

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN XUÂN KHÁI

NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN CÁC GEN

NF- κ B p50, NF- κ B p65, SUMO1, SUMO2, SUMO3

Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN

CÓ HBsAg (+)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN XUÂN KHÁI

NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN CÁC GEN

NF- κ B p50, NF- κ B p65, SUMO1, SUMO2, SUMO3

Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN
CÓ HBsAg (+)

Chuyên ngành: Khoa học y sinh

Mã số: 9 72 01 01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. GS.TS. CÁN VĂN MÃO

2. PGS. TS. DƯƠNG QUANG HUY

HÀ NỘI - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Số liệu trong đề tài luận án là một phần số liệu trong nhiệm vụ nghiên cứu của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số NCSX.01.03/23-25, có tên: *“Nghiên cứu đột biến gen của một số bệnh trên người và giải mã hệ gen vi sinh vật có giá trị phục vụ xây dựng cơ sở dữ liệu gen của Viện Hàn lâm KHCNVN”*. Kết quả đề tài này là thành quả nghiên cứu của tập thể mà tôi là một trong các thành viên chính. Tôi đã được Chủ nhiệm đề tài và toàn bộ thành viên trong nhóm nghiên cứu đồng ý cho phép sử dụng những số liệu này trong luận án.

Tôi xin cam đoan các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Xuân Khái

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc Học viện Quân y, Phòng Sau đại học - Học viện Quân y; Ban Giám đốc Bệnh viện Quân y 103 đã cho phép, tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Đặc biệt tôi xin bày tỏ lòng biết ơn rất sâu sắc tới GS.TS. Cấn Văn Mão cùng PGS. TS. Dương Quang Huy, người thầy đã nhiều năm gần bó đuôi dắt, dạy dỗ giúp đỡ tôi, luôn tận tình chỉ bảo. Thầy cô đã luôn sát cánh hướng dẫn tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu, viết báo và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến PGS.TS. Nguyễn Thị Xuân cùng các thành viên trong nhiệm vụ khoa học *“Nghiên cứu đột biến gen của một số bệnh trên người và giải mã hệ gen vi sinh vật có giá trị phục vụ xây dựng cơ sở dữ liệu gen của Viện Hàn lâm KHCNVN”*, mã số NCSX.01.03/23-25, đã đồng hành cùng tôi trong suốt quá trình phân tích mẫu bệnh phẩm nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới lãnh đạo chỉ huy và các bác sỹ, kỹ thuật viên Bộ môn Sinh lý bệnh - Học viện Quân y đã tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng bày tỏ lòng biết ơn tới tập thể bác sỹ, kỹ thuật viên của Khoa X Quang can thiệp, Bộ môn - Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Quân y 103 đã luôn tạo điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập.

Tôi vô cùng biết ơn gia đình, bạn bè, đồng nghiệp đã luôn đồng hành, ủng hộ, động viên giúp đỡ tôi về tinh thần, vật chất trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Hà Nội, ngày tháng 12 năm 2025

Tác giả luận án

Nguyễn Xuân Khải

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN

LỜI CẢM ƠN

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC BẢNG

DANH MỤC HÌNH

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan ung thư biểu mô tế bào gan.....	3
1.1.1. Một số đặc điểm dịch tễ học	3
1.1.2. Các yếu tố nguy cơ	3
1.1.3. Lâm sàng và cận lâm sàng	4
1.1.4. Chẩn đoán	6
1.2. Cơ chế bệnh sinh ung thư biểu mô tế bào gan liên quan nhiễm HBV.....	6
1.2.1. Đột biến gen.....	7
1.2.2. Sự tích hợp của HBV DNA vào DNA tế bào gan	8
1.2.3. Rối loạn di truyền biểu sinh	8
1.2.4. Viêm mạn tính và tái tạo tế bào gan	9
1.2.5. Vai trò của protein HBx	10
1.2.6. Hoạt hóa các con đường truyền tín hiệu do HBV	11
1.3. Con đường tín hiệu NF- κ B và vai trò của các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>p65</i> trong ung thư biểu mô tế bào gan.....	12
1.3.1. Con đường tín hiệu NF- κ B	12
1.3.2. Gen <i>NF-κB p50</i> và vai trò trong ung thư biểu mô tế bào gan	19
1.3.3. Gen <i>NF-κB p65</i> và vai trò trong ung thư biểu mô tế bào gan	22
1.4. Vai trò của SUMO trong ung thư biểu mô tế bào gan	27

1.4.1. Các gen <i>SUMO</i>	27
1.4.2. Protein SUMO và quá trình SUMO hóa.....	28
1.4.3. Quá trình SUMO hóa và ung thư biểu mô tế bào gan	32
1.5. Mối liên quan giữa con đường tín hiệu NF- κ B (p50/p65) và SUMO trong cơ chế bệnh sinh ung thư biểu mô tế bào gan.....	33
1.6. Các nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam về <i>NF-κB p50, p65</i> và <i>SUMO</i> ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan	36
1.6.1. Trên thế giới.....	36
1.6.2. Tại Việt Nam.....	39
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	40
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn.....	40
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	40
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	41
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:	41
2.2.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu	41
2.2.3. Địa điểm, thời gian nghiên cứu.....	41
2.2.4. Thiết bị, hóa chất dùng trong nghiên cứu	42
2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu.....	44
2.3.1. Lựa chọn đối tượng nghiên cứu.....	44
2.3.2. Đánh giá mức độ biểu hiện gen <i>SUMO1, SUMO2, SUMO3, NF-κB p65, NF-κB p50</i> trong mô u và mô cận u.....	47
2.4. Các chỉ số nghiên cứu và tiêu chuẩn chẩn đoán	54
2.4.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu.....	54
2.4.2. Mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu	59
2.4.3. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen nghiên cứu với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng.....	59
2.5. Phân tích và xử lý số liệu	60

2.6. Đạo đức nghiên cứu	61
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	63
3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu	63
3.1.1. Đặc điểm tuổi, giới nhóm nghiên cứu	63
3.1.2. Đặc điểm triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm máu.....	64
3.1.3. Đặc điểm gánh nặng khối u và giai đoạn bệnh.....	67
3.2. Biểu hiện các gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>NF-κB p50</i> trong mô gan ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)	71
3.3. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)	78
3.3.1. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng	78
3.3.2. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm cận lâm sàng	81
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	102
4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu	102
4.1.1. Đặc điểm tuổi, giới của nhóm nghiên cứu.....	102
4.1.2. Đặc điểm triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm máu.....	104
4.1.3. Đặc điểm gánh nặng khối u và giai đoạn bệnh.....	107
4.2. Biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg dương tính.....	111
4.2.1. Biểu hiện tương đối gen <i>SUMO2</i> trong mô u và mô cận u.....	112
4.2.2. Biểu hiện tương đối gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO3</i> trong mô u và mô cận u.	119
4.2.3. Biểu hiện tương đối gen <i>NF-κB p65</i> và <i>NF-κB p50</i> trong mô u và mô cận u	127
4.2.4. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen nghiên cứu	128

4.3. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+).....	130
4.3.1. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với đặc điểm lâm sàng...	130
4.3.2. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> , <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với đặc điểm cận lâm sàng	131
HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN	139
KẾT LUẬN	140
KIẾN NGHỊ	142
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
1	ADN	Acid deoxyribonucleic
2	AFP	Alpha – Fetoprotein
3	ALT	Alanine Aminotransferase
4	ARN	Acid ribonucleic
5	AST	Aspastart Aminotransferase
6	BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer (<i>Ung thư gan lâm sàng Barcelona</i>)
7	CHT	Cộng hưởng từ
8	CLVT	Cắt lớp vi tính
9	CSC	Cancer stem cells (<i>Tế bào gốc ung thư</i>)
10	DCP	Des-gamma-carboxy prothrombin
11	DHMEQ	Dehydroxy-methyl-epoxy-quinomicin
12	ERK	Extracullar signal-regulated kinase (<i>Kinase được điều hoà bởi tín hiệu ngoại bào</i>)
13	ES	Phân độ mô học theo Edmondson - Steiner
14	HBsAg	Hepatitis B surface antigen (<i>Kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B</i>)
15	HBV	Hepatitis B virus (<i>Virus viêm gan B</i>)
16	HCC	Hepatocellular carcinoma (<i>Ung thư biểu mô tế bào gan</i>)

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
17	HCV	Hepatitis C virus (<i>Virus viêm gan C</i>)
18	IKK	I-kappaB kinase
19	IL	Interleukin
20	JAK	Janus kinase
21	LZ	Leucin Zipper (motif Leucin Zipper)
22	LPS	Lipopolysaccharide
23	MAPK	Mitogen-activated protein kinase (Protein kinase hoạt hoá bởi yếu tố tăng trưởng)
24	MYC	Myelocytomatosis oncongene (Gen sinh ung thư MYC)
25	NAFLD	Nonalcoholic fatty liver disease (<i>Bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu</i>)
26	NASH	Nonalcoholic steatohepatitis (<i>Viêm gan nhiễm mỡ không do rượu</i>)
27	NEMO	NF- κ B essential modulator (<i>Chất điều biến thiết yếu NF-κB</i>)
28	NF- κ B	Nuclear factor-kappaB (<i>Yếu tố nhân kappaB</i>)
29	NIK	NF- κ B-inducing kinase (<i>Kinase gây cảm ứng NF-κB</i>)
30	PET-CT	Positron emission tomography-computed tomography (<i>Chụp cắt lớp phát positron kết hợp cắt lớp vi tính</i>)
31	PI3K	Phosphatidylinositol-3-kinase (Enzym Phosphatidylinositol-3-kinase)

