $p < 0,01$. Giai đoạn M1 có tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao hơn giai đoạn M0, tương ứng là 100% và 59,57%, $p > 0,05$.

Bảng 3.26. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn ung thư

Methyl hóa Giai đoạn ung thư	Có methyl hóa		Không methyl hóa		p
	SL	%	SL	%	
I-II	9	31,03	20	68,97	<0,01
III-IV	51	73,91	18	26,09	
$\chi^2 = 15,81$					

Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở giai đoạn III-IV cao hơn giai đoạn I-II, tương ứng là 73,91% so với 31,03%, $p < 0,01$.

3.3.3. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học

Bảng 3.27. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giới tính, nhóm tuổi

Methyl hóa Nhóm tuổi, giới		n	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
			SL	%	SL	%	
Giới tính	Nam	57	37	64,91	20	35,09	>0,05
	Nữ	23	16	69,57	7	30,43	
$\chi^2 = 0,159$							
Nhóm tuổi	< 60	34	23	67,65	11	32,35	>0,05
	≥ 60	46	30	66,25	16	33,75	
$\chi^2 = 0,05$							

Trong nhóm UTBMDD, tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở nam có xu hướng thấp hơn nữ, với tỷ lệ tương ứng là 64,91% so với 69,57%, $p > 0,05$.

Trong nhóm UTBMDD, tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở nhóm <60 tuổi có xu hướng cao hơn ≥ 60 tuổi, tương ứng là 67,65% và 66,25%, với $p > 0,05$.

Bảng 3.28. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với vị trí ung thư

Methyl hóa Vị trí		n	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
			SL	%	SL	%	
Tâm vị		2	2	100,0	0	0,0	>0,05
Không tâm vị		78	51	65,38	27	34,62	
Tổng		80	53	66,25	27	33,75	
Fisher's Exact test							

UTBMDD tâm vị có tỷ lệ đồng methyl hóa 2 cao hơn UTBMDD không thuộc tâm vị với tỷ lệ tương ứng là 100% so với 65,38%, $p > 0,05$.

Bảng 3.29. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với dạng tổn thương

Methyl hóa Dạng tổn thương	n	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
		SL	%	SL	%	
Loét	11	7	63,64	4	36,36	>0,05
Sùi	10	6	60,0	4	40,0	
Thâm nhiễm	17	11	64,71	6	35,29	
Sùi có thâm nhiễm	42	29	69,05	13	30,95	
$\chi^2 = 0,37$						

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở dạng sùi có thâm nhiễm là 69,05%, dạng thâm nhiễm và dạng loét tương ứng là 64,71%, 63,64%; dạng sùi là 60,0%, $p > 0,05$.

Bảng 3.30. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh theo phân loại Lauren (1965)

Methyl hóa Thể MBH	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
	SL	%	SL	%	
Thể ruột	30	65,22	16	34,78	>0,05
Thể lan tỏa	23	67,65	11	32,35	
Tổng	53	66,25	27	33,75	
$\chi^2 = 0,05$					

Theo phân loại Lauren (1965), tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở thể lan tỏa có xu hướng cao hơn thể ruột, tương ứng là 67,65% so với 65,22%, $p > 0,05$.

Bảng 3.31. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000)

Methyl hóa Thế MBH	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
	SL	%	SL	%	
Thế ống nhỏ	30	69,77	13	30,23	>0,05
Thế nhầy	4	50,0	4	50,0	
Thế tế bào nhẫn	9	75,0	3	25,0	
Thế không biệt hóa	10	58,82	7	41,18	
Tổng	53	66,25	27	33,75	
$\chi^2 = 2,01$					

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở thể tế bào nhẫn là 75,0%, thể ống nhỏ và thể không biệt hóa tương ứng là 69,77% và 58,82%, thể nhầy là 50,0%, $p > 0,05$.

Bảng 3.32. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn TNM

Methyl hóa Giai đoạn	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		p
	SL	%	SL	%	
Giai đoạn xâm lấn khối u					
T1-T2	5	38,46	8	61,54	<0,05
T3-T4	48	71,64	19	28,36	*
Giai đoạn di căn hạch					
N0-N1	2	15,38	11	84,62	<0,01
N2-N3	51	76,12	16	23,88	**
Giai đoạn di căn					
M0	49	64,47	27	35,53	>0,05
M1	4	100,0	0	0,0	***
*: $\chi^2 = 5,36$; **: $\chi^2 = 17,96$; ***: Fisher's Exact test;					

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở giai đoạn T3-T4 cao hơn T1-T2 (71,64% và 38,46%), $p < 0,05$.

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở giai đoạn N2-N3 cao hơn N0-N1 (76,12% và 15,38%), $p < 0,01$.

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở giai đoạn M1 cao hơn M0, $p > 0,05$.

Bảng 3.33. Liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn ung thư

Methyl hóa Giai đoạn	Có đồng methyl hóa 2 gen		Có methyl hóa 1 gen		P
	SL	%	SL	%	
I-II	6	35,29	11	64,71	<0,01
III-IV	47	74,60	16	25,40	
$\chi^2 = 9,25$					

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở nhóm UTBMDD giai đoạn III-IV cao hơn giai đoạn I-II, tương ứng là 74,60% và 35,29%, với $p < 0,01$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

Cùng với những tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, tỷ lệ mắc mới và tỷ lệ tử vong do UTBMDD đã giảm trong nhiều năm qua nhưng tiên lượng của bệnh nhân UTBMDD vẫn còn rất xấu, đặc biệt là ung thư dạ dày ở giai đoạn tiến triển, với tỷ lệ sống sau 5 năm rất thấp. Thời gian gần đây, đã có nhiều công trình nghiên cứu về biến đổi di truyền ngoại gen trong bệnh ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng được thực hiện, nhằm tìm ra những chỉ dấu sinh học mới trong chẩn đoán nhằm góp phần cải thiện tiên lượng bệnh nhân ung thư. Kết quả các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, tình trạng methyl hóa vùng promoter của các gen ức chế khối u là chỉ dấu sinh học đầy tiềm năng trong chẩn đoán và tiên lượng ung thư.

Qua kết quả nghiên cứu mối liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, mô bệnh học ở 98 bệnh nhân UTBMDD điều trị phẫu thuật tại Trung tâm phẫu thuật Tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 12/2015 đến tháng 12/2018 và 40 bệnh nhân VDDMT được chẩn đoán bằng nội soi tại khoa Thăm dò chức năng - Bệnh viện Đại học Y Thái Bình, mô bệnh học tại khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103, chúng tôi có một số nhận xét và bàn luận như sau:

4.1. Đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học nhóm ung thư biểu mô dạ dày và tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

4.1.1. Đặc điểm về giới tính

Trong các bệnh lý ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng, giới tính của bệnh nhân đã được ghi nhận là yếu tố có liên quan mật thiết với tỷ lệ mắc bệnh và cũng là một trong nhiều yếu tố tiên lượng bệnh. Kết quả tại Bảng 3.1 cho thấy, mặc dù tỷ lệ nam/nữ ở nhóm UTBMDD có xu hướng cao hơn nhóm VDDMT, tương ứng là 2,3/1 và 2,1/1 nhưng sự khác biệt này không có

ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Do đó, trong nghiên cứu của chúng tôi, không có sự khác biệt về giới tính giữa nhóm UTBMDD và VDDMT.

Nhóm UTBMDD có sự khác biệt về tỷ lệ giữa nam và nữ. Kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả trong và ngoài nước đều cho thấy tỷ lệ UTBMDD ở nam luôn cao hơn so với nữ, với tỷ lệ nam/nữ khoảng 1,1-4/1 [89], [129], [130], [131], [132]. Nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ UTBMDD ở nữ thấp hơn nam được quy cho vai trò bảo vệ niêm mạc dạ dày trước tác động của các yếu tố nguy cơ gây ung thư dạ dày của các nội tiết tố sinh dục nữ (estrogen) [133].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ UTBMDD theo giới tính là 2,3 nam/1 nữ. Tỷ lệ này thấp hơn nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) là 2,75/1 [129], Nguyễn Quang Bộ (2017) là 2,5/1 [130] và Đặng Văn Thời (2017) là 4/1 [131]. Tuy nhiên, tỷ lệ UTBMDD theo giới tính trong nghiên cứu của chúng tôi lại cao hơn nghiên cứu của Cao Minh Tiệp và CS (2015) là 1,6/1 [132], Phạm Văn Bình và CS (2017) là 1,1/1 [89], của Song P. và CS (2016) là 1,6/1 [22], của Luu C. và CS (2017) là 1,1/1 [134]. Sự khác nhau về tỷ lệ UTBMDD theo giới tính giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về đối tượng, cỡ mẫu nghiên cứu và thời điểm nghiên cứu của từng tác giả.

4.1.2. Đặc điểm về tuổi

Yếu tố tuổi có mối liên hệ khá chặt chẽ với UTBMDD. UTBMDD ít gặp ở lứa tuổi dưới 40, tỷ lệ tăng lên cùng với độ tăng của tuổi và đạt đỉnh ở độ tuổi 60-70 [21], [22]. Kết quả trình bày tại Bảng 3.2 cho thấy, mặc dù tỷ lệ UTBMDD và VDDMT giữa các nhóm tuổi <40, 40-49, 50-59, 60-69 và ≥ 70 tuổi không giống nhau nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Do đó, trong nghiên cứu của chúng tôi không có sự khác biệt về độ tuổi của bệnh nhân nhóm UTBMDD và bệnh nhân nhóm VDDMT.

Trong số 98 bệnh nhân UTBMDD thuộc nhóm nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân cao tuổi nhất là 85 tuổi, nhỏ tuổi nhất là 35 tuổi, tuổi trung bình

chung là $61,5 \pm 10,88$ tuổi. Trong số 40 bệnh nhân VDDMT thuộc nhóm chúng, bệnh nhân cao tuổi nhất là 72 tuổi, nhỏ tuổi nhất là 37 tuổi, tuổi trung bình là $59 \pm 8,82$ tuổi. Mặc dù tuổi trung bình của bệnh nhân UTBMDD có xu hướng cao hơn tuổi trung bình của bệnh nhân VDDMT nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Khi phân chia bệnh nhân UTBMDD và bệnh nhân VDDMT theo nhóm < 60 tuổi và ≥ 60 tuổi, kết quả nghiên cứu tại Biểu đồ 3.1 cho thấy, nhóm < 60 tuổi có tỷ lệ UTBMDD cao hơn so với VDDMT (tương ứng là 40,82% so với 37,5%) và nhóm ≥ 60 tuổi thì tỷ lệ VDDMT lại cao hơn so với UTBMDD (tương ứng là 62,5% so với 59,18%), tuy nhiên sự khác biệt theo nhóm < 60 tuổi và ≥ 60 tuổi giữa UTBMDD và VDDMT không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trong nhóm bệnh nhân UTBMDD, nhóm ≥ 60 tuổi chiếm tỷ lệ 59,18% (nhóm tuổi 60-69 là 34,69%, nhóm tuổi ≥ 70 là 24,49%). Như vậy, tỷ lệ UTBMDD theo nhóm tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhiều nghiên cứu khác.

So sánh tuổi trung bình của bệnh nhân UTBMDD trong nghiên cứu của chúng tôi với nghiên cứu của một số tác giả trong và ngoài nước thấy có sự tương đồng và khác biệt như sau,

- Nghiên cứu ở trong nước:

So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong nước, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Phan Văn Cương và CS (2017) với tuổi trung bình UTBMDD là $61,4 \pm 14,40$ tuổi [19] và cao hơn kết quả nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) là $58,9 \pm 13,8$ tuổi [129], Cao Minh Tiệp và CS (2015) là $53,44 \pm 12,16$ tuổi [132], Hoàng Thanh Tuyền (2016) là $56,7 \pm 12,4$ tuổi [135], Đặng Văn Thời (2017) là $58,43 \pm 13,20$ tuổi [131], Nguyễn Thị Ngọc Lan và CS (2018) là $59,57 \pm 11,39$ tuổi [136].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

So sánh với nghiên cứu của một số tác giả ở Trung Quốc, tuổi trung bình UTBMDD trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Zhang

X. và CS (2014) với tuổi trung bình UTBMDD là $61,49 \pm 12,02$ tuổi [16] và cao hơn nghiên cứu của Sun J. và CS (2019) là 58 tuổi [137].

Một số quốc gia như Nhật Bản và Hàn Quốc, mặc dù có tỷ lệ mắc UTBMDD cao nhưng do triển khai chương trình khám sàng lọc UTBMDD bằng nội soi dạ dày cho nên tỷ lệ phát hiện UTBMDD sớm cao cho nên lại có tuổi trung bình UTBMDD thấp. Nghiên cứu của Kim J.S tại Hàn Quốc (2009) đã ghi nhận tuổi trung bình của UTBMDD là 52 tuổi [138].

Tại các quốc gia phát triển, tuổi trung bình UTBMDD có xu thế cao hơn. Nghiên cứu của Lahmidani N. và CS (2018) thấy tuổi trung bình UTBMDD ở Mỹ là 69 tuổi, dao động từ 65 đến 74 tuổi [64]. Nghiên cứu của Luu C. và CS (2017) thấy tuổi trung bình UTBMDD là $65,3 \pm 14,6$ tuổi [134].

Như vậy, tuổi trung bình UTBMDD ở Việt Nam có sự tương đồng với tuổi trung bình UTBMDD ở Trung Quốc, nhưng thấp hơn so với Mỹ. Tuổi trung bình UTBMDD ở Việt Nam và Trung Quốc thấp hơn Mỹ có thể giải thích là do Việt Nam và Trung Quốc nằm trong khu vực địa lý có tỷ suất mắc UTBMDD cao, có điều kiện kinh tế xã hội thấp hơn, có tỷ lệ nhiễm *H.pylori* cao hơn và tập quán, thói quen ăn dưa cà muối là những yếu tố nguy cơ cao của UTBMDD.

Về tuổi trung bình UTBMDD theo giới tính trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của nam hơi thấp hơn so với nữ ($61,34 \pm 10,16$ tuổi so với $61,87 \pm 12,55$ tuổi). Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả trong nước [91], [129].

Về sự phân bố UTBMDD theo nhóm <60 tuổi và ≥ 60 tuổi, kết quả nghiên cứu của chúng tôi trình bày tại Biểu đồ 3.1 cho thấy, tỷ lệ UTBMDD ở nhóm ≥ 60 tuổi cao hơn nhóm <60 tuổi (59,18% so với 40,82%), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Trong nhóm ≥ 60 tuổi, nhóm tuổi 60-69 gặp nhiều hơn nhóm ≥ 70 tuổi, tương ứng là 34,69% và 24,49% (Bảng 3.2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt với nghiên cứu

của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ UTBMDD ở nhóm <60 tuổi cao hơn nhóm ≥ 60 tuổi với tỷ lệ tương ứng là 55,56% và 44,44% và nhóm tuổi 60-69 chiếm tỷ lệ 17,8%, nhóm ≥ 70 tuổi chiếm tỷ lệ 26,7% [129]. Sự khác biệt này có thể do sự khác nhau về đối tượng và cỡ mẫu của từng nghiên cứu.