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
32	PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog deleted on chromosome 10 (<i>Gen phosphatase và tensin tương đồng bị mất đoạn trên nhiễm sắc thể số 10</i>)
33	PTM	Post-translational modification (<i>Sửa đổi sau dịch mã</i>)
34	RHD	Rel homolog domain (<i>Miền tương đồng Rel</i>)
35	RTq-PCR	Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reation (<i>Phản ứng chuỗi polymerase định lượng phiên mã ngược</i>)
36	SAE	SUMO activating E enzym (<i>Enzym E hoạt hóa SUMO</i>)
37	SENP	SUMO-specific Protease (<i>Protease đặc hiệu SUMO</i>)
38	STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription (<i>Bộ chuyển tín hiệu và kích hoạt phiên mã</i>)
39	SUMO	Small ubiquitin-like modifier (<i>Protein sửa đổi nhỏ giống Ubiquitin</i>)
40	TAD	C-terminal transactivaion domain (<i>Vùng chuyển hoạt hoá đầu C tận</i>)
41	TALTC	Tăng áp lực tĩnh mạch cửa
42	TLR	Toll-like receptor (<i>Thụ thể Toll-like</i>)
43	TNF- α	Tumor necrosis factor α (<i>Yếu tố hoại tử u alpha</i>)

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
44	UBC9	Ubiquitin-Conjugating Enzym 9 (Enzym liên hợp Ubiquitin 9)
45	URGCP	The upregulator of cell proliferation (Chất điều hòa di trú tế bào)
46	UTBMTBG	Ung thư biểu mô tế bào gan
47	WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
1.1.	Chiều dài của các trình tự exon và intron của các gen SUMO	27
2.1.	Trình tự môi nghiên cứu.....	52
2.2.	Thành phần của phản ứng <i>RTq-PCR</i>	53
2.3.	Chu trình nhiệt của phản ứng <i>RTq-PCR</i>	53
2.4.	Giá trị bình thường các chỉ số công thức máu, chức năng gan và enzym gan.....	55
2.5.	Đánh giá chức năng gan theo Child-Pugh	55
2.6.	Phân loại giai đoạn UTBMTBG theo Barcelona 2022.....	56
2.7.	Phân độ mô học UTBMTBG theo WHO 2019.....	57
2.8.	Độ biệt hóa tế bào theo Edmondson và Steiner.....	57
3.1.	Đặc điểm tuổi, giới	63
3.2.	Đặc điểm một số triệu chứng lâm sàng	64
3.3.	Đặc điểm một số chỉ số công thức máu và đông máu	65
3.4.	Đặc điểm một số chỉ số xét nghiệm sinh hóa máu	66
3.5.	Một số đặc điểm u gan trên chẩn đoán hình ảnh	67
3.6.	Đặc điểm mô bệnh học khối u gan	68
3.7.	Mối liên quan giữa mô bệnh học khối u gan với phân mức nồng độ AFP huyết tương	69
3.8.	Đặc điểm nồng độ AFP huyết tương	70
3.9.	Đánh giá chức năng gan và giai đoạn bệnh theo BCLC	70
3.10.	Biểu hiện các gen <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i> trong mô u	71
3.11.	Biểu hiện các gen <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i> trong mô cận u	71
3.12.	Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen <i>NF-κB p65</i> , <i>NF-κB p50</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô ung thư	74

Bảng	Tên bảng	Trang
3.13.	Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen <i>NF-κB p65</i> , <i>NF-κB p50</i> , <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô cận u	75
3.14.	Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen <i>SUMO</i> trong mô ung thư và các gen nghiên cứu trong mô cận u	76
3.15.	Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen <i>NF-κB</i> trong mô ung thư và các gen nghiên cứu mô cận u	77
3.16.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng.....	78
3.17.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p50</i> , <i>NF-κB p65</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng	79
3.18.	Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các triệu chứng lâm sàng và mức độ biểu hiện các gen họ <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i>)	80
3.19.	Mối tương quan giữa biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số chỉ số máu	81
3.20.	Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p50</i> và <i>NF-κB p65</i> trong mô ung thư với một số chỉ số máu	82
3.21.	Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các triệu chứng cận lâm sàng và mức độ biểu hiện các gen họ <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i>	83
3.22.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức số lượng tiểu cầu	85
3.23.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức mức hoạt độ AST huyết tương	85
3.24.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức hoạt độ ALT huyết tương	86
3.25.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức nồng độ Albumin huyết tương (n = 69).....	86

Bảng	Tên bảng	Trang
3.26.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức Bilirubin toàn phần huyết tương	87
3.27.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức nồng độ AFP huyết tương	87
3.28.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm khối u gan	88
3.29.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p50</i> và <i>NF-κB p65</i> trong mô ung thư với một số đặc điểm khối u gan	89
3.30.	Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các đặc điểm khối u gan và mức độ biểu hiện các gen họ <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i>	90
3.31.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> trong mô ung thư với đặc điểm mô bệnh học khối u gan .	91
3.32.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p50</i> và <i>NF-κB p65</i> trong mô ung thư với đặc điểm mô bệnh học khối u gan .	92
3.33.	Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các đặc điểm mô bệnh học khối u và mức độ biểu hiện các gen họ <i>SUMO</i> và <i>NF-κB</i> ...	93
3.34.	Mối liên quan giữa biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân độ mô học theo Edmondson - Steiner (ES)	94

DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Các yếu tố nguy cơ ngoại sinh và nội sinh gây UTBMTBG	4
1.2.	Hướng dẫn chẩn đoán UTBMTBG của Bộ Y tế Việt Nam	6
1.3.	Cơ chế bệnh sinh UTBMTBG liên quan đến tích hợp HBV-DNA vào nhân tế bào gan	8
1.4.	HBV có liên quan đến việc kích hoạt các con đường truyền tín hiệu liên quan đến ung thư.....	11
1.5.	Con đường tín hiệu NF- κ B	14
1.6.	Vai trò của con đường tín hiệu NF- κ B trong bệnh sinh UTBMTBG ...	17
1.7.	Sơ đồ cấu trúc gen <i>NF-κB p50</i>	20
1.8.	Các chức năng chính của p50	21
1.9.	Cấu trúc và các vị trí điều chỉnh sau phiên mã của protein p65	23
1.10.	Cơ chế phosphoryl hóa NF- κ B p65 thúc đẩy quá trình sinh UTBMTBG	26
1.11.	Mô hình cấu trúc phân tử protein SUMO 1, 2, 3	29
1.12.	Các bước của con đường SUMO hóa	30
1.13.	Mối liên quan giữa con đường tín hiệu NF- κ B p65 và SUMO trong cơ chế bệnh sinh UTBMTBG	36
2.1.	Máy PCR Bio-Rad T100 Thermal Cycler.....	42
2.2.	Hệ thống máy Realtime PCR Lightcycles 96 của Roche	43
2.3.	Mẫu bệnh phẩm mô u và cận u cho nghiên cứu biểu hiện gen.....	48
2.4.	Sơ đồ nghiên cứu	62
3.1.	So sánh mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p65</i> và <i>NF-κB p50</i> giữa mô ung thư và mô cận u	72

Hình	Tên hình	Trang
3.2.	So sánh mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> , <i>SUMO2</i> và <i>SUMO3</i> giữa mô ung thư và mô cận u	73
3.3.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO1</i> với phân độ mô học theo WHO	95
3.4.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO2</i> với phân độ mô học theo WHO	96
3.5.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>SUMO3</i> với phân độ mô học theo WHO	97
3.6.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p50</i> với phân độ mô học theo WHO	98
3.7.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen <i>NF-κB p65</i> với phân độ mô học theo WHO	99
3.8.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen họ <i>SUMO</i> trong mô ung thư với giai đoạn bệnh theo BCLC	100
3.9.	Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen họ <i>NF-κB</i> trong mô ung thư với giai đoạn bệnh theo BCLC	101

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh ung thư gan hiện vẫn đang là vấn đề sức khỏe toàn cầu với sự gia tăng hàng năm về cả tỷ lệ mắc và tử vong. Theo GLOBOCAN năm 2022, ung thư gan đứng thứ 5 về tỷ lệ mắc mới ở nam và đứng thứ 9 ở nữ [1]. Tại Việt Nam, ung thư gan là loại ung thư phổ biến nhất ở nam giới và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu với gần 20% số trường hợp tử vong [2]. Trong số đó, 90% các trường hợp ung thư gan nguyên phát là ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG), với tiên lượng kém vì phần lớn được phát hiện ở giai đoạn muộn [3]. Nhiễm virus viêm gan B (Hepatitis B virus - HBV) mạn tính được cho là yếu tố chính gây UTBMTBG, đặc biệt ở các khu vực có tỷ lệ lưu hành HBV cao như Việt Nam [4]. Cơ chế bệnh sinh phân tử của UTBMTBG do nhiễm HBV rất phức tạp, liên quan đến sự tương tác giữa các protein virus, các yếu tố tế bào chủ và vi môi trường khối u. HBV có thể gây mất ổn định di truyền và biến đổi biểu sinh trong DNA của tế bào, dẫn đến rối loạn điều hòa gen gây ung thư. Đồng thời, HBV còn hoạt hóa nhiều con đường tín hiệu nội bào khác nhau liên quan đến ung thư - một trong số đó là con đường tín hiệu NF- κ B và vai trò của quá trình SUMO hóa (SUMOylation) [5].

SUMO hóa là một trong các hình thức sửa đổi protein sau dịch mã (post-translational modification - PTM) tồn tại ở hầu hết sinh vật nhân chuẩn và rất cần thiết cho việc điều hòa biểu hiện gen, truyền tín hiệu tế bào, sửa chữa DNA và duy trì tính toàn vẹn của bộ gen [6]. Cho đến nay đã ghi nhận 5 đồng phân của protein SUMO bao gồm SUMO1, SUMO2, SUMO3, SUMO4 và SUMO5 được mã hóa bởi các gen tương ứng, trong đó *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* biểu hiện trong nhiều mô cơ quan, trong khi *SUMO4 mRNA* chỉ được tìm thấy ở thận, lách và hạch bạch huyết, còn *SUMO5* mới được phát hiện gần đây có đặc hiệu loài cao, chỉ biểu hiện ở một vài loại mô nhất định như tinh hoàn và máu [7]. Do vậy, SUMO1, SUMO2, SUMO3 liên quan đến cơ chế bệnh sinh và miễn dịch của nhiều loại bệnh khác nhau, trong đó một số nghiên cứu ghi nhận

thay đổi mức độ biểu hiện SUMO và enzym SUMO hóa trong mô UTBMTBG so với mô cận u [7], cho thấy SUMO (đặc biệt SUMO1-3) có thể được sử dụng như một mục tiêu tiềm năng trong chẩn đoán và tiên lượng UTBMTBG.