Qua kết quả nghiên cứu của chúng tôi và kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác, kết hợp với y văn, chúng tôi thấy rằng: tuổi là yếu tố rất quan trọng trong chẩn đoán UTBMDD; UTBMDD ít gặp ở người trẻ tuổi, tỷ lệ mắc bệnh tăng cùng với tuổi và đạt đỉnh ở nhóm tuổi 50-70 tuổi. Vì vậy, nhằm nâng cao tỷ lệ chẩn đoán UTBMDD giai đoạn sớm, từ đó nâng cao tỷ lệ sống 5 năm sau điều trị của bệnh nhân UTBMDD, Việt Nam nên triển khai chương trình khám sàng lọc UTBMDD cho những đối tượng có yếu tố nguy cơ như, ở độ tuổi trên 50, tiền sử gia đình có người mắc UTBMDD, nhiễm *H.pylori*, phẫu thuật cắt dạ dày do bệnh lành tính...

4.1.3. Đặc điểm lâm sàng

4.1.3.1. Lý do vào viện

Trong số các lý do vào viện của bệnh nhân UTBMDD trong nghiên cứu của chúng tôi, mặc dù là triệu chứng không đặc hiệu của UTBMDD, hay gặp trong nhiều bệnh lý dạ dày lành tính khác nhưng đau thượng vị vẫn là lý do chủ yếu đưa người bệnh đến viện, chiếm tỷ lệ 77,56%, tiếp theo là xuất huyết tiêu hóa (11,22%); buồn nôn và/hoặc nôn (7,14%); sút cân (1,02%); rất ít gặp các lý do khác (3,06%) (Biểu đồ 3.2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác ở trong nước, với lý do vào viện của bệnh nhân UTBMDD chủ yếu cũng là đau thượng vị. Trong nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014), tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD đến khám bệnh do đau thượng vị là 83,3% [129], nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) là 98,91% [130]. Tuy vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại không tương đồng với nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) [131]. Trong nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017), đau thượng vị có tỷ lệ thấp hơn rất nhiều, chỉ

34,0%, và lý do chủ yếu đưa bệnh nhân UTBMDD vào viện lại là nuốt nghẹn. Sự khác biệt này có thể giải thích do Đặng Văn Thới thực hiện nghiên cứu ở bệnh nhân ung thư 1/3 trên dạ dày, vì vậy khi khối u xâm lấn tâm vị sẽ gây ra nuốt nghẹn, từ đó làm lu mờ triệu chứng đau thượng vị.

4.1.3.2. Triệu chứng toàn thân và cơ năng

Triệu chứng lâm sàng của UTBMDD rất đa dạng, không đặc hiệu, thường biểu hiện giống các bệnh dạ dày lành tính khác, do đó khi triệu chứng xuất hiện, bệnh nhân có thể chủ quan không đi khám bệnh, hoặc nếu có đi khám thì thầy thuốc cũng có thể bỏ sót do cho rằng đó là các triệu chứng của bệnh dạ dày lành tính khác.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các triệu chứng thường gặp bao gồm: đau bụng thượng vị, sút cân, buồn nôn và/hoặc nôn, thiếu máu. Các triệu chứng khác như xuất huyết tiêu hóa, đầy bụng, ợ hơi, ợ chua ít gặp hơn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đối phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả (Bảng 4.1)

Bảng 4.1. Các triệu chứng cơ năng thường gặp trong ung thư biểu mô dạ dày

Stt	Triệu chứng cơ năng	Nghiên cứu của chúng tôi (n=98)	Lê Viết Nho [129] (n=90)	Nguyễn Quang Bộ [130] (n=53)	Hoàng Việt Dũng [139] (n=134)
1	Đau thượng vị	93,87%	98,9%	98,1%	76,1%
2	Sút cân	51,02%	47,8%	56,6%	47,0%
3	Buồn nôn, nôn	41,84%	26,7%	50,9%	42,5%
4	Thiếu máu	46,94%	70,0%	-	-
5	XHTH	17,35%	11,1%	18,9%	30,6%
6	Đầy bụng, ợ hơi, ợ chua	33,67%	-	37,7%	69,4%

- Về triệu chứng đau thượng vị:

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đau thượng vị là triệu chứng cơ năng hay gặp nhất, chiếm tỷ lệ 93,87%. Đau thượng vị có thể biểu hiện dưới nhiều hình thức như âm ạch, nóng rát, đau lúc đói, đau có chu kỳ. Tỷ lệ đau thượng vị trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn tỷ lệ đau thượng vị trong nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ là 98,90% [129], nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ là 98,10% [130] nhưng lại cao hơn một số tác giả khác. Trong nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016), tỷ lệ đau thượng vị ở bệnh nhân UTBMDD cao tuổi là 76,10% [139]; nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) thấy đau thượng vị gặp ở 62,0% trong số 53 bệnh nhân UTBMDD 1/3 trên [131]. Số bệnh nhân UTBMDD có biểu hiện đau thượng vị chiếm tỷ lệ thấp trong nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) [131] có thể do triệu chứng nuốt nghẹn chiếm ưu thế trong UTBMDD 1/3 trên cho nên bệnh nhân chỉ quan tâm đến triệu chứng nuốt nghẹn mà ít quan tâm đến triệu chứng đau thượng vị. Kết quả nghiên cứu của Wanebo H. J. và CS (1993) cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có đau thượng vị là 51,6% và đau dạng loét là 17,1%, do đó đau thượng vị cũng là triệu chứng hay gặp trong UTBMDD, với tỷ lệ là 68,7% [140].

Mặc dù có sự khác nhau về tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có đau thượng vị trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi và của một số tác giả khác ở trong và ngoài nước, nhưng toàn bộ các nghiên cứu đều ghi nhận đau thượng vị là triệu chứng cơ năng hay gặp nhất của bệnh nhân UTBMDD.

- Về triệu chứng sút cân:

Sút cân cũng là triệu chứng hay gặp ở bệnh nhân ung thư nói chung và UTBMDD nói riêng. Do có nhiều nguyên nhân gây ra sút cân cho nên người bệnh thường không để ý đến hoặc cho rằng sút cân là do ăn uống kém, mất ngủ... nên sút cân là bình thường. Do đó biểu hiện sút cân dễ bị bỏ sót, đến khi người bệnh đi khám bệnh cân kiểm tra mới biết.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sút cân là triệu chứng hay gặp ở bệnh nhân UTBMDD, chiếm tỷ lệ 51,02%. Tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD sút cân trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) là 47,8% [129], Hoàng Việt Dũng và CS (2016) là 47,0% [139], Đặng Văn Thời (2017) là 30,0% [131] và cao gấp nhiều lần tỷ lệ sút cân trong nghiên cứu của Amira G. (2003) là 6,0% [141]. Tuy vậy, tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD sút cân trong nghiên cứu của chúng tôi lại thấp hơn so với nghiên cứu của một số tác giả khác. Trong nghiên cứu của Harnett có đến 96,20% trong tổng số 1.045 bệnh nhân UTBMDD có biểu hiện sút cân (dẫn theo Forrest A. P. (1960) [142]); nghiên cứu của Wanebo H. J. và CS (1993), 61,6% bệnh nhân UTBMDD sút cân [140]; nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) tỷ lệ sút cân là 56,6% [130]. Mức độ sút cân thường tỷ lệ thuận với giai đoạn ung thư, giai đoạn càng muộn thì thể trạng người bệnh càng suy kiệt. Do đó cần khuyến cáo mọi người theo dõi cân nặng cá nhân thường xuyên để sớm phát hiện biểu hiện sút cân không có nguyên nhân rõ ràng.

- Về triệu chứng thiếu máu:

Thiếu máu là triệu chứng hay gặp trong các bệnh ung thư nói chung và UTBMDD nói riêng. Đối với bệnh nhân UTBMDD, thiếu máu có thể là hậu quả của xuất huyết tiêu hóa và/hoặc là hậu quả của kém hấp thu chất dinh dưỡng và các yếu tố vi lượng cần thiết cho tạo máu. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thiếu máu gặp ở 46/98 bệnh nhân, chiếm tỷ lệ 46,94%. Tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD thiếu máu trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD thiếu máu là 70,0% [129], nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2013) là 56,1% [143], nghiên cứu của Tang G. và CS (2017) là 58,7% [144] nhưng cao hơn nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) là 14,0% [131].

Sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có biểu hiện thiếu máu trong các nghiên cứu có thể do khác nhau về đối tượng, cỡ mẫu nghiên cứu, hoặc

tiêu chuẩn chẩn đoán thiếu máu (nghiên cứu của Đặng Văn Thới (2017), chẩn đoán thiếu máu dựa vào chỉ số xét nghiệm hồng cầu, nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2013) chẩn đoán thiếu máu khi khối lượng huyết sắc tố <120g/l ở nam giới và <130g/l ở nữ giới).

- Về triệu chứng nôn, buồn nôn:

Khi UTBMDD ở giai đoạn sớm thì biểu hiện nôn, buồn nôn có thể là hậu quả của chậm tiêu hoặc của tổn thương ung thư kích thích niêm mạc dạ dày. Khi UTBMDD ở giai đoạn tiến triển, nôn, buồn nôn có thể do khối u gây hẹp môn vị, tâm vị, thậm chí ở đoạn giữa dạ dày [20]. Nếu bệnh nhân nôn nhiều sẽ có thể trạng không tốt (suy kiệt, mất nước gây rối loạn nước điện giải) làm ảnh hưởng đến khả năng phục hồi sau mổ [130].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nôn và/hoặc buồn nôn là triệu chứng cơ năng thường gặp thứ tư sau đau thượng vị, sút cân và thiếu máu với tỷ lệ là 41,84%. Như vậy, tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có triệu chứng nôn và/hoặc buồn nôn trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016) với tỷ lệ là 42,50% [139] nhưng cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ là 30,20% [130], nghiên cứu của Lê Việt Nho (2014) với tỷ lệ là 26,70% [129]. Sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện nôn, buồn nôn giữa các nghiên cứu có thể do sự khác biệt về cỡ mẫu và đối tượng nghiên cứu của từng tác giả (nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ trên 53 bệnh nhân UTBMDD 1/3 dưới, trong khi nghiên cứu của chúng tôi nghiên cứu trên UTBMDD không phân biệt vị trí ung thư).

- Về triệu chứng đầy bụng, ợ hơi, ợ chua:

Đầy bụng, ợ hơi, ợ chua là triệu chứng thường xuất hiện ở nhiều bệnh dạ dày lành tính. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có đầy bụng, ợ hơi, ợ chua là 33,67%, thấp hơn so với nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016) là 44,8% [139] nhưng cao hơn so với nghiên cứu của Đặng Văn Thới (2017) là 12,0% [131]. Sự khác biệt này có thể do sự khác

nhau về đối tượng và cỡ mẫu của từng nghiên cứu (nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016) thực hiện bệnh nhân UTBMDD cao tuổi, ở người cao tuổi các cơ ồng tiêu hóa thường có trương lực thấp làm giảm khả năng co bóp cho nên dễ gây ra đầy bụng, ợ hơi; nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) thực hiện trên 100 bệnh nhân UTBMDD 1/3 trên, UTBMDD 1/3 trên thường có biểu hiện nuốt nghẹn nổi trội hơn cho nên có thể triệu chứng nuốt nghẹn đã làm lu mờ triệu chứng đầy bụng, ợ hơi, ợ chua).

- Về triệu chứng xuất huyết tiêu hóa:

Xuất huyết tiêu hóa cũng là triệu chứng hay gặp ở bệnh nhân UTBMDD. Xuất huyết tiêu hóa ở bệnh nhân UTBMDD xảy ra khi khối u bị hoại tử hoặc khối u dạng loét xâm nhập vào mạch máu. Xuất huyết tiêu hóa có thể diễn hình với biểu hiện nôn ra máu và/hoặc đại tiện phân đen nhưng cũng có thể ở dạng ẩn, bệnh nhân có thể có hoặc không có biểu hiện thiếu máu trên lâm sàng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, triệu chứng xuất huyết tiêu hóa biểu hiện ở 17,35% số bệnh nhân UTBMDD. Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ xuất huyết tiêu hóa là 18,90% [130] nhưng cao hơn kết quả nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) là 11,10% [129], Đặng Văn Thời (2017) là 10,0% [131]. Sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có biểu hiện XHTH giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về đối tượng, cỡ mẫu của từng nghiên cứu.

4.1.3.3. Triệu chứng thực thể

Triệu chứng thực thể gặp trong nghiên cứu của chúng tôi bao gồm ấn thượng vị đau, sờ thấy khối u vùng thượng vị, gan to. Kết quả tại Biểu đồ 3.4 cho thấy, ấn thượng vị đau là triệu chứng hay gặp nhất, chiếm tỷ lệ 74,49%. Triệu chứng ấn thượng vị đau xuất hiện nhiều nhất trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với đau thượng vị là lý do hay gặp nhất đưa bệnh nhân khám bệnh và đau thượng vị cũng là triệu chứng cơ năng hay gặp nhất trong nghiên cứu này. Tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có ấn thượng vị đau trong nghiên

cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ là 64,2% [130]. Sự khác biệt này có thể do Nguyễn Quang Bộ (2017) nghiên cứu trên bệnh nhân UTBMDD 1/3 dưới, trong khi nghiên cứu của chúng tôi tiến hành trên tất cả bệnh nhân UTBMDD không phân biệt vị trí ung thư.

Khi thăm khám lâm sàng bệnh nhân UTBMDD sớm sẽ không thấy khối u ở vùng bụng. Khi phát hiện được khối u thì bệnh nhân UTBMDD đã ở giai đoạn muộn, kích thước khối u đã lớn, có thể xâm lấn sang các tạng lân cận làm cho khối u trở nên ít di động. Trong nghiên cứu của chúng tôi, số bệnh nhân UTBMDD sờ thấy u vùng thượng vị, sờ thấy gan to chiếm tỷ lệ rất thấp, với tỷ lệ tương ứng là 11,22%, và 3,06%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ sờ thấy mảng cứng vùng thượng vị là 13,3% [129] nhưng thấp hơn nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) với tỷ lệ là 32,1% [130] và cao hơn nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016) với tỷ lệ là 6,70% [139]. Sự khác biệt về tỷ lệ sờ thấy khối u vùng thượng vị ở bệnh nhân UTBMDD giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về đối tượng, cỡ mẫu nghiên cứu, đặc biệt là giai đoạn ung thư khi bệnh nhân vào viện. Một số bệnh nhân thăm khám thấy có khối u ở vùng bụng, sau khi giải thích thì gia đình không đồng ý mổ vì bệnh đã ở giai đoạn muộn cho nên xin ra viện, về nhà điều trị bằng các thuốc đông y.

Sau khi nghiên cứu về các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân UTBMDD, chúng tôi thấy rằng, đau thượng vị, sút cân, thiếu máu, nôn, buồn nôn là những triệu chứng cơ năng và toàn thân thường gặp. Một số triệu chứng khác như đầy bụng, ợ hơi, ợ chua, xuất huyết tiêu hóa ít gặp hơn. Tuy nhiên, những triệu chứng này cũng thường biểu hiện ở bệnh nhân có bệnh dạ dày lành tính khác cho nên các triệu chứng này ít có giá trị trong chẩn đoán UTBMDD đặc biệt là UTBMDD sớm. Cùng với đau thượng vị là triệu chứng cơ năng thường gặp, ấn thượng vị đau cũng là triệu chứng thực thể hay gặp nhất ở bệnh nhân UTBMDD. Số bệnh nhân UTBMDD có khối u ở vùng thượng vị và/hoặc

gan to chiếm tỷ lệ rất thấp trong nghiên cứu của chúng tôi. Theo Đặng Văn Thời (2017), khi bệnh nhân UTBMDD có u vùng thượng vị thì bệnh đã ở giai đoạn muộn, ít có cơ hội điều trị triệt để, tỷ lệ sống sau 5 năm thấp [131].

4.1.4. Đặc điểm tổn thương trên nội soi dạ dày

Nội soi dạ dày kết hợp sinh thiết làm mô bệnh học là phương pháp thường được sử dụng trong chẩn đoán UTBMDD. Qua nội soi dạ dày, các bác sỹ có thể xác định chính xác vị trí đồng thời chẩn đoán được dạng tổn thương của UTBMDD. Hiện nay, những quốc gia có tỷ lệ UTBMDD cao như Nhật Bản, Hàn Quốc đã sử dụng nội soi dạ dày trong khám sàng lọc ung thư và đã thu được kết quả tốt với tỷ lệ chẩn đoán UTBMDD sớm tăng lên rất cao, trên 90%. Theo khuyến cáo của các tác giả Nhật Bản, những người trên 45 tuổi, có đau thượng vị, đầy hơi, khó tiêu, sụt cân tồn tại hoặc lặp đi lặp lại trong 2-3 tuần nên được kiểm tra bằng nội soi dạ dày 6 tháng/lần [20].

4.1.4.1. Vị trí ung thư

Do có sự khác biệt về dịch tễ, bệnh nguyên và mô bệnh học cho nên vị trí ung thư có vai trò rất quan trọng trong phương thức điều trị và tiên lượng UTBMDD. Theo giải phẫu, UTBMDD được chia thành UTBMDD tâm vị và UTBMDD không thuộc tâm vị. Trong nghiên cứu của chúng tôi, vị trí ung thư được xác định theo kết quả nội soi dạ dày. Kết quả nghiên cứu tại Bảng 3.4 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD tâm vị là 2,04%, UTBMDD không thuộc tâm vị là 97,96%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ UTBMDD không thuộc tâm vị là 93,3% [129], nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan và CS (2018) với tỷ lệ UTBMDD không thuộc tâm vị là 94,0% [136].

Ở nhóm UTBMDD không thuộc tâm vị trong nghiên cứu của chúng tôi, tổn thương ở hang vị hay gặp nhất, chiếm tỷ lệ 50,0% UTBMDD, tổn thương ở thân vị ít gặp hơn, tỷ lệ 47,96%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp

với nghiên cứu của Lê Viét Nho (2014), nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan và CS (2018) với tỷ lệ UTBMDD ở vùng hang vị cao nhất [129], [136].

Qua nghiên cứu này, kết hợp với những nghiên cứu gần đây của nhiều tác giả trong nước, chúng tôi thấy UTBMDD tâm vị vẫn chiếm tỷ lệ rất thấp trong tổng số bệnh nhân UTBMDD. Trong nhóm UTBMDD không thuộc tâm vị, ung thư ở vùng hang vị chiếm tỷ lệ rất cao, điều này phù hợp với quan điểm cho rằng *H.pylori* vẫn là yếu tố nguy cơ chủ yếu gây UTBMDD ở Việt Nam.

4.1.4.2. Dạng tổn thương trên nội soi

UTBMDD sớm thường nhỏ, khó nhận biết khi nội soi cho nên chẩn đoán UTBMDD sớm bằng nội soi dễ bỏ sót tổn thương. Hiện nay, nhiều kỹ thuật giúp các bác sỹ nội soi chẩn đoán UTBMDD sớm dễ dàng và chính xác hơn đã được đưa vào sử dụng như kỹ thuật nhuộm màu niêm mạc, nội soi dạ dày với ánh sáng dải hẹp (NBI). Theo Nguyễn Thị Quỳ (2007), tỷ lệ chẩn đoán UTBMDD bằng nội soi sinh thiết có nhuộm màu niêm mạc với dung dịch Indigocarmine phù hợp với chẩn đoán mô bệnh học là 92% trong khi nội soi sinh thiết thường chỉ đạt tỷ lệ 68,3% [87]. Khi UTBMDD ở giai đoạn tiến triển, các bác sỹ nội soi có thể chẩn đoán xác định UTBMDD dựa vào hình ảnh tổn thương của niêm mạc dạ dày.

Trên nội soi, hình ảnh đại thể của UTBMDD bao gồm, dạng sùi, dạng loét, dạng thâm nhiễm (loét thâm nhiễm và xơ dính). Trên thực tế, các tổn thương dạng sùi, dạng loét và dạng thâm nhiễm thường phối hợp ở các mức độ khác nhau cho nên có thể sẽ khó xếp loại chính xác tổn thương. Khi đó, cần căn cứ vào tổn thương nào là cơ bản để xếp loại [20].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Biểu đồ 3.5 cho thấy, tổn thương dạng sùi có thâm nhiễm gặp nhiều nhất, chiếm tỷ lệ 52,04%, tiếp theo là tổn thương dạng thâm nhiễm, dạng loét với tỷ lệ tương ứng là 19,39% và 15,31%. Ít gặp nhất là tổn thương dạng sùi, chiếm tỷ lệ 13,26%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác

ở trong và ngoài nước. Trong nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014), tổn thương dạng loét và dạng nấm chiếm tỷ lệ cao nhất, tương ứng là 42,20% và 40,0%, các thể tổn thương khác chiếm tỷ lệ thấp hơn rất nhiều [129]. Nghiên cứu của Hoàng Thanh Tuyền (2016) thấy tỷ lệ UTBMDD dạng loét là 40,0%, dạng sùi là 15,5%, dạng loét sùi là 8,9%, dạng loét xâm lấn là 26,7% và dạng thâm nhiễm là 8,9% [135]. Kết quả nghiên cứu của Lee K. E. và CS (2003) đã ghi nhận UTBMDD dạng loét chiếm tỷ lệ cao nhất (66,1%), tỷ lệ dạng nấm thấp hơn (19,6%), dạng thâm nhiễm là 11,2% và thấp nhất là dạng polyp (3,10%) [145]. Sự khác biệt về tỷ lệ các dạng tổn thương của UTBMDD có thể do sự khác nhau về phương pháp nghiên cứu và/hoặc cỡ mẫu của từng nghiên cứu. Trên thực tế, chẩn đoán xác định dạng tổn thương UTBMDD trên nội soi phụ thuộc rất nhiều vào quan điểm của bác sỹ nội soi, đặc biệt đối với những tổn thương kết hợp. Các bác sỹ nội soi có thể kết luận theo dạng tổn thương nổi trội hơn hay kết luận đồng thời các tổn thương cùng xuất hiện.

Có sự khác nhau trong chẩn đoán dạng tổn thương UTBMDD giữa bác sỹ nội soi và phẫu thuật viên do trên hình ảnh nội soi là có độ phóng đại, trong khi các phẫu thuật viên đánh giá tổn thương bằng mắt thường. Tuy nhiên, sự khác nhau này có thể chấp nhận được vì có độ phù hợp giữa hình ảnh tổn thương qua nội soi với kết quả phẫu thuật, với hệ số kappa là 0,896 (trích theo Lê Viết Nho [129]).

4.1.5. Đặc điểm mô bệnh học

Ung thư biểu mô là thể mô bệnh học thường gặp nhất của UTDD, chiếm tỷ lệ 85-90% [129]. Hình ảnh vi thể của UTBMDD rất đa dạng cho nên chẩn đoán thể mô bệnh học có vai trò rất quan trọng trong điều trị và tiên lượng.

Hiện nay trên thế giới có nhiều hệ thống phân loại mô bệnh học UTBMDD đang cùng tồn tại. Trong đó, phân loại của Lauren (1965) và phân loại của WHO (2000) được sử dụng rộng rãi hơn cả, cho nên trong nghiên

cứu này, chúng tôi áp dụng tiêu chuẩn chẩn đoán thể mô bệnh học UTBMDD của Lauren (1965) và WHO (2000).

4.1.5.1. Thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965)

Theo phân loại Lauren (1965), UTBMDD có 2 thể chính là thể ruột và thể lan tỏa. Trong đó, thể lan tỏa tiên lượng xấu hơn thể ruột. Cơ chế bệnh sinh của UTBMDD thể lan tỏa liên quan nhiều với yếu tố vật chủ như đột biến gen hay di truyền còn thể ruột liên quan nhiều đến yếu tố môi trường như nhiễm *H.pylori*, chế độ ăn, lối sống [146]. Theo Tang L. H. và CS (2015), có sự khác biệt rõ ràng giữa thể ruột và thể lan tỏa trên lâm sàng (Bảng 4.2) [94].

Bảng 4.2. Đặc điểm lâm sàng của ung thư biểu mô dạ dày theo phân loại Lauren (1965)

Đặc điểm	Thể ruột	Thể lan tỏa
Độ tuổi lúc phát bệnh	>50 tuổi	≤ 50 tuổi
Giới tính	Nam > Nữ	Nam = Nữ
Phân bố địa lý	Châu Á	Bất cứ đâu
Tổn thương ban đầu	Dị sản ruột, loạn sản	UTBM thể tế bào nhẵn
Vị trí thường gặp	Hang vị, tâm vị	Thân vị
Phân loại Bormann	Typ I, II, III	Typ IV

* Nguồn: Theo Tang L.H và CS (2015) [94]

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.5 cho thấy, tỷ lệ UTBMDD thể ruột có xu hướng cao hơn thể lan tỏa, (53,06% và 46,94%). So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong và ngoài nước, chúng tôi thấy có một số điểm tương đồng và khác biệt như sau,

- Nghiên cứu ở trong nước:

Nhiều nghiên cứu tại Việt Nam cũng ghi nhận tỷ lệ UTBMDD thể ruột chiếm ưu thế so với thể lan tỏa. Tỷ lệ UTBMDD thể ruột và thể lan tỏa trong

nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) với tỷ lệ UTBMDD thể ruột là 51,1% và thể lan tỏa là 48,9% [129] nhưng lại thấp hơn so với nghiên cứu của một số tác giả khác. Trong nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Hùng và CS (2016), tỷ lệ UTBMDD thể ruột là 66,1% và thể lan tỏa là 33,9% [147]; nghiên cứu của Trịnh Hồng Sơn và CS (2014) thấy tỷ lệ UTDD thể lan tỏa là 62,79% và thể ruột là 30,23% [148]. Kết quả nghiên cứu của Trần Đình Trí và CS (2016) thấy có sự đối nghịch rất lớn về tỷ lệ hai thể mô bệnh học giữa hai miền Nam - Bắc của Việt Nam với nhóm UTBMDD tại thành phố Hồ Chí Minh có tỷ lệ thể lan tỏa cao hơn thể ruột (61,20% so với 34,30%) với $p < 0,05$, trong khi tại Hà Nội, lại có tỷ lệ thể ruột chiếm ưu thế hơn (52,60% so với 46,40%) với $p > 0,05$ [149].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

Tác giả Lee K. E. và CS (2003) nghiên cứu tại Hàn Quốc thấy tỷ lệ thể lan tỏa là 44,8%, thể ruột là 39,6% [145]. Một số nghiên cứu gần đây ở Trung Quốc cho thấy đang có sự thay đổi về tỷ lệ thể ruột và thể lan tỏa. Nghiên cứu của Qiu M. Z. và CS (2013) thấy tỷ lệ thể ruột là 47,59% và thể lan tỏa là 52,41% [150]. Nghiên cứu tại Trung Quốc của Jun J. và CS (2019) thấy tỷ lệ thể lan tỏa ngang bằng với tỷ lệ thể ruột (50,0% và 50,0%) [151].

Sự thay đổi về tỷ lệ UTBMDD thể lan tỏa so với thể ruột trong kết quả của một số nghiên cứu tại Việt Nam và Trung Quốc trong thời gian gần đây đã gợi ý rằng, cùng với sự phát triển kinh tế, mức sống của người dân được nâng lên và những tiến bộ trong tiệt trừ *H.pylori* đã làm giảm tỷ lệ nhiễm *H.pylori* trong cộng đồng. Do UTBMDD thể ruột có liên quan chặt chẽ với *H.pylori* cho nên khi tỷ lệ nhiễm *H.pylori* giảm xuống sẽ làm giảm tỷ lệ UTBMDD thể ruột, từ đó có thể đang có xu hướng thay đổi về hình thái tổn thương mô bệnh học của UTBMDD tại Việt Nam và Trung Quốc. Tuy nhiên, để khẳng định chính xác nhận định này cần phải tiến hành triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và thời gian dài hơn.

4.1.5.2. *Thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000)*

Năm 2000, WHO gộp phân loại của Lauren (1965), bổ sung loại mô học thể tế bào nhỏ và các thể mô học được mã hóa vào trong một phân loại mới [96]. Theo phân loại này, cùng với thể ruột và thể lan tỏa, UTBMDD được phân chia thành 9 thể mô bệnh học với các mã ICD khác nhau. Áp dụng tiêu chuẩn phân loại thể mô bệnh học UTBMDD của WHO (2000) vào trong nghiên cứu, chúng tôi đã ghi nhận được 4 thể mô bệnh học, bao gồm thể ống nhỏ, thể tế bào nhẵn, thể nhày và thể không biệt hóa. Trong đó, thể ống nhỏ gặp nhiều nhất, chiếm tỷ lệ 52,04%, tiếp theo là thể không biệt hóa (22,45%), thể tế bào nhẵn (17,35%), ít gặp nhất là thể nhày (8,16%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.6) tương đồng với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác ở trong và ngoài nước,

- Nghiên cứu ở trong nước:

Nghiên cứu của Lê Việt Nho (2014) trên 90 bệnh nhân UTBMDD cũng ghi nhận thể ống nhỏ cũng là tổn thương hay gặp nhất (53,30%), tiếp theo là thể không biệt hóa (23,30%), thể tế bào nhẵn (15,60%) và thể nhày (7,80%) [129]. Nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016) thấy tỷ lệ thể ống nhỏ là 61,90%, thể tế bào nhẵn là 11,90%, thể nhày là 10,4%, thể nhú là 9,0%, các thể tế bào vảy, tuyến vảy và tế bào nhỏ chiếm tỷ lệ rất thấp (6,70%) [139]. Nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Hùng và CS (2016) trên 56 bệnh nhân UTBMDD điều trị phẫu thuật cũng ghi nhận thể ống nhỏ chiếm đa số (53,60%), tiếp theo là thể kém biệt hóa (25,00%), thể nhày (10,70%), thể tế bào nhẵn (8,90%), thể nhú (1,80%) [147].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

Tại Hàn Quốc, nghiên cứu của Lee K. E. và CS trên 841 bệnh nhân UTBMDD thấy rằng, thể ống nhỏ và thể nhú hay gặp nhất, chiếm tỷ lệ 65,10%, tiếp theo là thể tế bào nhẵn (16,60%) và thể nhày (5,10%), các thể khác chiếm tỷ lệ rất thấp (3,30%) [145].

Tại Rumani, nghiên cứu của Lazăr D. và CS (2009) trên 61 bệnh nhân UTBMDD thấy thể ống nhỏ chiếm tỷ lệ cao nhất (46%), thể nú là 8,2%, thể tế bào nhẵn là 27,8%, thể nhày là 13,1% và thể không biệt hóa là 4,9% [152].

Như vậy, mặc dù có sự khác nhau về tỷ lệ các thể MBH của UTBMDD theo phân loại của WHO (2000) giữa các nghiên cứu ở trong và ngoài nước, nhưng toàn bộ các nghiên cứu đều ghi nhận thể ống nhỏ là tổn thương hay gặp nhất. Đối chiếu theo phân loại Lauren, thể ống nhỏ thường thuộc thể ruột, còn thể tế bào nhẵn, thể không biệt hóa thường thuộc thể lan tỏa. Điều này góp phần giải thích cho kết quả tỷ lệ UTBMDD thể ruột cao hơn thể lan tỏa.