Ngoài ra, UTBMTBG thường phát triển trên nền bệnh gan mạn tính liên quan đến quá trình viêm, xơ hóa gan, do vậy mối liên quan giữa UTBMTBG và con đường tín hiệu NF- κ B cũng được nhiều nghiên cứu xác nhận. NF- κ B gồm một nhóm các yếu tố phiên mã đóng vai trò quan trọng trong điều chỉnh phản ứng miễn dịch và viêm, tăng sinh tế bào, chết tế bào theo chương trình và đáp ứng với stress [8]. Trong số 5 thành viên NF- κ B (bao gồm 3 protein Rel (RelA/p65, RelB và c-Rel) và 2 protein tiền thân không phải Rel (p100 và p105 tạo ra p52 và p50), NF- κ B p65 và NF- κ B p50 có hoạt động phiên mã mạnh, có thể lắp ráp với nhau tạo phức hợp heterodimeric p65/p50 và từ đó tham gia thúc đẩy hình thành khối u [9], [10], trong đó có UTBMTBG [11], [12], [13]. NF- κ B p65 còn được kích hoạt bởi protein SUMO1 qua trung gian TNF- α và tương tác với HBx của HBV để cung cấp vi môi trường thuận lợi cho sự phát triển của tế bào ung thư gan.

Như vậy có mối liên hệ giữa biểu hiện các gen *SUMO* và *NF- κ B* đối với sự phát sinh, phát triển của UTBMTBG. Tuy nhiên, biểu hiện của các gen này và mối liên quan với đặc điểm bệnh nhân UTBMTBG ở người Việt Nam nhiễm HBV vẫn còn nhiều điểm chưa rõ, cần được làm sáng tỏ. Chính vì vậy, đề tài: **“Nghiên cứu biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)”** được thực hiện nhằm 2 mục tiêu:

1. *Xác định biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô u và mô cận u ở bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg (+).*
2. *Đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô u với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg (+).*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan ung thư biểu mô tế bào gan

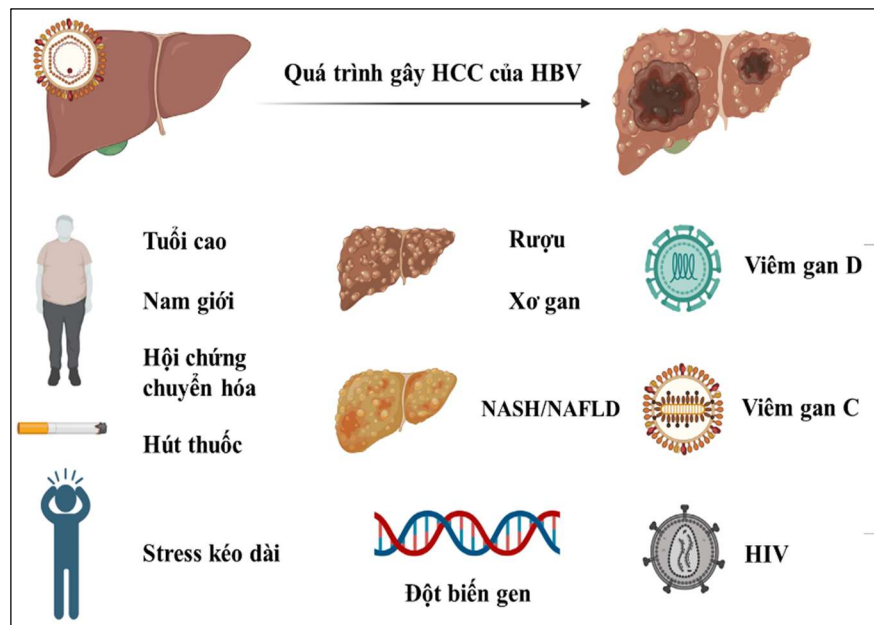
1.1.1. Một số đặc điểm dịch tễ học

Tỷ lệ mắc và tử vong do UTBMTBG có sự khác biệt đáng kể giữa các vùng địa lý trên thế giới do sự phân bố không đồng nhất của các yếu tố nguy cơ (nhất là tỷ lệ nhiễm HBV), khả năng tiếp cận cơ sở chăm sóc y tế với năng lực chẩn đoán sớm UTBMTBG và cung cấp phương pháp điều trị triệt căn [14]. Tại Hoa Kỳ, tỷ lệ mắc UTBMTBG tăng gấp ba lần trong bốn thập kỷ qua, và ước tính số lượng người mắc UTBMTBG sẽ lên tới 22 triệu ca trong 2 thập kỷ tới [15]. Tỷ lệ mắc mới UTBMTBG ở Nhật Bản đã giảm đáng kể do kiểm soát tốt tình trạng nhiễm virus viêm gan C (Hepatitis C virus - HCV). Ở Trung Quốc, tỷ lệ mắc UTBMTBG đang giảm do tăng cường tiêm vắc xin viêm gan B [16]. Năm 2019 ghi nhận khu vực Tây Thái Bình Dương có số lượng ca mắc ung thư gan ($n = 295.484$), và con số tử vong ($n = 254.054$). Tuy nhiên, Hoa Kỳ lại là quốc gia có sự gia tăng lớn nhất từ năm 2010 đến 2019 về các trường hợp tử vong do UTBMTBG (+ 42%) [15].

1.1.2. Các yếu tố nguy cơ

Xơ gan được xác định là yếu tố nguy cơ quan trọng nhất đối với sự phát triển của UTBMTBG. Tuy nhiên, ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (Nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD) đang trở thành một trong những yếu tố nguy cơ quan trọng gây UTBMTBG, đặc biệt ở các nước phát triển [16], [17]. Ở nhóm bệnh nhân này, UTBMTBG có thể phát triển ngay cả khi không xơ gan. Vì không có phác đồ điều trị đặc hiệu NAFLD nên thay đổi lối sống bao gồm giảm cân và gia tăng hoạt động thể chất vẫn là biện pháp dự phòng chính [18]. Phẫu thuật giảm béo giúp giảm cân lâu dài và đã được xác định có liên quan đến giảm nguy cơ UTBMTBG [19].

Bên cạnh đó, một số yếu tố nguy cơ khác như giới tính nam, tuổi cao, tải lượng HBV DNA cao và đột biến vùng promoter gen cũng có liên quan độc lập với nguy cơ UTBMTBG [20], [21]. Trong số bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính được điều trị bằng các thuốc kháng virus dạng nucleotide, những người đồng nhiễm virus viêm gan D được chứng minh là có nguy cơ phát triển UTBMTBG gấp gần 6 lần so với bệnh nhân không đồng nhiễm virus viêm gan D [22]. Mặc dù ít được khảo sát hơn, đồng nhiễm HCV hoặc HIV cũng đã được xác định liên quan đến tăng tỷ lệ mắc UTBMTBG [23]. Các yếu tố nguy cơ chính của UTBMTBG được tóm tắt trong *Hình 1.1* dưới đây.



Hình 1.1. Các yếu tố nguy cơ ngoại sinh và nội sinh gây UTBMTBG

* Nguồn: Theo Varghese N. và cộng sự (2024) [24]

1.1.3. Lâm sàng và cận lâm sàng

1.1.3.1. Lâm sàng

Phần lớn UTBMTBG xuất hiện trên nền bệnh gan mạn tính (viêm gan mạn tính hoặc xơ gan), do đó triệu chứng UTBMTBG thường là triệu chứng liên quan đến bệnh gan mạn tính như dấu hiệu suy chức năng gan (mệt mỏi, ăn kém, rối loạn tiêu hóa, phù...), tăng áp lực tĩnh mạch cửa (TALTMC) (lách to, tuần hoàn bàng hệ, cổ trướng, giãn tĩnh mạch thực quản...) và thay đổi hình

thái gan. Những bệnh nhân phát hiện bệnh ở giai đoạn sớm qua tầm soát trên đối tượng nguy cơ thường ít triệu chứng hơn, trong khi bệnh nhân phát hiện muộn khi khối u lớn có thể gây nhiều triệu chứng như đau bụng âm ỉ, liên tục do căng bao Glisson, sụt cân... thậm chí có các triệu chứng chèn ép (như vàng da do chèn ép đường mật), xâm lấn (như xâm lấn tĩnh mạch cửa làm tăng nặng hội chứng TALTMC) và di căn xa (di căn xương, phổi, hạch bạch huyết) hoặc biến chứng như vỡ khối ung thư gan [25].

Một số bệnh nhân có biểu hiện hội chứng cận u, thường gặp nhất là tăng canxi máu, hạ đường máu, tăng hồng cầu, ngoài ra còn một số biểu hiện khác như tăng tiểu cầu và các biến đổi da, thần kinh, viêm khớp.

1.1.3.2. Cận lâm sàng

- Dấu ấn huyết thanh

Alpha fetoprotein (AFP) có ái lực với lecthin (AFP-L3) và Des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) là những dấu ấn huyết thanh được sử dụng phổ biến nhất hiện nay trong chẩn đoán và theo dõi kết quả điều trị UTBMTBG và được đưa vào các khuyến cáo hiện hành. Tuy nhiên do độ nhạy chưa đạt như kỳ vọng cho nên việc xác định thêm các dấu ấn sinh học mới giúp phát hiện sớm UTBMTBG vẫn là chủ đề hấp dẫn hiện nay [26].