4.1.5.3. Đặc điểm giai đoạn TNM theo phân loại AJCC(2010)

❖ Đặc điểm giai đoạn xâm lấn khối u

Giai đoạn xâm lấn khối u theo bề dày thành dạ dày có vai trò rất quan trọng trong điều trị và tiên lượng UTBMDD. Khi khối u xâm lấn càng sâu thì tiên lượng sẽ càng xấu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá mức độ xâm lấn khối u dựa trên kết quả giải phẫu bệnh mẫu mô UTBMDD thu được sau phẫu thuật theo tiêu chuẩn AJCC phiên bản 7 (2010) [97].

So với phiên bản 6, phân loại của AJCC phiên bản 7 (2010) có một số thay đổi như sau:

Trong phiên bản 7 giai đoạn xâm lấn T1 được chia thành T1a và T1b. T1a là khi khối u xâm lấn đến lớp cơ niêm và T1b là khi khối u xâm lấn đến lớp dưới biểu mô. Sự phân chia này rất quan trọng, bởi UTBMDD không như các ung thư khác, đã có khuynh hướng di căn hạch bạch huyết ngay khi khối u mới giới hạn ở lớp nội niêm mạc dưới biểu mô (lamina propria). Tại phiên bản 6, giai đoạn xâm lấn T2 được chia thành T2a và T2b, tương ứng mức xâm lấn tới lớp cơ và dưới thanh mạc nhưng tại phiên bản 7, khối u xâm lấn đến lớp dưới thanh mạc được xếp vào độ T3, điều này phản ánh tiên lượng xấu hơn của khối u xâm lấn sâu hơn. Khi tăng độ từ T2 lên T3 đã đặt khối u vào nhóm cao hơn ở tất cả các giai đoạn. Một thực tế quan trọng nữa cần chú ý là,

giai đoạn xâm lấn T3 cũng bao gồm các khối u xâm lấn vào đại tràng hoặc dây chằng dạ dày-gan mà không xuyên qua phúc mạc tạng. Phân loại giai đoạn các khối u xuyên qua lớp thanh mạc cũng có sự thay đổi. Ở phiên bản 6, những khối u này được xếp vào giai đoạn xâm lấn T3 nhưng ở phiên bản 7 đã xếp vào giai đoạn T4a. Những khối u xâm lấn vào các cơ quan lân cận được xếp vào giai đoạn T4b. Với tiêu chuẩn phân loại giai đoạn 7, khi UTBMDD ở giai đoạn xâm lấn T4b và có dương tính hạch vẫn có thể xếp vào giai đoạn 3.

Trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.8), UTBMDD ở giai đoạn T3 chiếm tỷ lệ cao nhất (47,96%), tiếp theo là giai đoạn T4 (31,63%) và thấp nhất là giai đoạn T2 (20,41%), không gặp giai đoạn T0, T1. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một số tác giả ở trong và ngoài nước,

- Nghiên cứu ở trong nước:

Nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) thấy hầu hết UTBMDD có xâm lấn khối u ở giai đoạn T2-T4, chiếm tỷ lệ 97,70%, trong khi chỉ có 1 trường hợp ở giai đoạn T1 chiếm tỷ lệ 2,30% [129]. Nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) thấy, 100% UTBMDD có xâm lấn khối u ở giai đoạn T2 đến T4 [130].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

Nghiên cứu của Hou Y. và CS (2018) tại Trung Quốc thấy 17,6% UTBMDD xâm lấn khối u ở giai đoạn T2, ở giai đoạn T3 là 44,30%, ở giai đoạn T4 là 27,6%; chỉ có 10,4% ở T1 [153]. Nghiên cứu của Jun J. và CS (2019) tại Trung Quốc thấy tỷ lệ UTBMDD xâm lấn khối u giai đoạn T1 là 3,5%, giai đoạn T2 là 14,0%, T3 là 53,5% và T4 là 29,1% [151].

Từ kết quả của các nghiên cứu ở trên, có thể nhận xét rằng, hầu hết bệnh nhân UTBMDD ở Việt Nam và Trung Quốc khi đến khám, điều trị đã ở giai đoạn khối u đã xâm lấn qua lớp niêm mạc.

❖ Đặc điểm di căn hạch vùng

Đánh giá giai đoạn di căn hạch vùng rất quan trọng trong chẩn đoán, điều trị, tiên lượng ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng. Trong

nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng tiêu chuẩn đánh giá di căn hạch vùng của AJCC phiên bản 7 năm 2010. Mặc dù trong phân loại này các giai đoạn di căn hạch không thay đổi so với phiên bản 6 (cũng bao gồm giai đoạn N0, N1, N2 và N3) nhưng lại có sự thay đổi đáng kể về số lượng hạch di căn ở từng giai đoạn. Theo phiên bản 7, giai đoạn N1 là khi di căn 1-2 nhóm hạch, trong khi ở phiên bản 6 di căn 6 hạch mới được xem là N1. Giai đoạn N2 trong phiên bản 7 phản ánh tình trạng di căn tối đa 6 hạch, thấp hơn rất nhiều so với phiên bản 6, khi di căn 15 hạch mới công nhận là giai đoạn N2. Tương tự, giai đoạn N3 theo phiên bản 7 là khi di căn từ 7 hạch trở lên, trong khi phiên bản 6 yêu cầu trên 15 hạch. Những thay đổi về số lượng hạch di căn ở từng giai đoạn di căn hạch dựa trên những thay đổi có ý nghĩa về khả năng sống thêm của bệnh nhân và là yếu tố tiên lượng quan trọng liên quan với số lượng hạch. Những thay đổi về số lượng hạch di căn ở giai đoạn N3 giữa phiên bản 7 và phiên bản 6 có ý nghĩa rất quan trọng đối với UTBMDD với các lý do sau, theo phiên bản 6, khi bệnh nhân di căn hạch giai đoạn N3 sẽ thuộc giai đoạn IV của ung thư, nhưng theo phiên bản 7, bệnh nhân di căn hạch giai đoạn N3 có thể ở giai đoạn II hoặc giai đoạn III của ung thư. Như vậy, mặc dù bệnh nhân UTBMDD có di căn hạch ở giai đoạn cao là một dấu hiệu tiên lượng xấu nhưng có thể vẫn chưa xếp vào giai đoạn IV của ung thư. Ngoài ra, có thêm một sự thay đổi nữa giữa phiên bản 7 và phiên bản 6 là, có thể chuyển giai đoạn di căn hạch. Theo phiên bản 7, khi phẫu thuật nếu bệnh nhân UTBMDD có số hạch di căn không đủ số hạch tối thiểu so với quy định thì có thể giảm giai đoạn di căn. Những thay đổi trong phân loại giai đoạn di căn hạch của AJCC phiên bản 7 đã yêu cầu số lượng hạch ít hơn cho mỗi giai đoạn di căn hạch N tương ứng so với phiên bản 6. Điều này giúp cho bệnh nhân UTBMDD không bị xếp dưới giai đoạn.

Trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.8), số bệnh nhân UTBMDD di căn 3-6 hạch (giai đoạn N2) chiếm tỷ lệ cao nhất (64,29%), tiếp theo là di căn

1-2 hạch (giai đoạn N1) chiếm tỷ lệ 18,37%, di căn trên 7 hạch (giai đoạn N3) là 11,22%. Tỷ lệ chưa có di căn hạch (giai đoạn N0) rất thấp (6,12%). So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với nghiên cứu của một số tác giả trong và ngoài nước thấy có sự phù hợp và khác biệt như sau,

- Nghiên cứu ở trong nước:

Nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) thấy tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 khá cao (36,4%), trong khi tỷ lệ di căn hạch giai đoạn N1 là 43,2% và N2 là 20,4%, không gặp giai đoạn N3 [129]; nghiên cứu của Đặng Văn Thời (2017) thấy tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 là 6,0%, giai đoạn N1 là 44,0%, N2 là 48,0% và giai đoạn N3 là 2,0% [131]. Nghiên cứu của Nguyễn Quang Bộ (2017) thấy tỷ lệ di căn hạch ở giai đoạn N0 là 58,50%, giai đoạn N1 và N2 lần lượt là 28,30% và 13,20%, không gặp giai đoạn N3 [130].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

Nghiên cứu của Hou Y. và CS (2018) thấy tỷ lệ di căn hạch giai đoạn N0 là 30,3%, giai đoạn N1 là 20,8%, N2 là 15,4% và giai đoạn N3 là 33,5% [153]. Nghiên cứu của Jun J. và CS (2019) thấy, tỷ lệ UTBMDD di căn hạch giai đoạn N0 là 22,1%, N1 là 19,8%, N2 là 27,9% và N3 là 30,2% [151].

Sự khác biệt về tỷ lệ các giai đoạn di căn hạch giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về đối tượng, cỡ mẫu và tiêu chuẩn đánh giá giai đoạn di căn hạch vùng được sử dụng trong từng nghiên cứu.

❖ Đặc điểm di căn ung thư

Khác với xếp giai đoạn xâm lấn khối u và di căn hạch vùng, tiêu chuẩn xếp giai đoạn di căn ung thư trong phân loại của AJCC phiên bản 7 (2010) không có sự thay đổi so với phiên bản 6. Trong nghiên cứu này, có 4 bệnh nhân được phát hiện có di căn xa trong cuộc phẫu thuật, với 1 bệnh nhân khối u xâm lấn phúc mạc và buồng trứng, 3 bệnh nhân khối u xâm lấn đầu tụy, mạc treo. Mặc dù trước phẫu thuật, số bệnh nhân này đã chụp cắt lớp vi tính ổ bụng nhưng kết quả chụp không phát hiện bệnh nhân có di căn xa, do đó bệnh

nhân vẫn có chỉ định phẫu thuật cắt bỏ khối u. Số bệnh nhân UTBMDD di căn xa trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014). Trong nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014), tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD phẫu thuật ở giai đoạn di căn xa khá cao (27,3%) [129]. Theo y văn, chụp cắt lớp vi tính có ưu điểm trong xác định vị trí, tính chất khu trú hay lan tràn của ung thư, nhưng lại có hạn chế trong chẩn đoán giai đoạn xâm lấn, và giai đoạn di căn hạch, và không phát hiện được di căn xa. do đó chụp cắt lớp vi tính không được sử dụng để chẩn đoán giai đoạn UTBMDD trước mổ.

❖ Liên quan giữa giai đoạn xâm lấn khối u và di căn hạch vùng

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.7 cho thấy, khi khối u xâm lấn càng sâu thì số hạch di căn càng lớn. Ở giai đoạn T2, chỉ có 15,0% số bệnh nhân chưa có di căn hạch trong khi có đến 30,0% di căn hạch ở giai đoạn N1 và 55,0% di căn hạch ở giai đoạn N2. Ở giai đoạn T3, chỉ có 4,26 % số bệnh nhân chưa có di căn hạch, trong khi có 14,89% di căn hạch giai đoạn N1, 68,09% di căn hạch giai đoạn N2 và 12,76% di căn hạch giai đoạn N3. Khi khối u xâm lấn ở giai đoạn T4, có 3,23% số bệnh nhân chưa di căn hạch (giai đoạn N0), có 16,13% di căn hạch ở giai đoạn N1, trong khi có đến 64,51% di căn hạch ở giai đoạn N2, và 16,13% di căn hạch ở giai đoạn N3.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Bostanci E. B. và CS (2003) thực hiện trên 359 bệnh nhân UTBMDD. Trong nghiên cứu của Bostanci E. B và CS (2003), tỷ lệ di căn hạch khi khối u xâm lấn dưới niêm mạc (SM-Submucose) là 7,0%, khối u xâm lấn lớp cơ (PM-Propria muscularis) là 11,0%, xâm lấn lớp dưới thanh mạc (SS-Subserosa) là 80,0% và xâm lấn lớp ngoài thanh mạc (SE- Serosa extended) là 2,0% [154].

4.1.6. Đặc điểm giai đoạn ung thư

Hiện nay, tỷ lệ phát hiện UTBMDD sớm ở nước ta rất thấp, khoảng trên dưới 10% tổng số UTBMDD. Hàn Quốc, Nhật Bản có tỷ lệ phát hiện UTBMDD sớm cao hơn rất nhiều cho nên tỷ lệ bệnh nhân UTBMDD có thời

gian sống thêm sau mổ trên 5 năm là rất cao. Nguyên nhân của vấn đề gồm nhiều lý do, song lý do chủ yếu vẫn là quan điểm của cả bệnh nhân và thầy thuốc đối với khuyến cáo nên tiến hành tầm soát UTBMDD bằng nội soi dạ dày ở những đối tượng có nguy cơ.

Theo tiêu chuẩn phân loại giai đoạn ung thư của AJCC(2010) [97], trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.9), số bệnh nhân UTBMDD phẫu thuật ở giai đoạn III là 66,33%, chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp theo là giai đoạn II (25,51%), giai đoạn I và giai đoạn IV chiếm tỷ lệ rất thấp (4,08%). Đối với ung thư nói chung và UTBMDD nói riêng, giai đoạn IV đã phản ánh tình trạng rất nặng của bệnh. Vì thế bệnh nhân hoặc đã tử vong, hoặc không có chỉ định điều trị phẫu thuật. Điều này giải thích cho tình trạng UTBMDD giai đoạn IV chiếm tỷ lệ thấp trong nhiều nghiên cứu.

So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với kết quả nghiên cứu của một số tác giả ở trong và ngoài nước, thấy có sự phù hợp và chưa phù hợp,

- Nghiên cứu ở trong nước:

Nghiên cứu của Lê Viết Nho (2014) thấy UTBMDD phẫu thuật ở giai đoạn II chiếm tỷ lệ cao nhất (36,4%), tiếp theo là giai đoạn IV (27,3%), giai đoạn III (25,0%), thấp nhất là giai đoạn I (11,4%) [129]. Trong nghiên cứu của Hoàng Việt Dũng và CS (2016), tỷ lệ UTBMDD giai đoạn I là 27,6%, giai đoạn II là 29,1%, giai đoạn III là 21,6%, giai đoạn IV là 21,6% [139].

- Nghiên cứu ở ngoài nước:

Nghiên cứu của Sakurai K. và CS (2015) thấy tỷ lệ UTBMDD giai đoạn III và giai đoạn IV ở nhóm UTBMDD ≥ 80 tuổi là 36,90%, nhóm >60 tuổi là 27,30% [155], nghiên cứu của Jun J. và CS (2019) thấy tỷ lệ UTBMDD giai đoạn I là 11,60%, giai đoạn II là 25,60% và giai đoạn III là 62,78% [151].

Sự khác biệt về tỷ lệ các giai đoạn ung thư giữa các nghiên cứu có thể do áp dụng tiêu chuẩn chẩn đoán giai đoạn ung thư khác nhau hoặc do sự khác nhau về cỡ mẫu, đối tượng nghiên cứu. Tuy vậy, kết quả của các nghiên cứu

đều có điểm chung là đa số bệnh nhân UTBMDD phẫu thuật ở giai đoạn II đến giai đoạn IV. Điều này cho thấy khi bệnh nhân UTBMDD đến khám thường đã ở giai đoạn muộn, tiên lượng xấu.

4.1.7. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

Methyl hóa ADN là hiện tượng một gốc methyl (-CH₃) được gắn vào cacbon số 5 của cytosin dưới xúc tác của enzym DNAmethyltransferases (DNMTs) trên sợi ADN. Methyl hóa ADN làm thay đổi biểu hiện gen, cụ thể là làm giảm biểu hiện của các gen ức chế khối u, được phát hiện trong nhiều loại ung thư, bao gồm cả UTBMDD [10].

Có nhiều phương pháp kỹ thuật phát hiện methyl hóa ADN. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kỹ thuật PCR đặc hiệu methyl (MSP) để phát hiện methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong lượng ADN tách chiết từ mẫu mô UTBMDD thu được từ 98 bệnh nhân UTBMDD nguyên phát phẫu thuật điều trị triệt căn và mẫu mô sinh thiết khi nội soi dạ dày thu được ở 40 bệnh nhân VDDMT.

4.1.7.1. Đánh giá chất lượng ADN sau xử lý bisulfit

Độ chính xác của kết quả xét nghiệm methyl hóa bằng phương pháp MSP phụ thuộc vào độ tinh sạch của lượng ADN tổng số thu được sau xử lý bisulfit. Nếu xử lý bisulfit không hoàn toàn thì kết quả sẽ có những trường hợp dương tính giả do cytosin không được chuyển hết thành uracil.

Để đánh giá chất lượng ADN tổng số thu được sau xử lý bisulfit, chúng tôi sử dụng cặp môi nhân gen *β-globin* theo quy trình của nhà sản xuất. Gen *β-globin* không bị methyl hóa cho nên trình tự nucleotid sau khi xử lý bisulfit sẽ có tất cả cytosin chuyển thành uracil, do đó cặp môi được thiết kế theo trình tự ADN gốc không thể bắt cặp với ADN đã được xử lý bisulfit. Vì vậy, nếu quá trình xử lý bisulfit xảy ra hoàn toàn thì không có sản phẩm PCR, ngược lại những mẫu ADN không được xử lý bisulfit hoàn toàn sẽ xuất hiện băng điện di có kích thước 97bp. Kết quả điện di sản phẩm PCR lượng ADN

thu được sau tách chiết từ các mẫu UTBMDD, VDDMT với gen β -globin trước xử lý bisulfit tại Hình 3.3 và Hình 3.5 cho thấy các khuôn ADN tách chiết từ các mẫu mô UTBMDD và mẫu mô VDDMT đều cho phép khuếch đại gen β -globin với kích thước 97bp. Điều này chứng tỏ lượng ADN tổng số sau tách chiết có chất lượng đảm bảo cho xử lý bisulfit. Kết quả điện di sản phẩm PCR của các mẫu UTBMDD, VDDMT với gen β -globin sau xử lý bisulfit tại Hình 3.4 và Hình 3.6 không thu được sản phẩm có kích thước 97bp, điều này chứng tỏ các mẫu ADN tổng số đã được xử lý hoàn toàn với bisulfit, đạt yêu cầu để thực hiện kỹ thuật MSP.

4.1.7.2. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*

Gen *SFRP2* là gen ức chế khối u thông qua chức năng điều biến âm tính con đường tín hiệu Wnt, có liên quan đến nhiều loại ung thư, trong đó có UTBMDD. Nhiều nghiên cứu về di truyền ngoại gen đã chỉ ra rằng, methyl hóa tại các đảo CpG vùng promoter sẽ làm bất hoạt gen *SFRP2*, từ đó dẫn đến hình thành, phát triển UTBMDD [11], [13] [16].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.10 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD là 74,49%, tỷ lệ không methyl hóa gen là 25,51%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (OR= 6,06 95% CI 2,72-13,30). Như vậy, có thể nói rằng, nguy cơ UTBMDD ở nhóm có methyl hóa gen *SFRP2* cao gấp 6,06 lần so với nhóm không methyl hóa. So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả ở ngoài nước, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Cheng Y. Y. (2007) và Zhang X. (2014). Trong nghiên cứu của Cheng Y. Y. và CS (2007), methyl hóa gen *SFRP2* gặp ở 22/30 (73,3%) mẫu mô ung thư và 6/30 (20%) mẫu mô lành tính liền kề, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ [13]; nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) trên 57 bệnh nhân UTBMDD và 42 bệnh nhân bệnh dạ dày lành tính, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm UTBMDD là 71,93%, và nhóm chứng là 42,86% (OR=3,42 95% CI 1, 47-7,92) [16].

4.1.7.3. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180*

Gen *RNF180* là gen ức chế khối u do có hoạt tính E3 ubiquitin ligase, có liên quan đến quá trình hình thành và phát triển UTBMDD [12]. Nghiên cứu của nhiều tác giả trên mẫu mô và/hoặc mẫu huyết thanh của bệnh nhân UTBMDD đã ghi nhận có mối liên quan giữa tăng methyl hóa gen *RNF180* với UTBMDD, và tăng methyl hóa gen *RNF180* là yếu tố tiên lượng xấu ở bệnh nhân UTBMDD [15], [16].

Nghiên cứu của Cheung K. F. và CS (2012) trên 198 mẫu mô UTBMDD nguyên phát, 20 mẫu mô dị sản ruột (DSR) và 23 mẫu mô dạ dày ở người bình thường thấy tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD là 76%, ở nhóm DSR là 55%, không gặp methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm người bình thường. Trong nghiên cứu này, Cheung K.F và CS đã ghi nhận methyl hóa vùng promoter sẽ làm bất hoạt hoặc giảm biểu hiện của gen *RNF180* ở 6/7 dòng tế bào UTBMDD, đồng thời cũng ghi nhận sự biểu hiện gen *RNF180* được khôi phục bằng chất ức chế methyl hóa methyltransferase inhibito. Theo Cheung K. F. (2012), methyl hóa gen *RNF180* ở các vị trí CpG (-116, -80, +97 và + 102) có liên quan đến tiên lượng xấu ở bệnh nhân UTBMDD [15].

Nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) trên mẫu huyết thanh của 57 bệnh nhân UTBMDD và nhóm chứng gồm 42 bệnh nhân có bệnh dạ dày lành tính thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD là 57,89% và nhóm chứng là 23,81% , nguy cơ UTBMDD ở nhóm có methyl hóa gen *RNF180* tăng cao gấp 4,40 lần so với không methyl hóa (OR= 4,40 95% CI 1,82-10,65 [16].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.11 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD là 61,22%, tỷ lệ không methyl hóa là 38,78%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (OR=5,44 95% CI 2,33-12,68). Như vậy, nguy cơ UTBMDD ở nhóm có methyl hóa gen *RNF180* cao gấp 5,44 lần nhóm không có methyl hóa.

Mặc dù tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của Cheung K. F. và CS (2012) [15], và cao hơn nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16] nhưng kết quả các nghiên cứu đều thống nhất nhận định methyl hóa gen *RNF180* là làm tăng nguy cơ của UTBMDD. Sự khác biệt về tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về cỡ mẫu, loại mẫu của từng nghiên cứu.

4.1.7.4. Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen *SFRP2* và *RNF180*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.12 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và *RNF180* ở nhóm UTBMDD cao hơn nhóm methyl hóa một trong hai gen, tương ứng là 66,25% so với 33,75%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (OR=3,27 95% CI 1,07-9,96). Như vậy, có thể nói rằng, nguy cơ UTBMDD ở nhóm đồng methyl hóa gen hai gen cao hơn 3,27 lần so với nhóm có methyl hóa một trong hai gen này.

Kết quả của chúng tôi có sự phù hợp với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16]. Theo Zhang X. và CS (2014), methyl hóa đồng thời gen *SFRP2* và gen *RNF180* làm cho nguy cơ UTBMDD tăng lên rõ rệt, với OR=5,57 (95% CI 2,13-14,57), trong khi methyl hóa đơn thuần gen *RNF180* có OR=4,4 (95% CI 1,82 -10,65) hoặc methyl hóa đơn thuần gen *SFRP2* có OR=3,42 (95% CI 1,47 -7,92) [16]. Từ đó Zhang X. và CS (2014) [16] đã đưa ra nhận xét rằng, đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* có nhiều tiềm năng là chỉ dấu sinh học ở mức độ phân tử cho chẩn đoán UTBMDD.

4.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, mô bệnh học

4.2.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với giới tính

4.2.1.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với giới tính

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.13 cho thấy, mặc dù tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nam cao hơn so với nữ (tương ứng là 75,0% và 73,33%) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Trong

ngiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nam thấp hơn nữ (tương ứng là 69,23% và 77,78%), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16]. Như vậy, mặc dù tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nam và nữ trong nghiên cứu của chúng tôi không tương đồng với tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nam và nữ trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) nhưng kết quả nghiên cứu đều có chung kết luận là không có mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giới tính.

4.2.1.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với giới tính

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.20 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nam cao hơn nữ, tương ứng là 63,24% và 56,67%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nam lại thấp hơn nữ giới (tương ứng là 51,28% và 72,22%), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16]. Như vậy, mặc dù tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nam giới và nữ giới trong nghiên cứu của chúng tôi không tương đồng với tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nam và nữ trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16] nhưng hai nghiên cứu có chung kết luận là không có mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giới tính.

4.2.1.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen *SFRP2* và *RNF180* với giới tính

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.27 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và *RNF180* ở nam có xu hướng thấp hơn so với nữ, với tỷ lệ tương ứng là 64,91% và 69,57%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

4.2.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với tuổi

4.2.2.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với tuổi

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.13 cho thấy tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm < 60 tuổi cao hơn nhóm ≥ 60 tuổi (tương ứng

là 82,50% so với 68,97%), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm <60 tuổi là 66,67%, ở nhóm ≥ 60 tuổi là 75,76%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16]. Như vậy, mặc dù tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm <60 tuổi và nhóm ≥ 60 tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi không tương đồng với tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm <60 tuổi và nhóm ≥ 60 tuổi trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16] nhưng hai nghiên cứu có chung kết luận là không có mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với yếu tố tuổi của bệnh nhân UTBMDD.

4.2.2.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với tuổi

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.20 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm ≥ 60 tuổi có xu hướng cao hơn nhóm <60 tuổi (tương ứng là 62,07% so với 60,0%), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* theo nhóm tuổi <60 tuổi và ≥ 60 tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) với tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm ≥ 60 tuổi cao hơn nhóm <60 tuổi, tương ứng là 60,61% và 54,17%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16]. Nghiên cứu của Cheung K. F. và CS (2012) thấy không có mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với tuổi với $HR=1,00$ (95% CI 0,98-1,02) [15]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của các tác giả đều thống nhất không có mối liên hệ giữa methyl hóa gen *RNF180* với yếu tố tuổi của bệnh nhân UTBMDD.

4.2.2.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với tuổi

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.27 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD <60 tuổi có xu hướng cao hơn nhóm bệnh nhân ≥ 60 tuổi, tương ứng là 67,65% và 66,25%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.2.3. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với vị trí ung thư

4.2.3.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với vị trí ung thư

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.14 cho thấy, 2/2 bệnh nhân UTBMDD tâm vị có methyl hóa gen *SFRP2* và 73,96% UTBMDD không tâm vị có methyl hóa gen *SFRP2*. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với vị trí ung thư.

4.2.3.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với vị trí ung thư

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.21 cho thấy, 2/2 bệnh nhân UTBMDD tâm vị có methyl hóa gen *RNF180*, trong khi 60,42% số bệnh nhân UTBMDD không tâm vị có methyl hóa gen *RNF180*, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với vị trí ung thư.

4.2.3.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với vị trí ung thư

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.28 thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD tâm vị cao hơn nhóm UTBMDD không tâm vị, tương ứng là 100% và 65,38%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với vị trí ung thư.

4.2.4. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa *SFRP2*, *RNF180* với dạng tổn thương

4.2.4.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với dạng tổn thương

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.15 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao nhất ở dạng loét thâm nhiễm (84,21%), tiếp theo là dạng sùi (76,92%), dạng sùi có thâm nhiễm (72,55%), tỷ lệ thấp nhất thấy ở dạng loét (66,67%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tuy vậy,

để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với dạng tổn thương ung thư cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

4.2.4.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với dạng tổn thương

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.22 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* gặp nhiều nhất ở bệnh nhân UTBMDD dạng sùi có thâm nhiễm, chiếm tỷ lệ 66,67%, tiếp theo là dạng thâm nhiễm (63,16%), dạng loét (53,33%). Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* thấp nhất ở dạng sùi (46,15%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với dạng tổn thương ung thư.

4.2.4.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với dạng tổn thương

Kết quả nghiên cứu tại Bảng 3.29 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* cao nhất ở dạng sùi có thâm nhiễm (69,05%), tiếp theo là dạng thâm nhiễm (64,71%), dạng loét (63,64%), thấp nhất là dạng sùi (60,0%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với dạng tổn thương ung thư.

4.2.5. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa *SFRP2*, *RNF180* với thể mô bệnh học

4.2.5.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với thể mô bệnh học

- Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với thể mô bệnh học UTBMDD theo phân loại Lauren (1965), kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.16 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở thể ruột cao hơn thể lan tỏa, tương ứng là 80,77% và 67,39%. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

- Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với thể UTBMDD theo phân loại WHO (2000), kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.17 cho thấy, methyl hóa gen *SFRP2* gặp nhiều nhất ở thể ống nhỏ, chiếm tỷ lệ 78,43%, tiếp theo là thể nhày và thể không biệt hóa với tỷ lệ tương ứng là 75,0% và

72,73%, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* thấp nhất ở thể tế bào nhân (64,71%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

4.2.5.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với thể mô bệnh học

- Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với thể MBH theo phân loại Lauren (1965), kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.23 cho thấy, mặc dù thể ruột có tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao hơn thể lan tỏa, tương ứng là 65,38% và 56,52% nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Cheung K. F. và CS (2012) với sự khác biệt về tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* giữa thể ruột và thể lan tỏa không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [15].

- Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với thể MBH theo phân loại WHO (2000), kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.24 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao nhất ở thể nhày, là 75,0%, tiếp theo là thể ống nhỏ và thể tế bào nhân với tỷ lệ tương ứng là 64,71% và 58,82%. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* thấp nhất ở thể không biệt hóa, là 50,0%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tuy vậy, cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với thể mô bệnh học theo WHO (2000).

4.2.5.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học

- Về mối liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965), kết quả tại Bảng 3.30 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* trong nhóm UTBMDD thể ruột thấp hơn so với thể lan tỏa, tương ứng là 65,22% và 67,65%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

- Về mối liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với thể mô bệnh học theo phân loại WHO (2000), kết quả tại Bảng 3.31 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* cao nhất ở thể tế bào nhân (75,0%), tiếp theo là thể ống nhỏ và thể không biệt hóa với tỷ lệ tương ứng là 69,77% và 58,82%.

Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen thấp nhất ở thể nhầy, là 50,0%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

4.2.6. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với giai đoạn TNM theo phân loại AJCC (2010)

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chẩn đoán giai đoạn xâm lấn khối u, giai đoạn di căn hạch theo kết quả mô bệnh học, chẩn đoán giai đoạn di căn ung thư theo chẩn đoán phẫu thuật.

4.2.6.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn TNM

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn xâm lấn khối u trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.18 cho thấy, nhóm bệnh nhân UTBMDD xâm lấn khối u giai đoạn T3-T4 có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao hơn giai đoạn T1-T2, tương ứng là 79,49% và 55,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi không tương đồng với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) với tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD xâm lấn khối u ở giai đoạn T1-T2 là 75,0%, ở giai đoạn T3-T4 là 70,27%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16].