- Chẩn đoán hình ảnh

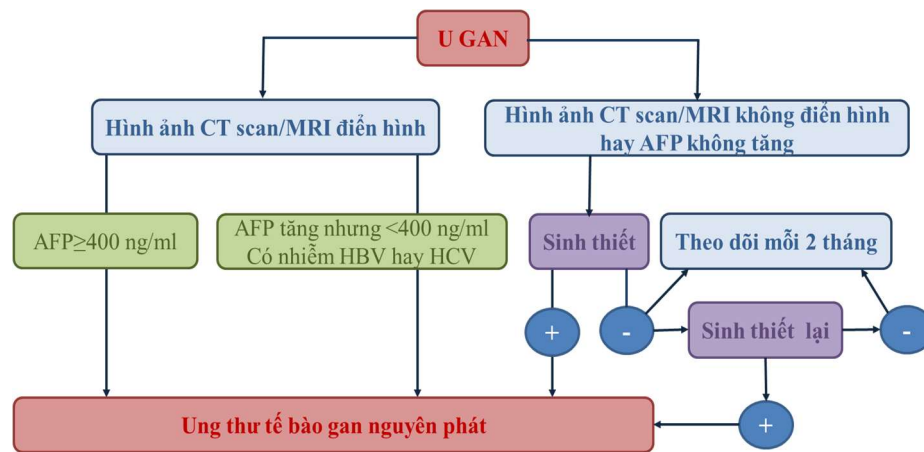
Siêu âm là lựa chọn đầu tay trong phát hiện khối u gan vì là phương pháp chi phí thấp, không xâm lấn, có thể lặp lại sau mỗi 3 đến 6 tháng, tuy nhiên kém hiệu quả trong việc phát hiện các khối u có kích thước nhỏ hơn 1 cm [27]. Chụp cắt lớp vi tính (CLVT) đa dãy hoặc cộng hưởng từ (CHT) với chất tương phản đặc hiệu là kỹ thuật chuyên sâu hơn có thể phát hiện các khối u nhỏ, đặc biệt xác định hình ảnh tăng sinh mạch điển hình của khối u để góp phần quyết định chẩn đoán. Một số phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác như PET-CT chỉ hữu dụng để xác định tổn thương di căn ngoài gan và chụp động mạch gan hay siêu âm cản âm ít được áp dụng trong thực hành lâm sàng hiện nay [28].

- Sinh thiết gan

Nếu UTBMTBG xuất hiện ở bệnh nhân không xơ gan và các phương pháp chẩn đoán hình ảnh không đủ để chẩn đoán thì cần cân nhắc chỉ định sinh thiết gan. Tuy nhiên, phương pháp chẩn đoán này tiềm ẩn một số biến chứng như đau tại chỗ, viêm phúc mạc mật và chảy máu trong [29].

1.1.4. Chẩn đoán

Hiện có nhiều hướng dẫn chẩn đoán UTBMTBG và liên tục được cập nhật trong những năm gần đây. Năm 2020, Bộ Y tế Việt Nam đưa ra hướng dẫn chẩn đoán UTBMTBG theo sơ đồ dưới đây.



Hình 1.2. Hướng dẫn chẩn đoán UTBMTBG của Bộ Y tế Việt Nam

* Nguồn: Theo Bộ Y tế (2020) [29]

Ngoài ra, việc đánh giá giai đoạn UTBMTBG cũng rất quan trọng để tiên lượng, đồng thời giúp lựa chọn phương pháp điều trị thích hợp. Hiện nay, hệ thống giai đoạn BCLC được đánh giá là toàn diện nhất và là hệ thống duy nhất cung cấp phương pháp điều trị cụ thể cho từng giai đoạn dựa trên các khuyến nghị điều trị tốt nhất hiện có. Giai đoạn BCLC còn được chứng minh có năng lực mạnh nhất trong phân tầng và tiên lượng thời gian sống, do vậy được sử dụng chủ yếu trên lâm sàng và trong nghiên cứu [30].

1.2. Cơ chế bệnh sinh ung thư biểu mô tế bào gan liên quan nhiễm HBV

Nhiễm HBV thúc đẩy quá trình gây UTBMTBG thông qua cơ chế trực tiếp hoặc gián tiếp. Một mặt, HBV có thể tích hợp vật chất di truyền vào nhân

tế bào gan, từ đó gây bất ổn định bộ gen tế bào chủ, biến đổi di truyền ngoại sinh của DNA chủ, tái cấu trúc nhiễm sắc thể và dẫn đến biểu hiện bất thường của gen gây ung thư cũng như gen ức chế khối u. HBV cũng có thể gây ra sự biến đổi ác tính của các tế bào gan bằng cách kích hoạt nhiều con đường tín hiệu liên quan đến ung thư, điều chỉnh quá trình trao đổi chất của tế bào... [31] Mặt khác, vi môi trường ngoại bào trong gan thay đổi thông qua tình trạng viêm mạn tính do nhiễm HBV, sự tương tác giữa virus và các tế bào miễn dịch giúp virus trốn thoát sự giám sát miễn dịch và thúc đẩy quá trình tiến triển của bệnh từ tình trạng viêm sang hình thành khối u.

1.2.1. Đột biến gen

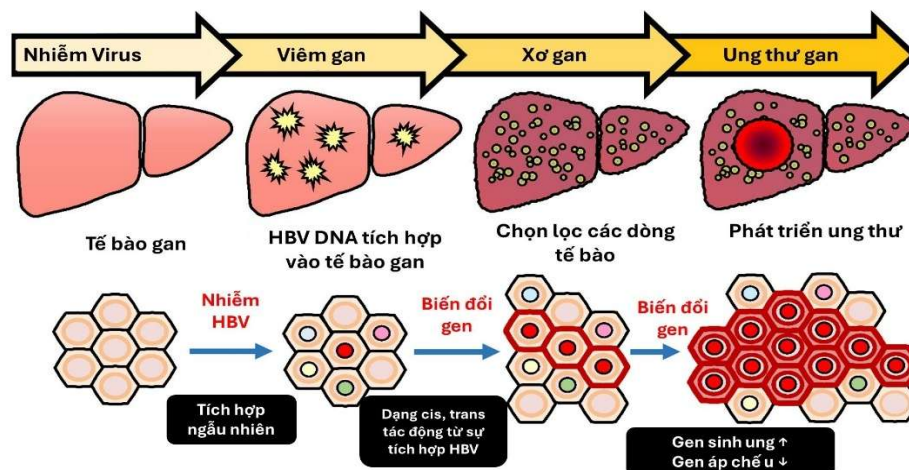
Các đột biến xảy ra ở cả gen của HBV và tế bào soma đều có thể thúc đẩy quá trình chuyển đổi ác tính của tế bào gan. Nhiều yếu tố có thể dẫn đến đột biến có liên quan ở gen HBV, bao gồm nhiễm HBV thời gian dài, cấu trúc đặc biệt của bộ gen virus, sử dụng rộng rãi và thiếu kiểm soát thuốc kháng virus, cũng như stress miễn dịch của vật chủ có lợi cho sự tồn tại của HBV.

Đột biến ở bộ gen HBV không xảy ra ngẫu nhiên trong toàn bộ DNA của virus mà thường tập trung ở một số vùng cụ thể. Ví dụ, đột biến kép G1896A của vùng *pre C* và T1762/G1764 của vùng BCP đã được xác định là yếu tố dự báo nguy cơ UTBMTBG [32]. Đột biến điểm, mất đoạn và chèn đoạn ở vùng *pre-S2* thường gặp ở những bệnh nhân viêm gan virus mạn và UTBMTBG, liên quan tới khả năng giữ lại virus trong tế bào, do đó thúc đẩy quá trình chuyển đổi ác tính và là một yếu tố nguy cơ đáng kể với UTBMTBG [33].

Phân tích proteogenomic đã xác định được 5 gen đột biến quan trọng trong mô khối u của 159 bệnh nhân UTBMTBG liên quan đến HBV, bao gồm *TP53* (58%), *CTNNB1* (19%), *Axin1* (18%), *Keap1* (7%) và *RBI* (6%) [34]. Trong đó, *TP53*, *Axin1* và *RBI* là các gen ức chế khối u, còn *CTNNB1* là gen sinh ung thư (oncogen). Ngoài ra, một số kết quả nghiên cứu cũng xác nhận nhiều gen, bao gồm *TERT*, *ARID1A*, *ARID2* và *NFE2L2*, bị đột biến trong

UTBMTBG liên quan đến HBV [35]. Những gen này được chứng minh là có liên quan chặt chẽ đến sự xuất hiện nhiều loại ung thư, trong đó có UTBMTBG.

1.2.2. Sự tích hợp của HBV DNA vào DNA tế bào gan



Hình 1.3. Cơ chế bệnh sinh UTBMTBG liên quan đến tích hợp HBV-DNA vào nhân tế bào gan

**Nguồn: Theo Wang S. H. và cộng sự (2021) [36]*

90% trường hợp các khối UTBMTBG ở bệnh nhân nhiễm HBV đều chứa tích hợp HBV-DNA [36]. Sự tích hợp này thường xảy ra ở giai đoạn đầu của nhiễm virus vì được phát hiện ở gan bệnh nhân nhiễm HBV mạn khi còn rất trẻ. Hầu hết tích hợp HBV-DNA được phân bố ngẫu nhiên trên tất cả nhiễm sắc thể của tế bào gan xuyên suốt các giai đoạn viêm gan mạn tính [37]. Ngoại trừ các gen thuộc vùng “hotspot”, vai trò của tích hợp HBV đóng góp vào quá trình gây ung thư vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, kết quả giải trình tự gen thế hệ mới trên bệnh nhân UTBMTBG do HBV gần đây cho thấy, HBV-DNA đã tích hợp vào một số điểm ở gần các gen gây ung thư của gen sao chép ngược telomase (*TERT*) (chiếm 25%), *MLL4/KMT2B* (chiếm 15%) và *cyclin E1 (CCNE1)* (chiếm 5%) [38].