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn di căn hạch vùng trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.18 cho thấy, nhóm di căn hạch vùng giai đoạn N2-N3 có tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* cao hơn nhóm di căn hạch vùng giai đoạn N0-N1, với tỷ lệ tương ứng là 83,78% và 45,83%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,05$. Trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm UTBMDD ở giai đoạn N0 là 25,0%, ở giai đoạn N1-N3 là 69,70%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16].

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn di căn ung thư trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.18 cho thấy, 4/4 bệnh nhân UTBMDD di căn xa có methyl hóa gen *SFRP2*, trong khi tỷ lệ methyl

hóa gen *SFRP2* ở nhóm chưa có di căn là 73,40%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), với tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở nhóm UTBMDD di căn ở giai đoạn M1 là 85,71%, ở nhóm UTBMDD ở giai đoạn M0 là 70,0%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [16].

Như vậy, nhận định về mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn xâm lấn khối u và giai đoạn di căn hạch vùng của bệnh nhân UTBMDD trong nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16]. Sự khác biệt này có thể giải thích bằng sự khác nhau về cỡ mẫu, cách lấy mẫu nghiên cứu của các tác giả. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi và Zhang X. và CS (2014) thống nhất nhận định không có mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn di căn ung thư.

4.2.6.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn TNM

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn xâm lấn khối u trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.25 cho thấy, tình trạng methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD xâm lấn khối u ở giai đoạn T3-T4 gặp nhiều hơn giai đoạn T1-T2 với tỷ lệ tương ứng là 67,95% và 35,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), với tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm bệnh nhân UTBMDD xâm lấn khối u ở giai đoạn T1-T2 là 30,0%, ở giai đoạn T3-T4 là 72,97%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ [16].

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn di căn hạch trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.25 cho thấy, nhóm di căn hạch giai đoạn N2-N3 có tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* cao hơn giai đoạn N0-N1, với tỷ lệ tương ứng là 75,68% và 16,67%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,01$. Trong nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014), tỷ lệ

methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD chưa có di căn hạch là 37,5%, ở các độ N1-N3 là 72,73%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ [16].

Về mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn di căn ung thư trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.25 cho thấy, 4/4 bệnh nhân UTBMDD di căn xa có methyl hóa gen *RNF180*, trong khi chỉ có 59,57% số bệnh nhân UTBMDD chưa di căn xa có methyl hóa gen *RNF180*, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) [16].

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Zhang X. và CS (2014) đều ghi nhận có mối liên quan chặt chẽ giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn xâm lấn khối u và giai đoạn di căn hạch vùng [16].

4.2.6.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn TNM

Về mối liên quan giữa đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* với giai đoạn xâm lấn khối u trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả trình bày tại Bảng 3.32 cho thấy, nhóm bệnh nhân UTBMDD xâm lấn khối u giai đoạn T3-T4 có tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen cao hơn giai đoạn T1-T2, với tỷ lệ tương ứng là 71,64% và 38,46%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Về mối liên quan giữa đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* với giai đoạn di căn hạch vùng trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.32 cho thấy, nhóm bệnh nhân UTBMDD di căn hạch giai đoạn N2-N3 có tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen cao hơn giai đoạn N0-N1 với tỷ lệ tương ứng là 76,12% và 15,38%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

Về mối liên quan giữa đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* với giai đoạn di căn ung thư trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả tại Bảng 3.32 cho thấy, 4/4 số bệnh nhân UTBMDD di căn xa có đồng methyl hóa 2 gen, trong khi có 64,47% ở giai đoạn M0 có đồng methyl hóa. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.2.7. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với giai đoạn ung thư theo phân loại AJCC (2010)

*4.2.7.1. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn ung thư*

Áp dụng tiêu chuẩn phân giai đoạn ung thư của AJCC (2010) [97], kết quả nghiên cứu tại Bảng 3.19 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở giai đoạn III-IV cao hơn giai đoạn I-II, tương ứng là 85,51% và 48,28%, với $p < 0,01$. Như vậy, có mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn UTBMDD, tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* tăng lên cùng với độ tăng giai đoạn UTBMDD. Tuy vậy, để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn ung thư cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

*4.2.7.2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn ung thư*

Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng tiêu chuẩn phân giai đoạn ung thư của AJCC (2010) [97]. Kết quả nghiên cứu Bảng 3.26 cho thấy, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở giai đoạn III-IV cao hơn giai đoạn I-II, tương ứng là 73,91% và 31,03%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,01$. Như vậy, có mối liên quan chặt chẽ giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn UTBMDD, tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* tăng lên cùng với độ tăng giai đoạn ung thư biểu mô dạ dày. Tuy vậy, để khẳng định mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn ung thư dạ dày cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

4.2.7.3. Liên quan giữa tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn ung thư

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại Bảng 3.33 cho thấy, tỷ lệ đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* ở giai đoạn III-IV cao hơn rất nhiều so với giai đoạn I-II, tương ứng là 74,60% và 35,29%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,01$. Như vậy, có mối liên quan chặt chẽ giữa đồng methyl hóa gen *SFRP2* và gen *RNF180* với giai đoạn UTBMDD. Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen tăng lên cùng với độ tăng giai đoạn UTBMDD. Tuy vậy, để khẳng định mối liên quan giữa đồng methyl hóa 2 gen với giai đoạn ung thư dạ dày cần triển khai những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI

Mặc dù không có sự khác biệt về tỷ lệ giới tính, tuổi trung bình, các nhóm tuổi <40; 40-49; 50-59; 60-69 và ≥ 70 tuổi; nhóm <60 tuổi và ≥ 60 tuổi giữa nhóm bệnh nhân UTBMDD và nhóm bệnh nhân VDDMT nhưng do điều kiện nghiên cứu có một số khó khăn cho nên chúng tôi chỉ lựa chọn 40 bệnh nhân VDDMT vào nhóm chứng. Với 40 bệnh nhân VDDMT, nghiên cứu này chưa đánh giá, phân tích được tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* ở các dạng, mức độ VDDMT theo phân loại Sydney.

Do gặp khó khăn về điều kiện nghiên cứu cho nên chúng tôi chưa xác định được tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong mẫu huyết thanh của bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày để đánh giá sự phù hợp về tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trong mẫu mô và trong mẫu huyết thanh của bệnh nhân UTBMDD.

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học và tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

1.1 Đặc điểm lâm sàng, nội soi, mô bệnh học

- UTBMDD gặp ở nam nhiều hơn nữ, tỷ lệ nam/nữ = 2,3/1.
- Tuổi trung bình UTBMDD là $61,5 \pm 10,88$ tuổi; nhóm tuổi 60-69 gặp nhiều nhất (34,69%), các nhóm tuổi khác ít gặp hơn.
- Đau thượng vị chiếm tỷ lệ 77,56% trong lý do vào viện, 93,87% trong triệu chứng cơ năng, 74,49% trong triệu chứng thực thể.
- Vị trí ung thư chủ yếu thuộc nhóm UTBMDD không tâm vị (97,96%).
- Tỷ lệ tổn thương dạng sùi có thâm nhiễm là 52,04%, dạng thâm nhiễm là 19,39%, dạng loét là 15,31% và dạng sùi là 13,26%.
- Theo phân loại Lauren (1965), thể ruột gặp nhiều hơn thể lan tỏa (53,06% và 46,94%). Theo phân loại WHO (2000), tỷ lệ thể ống nhỏ là 52,04%, thể không biệt hóa là 22,45%, thể tế bào nhẵn là 17,35%, thể nhày là 8,16%;
- Theo phân loại AJCC (2010), giai đoạn T3 chiếm tỷ lệ 47,96%, T2 và T4 tương ứng là 20,41% và 31,63%. Không gặp giai đoạn T0, T1; giai đoạn N2 chiếm tỷ lệ 64,29%, N0 là 6,12%; giai đoạn M0 chiếm tỷ lệ 95,92%; UTBMDD giai đoạn III chiếm tỷ lệ 66,33%, tỷ lệ giai đoạn I, IV là 4,08%.

1.2 Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*

- Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* UTBMDD cao hơn VDDMT (74,49% và 32,50%) với $p < 0,01$, OR=6,06 (95% CI 2,72-13,3).
- Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở nhóm UTBMDD cao hơn VDDMT (61,22% và 22,50%) với $p < 0,01$, OR=5,44 (95% CI 2,33-12,68).
- Nhóm UTBMDD có tỷ lệ đồng methyl hóa hai gen cao hơn methyl hóa 1 gen (66,25% và 33,75%), $p < 0,01$ (OR=3,27 95% CI 1,07-9,96).

2. Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, nội soi và mô bệnh học ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày

2.1 Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa *SFRP2*, *RNF180* với lâm sàng, nội soi

Chưa thấy mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*, đồng methyl hóa hai gen với các yếu tố tuổi, giới tính, vị trí, dạng tổn thương của bệnh nhân UTBMDD, với $p > 0,05$.

2.2 Liên quan giữa tỷ lệ methyl hóa *SFRP2*, *RNF180* với thể mô bệnh học, giai đoạn TNM, giai đoạn ung thư dạ dày

- Có mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2* với giai đoạn T; giai đoạn N; giai đoạn ung thư. Tỷ lệ methyl hóa gen *SFRP2* ở T3-T4 cao hơn T1-T2 (79,49% và 55%), $p < 0,05$; N2-N3 cao hơn N0-N1 (83,78% và 45,83%), $p < 0,01$; giai đoạn III-IV cao hơn I-II (85,51% và 48,28%), với $p < 0,01$.

- Có mối liên quan giữa methyl hóa gen *RNF180* với giai đoạn T; giai đoạn N; giai đoạn ung thư. Tỷ lệ methyl hóa gen *RNF180* ở T3-T4 cao hơn T1-T2 (67,95% và 35,0%), $p < 0,05$; N2-N3 cao hơn N0-N1 (75,68% và 16,67%), $p < 0,01$, giai đoạn III-IV cao hơn I-II (73,91% và 31,03%), $p < 0,05$.

- Có mối liên quan giữa đồng methyl hóa hai gen với giai đoạn T, giai đoạn N, giai đoạn ung thư. Tỷ lệ đồng methyl hóa 2 gen ở giai đoạn T3-T4 cao hơn T1-T2 (71,64% và 38,46%), $p < 0,05$; giai đoạn N2-N3 cao hơn N0-N1 (76,12% và 15,38%), $p < 0,01$, giai đoạn III-IV cao hơn I-II (74,60% và 35,29%), $p < 0,01$.

- Chưa phát hiện thấy mối liên quan giữa methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*, đồng methyl hóa hai gen với thể mô bệnh học theo phân loại Lauren (1965), phân loại WHO (2000) và giai đoạn di căn ung thư, $p > 0,05$.

KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu này, chúng tôi có một số kiến nghị như sau:

1. Nên tiến hành nghiên cứu so sánh tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* trên mẫu huyết thanh và trên mẫu mô của bệnh nhân UTBMDD. Qua đó đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* thu được từ huyết thanh trong dự báo, và/hoặc phát hiện ung thư biểu mô dạ dày.

2. Nên triển khai các nghiên cứu dọc về tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* ở bệnh nhân VDDMT với thời gian dài, sau đó đánh giá tỷ lệ tiến triển UTBMDD ở những bệnh nhân VDDMT có methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180*.

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

1. Nguyễn Minh Phúc, Nguyễn Thị Việt Hà, Trần Văn Khoa (2018), Hoàn thiện quy trình đánh giá sự methyl hóa promoter của gen *SFRP2*, *RNF180* ở mô ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 469 (số đặc biệt): tr 387-391.

2. Nguyen Minh Phuc, Tran Văn Khoa, Nguyen Thuy Vinh (2019), Clinical, Histological characteristics and *SFRP2* methylation status in gastric carcinoma patients experienced surgical resection at 103 military hospital. *Journal of Military Pharco-Medicine*, 44 (9): 270-276.

3. Nguyễn Minh Phúc, Trần Văn Khoa, Nguyễn Thúy Vinh (2020), Nghiên cứu tình trạng methyl hóa gen *SFRP2*, *RNF180* và mối liên quan với giai đoạn ung thư TNM ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày điều trị phẫu thuật tại bệnh viện Quân y 103. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 491 (1): 242- 246.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., et al. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.*, 68: 394-424.
2. **Hu B., Hajj N. E., Sittler S., et al. (2012).** Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Gastrointest Oncol.*, 3(3): 251-261.
3. **Rawla P., Barsouk A. (2019).** Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factor and prevention. *Gastroenterology Review.*, 14(1): 26-38.
4. **Jim M.A., Pinheiro P.S., Carreira H., et al. (2017).** Stomach cancer survival in the United States by race and Stage (2001-2009): Finding from the CONCORD-2 study. *Cancer, Wiley online library.*, 4994-5012.
5. **Kumar S., Metz D.C., Ellenberg S., et al. (2020).** Risk factor and Incidence of gastric cancer after detection of *Helicobacter pylori* infection: A large cohort study., *Gastroenterology.*, 158: 527-536.
6. **Nguyễn Bá Đức và cộng sự (2010).** Ung thư dạ dày. Trong : *Điều trị nội khoa bệnh ung thư.* Nhà xuất bản Y học, Hà Nội., 127-145.
7. **Sitarz R., Skierucha M., Offerhaus G.J., et al. (2018).** Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment., *Cancer Management and Research.*, 10: 239-248.
8. **Sharma S., Kelly T.K., Jones P.A., (2009).** Epigenetics in cancer., *Carcinogenesis.*, 31(1): 27-36.
9. **Shahjehan A. W., Peter W. L., Tom R. D. (2001).** DNA Methylation: An Alternative Pathway to Cancer. *Annals of Surgery.*, 234(1): 10-20.

10. **Leung Ch. M., Tsai K. W., Pan H. W. (2013).** DNA Methylation in Aggressive Gastric Carcinoma. *Gastric Carcinoma - New Insights into Current Management.*, Chapter 9: 223-242.
11. **Yu J., Xie Y., Li M., et al. (2019).** Association between *SFRP* promoter hypermethylation and different types of cancer: A systematic review and meta-analysis., *Oncology letters.*, 18:3481-3492.
12. **Han F., Liu S., Li H., et al. (2020).** Identification of high-frequency methylation sites in *RNF180* promoter region affecting expression and their relationship with prognosis of gastric cancer., *Cancer Management and Research.*, 12: 3389-3399.
13. **Cheng Y.Y., Yu J., Wong Y.P., et al. (2007).** Frequent epigenetic inactivation of secreted frizzled - related protein 2 (*SFRP2*) by promoter methylation in human gastric cancer. *British Journal of Cancer.*, 97: 895-901.
14. **Kinoshita T., Nomoto S., Kodera Y., et al. (2011).** Decreased expression and aberrant hypermethylation of the *SFRP* genes in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology.*, 58(107-108): 1051-1056.
15. **Cheung K. F., Lam C.N.Y., Wu K., et al. (2012).** Characterization of the gene structure, functional significance, and clinical application of *RNF180*, a novel gene in gastric cancer. *Cancer.*, 118(4): 947-959.
16. **Zhang X., Zhang X., Sun B., et al. (2014).** Detection of aberrant promoter methylation of *RNF180*, *DAPK1* and *SFRP2* in plasma DNA of patients with gastric cancer. *Oncology Letter.*, 8: 1745-1750.
17. **Rahman R., Asombang A. W., Ibdah A. J. (2014).** Characteristics of gastric cancer in Asia. *World J Gastroenterol.*, 20(16): 4483-4490.
18. **Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., et al. (2015).** Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer.*, 136(5): E359-386.

19. **Phan Văn Cường, Trần Văn Thuận (2017).** Tỷ suất mắc mới ung thư dạ dày tại Hà Nội giai đoạn 2009-2013. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, số chuyên đề (460): 25-30.
20. **Phạm Duy Hiên (2007).** *Ung thư dạ dày*, Nhà Xuất bản Y học, Hà Nội.
21. **Li X., Wang W. (2017).** Age-specific impact on the survival of gastric cancer patients with distant metastasis: an analysis of SEER database. *Oncotarget.*, 8(57): 97090-97100.
22. **Song P., Wu L., Jiang B., et al. (2016).** Age-specific effects on the prognosis after surgery for gastric cancer: A SEER population-based analysis. *Oncotarget.*, 7(30): 48614-48624.
23. **Wingo P. A., Cardinez C. J., Landis S. H., et al. (2003).** Long-term trends in cancer mortality in the United States, 1930-1998. *Cancer supplement.*, 97(12): 3133-3275.
24. **Colquhoun A., Arnold M., Felay J., et al. (2015).** Global patterns of cardia and non-cardia gastric cancer incidence in 2012. *Gut.*, 64(12): 1881-1888.
25. **Patel T. N., Roy S., Ravi R., (2017).** Gastric cancer and related epigenetic alterations., *ecancer.*, 11:714 Doi: 10.3332/ecancer.2017.714.
26. **Cheung K. S., Leung W. K., (2018).** Risk of gastric cancer development after eradication of *Helicobacter pylori.*, *World journal of Gastrointestinal Oncology.*, 10(5): 115-123.
27. **Hooi J. K. Y., Lai W. Y., Ng W. K., et al. (2017).** Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: Systematic review and meta-analysis., *Gastroenterology.*, 153: 420-429.
28. **Uemura N., Mukai T., Okamoto S., et al. (1997).** Effect of *Helicobacter pylori* eradication on subsequent development of cancer after endoscopic resection of early gastric cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.*, 6: 639-642.

29. **Helicobacter and Cancer Collaborative Group (2001).** Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut.*, 49: 347-353.
30. **Leung W. K., Lin S. R., Ching J. Y. L., et al. (2004).** Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: results of a randomised trial on *Helicobacter pylori* eradication. *Gut.*, 53: 1244-1249.
31. **Rokkas T., Pistiolas D., Sechopoulos P., et al. (2007).** The long-term impact of *Helicobacter pylori* eradication on gastric histology: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter.*, 12 (2): 32-38.
32. **Lee Y. C., Chen H. H. T., Chiu H. M., et al. (2013).** The benefit of mass eradication of *Helicobacter pylori* infection: a community-based study of gastric cancer prevention. *Gut.*, 62: 676-682.
33. **Uno Y. (2019).** Prevention of gastric cancer by *Helicobacter pylori* eradication: A review from Japan., *Cancer Medicine.*, 8: 3992-4000.
34. **Brenner H., Arndt V., Sturmer T., et al. (2000).** Individual and joint contribution of family history and *Helicobacter pylori* infection to the risk of gastric carcinoma. *Cancer.*, 88: 274-279.
35. **Correa P., Piazuelo M. B. (2012).** The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis.*, 13(1): 2-9.
36. **Spence A. D., Cardwell C. R., McMenamin U. C., et al. (2017).** Adenocarcinoma risk in gastric atrophy and intestinal metaplasia: a systematic review. *BMC Gastroenterology.*, 17(157): 1-9
37. **Wang X. Q., Terry P. D., Yan H. (2009).** Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. *World Journal of Gastroenterology.*, 15(18): 2204-2213.
38. **D'Elia L., Rossi G., Ippolito R., et al. (2012).** Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Clinical Nutrition.*, 31: 489-498.

39. **Ren J. S., Kamangar F., Forman D., et al. (2012).** Pickled food and risk of gastric cancer-a systematic review and Meta-analysis of English and Chinese Literature. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.*, 21(6): 905-915.
40. **Lunet N., Vieira L. N, Barros H. (2005).** Fruit and vegetables consumption and gastric cancer: a systematic review and Meta-analysis of cohort studies. *Nutrition and Cancer.*, 53(1): 1-10.
41. **Bertuccio P., Rosato V., Andreano A., et al. (2013).** Dietary patterns and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology.*, 24: 1450-1458.
42. **Sasazuki S., Tamakoshi A., Matsuo K., et al. (2012).** Green tea consumption and gastric cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Japanese Journal of Clinical Oncology.*, 42(4): 335-346.
43. **Praud D., Rota M., Pelucchi C., et al. (2016).** Cigarette smoking and gastric cancer in the Stomach Cancer Pooling (StoP) Project. *European Journal of Cancer Prevention.*, 00: 1-9.
44. **Ma K., Baloch Z., He T. T., et al. (2017).** Alcohol consumption and gastric cancer risk: A meta-analysis. *Med Sci Monit.*, 23: 238-246.
45. **Asano K., Kubo M., Yonemoto K., et al. (2008).** Impact of serum total cholesterol on the incidence of gastric cancer in a population-based prospective study: the Hisayama study. *Int J Cancer.* 122: 909-914.
46. **Stemmermann G. N., Chyou H. P., Kagan A., et al. (1991).** Serum Cholesterol and Mortality Among Japanese-American Men: The Honolulu (Hawaii) Heart Program. *Arch Intern Med.*, 151: 969-972.
47. **Jung M. K., Jeon S.W., Tak W. Y., et al. (2008).** Hyperglycaemia, hypercholesterolaemia and the risk for developing gastric dysplasia. *Digestive and Liver Disease.*, 40: 361-365.

48. **Ikeda F., Doi Y., Yonemoto K., et al. (2009).** Hyperglycemia increases risk of gastric cancer posed by *Helicobacter pylori* infection: a population-based cohort study. *Gastroenterology.*, 136: 1234-1241.
49. **Lee J. H., Park B., Joo J., et al. (2018).** Body mass index and mortality in patients with gastric cancer: a large cohort study., *Gastric cancer.*, 21: 913-924.
50. **Sjodahl K., Jia Ch., Vatten L., et al. (2008).** Body mass and physical activity and risk of gastric cancer in a population-based cohort study in Norway. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 17(1): 135-140.
51. **Yang P., Zhou Y., Wan H. W., et al. (2009).** Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer.*, 45(16): 2867-2873.
52. **Karczewski J., Krasinska B.B., Staszewski R., et al. (2019).** Obesity and the risk of gastrointestinal cancer., *Digestive Diseases and Sciences.*, (2019)., 64: 2740-2749.
53. **Guilford P., Hopkins J., Harraway J., et al. (1998).** *E-cadherin* germline mutations in familial gastric cancer. *Nature.*, 392: 402-405.
54. **Brooks W. A. R., Kaurah P., Suriano G., et al. (2004).** Germline *E-cadherin* mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet.*, 41: 508-517.
55. **Yaghoobi M., Bijarchi R., Narod S. A. (2010).** Family history and the risk of gastric cancer. *British Journal of Cancer.*, 102: 237-42.
56. **El-Omar E. M., Carrington M. Chow W. H., et al. (2000).** Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature.*, 404: 398-402.

57. **Persson C., Canedo P., Machado J. C., et al. (2011).** Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: A HuGE systematic review and meta-analyses. *American Journal of Epidemiology.*, 173(3): 259-270.
58. **Suryawala K., Soliman D., Mutyala M. (2015).** Gastric cancer in women: A region health-center seven year retrospective study., *World Journal of Gastroenterology.*, 21(25): 7805-7813.
59. **Lagergren F., Xie S. H., Mattsson F., et al. (2018).** Updated incidence trends in cardia and non-cardia gastric adenocarcinoma in Sweden. *Acta Oncologica.*, 57(9): 1173-1178.
60. **Camargo M. C., Goto Y., Zabaleta J., et al. (2012).** Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 21(1): 20-38.
61. **Li H., Wei Z., Wang C., et al. (2019).** Gender differences in gastric cancer survival: 99,992 cases based on the SEER database. *Journal of Gastrointestinal surgery.*, 24: 1747-1757.
62. **Mao Y., Yang W., Qi Q., et al. (2019).** Blood groups A and AB are associated with increased gastric cancer risk: evidence from a large genetic study and systematic review. *BMC Cancer.*, 19(164): 1-9.
63. **Yu H., Xu N., Li Z. K., et al. (2020).** Association of ABO blood groups and risk of Gastric cancer. *Scandinavian Journal of Surgery.*, 109(4): 309-313.
64. **Lahmidani N., Ypusf M., Aqodad N., et al. (2018).** Update on Gastric Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Journal of Cancer Therapy.*, 9: 242-254.
65. **Nguyễn Văn Hiếu (2013).** Ung thư dạ dày. Trong: *Điều trị phẫu thuật bệnh ung thư*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 256-268.

66. **Uozaki H., Fukayama M. (2008).** *Epstein-Barr virus* and gastric carcinoma-viral carcinogenesis through epigenetic mechanisms. *Int J Clin Exp Pathol.* 1:198-216.
67. **Zhang Q. B., Nakshabendi I. M., Mokhashi M. S., et al. (1996).** Association of cytotoxin production and neutrophil activation by strains of *Helicobacter pylori* isolated from patients with peptic ulceration and chronic gastritis. *Gut.*, 38: 841-845.
68. **Pignatelli B., Bancel B., Esteve J., et al. (1998).** Inducible nitric oxide synthase, anti-oxidant enzymes and *Helicobacter pylori* infection in gastritis and gastric precancerous lesions in humans. *Eur J Cancer Prev.*, 7: 439-447.
69. **Hatakeyama M. (2017).** Structure and function of *Helicobacter pylori* CagA, the first-identified bacterial protein involved in human cancer, *Proc. Jpn. Acad.*, 93: 196-219.
70. **Higashi H., Tsutsumi R., Fujita A., et al. (2002).** Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *PNAS.*, 99(22): 14428-14433.
71. **Guo X. L., Wang L. E., Du S. Y., et al. (2003).** Association of *cyclooxygenase-2* expression with Hp-cagA infection in gastric cancer. *World Journal of Gastroenterol.*, 9(2) 246-249.
72. **Shao Y., Sun K., Xu W., et al. (2014).** *Helicobacter pylori* infection, gastrin and *cyclooxygenase-2* in gastric carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology.*, 20(36): 12860-12873.
73. **Machado J. C., Oliveira C., Carvalho R., et al. (2001).** *E-cadherin* gene (*CDH1*) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma", *Oncogen.*, 20: 1525-1528.
74. **Humar B., Guilford P. (2009).** Hereditary diffuse gastric cancer: A manifestation of lost cell polarity. *Cancer Sci.*, 100(7): 1151-1157.

75. **Humar B., Blair V., Chartol A., et al. (2009).** *E-cadherin* Deficiency Initiates Gastric Signet-Ring Cell carcinoma in mice and man. *Cancer Res.*, 69: 2050-2056.
76. **Shiao Y. H., Rugge M., Correa P., et al. (1994).** *p53* Alteration in gastric precancerous lesions. *American Journal of Pathology.*, 144: 511-517.
77. **Polakis P. (2000).** Wnt signaling and cancer, *Genes & Development.*, 14: 1837-1851.
78. **Park W. S., Oh R. R., Park J. Y., et al. (1999).** Frequent somatic mutation of the β -*Catenin* gene in intestinal-type gastric cancer. *Cancer research.*, 59: 4257-4260.
79. **Li Q. L., Ito K., Sakakura X., et al. (2002).** Causal relationship between the loss of *RUNX3* expression and gastric cancer. *Cell.*, 109: 113-124.
80. **Kim T. Y., Lee H. J., Hwang K. S., et al. (2004).** Methylation of *RUNX3* in various types of human cancers and premalignant stages of gastric carcinoma. *Laboratory Investigation.*, 84: 479-484.
81. **Liu Q., Teh M., Ito K., et al. (2007).** *CDX2* expression is progressively decreased in human gastric intestinal metaplasia, dysplasia and cancer. *Modern Pathology.*, 20: 1286-1297.
82. **Park D. Y., Srivastava A., Kim G. H., et al. (2010).** *CDX2* expression in the intestinal-type gastric epithelial neoplasia: frequency and significance. *Modern Pathology.*, 23: 54-61.
83. **Kim T. Y., Jong H. S., Jung Y., et al. (2004).** DNA hypermethylation in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.*, 20 (1): 131-142.
84. **Fleisher A. S., Esteller M., Wang S., et al. (1999).** Hypermethylation of the *hMLH1* gene promoter in human gastric cancers with microsatellite Instability. *Cancer research.*, 59: 1090-1095.

85. **Leung S. Y., Yuen S. T., Chung L. P., et al. (1999).** *hMLH1* promoter methylation and lack of *hMLH1* expression in sporadic gastric carcinoma with high-frequency microsatellite instability. *Cancer research.*, 59: 159-164.
86. **Kang G. H., Lee S., Kim J. S., et al. (2003).** Profile of aberrant CpG island methylation along multistep gastric carcinogenesis. *Laboratory Investigation.*, 83(4): 519-526.
87. **Nguyễn Thị Quỳ (2007).** Vai trò của nội soi nhuộm màu indigocarmin trong chẩn đoán ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học thực hành.*, 8(575+576): 42-45.
88. **Lê Thanh Sơn, Hồ Chí Thanh (2016).** Chụp cắt lớp vi tính trong chẩn đoán ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học Quân sự.*, 2: 132-135.
89. **Phạm Văn Bình, Hà Hải Nam (2017).** Nhận xét giá trị của cắt lớp vi tính đa dãy đối chiếu với tổn thương giải phẫu bệnh sau phẫu thuật ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 1(455): 69-72.
90. **Bosch K. D., Chicklore S., Cook G. J., et al. (2019).** Staging FDG PET-CT changes management in patients with gastric adenocarcinoma who are eligible for radical treatment. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.*, 47: 759-767.
91. **Nguyễn Thị Hoa, Phạm Văn Trân, Nguyễn Văn Thông và cộng sự. (2018).** Nghiên cứu nồng độ CEA, Ca 19-9 và CA 72-4 huyết thanh ở bệnh nhân ung thư dạ dày và ung thư đại trực tràng nguyên phát. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 9 (470): 171-177.
92. **Polat E. , Duman U., Duman M., et al. (2014).** Preoperative serum tumor marker levels in Gastric Cancer. *Pak J Med Sci.*, 30 (1): 145-149.
93. **Japanese Gastric Cancer Association (2011).** Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer.*, 14(2): 101-112.