1.2.3. Rối loạn di truyền biểu sinh (epigenetic)

HBV có thể gây tái cấu trúc biểu sinh bằng cách thay đổi trạng thái methyl hóa DNA và biến đổi sau dịch mã của histon, đây là một cơ chế bệnh

sinh quan trọng của UTBMTBG liên quan đến HBV. Kết quả nghiên cứu ghi nhận 68% gen bị methyl hóa có liên quan đến sự phát triển ung thư, cho thấy nhiễm HBV có thể ảnh hưởng đến quá trình methyl hóa gen trong các mô khối u [39]. Sự biểu hiện của protein cấu trúc HBV (chủ yếu là HBx) có thể gây ra tái cấu trúc biểu sinh bất thường, kích hoạt oncogen và làm im lặng gen ức chế khối u. Ở bệnh nhân UTBMTBG nhiễm HBV, protein HBx làm giảm biểu hiện gen *ASPP1* và *ASPP2* thông qua sửa đổi methyl hóa DNA và làm giảm tương tác của chúng với protein p53, ức chế chết theo chương trình tế bào, và có liên quan chặt chẽ đến sự xuất hiện UTBMTBG giai đoạn sớm [40]. Ngoài ra, protein HBx còn thúc đẩy sự liên kết của methyltransferase DNMT1 và DNMT3A với các gen khởi động *SFRP1* và *SFRP5*, làm im lặng các gen này, dẫn đến khối u tiến triển. Ức chế *DNMT1* có thể vô hiệu hóa tín hiệu Wnt và làm giảm mức độ biểu hiện của gen đích *Wnt C-Myc* và *Cyclin D1*, cản trở phát triển và xâm lấn của UTBMTBG liên quan đến HBV trong ống nghiệm và trong cơ thể sống. Protein HBx cũng có thể ổn định WDR5 (một tiểu đơn vị cốt lõi của histone H3 lysine 4 methyltransferase) bằng cách ức chế quá trình ubiquitin hóa của nó, thúc đẩy sự hình thành và phát triển khối u ở chuột UTBMTBG [41]. Những hiện tượng này chỉ ra rằng quá trình tái cấu trúc biểu sinh của HBV rất quan trọng đối với cơ chế bệnh sinh của UTBMTBG.

1.2.4. Viêm mạn tính và tái tạo tế bào gan

Người mang HBV mạn tính liên tục chịu các đợt viêm gan tái diễn trong nhiều năm, với nguy cơ phát triển UTBMTBG cao gấp 20-30 lần nếu không can thiệp điều trị [42]. Ngược lại, bệnh nhân được điều trị bằng thuốc đồng đẳng nucleot(s)ide đạt được sự ức chế virus bền vững và giảm tình trạng viêm gan, đồng thời cũng giảm hoặc trì hoãn được sự xuất hiện UTBMTBG [43]. Điều này xác nhận rằng tình trạng viêm gan dai dẳng trong quá trình nhiễm HBV đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy hình thành UTBMTBG.

Việc loại bỏ hoàn toàn nhiễm HBV thường đòi hỏi sự kết hợp miễn dịch

thích nghi của vật chủ theo cả hai con đường hủy tế bào và không hủy tế bào. Quá trình này bao gồm loại bỏ trực tiếp các tế bào nhiễm bệnh bằng T CD8⁺ đặc hiệu gây độc tế bào, tiết ra các kháng thể trung hòa chống lại kháng nguyên bề mặt HBV (HBsAg) bởi tế bào B và giúp T CD4⁺ hỗ trợ việc thanh thải hiệu quả [44]. Tuy nhiên, ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn, số lượng T CD8⁺ đặc hiệu với virus thường không đủ hoặc hoạt động quá tải. Đáp ứng miễn dịch không hiệu quả một phần do sự tham gia của các chất trung gian ức chế miễn dịch, chẳng hạn như Interleukin-10 do tế bào Kupffer cư trú trong gan tiết ra [45]. Các hiện tượng này có thể làm giảm dòng tế bào T đặc hiệu HBV lưu hành vào gan để loại bỏ tế bào gan nhiễm bệnh [46]. Kết hợp với các cytokin và yếu tố tăng trưởng, tình trạng viêm gan kéo dài dẫn đến các chu kỳ tổn thương gan lặp đi lặp lại và tái tạo tế bào gan, dẫn đến phát sinh các tế bào ung thư.

1.2.5. Vai trò của protein HBx

HBx cần thiết cho hoạt động sao chép của HBV trong cơ thể và là yếu tố chính góp phần gây ung thư do HBV thông qua các cơ chế phức tạp [47]. Nhiều bằng chứng chỉ ra HBx gây rối loạn điều hòa biểu hiện nhiều gen tế bào và hoạt hóa nhiều con đường tín hiệu trong tế bào gan, điều này chi phối kiểm soát phiên mã, chu trình tế bào, mất cân bằng giữa tăng sinh tế bào gan và quá trình chết theo chương trình của tế bào [48].

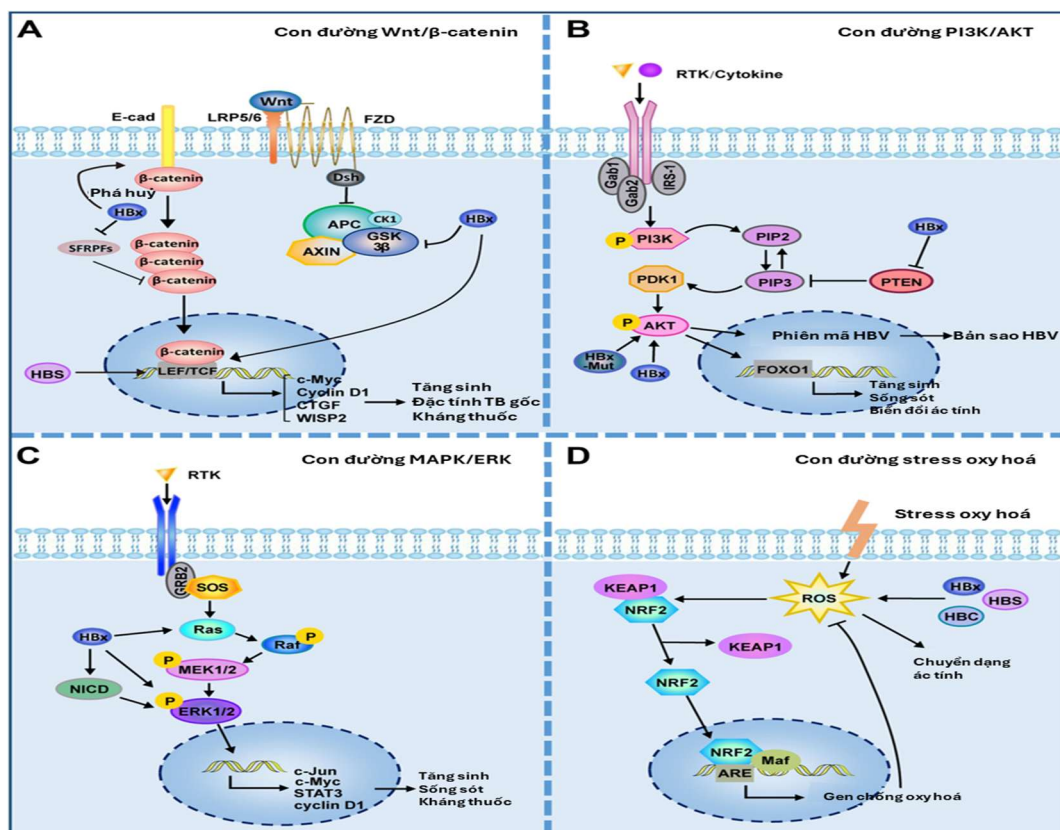
Hơn nữa, các bằng chứng còn chỉ ra HBx có thể thúc đẩy biến đổi tế bào gan thông qua tương tác với nhiều loại protein, điều chỉnh quá trình sửa chữa DNA, quá trình chết theo chương trình của tế bào, tăng sinh tế bào và một số quá trình khác liên quan đến khối u [49]. Tuy nhiên, cần có thêm bằng chứng từ các mô hình trong cơ thể sống và nghiên cứu trên lâm sàng để xác nhận thêm các hoạt động gây ung thư phức tạp này của HBx.

Một số đột biến gen ở HBx đã được xác định trong các mẫu UTBMTBG trên lâm sàng, liên quan đến nguy cơ UTBMTBG do HBV cao hơn [50]. Một số đột biến HBx đã được thử nghiệm trong ống nghiệm làm tăng khả năng sao

chép của HBV và thúc đẩy tăng sinh tế bào gan so sánh với HBx hoang dại [50]. Ngoài ra, biểu hiện HBx cắt cụt được quan sát thấy ở nhiều trường hợp UTBMTBG, có thể liên quan đến quá trình gây ung thư gan [51]. Những nghiên cứu này gợi ý HBx có thể tham gia vào quá trình phát triển nhưng không tham gia vào việc duy trì UTBMTBG.

1.2.6. Hoạt hóa các con đường truyền tín hiệu do HBV

Khả năng gây ung thư của HBV có liên quan chặt chẽ đến sự hoạt hóa nhiều con đường truyền tín hiệu liên quan đến ung thư trong tế bào vật chủ của chúng. Các đột biến và tích hợp HBV như đã được mô tả ở trên dẫn đến biểu hiện bất thường của nhiều phân tử trong tế bào vật chủ, hầu hết nằm ở các vị trí quan trọng của các con đường truyền tín hiệu gây ung thư như con đường tín hiệu Wnt/ β -catenin; PI3K/AKT; MAPK/ERK và stress oxy hóa (Hình 1.4).