94. **Tang L. H., Selby L.V. (2015).** Pathology of Gastric cancer. *Gastric cancer. Springer International Publishing Switzerland.* 57-75.
95. **Lauren P. (1965).** The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta path. et microhiol. scandinav.*, 64: 31-49.
96. **Hamilton S. R. , Aaltonen L. A. (2000).** Pathology and Genetic of Tumours of the Digestive System. *Wold Health Organization Classification of Tumours.*, IARC Press: 38-52.
97. **Washington K. (2010).** 7th edition of the AJCC cancer staging manual: stomach. *Annals of Surgical Oncology.*, 17: 3077-3079.
98. **Lê Thị Thu Hiền, Trần Thị Phương Liên, Nông Văn Hải (2007).** Promoter và ứng dụng trong công nghệ gen thực vật. *Tạp chí Công nghệ sinh học.*, 1: 1-18.
99. **Gros C., Fahy J., Halby L., et al. (2012).** DNA methylation inhibitor in cancer: Recent and future approaches. *Biochimie.*, 94: 2280-2296.
100. **Łuczak M. W., Jagodzinski P. P. (2006).** The role of DNA methylation in cancer development. *Folia histochemica et cytobiologica.*, 44(3): 143-154.
101. **Singal R., Ginder, G. D. (1999).** DNA methylation. *Blood.*, 93(12): 4059-4070.
102. **Kang G. H., Lee H. J., Hwang K. S., et al. (2003).** Aberrant CpG island hypermethylation of chronic gastritis, in relation to aging, gender, intestinal metaplasia, and chronic inflammation. *American Journal of Pathology.*, 163(4): 1551-1556.
103. **Yuasa Y., Nagasaki H., Akiyama Y., et al. (2009).** DNA methylation status is inversely correlated with green tea intake and physical activity in gastric cancer patients. *Int J Cancer.* 124(11): 2677-2682.

104. **Maekita T., Nakazawa K., Mihara M., et al. (2006).** High levels of aberrant DNA methylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosae and its possible association with gastric cancer risk. *Clin Cancer Res.*, 12(3): 989-995.
105. **Leung W. K., Man E. P. S, Yu J., et al. (2006).** Effects of *Helicobacter pylori* eradication on methylation status of *E-cadherin* gene in noncancerous stomach. *Clin Cancer Res.*, 12(10): 3216-3221.
106. **Fukayama M. (2010).** *Epstein-Barr virus* and gastric carcinoma. *Pathology International.*, 60: 337-350.
107. **Hino R., Uozaki H., Murakami N., et al. (2009).** Activation of DNA methyltransferase 1 by *EBV* latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of *PTEN* gene in gastric carcinoma. *Cancer Res.*, 69(7): 2766-2774.
108. **Ohashi H. (2002).** Methylation Specific PCR. *Method in Molecular Biology.*, 192 (PCR cloning protocol, 2nd edition): 91-97.
109. **Toyooka S., Shimizu N. (2004).** Model for studying DNA methylation in human cancer: a review of current status. *Drug Discovery Today Disease Model.*, 1(1): 37-42.
110. **O'Donovan D. S., Perry A. S (2014).** *SFRP2* (secreted frizzled-related protein 2). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.*, 18(3): 180-182.
111. **Kima H., Yood S., Zhou R., et al. (2018).** Oncogenic role of *SFRP2* in *p53*-mutant osteosarcoma development via autocrine and paracrine mechanism. *PNAS.*, 115(47): E11128 - E11137.
112. **Ilyas M. (2005).** Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development. *Journal of Pathology.*, 205: 130-144.
113. **Ogawa M., Mizugishi K., Ishiguro A., et al. (2008).** *Rines/RNF180*, a novel RING finger gene-encoded product, is a membrane-bound ubiquitin ligase. *Genes to Cells.*, 13: 397-409.

114. **Hou Y., Deng J. (2015).** Role of E3 ubiquitin ligases in gastric cancer. *World J Gastroenterol.*, 21(3): 786-793.
115. **Wang H., Duan X. L., Qi X. L., et al. (2017).** Concurrent hypermethylation of SFRP2 and DKK2 activates the Wnt/ β -Catenin pathway and is associated with poor prognosis in patients with gastric cancer. *Mol.Cell.*, 40(1): 45-53.
116. **Yan H., Chen W., Ge K., et al. (2020).** Value of plasma methylated SFRP2 in prognosis of gastric cancer. *Digestive Diseases and Sciences.*, 1-8.
117. **Han F., Sun L. P., Liu S., et al. (2015).** Promoter methylation of *RNF180* is associated with *H.pylori* infection and serves as a marker for gastric cancer and atrophic gastritis. *Oncotarget.*, 7(17): 24800-24809.
118. **Dimberg J., Thai T. H., Skarstedt M., et al. (2013).** Analysis of *APC* and *IGFBP7* promoter gene methylation in Swedish and Vietnamese colorectal cancer patients. *Oncology Letter.*, 5: 25-30.
119. **Phuong K.T., Thuan D. L., Thao P. T. D., et al. (2015).** Loss of expression of cyclin d2 by aberrant DNA methylation: a potential biomarker in Vietnamese breast cancer patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.*, 16: 2209-2213.
120. **Vi Thuật Thắng (2019).** *Nghiên cứu đặc điểm hình thái, mô bệnh học và biến đổi nhiễm sắc thể trong ung thư tiền liệt tuyến*, Luận án tiến sĩ Y học, Học viện Quân y, Hà Nội.
121. **Trang L.V., Trang T.N., Van T.H.D., et al. (2018).** Methylation profiles of *BRCA1*, *RASSF1A* and *GSTP1* in Vietnamese women with breast cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 19(7): 1887-1893.

122. **Nguyễn Ngọc Quang (2020).** *Nghiên cứu đột biến, mức độ biểu hiện gen EGFR và tình trạng methyl hóa một số gen liên quan trên bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến ở phổi.* Luận án Tiến sỹ Sinh học, Học viện Khoa học và Công nghệ.
123. **Zou H., Molina J. R., Harrington J. J., et al. (2005).** Aberrant methylation of secreted frizzled-related protein genes in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus. *International Journal of Cancer.*, 116: 584-591.
124. **Bộ Y tế (2016).** *Hướng dẫn quy trình kỹ thuật nội khoa chuyên ngành Tiêu hóa.* Nhà xuất bản Y học, Hà Nội: 43-45.
125. **Khoa Tiêu hóa bệnh viện Bạch Mai (2016).** Soi dạ dày-tá tràng. Trong: *Nội soi tiêu hóa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội: 29-44.
126. **Dixon M. F., Path F. R. C., Robert M. G., et al. (1996).** Classification and grading of gastritis: The updated Sydney System. *The American Journal of Surgical Pathology.*, 20(10): 1161-1181.
127. **Tytgat G. N. L. (1991).** The Sydney System: Endoscopic division. Endoscopic appearances in gastritis/duodenitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.*, 6 : 223-234.
128. **Bộ Y tế (2013).** *Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh- tế bào học.*
129. **Lê Viết Nho (2014).** *Nghiên cứu sự biểu lộ của EGFR, HER2 và mối liên quan với lâm sàng, nội soi, mô bệnh học ở bệnh nhân ung thư biểu mô dạ dày,* Luận án tiến sỹ Y học, trường Đại học Y Dược Huế.
130. **Nguyễn Quang Bộ (2017).** *Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư dạ dày 1/3 dưới bằng phẫu thuật triệt căn có kết hợp hóa chất,* Luận án tiến sỹ Y học, trường Đại học Y Dược Huế.

131. **Đặng Văn Thời (2017)**. *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, thương tổn và đánh giá kết quả lâu dài phẫu thuật triệt căn ung thư phần trên dạ dày*, Luận án tiến sỹ Y học, trường Đại học Y Dược Huế.
132. **Cao Minh Tiệp, Triệu Triều Dương (2015)**. Nhận xét kết quả điều trị 52 bệnh nhân ung thư dạ dày bằng phẫu thuật nội soi tại bệnh viện trung ương quân đội 108. *Tạp chí Y học thực hành.*, 3 (953): 68-73.
133. **Lindblad M., Ye W., Rubio C., et al. (2004)**. Estrogen and Risk of Gastric Cancer: A Protective Effect in a Nationwide Cohort Study of Patients with Prostate Cancer in Sweden. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.*, 13(12): 2203-2207.
134. **Luu C., Thapa R., Woo K., et al. (2017)**. Does histology really influence gastric cancer prognosis. *Journal of Gastrointestinal Oncology.*, 8(6): 1026-1036.
135. **Hoàng Thanh Tuyền (2016)**. Nội soi ứng dụng ánh sáng đa dải tần (FICE) ở bệnh nhân ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học thực hành.*, 5(1008): 32-35.
136. **Nguyễn Thị Ngọc Lan, Đặng Thị Ngọc Dung (2018)**. Nghiên cứu nồng độ Pepsinogen và một số yếu tố liên quan trên bệnh nhân ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 8(469): 87-94.
137. **Sun J., Long Y., Peng X., et al. (2019)**. The survival analysis and oncogenic effects of *CFPI* and 14-3-3 expression on gastric cancer. *Cancer Cell International.*, 19(255): 1-12.
138. **Kim J. S., Kim M. A., Kim T. M., et al. (2009)**. Biomarker analysis in stage III-IV (M0) gastric cancer patients who received curative surgery followed by adjuvant 5-fluorouracil and cisplatin chemotherapy: epidermal growth factor receptor (EGFR) associated with favourable survival. *British Journal of cancer.*, 100(5): 732-738.

139. **Hoàng Việt Dũng, Trịnh Hồng Sơn, Nguyễn Cường Thịnh (2016).** Đặc điểm lâm sàng ung thư dạ dày ở người cao tuổi. *Tạp chí Y dược học lâm sàng* 108., 11(4): 42-47.
140. **Wanebo H. J., Kenedy B. J., Chmiel J. (1993).** Cancer of the stomach
A patient care study by the American College of surgeon. *Annals of Surgery.*, 218(5): 583-592.
141. **Amira G. (2003).** Surgical Treatment of Gastric Cancer the Role of extended Lymphadenectomy. *Journal of the Egyptian Nat.Cancer Inst.*, 15(3): 325-341.
142. **Forrest A. P. (1960).** The diagnosis of gastric cancer. *Postgraduate Medical Journal.*, 775-782.
143. **Hoàng Việt Dũng, Trịnh Hồng Sơn (2013).** Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả phẫu thuật ung thư dạ dày tại bệnh viện Hữu Nghị (giai đoạn 1/2008-6/2011). *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 2(403): 66-70.
144. **Tang G., Hart R., Sholzberg M., et al. (2017).** Iron deficiency anemia in gastric cancer: A single site retrospective cohort study. *Journal of Clinical Oncology.*, 35(4):25-29.
145. **Lee K. E., Lee H. J., Kim Y.H., et al. (2003).** Prognostic significance of *p53*, *nm23*, *PCNA* and *c-erbB-2* in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol.*, 33(4): 173-179.
146. **Hu B., Hajj N. E., Sittler S., et al. (2012).** Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol.*, 3(3): 251–261.
147. **Nguyễn Mạnh Hùng, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thùy Linh (2016).** Nghiên cứu mô bệnh học và sự biểu lộ thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (*HER2*) trong ung thư dạ dày. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 1(448): 13-18.

148. **Trịnh Hồng Sơn, Nguyễn Thành Khiêm, Phạm Kim Bình, và cộng sự (2014).** Nghiên cứu đặc điểm biểu hiện *HER2* ở bệnh nhân Ung thư biểu mô dạ dày tại Bệnh viện Việt Đức. *Tạp chí Y học thực hành.*, 1(902): 18-21.
149. **Trần Đình Trí, Hồ Đăng Quý Dũng, Trần Thanh Bình, và cộng sự. (2016).** Nghiên cứu hình thái mô bệnh học và các yếu tố độc lực *cagA*, *vacA* của *H.pylori* ở bệnh nhân ung thư dạ dày. *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108.*, 11(6): 122-129.
150. **Qiu M. Z., Cai M. Y., Zhang D. S., et al. (2013).** Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *Journal of Translational Medicine.*, 11: 1-7.
151. **Jun J., Zhou C., Wu J., et al. (2019).** Expression pattern of *CDK12* protein in gastric cancer and its positive correlation with *CD8⁺* cell density and *CCL12* expression. *International Journal of Medical Sciences.*, 16(8): 1142-1148.
152. **Lazar D., Tanban S., Sporea I., et al. (2009).** Gastric cancer: correlation between clinicopathological factors and survival of patients (II). *Romanian Journal of Morphol and Embryology.*, 50(2): 185-194.
153. **Hou Y., Wang X., Chen J. (2018).** Prognostic significance of metastatic lymph node ratio: the lymph node ratio could be a prognostic indicator for patients with gastric cancer. *World Journal of Surgical Oncology.*, 16: 1-9.
154. **Bostanci E. B., Yol S., Kayaalp C., et al. (2004).** Comparison of complications after D2 and D3 dissection for gastric cancer. *The Journal of Cancer Surgery.*, 30(1): 20-25.
155. **Sakurai K., Muguruma K., Nagahara H., et al. (2015).** The outcome of surgical treatment for elderly patients with gastric carcinoma. *Journal of Surgical Oncology.*, 111(7): 848-854.

Phụ lục 1
BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU
NHÓM UNG THƯ BIỂU MÔ DẠ DÀY

A. PHẦN HÀNH CHÍNH

A1. Họ tên

A2. Tuổi: A3. Giới: 1. Nam 2. Nữ

A4. Địa Chi:

A5. Số lưu trữ:

A6. Ngày vào viện:...../...../20 A7. Ngày ra viện:/...../20

B. PHẦN NGHIÊN CỨU

B1. Lý do vào viện

1. Đau thượng vị 2. Nôn, buồn nôn
3. Sút cân 4. Xuất huyết tiêu hóa
5. Khác (ghi rõ)

B4. Triệu chứng lâm sàng

B41. Triệu chứng cơ năng

STT	Triệu chứng toàn thân, cơ năng	Có	Không
1.	Đau thượng vị		
2.	Sút cân		
3.	Nôn, buồn nôn		
4.	Nôn ra máu và/hoặc ỉa phân đen		
5.	Đầy hơi, ợ hơi, ợ chua		
6.	Khác ghi rõ		

B42. Khám thực thể

STT	Triệu chứng thực thể	Có	Không
1.	Ấn thượng vị đau		
2.	Cổ trướng		
3.	Gan to		
4.	Hạch nách, hạch thượng đòn, hạch cổ		
5.	Sờ thấy u vùng thượng vị		

B622. Phân loại mô bệnh học theo WHO (2000)

1. Ung thư biểu mô thể nhú.
2. Ung thư biểu mô thể ống nhỏ.
3. Ung thư biểu mô thể nhày.
4. Ung thư biểu mô thể tế bào nhân.
5. Ung thư biểu mô tuyến vảy.
6. Ung thư biểu mô tế bào vảy.
7. Ung thư biểu mô không biệt hóa.
8. Ung thư biểu mô thể tế bào nhỏ.
9. Các ung thư khác (ghi rõ:.....)

B623. Mức độ biệt hóa: 1. Cao 2. Vừa 3. Thấp

B624. Giai đoạn T : T1. T2. T3. T4a. T4b.

B625. Giai đoạn N: N0. N1. N2. N3.

B63. Phân loại giai đoạn ung thư

1. Giai đoạn 1: GĐ 1a GĐ 1b
2. Giai đoạn 2: GĐ 2a GĐ 2b
3. Giai đoạn 3: GĐ 3a GĐ 3b GĐ 3c
4. Giai đoạn 4: GĐ 4

B64. Xét nghiệm Methyl hóa

B641. Tình trạng methyl hóa của từng gen riêng biệt

Gen	Tình trạng methyl hóa	
	Có	Không
<i>SFRP2</i>		
<i>SNF180</i>		

B642. Tình trạng methyl hóa đồng thời 2 gen

Gen	Tình trạng methyl hóa	
	Có	Không
<i>SFRP2 + RNF180</i>		

XÁC NHẬN CỦA BỘ MÔN, KHOA BM2

NGHIÊN CỨU SINH