Hình 1.4. HBV có liên quan đến việc kích hoạt các con đường truyền tín hiệu liên quan đến ung thư

* Nguồn: Theo Jiang Y. và cộng sự (2021) [31]

Trong đó, sự kích hoạt bất thường con đường tín hiệu Wnt/ β -catenin đã được quan sát thấy ở khoảng 66% bệnh nhân [35], và liên quan chặt chẽ đến hình thành, phát triển, tính gốc cũng như khả năng kháng thuốc của UTBMTBG [52]. Con đường PI3K/Akt tham gia vào quá trình kiểm soát phát triển, tăng sinh tế bào và được kích hoạt bất thường ở các khối u khác nhau. Là chất ức chế khối u, PTEN có thể điều chỉnh tiêu cực con đường PI3K/Akt, trong khi HBx có thể điều chỉnh tăng sinh tế bào gan và làm trầm trọng thêm quá trình gây ung thư liên quan đến HBV bằng cách ức chế PTEN và kích hoạt Akt [53]. Con đường tín hiệu MAPK đóng vai trò quan trọng trong quá trình sao chép HBV, trốn tránh miễn dịch, thúc đẩy tế bào khối u và kháng thuốc [54]. Stress oxy hóa cũng góp phần tích cực vào sự xuất hiện và phát triển của khối u. Các gốc oxy hóa hoạt động (Reactive oxygen species - ROS) được chứng minh là yếu tố thúc đẩy trực tiếp từ xơ gan do HBV đến UTBMTBG [55].

1.3. Con đường tín hiệu NF- κ B và vai trò của các gen *NF- κ B p50, p65* trong ung thư biểu mô tế bào gan

1.3.1. Con đường tín hiệu NF- κ B

1.3.1.1. Cấu trúc và chức năng các thành viên họ NF- κ B

NF- κ B (viết đầy đủ là Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) là nhân tố phiên mã được phát hiện năm 1986 khi ghi nhận hoạt động liên kết DNA của nó đối với chất tăng cường chuỗi nhẹ immunoglobulin κ trong tế bào B hoạt hóa [56]. Khám phá trong những năm sau đó cho thấy *NF- κ B* có mặt ở tất cả tế bào động vật có vú, và vị trí gắn protein κ B đóng vai trò then chốt trong tăng cường phiên mã và hoạt hóa gen để đáp ứng với các kích thích tế bào B cũng như sự tham gia của NF- κ B vào nhiều con đường tín hiệu khác nhau [57]. Nó đóng vai trò trung tâm trong điều hòa hệ thống miễn dịch, bao gồm cả miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch đáp ứng. NF- κ B kiểm soát phản ứng của tế bào với các kích thích đa dạng của môi trường như stress, cytokin, gốc tự do, kháng nguyên của vi khuẩn hoặc virus... Do vậy,

rối loạn hoạt động NF- κ B có liên quan tới hàng loạt các bệnh ở người như ung thư, bệnh tự miễn, bệnh liên quan đến phản ứng viêm, nhiễm khuẩn, nhiễm virus và sự phát triển không bình thường của hệ miễn dịch [8].

Gia đình yếu tố phiên mã NF- κ B ở người gồm 5 thành viên NF- κ B1 (p50), NF- κ B2 (p52), RelA (p65), RelB và c-Rel, được chia thành 2 nhóm chính là:

- Nhóm NF- κ B: bao gồm NF- κ B1 (p50 và tiền chất p105) và NF- κ B2 (p52 và tiền chất p100).

- Nhóm protein Rel: bao gồm RelA (p65), RelB và c-Rel.

Cả 5 yếu tố phiên mã này có cấu trúc tương đồng ở vị trí đầu N tận của chuỗi protein, có độ dài khoảng 400 amino acid. Vùng này chịu trách nhiệm liên kết với DNA và bắt cặp với các protein khác, được gọi là miền tương đồng Rel (Rel homolog domain - RHD). Miền tương đồng Rel (RHD) rất cần thiết cho chức năng của các yếu tố phiên mã này, bao gồm dimer hóa, chuyển vị nhân và gắn đặc hiệu với DNA, qua đó điều chỉnh biểu hiện gen đích [58], [59].

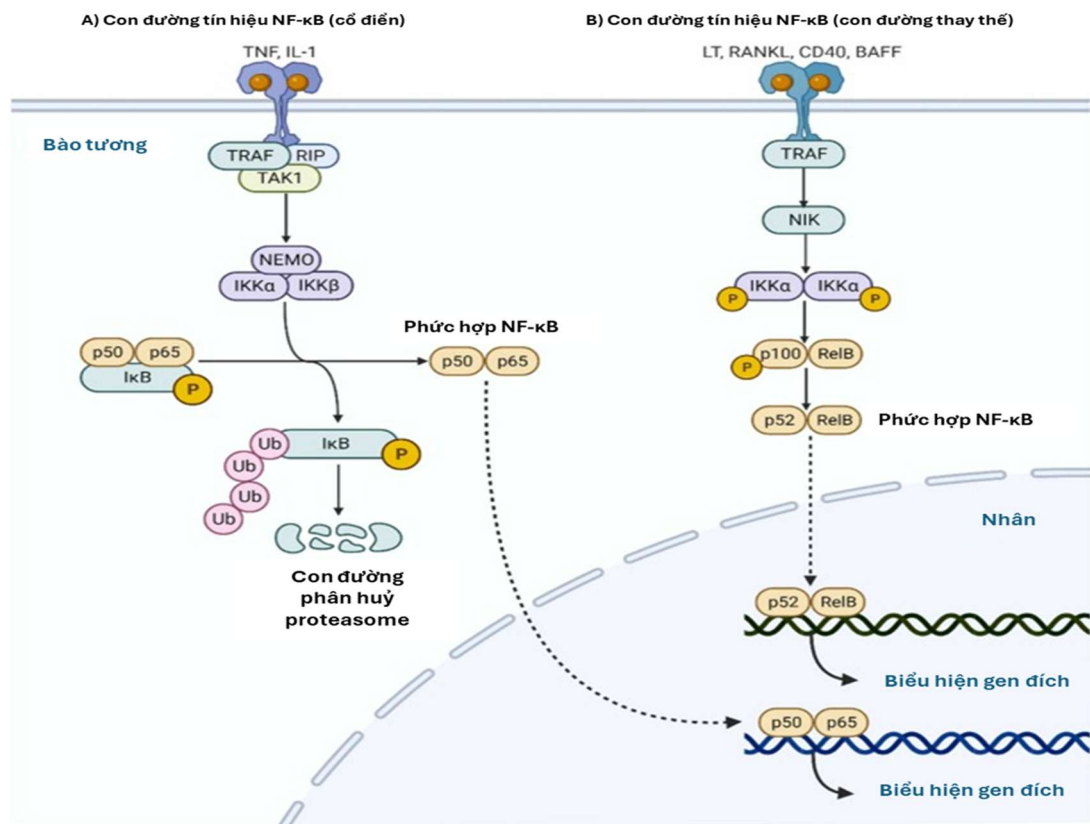
Nhóm protein Rel (p65, RelB và cRel) còn có thêm vùng chuyển hoạt hóa đầu C tận (C-terminal transactivation domain - TAD), hay còn gọi là “vùng kích hoạt phiên mã” có vai trò rất quan trọng đối với hoạt động phiên mã, cho phép chúng kích hoạt biểu hiện gen bằng cách tương tác với các thành phần khác của hệ thống phiên mã [59]. Trong khi đó, nhóm NF- κ B (gồm NF- κ B1 và NF- κ B2) lại không có vùng TAD nên không có khả năng hoạt động phiên mã. Dạng tiền chất p105 và p100 ở đầu C tận chứa các vòng lặp ankyrin và một khu vực giàu glycine (Glycine rich regions - GRR) bình thường không có chức năng và đóng vai trò là chất ức chế tương tự như I κ Bs. Khi được xử lý bằng cách ly giải protein (proteolysis) thông qua 26S proteasome, cắt đứt ở các lặp ankyrin đầu C tận để chuyển đổi thành p50 và p52, tương ứng. Đây mới là các dạng hoạt động trong họ phiên mã NF- κ B [60], [61].

Đáng chú ý, các protein của họ NF- κ B khi ở dạng đơn phân (monomer) thì không có hoạt động chức năng. Chỉ khi chúng tạo thành các phức hợp

homodimer (đồng hợp tử như p50/p50) và heterodimer (dị hợp tử như p65/p50, RelB/p52...) khác nhau, đó là hình thức duy nhất mà chúng có thể hoạt động phiên mã vì có thể liên kết với các vị trí đích DNA (vị trí κB) và ảnh hưởng đến biểu hiện gen, trong đó p65/p50 là heterodimer phổ biến nhất và bị bất hoạt bởi chất ức chế NF- κB (I κB) trong tế bào chất. Phức hợp I κB kinase (IKK) có vai trò trung tâm trong hoạt hóa con đường NF- κB bằng cách trung gian quá trình phosphoryl hóa ban đầu của protein I κB [9],[10].

1.3.1.2. Hoạt động của con đường tín hiệu NF- κB

Hoạt động của NF- κB được điều chỉnh bởi hai con đường chính: con đường đầu tiên được biết đến là con đường cổ điển hoặc chuẩn, chủ yếu thông qua các phức hợp chứa RelA (như p65/p50) và/hoặc cRel (như cREL/p50); con đường thứ hai, được gọi là con đường thay thế hoặc phi chuẩn, dẫn đến sự kích hoạt các phức hợp chứa RelB (dị hợp tử p52/RelB) (Hình 1.6).



Hình 1.5. Con đường tín hiệu NF- κB

* Nguồn: Theo Li Y. và cộng sự (2024) [61]

- Con đường cổ điển

Các cytokin viêm như yếu tố hoại tử u (TNF- α), các thụ thể Toll-like (TLR), Interleukin-1 (IL-1) và Lipopolysaccharide (LPS) là một số yếu tố kích thích có khả năng kích hoạt con đường cổ điển, trong đó con đường tín hiệu TNFR1 có lẽ là một trong những con đường được nghiên cứu kỹ lưỡng nhất. Con đường này chủ yếu được điều chỉnh bởi heterodimer RelA/p50 (p65/p50), nhưng cũng có thể điều chỉnh bởi các phức hợp c-Rel/p50 và p50/p50 [60].

Khi vắng mặt các yếu tố kích thích, dimer NF- κ B (như p65/p50) bị giữ lại trong tế bào chất thông qua tương tác với các protein ức chế của họ I κ B. Khi được kích thích, dimer NF- κ B được giải phóng di chuyển vào nhân và thực hiện chức năng phiên mã. Một số gen mục tiêu của NF- κ B là *I κ B α* , *A20* và *CYLD*. *I κ B α* mới tổng hợp sẽ liên kết với các dimer NF- κ B hoạt động, đưa chúng trở lại tế bào chất. *A20* và *CYLD* là các gen có chức năng deubiquitin các phân tử RIP1, NEMO và TRAFs, kết thúc tín hiệu, do đó hoạt động như các điều hòa viêm âm tính của thời gian hoạt động của NF- κ B [59], [60].

- Con đường thay thế

Không giống như con đường NF- κ B cổ điển, diễn ra nhanh và được kích hoạt bởi nhiều cytokin gây viêm, con đường NF- κ B thay thế diễn ra chậm và chỉ được kích hoạt bởi một nhóm các thành viên của họ TNF (ví dụ: lymphotoxin β (LT β), yếu tố kích hoạt tế bào B (BAFF), ligand CD40...). Do đó, chức năng của con đường này chuyên biệt hơn và liên quan cụ thể đến sự phát triển của cơ quan lympho, tế bào miễn dịch, cũng như phản ứng miễn dịch bẩm sinh và thích ứng, và cân bằng nội môi [61].

1.3.1.3. Vai trò của con đường tín hiệu NF- κ B trong bệnh sinh ung thư biểu mô tế bào gan

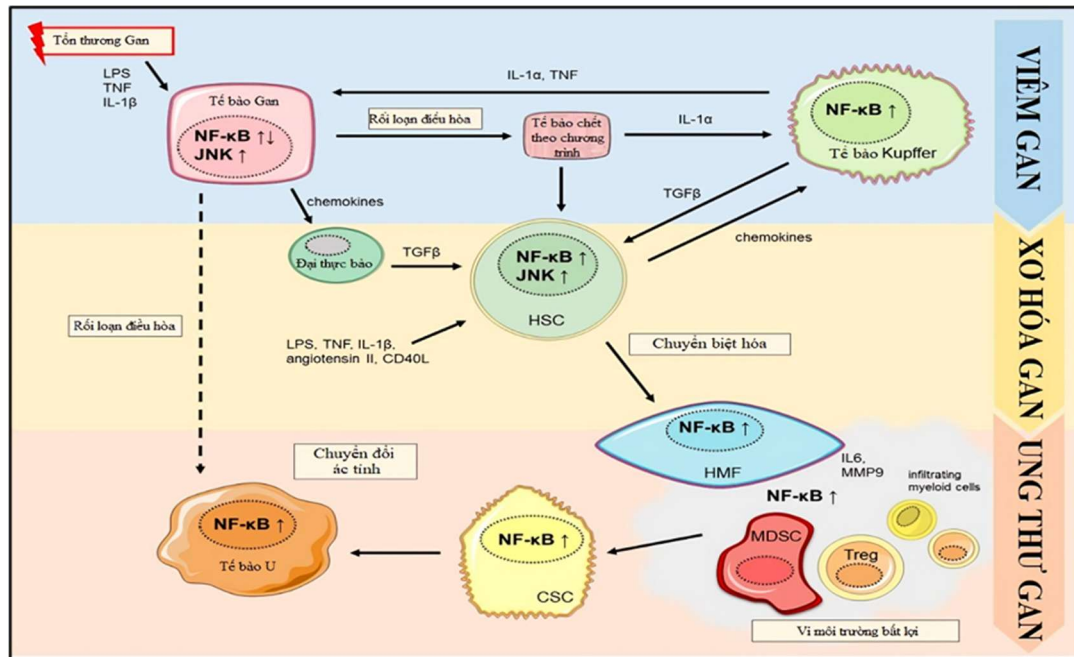
Nhiều cơ chế quan trọng của quá trình sinh u có liên quan đến hoạt hóa con đường NF- κ B như ức chế chết theo chương trình tế bào, khởi phát ung thư, tăng sinh tế bào u và tiến triển của khối u [62]. Trong UTBMTBG, vai trò của

NF- κ B vẫn còn tranh cãi. Phần lớn nghiên cứu nhấn mạnh vai trò tạo khối u của NF- κ B như hậu quả của hoạt động chế tiết các chất trung gian gây viêm từ tế bào nhu mô và không phải nhu mô gan [63], nhưng một số nghiên cứu lại ghi nhận bất hoạt NF- κ B cũng gây ra các dấu hiệu ung thư [64]. Như vậy, NF- κ B có thể đóng vai trò trực tiếp hoặc gián tiếp trong quá trình gây UTBMTBG và sự rối loạn điều hòa đó có thể ảnh hưởng đáng kể đến kết cục lâm sàng.

Trên mô hình chuột bất hoạt NEMO (một chất điều biến thiết yếu của NF- κ B - IKK β essential modulator) có chủ đích trong tế bào gan, dẫn đến ức chế con đường NF- κ B, từ đó không chỉ làm trầm trọng tình trạng chết tế bào gan thiếu hụt NEMO do kích hoạt tín hiệu thụ thể gây chết tế bào và stress oxy hóa mà còn làm thay đổi môi trường trong gan, phát triển tự phát viêm gan mạn và sau đó là UTBMTBG [65]. Tương tự như vậy, ức chế NF- κ B trong tế bào gan bằng cách xóa IKK β cũng được chứng minh có tác dụng thúc đẩy khối u hình thành và phát triển [66]. Với mô hình chuột chuyển gen HBsAg, đặc trưng bởi sự biểu hiện của protein HBsAg nhưng không có đáp ứng miễn dịch đặc hiệu với HBV, sau khi ức chế tín hiệu NF- κ B cổ điển của tế bào gan cho thấy tác dụng gây UTBMTBG tương tự như các mô hình được mô tả trước đây [67].

Bình thường con đường tín hiệu NF- κ B có đặc tính bảo vệ gan bằng cách ngăn ngừa sự chết tế bào gan. Tuy nhiên, trong các phản ứng viêm, NF- κ B có thể tác động đến quá trình xơ hóa thông qua hoạt động của nó trên tế bào Kupffer và tế bào hình sao ở gan. Kích hoạt con đường tín hiệu NF- κ B có thể thúc đẩy quá trình xơ hóa bằng cách kích hoạt tế bào hình sao và thúc đẩy các phản ứng viêm, nhưng nó cũng có thể có tác dụng chống xơ hóa bằng cách điều chỉnh môi trường viêm và biểu hiện các gen chống xơ hóa. Tiết các yếu tố gây viêm và hóa ứng động từ các tế bào không phải nhu mô gan này sẽ làm tình trạng viêm gan và sau đó tình trạng xơ hóa gan trở nên trầm trọng hơn [63]. Sunami Y. và cộng sự (2012) ghi nhận tăng cường tín hiệu NF- κ B dẫn đến thu hút đại thực bào, thúc đẩy viêm mạn tính và xơ hóa gan. Hơn nữa, tế bào

Kupffer, đại thực bào là yếu tố kích hoạt mạnh con đường tín hiệu NF- κ B, các chemokine và cytokin gây viêm giúp duy trì và thúc đẩy phản ứng viêm [68], [69]. Do đó, con đường tín hiệu NF- κ B thực hiện chức năng quan trọng trong quá trình đáp ứng viêm mạn tính và xơ hóa bằng cách ảnh hưởng trực tiếp đến các tế bào không phải nhu mô gan và sau đó thúc đẩy môi trường gây ung thư.



Hình 1.6. Vai trò của con đường tín hiệu NF- κ B trong bệnh sinh UTBMTBG

* Nguồn: Theo Czauderna C. và cộng sự (2019)) [70]

Bên cạnh việc kích hoạt các tế bào Kupffer và tế bào hình sao, con đường tín hiệu NF- κ B còn có thể kích hoạt các chức năng miễn dịch quan trọng khác liên quan đến quá trình gây ung thư. Sự hoạt hóa con đường tín hiệu NF- κ B trong các tế bào diệt tự nhiên kiểm soát biểu hiện các chất trung gian gây độc tế bào như perforin và granzyme B quan trọng đối với hoạt động chống khối u của chúng. Hoạt hóa con đường NF- κ B điển hình trong tế bào T cũng làm tăng lượng tế bào T CD8 $^{+}$ sản xuất IFN- γ đặc hiệu khối u, giúp loại bỏ khối u. Nghiên cứu của Oh H. và cộng sự (2017) còn chỉ ra sự phát triển của tế bào T điều hòa (Treg) cũng như chức năng ức chế của chúng được thúc đẩy bởi RelA và c-Rel của con đường tín hiệu NF- κ B [71].

Ngoài ra, vai trò của con đường NF- κ B trong quá trình sinh ung thư gan còn liên quan đến điều chỉnh hoạt động tế bào gốc ung thư (Cancer stem cells - CSC) với khả năng tự tái tạo và biệt hóa, và chúng được cho là chịu trách nhiệm độc quyền cho quá trình khởi phát, tiến triển của khối u và khả năng kháng thuốc cũng như tái phát sau điều trị [71]. Một số protein ứng viêm được phát hiện có liên quan đến tính chất gốc của UTBMTBG, ví dụ như COMMD1 và COMMD7 (họ protein miền chuyển hóa Copper MURR1 (COMMD)). Protein COMMD7 có thể điều chỉnh tích cực và tiêu cực tín hiệu NF- κ B trong CSC dương tính với NANOG bằng cách ảnh hưởng đến quá trình SUMO hóa NEMO và COMMD7 có thể là một mục tiêu điều trị hữu ích để cải thiện kết cục UTBMTBG bằng cách điều chỉnh CSC thông qua NF- κ B [72]. Do đó, việc điều chỉnh con đường NF- κ B có tiềm năng trở thành mục tiêu phát triển phương pháp điều trị hiệu quả hơn nhắm cụ thể vào quần thể CSC trong gan.

1.3.1.4. Ứng dụng con đường tín hiệu NF- κ B trong điều trị và dự phòng ung thư biểu mô tế bào gan

Do vai trò của NF- κ B đối với sự phát sinh và tiến triển của UTBMTBG, một số hợp chất hoạt hóa và ức chế con đường tín hiệu NF- κ B đã được đánh giá trong thử nghiệm tiền lâm sàng. Sorafenib và regorafenib (thuốc ức chế tyrosine kinase) đã chứng minh hiệu quả qua cơ chế phụ thuộc NF- κ B. Sorafenib ức chế enzym tiêu protein chất nền ngoại bào MMP9 (matrix metalloproteinase - 9) và yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) bằng cách làm suy yếu con đường ERK/NF- κ B trong tế bào UTBMTBG [73]. Không những thế, cơ chế kháng sorafenib trong dòng tế bào UTBMTBG có liên quan đến tăng điều hòa các phân tử kiểm soát miễn dịch như PD-L1 và chất điều chỉnh biểu sinh (DNMT1), cả hai đều được kích hoạt thông qua con đường NF- κ B/STAT3. Do vậy, việc nhắm mục tiêu vào trục NF- κ B/PD-L1/STAT3/DNMT1 có thể giúp khắc phục tình trạng kháng thuốc mắc phải trong điều trị sorafenib [74].

Một số hợp chất tự nhiên như Deoxyelephantopin là loại thảo dược Trung

Quốc cũng như resveratrol, một loại polyphenol hoạt tính có trong rượu vang đỏ, đã được nghiên cứu trong các mô hình tiền lâm sàng cho thấy tác dụng ức chế NF- κ B trong ống nghiệm dẫn đến giảm khả năng sống sót và đặc tính xâm lấn của các dòng tế bào UTBMTBG. Hơn nữa, ức chế con đường NF- κ B bằng sử dụng curcumin làm giảm hình thành cụm tế bào ung thư, giảm khả năng hình thành khối u và giảm đáng kể số lượng tế bào gốc ung thư trong UTBMTBG. Phản ứng với curcumin có liên quan đến ức chế NF- κ B và các tín hiệu xuôi dòng như MYC, JNK, Cyclin D1 và STAT3 [75], [76], [77].

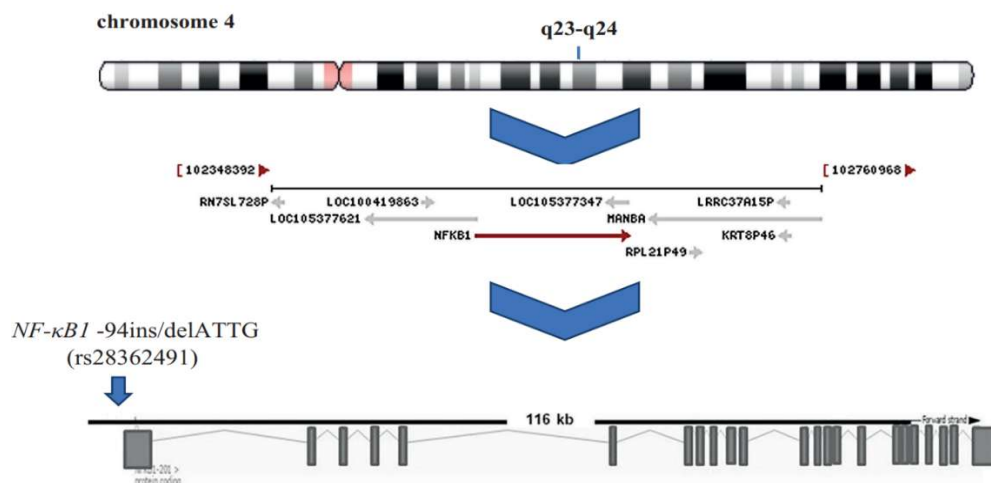
Tuy vậy cho đến nay, các chất ức chế NF- κ B vẫn chưa được ứng dụng trong các liệu pháp điều trị ung thư trên người vì chưa đặc hiệu cho từng loại tế bào. Hơn nữa, sự ức chế “toàn bộ” có thể dẫn đến những bất lợi do ảnh hưởng đến tín hiệu NF- κ B trong các thành phần tế bào chống lại tế bào u, đặc biệt là các tế bào miễn dịch [78]. Tín hiệu NF- κ B cũng có chức năng điều hòa miễn dịch tổng thể bằng cách điều hòa các tế bào miễn dịch và sự vắng mặt của nó có thể dẫn đến tình trạng suy giảm miễn dịch nghiêm trọng. Do đó, ức chế tín hiệu NF- κ B trong thời gian dài có thể làm tăng nguy cơ nhiễm trùng. Ngoài ra, những hiểu biết về NF- κ B trong các bệnh gan và sự phát triển UTBMTBG chủ yếu dựa trên mô hình in vitro và in vivo, không phản ánh chính xác sự tiến triển của UTBMTBG trên bệnh nhân. Do đó, việc chuyển các phát hiện về sự ức chế NF- κ B sang người phải được thực hiện thận trọng, cần được đánh giá và xác nhận ở người bệnh cụ thể và quan trọng hơn là trong môi trường lâm sàng.

1.3.2. Gen NF- κ B p50 và vai trò trong ung thư biểu mô tế bào gan

1.3.2.1. Gen NF- κ B p50 và protein p50

Gen NF- κ B p50, còn được gọi là NF- κ B1 (nuclear factor kappa B subunit 1) (ID gen: 4790) được xác định nằm trên nhiễm sắc thể 4, vị trí 4q23-q24, mã hóa protein trọng lượng phân tử 105 kD không liên kết DNA trong tế bào chất. Gen này bao gồm 24 exon và intron có độ dài thay đổi từ 40,000 đến 323 bp, trải dài 156 kB (Hình 1.8) [79].

Biến thể gen giữa các cá thể được coi là một yếu tố nguy cơ ung thư và/hoặc yếu tố điều chỉnh quan trọng, và có thể ảnh hưởng đến mô hình biểu hiện được mã hóa bởi gen, trong đó nhiều biến thể gen đã được mô tả trong yếu tố điều hòa chính tại trung tâm của gen *NF-κB1*, với sự quan tâm đặc biệt đến các SNP như rs72696119 (C>G), rs28362491 (-94 ins/del ATTG), rs4648068 (A>G), rs12509517 (G>C) [79].



Hình 1.7. Sơ đồ cấu trúc gen *NF-κB p50*

* Nguồn: Theo Urbanowicz1 I. và cộng sự (2021) [79]

Gen *NF-κB p50* đầu tiên mã hóa phân tử tiền chất p105, có thể hoạt động như một protein IκB trong các tế bào đang nghỉ ngơi. Khi có yếu tố kích thích như LPS, mitogen hoặc cytokin gây viêm, protein IκB được phosphoryl hóa bởi IκB kinase (IKK) và bị phân hủy bởi proteasome 26S. IKKβ được kích hoạt có thể phosphoryl hóa p105 trên các gốc serine 927 và 932, hoặc ubiquitination dẫn đến sự thoái hóa đầu C, loại bỏ miền lặp ankyrin và tạo ra một yếu tố phiên mã p50 trưởng thành (Hình 1.5) [10].

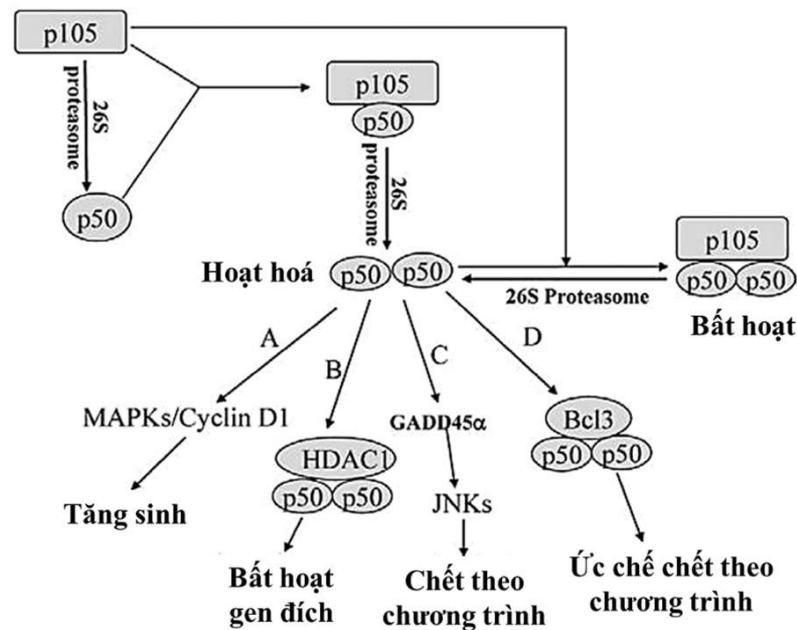
Dưới các kích thích hoạt hóa NF-κB, dimer p50 chuyển vào nhân thông qua trình tự định vị nhân (Nuclear localization sequence - NLS) của chúng ở đầu C và liên kết với vùng khởi động của các gen mục tiêu để thực hiện các hoạt động phiên mã. Vì là một sản phẩm phân cắt của p105 nên p50 chỉ có miền liên kết DNA (miền tương đồng Rel - RHD) mà không có miền kích hoạt phiên

mã (TAD), do vậy p50 chỉ có thể hoạt động như một chất hoạt hóa phiên mã bằng cách hình thành một heterodimer với p65, RelB hoặc c-Rel để điều chỉnh quá trình phiên mã gen mục tiêu của nó. Đồng hợp tử p50 (p50/p50) và dị hợp tử p50/p52 cũng không thể hoạt động như các yếu tố phiên mã để kích hoạt biểu hiện gen *NF- κ B* hạ lưu, nhưng chúng có thể hình thành một phức hợp với Bcl-3, một thành viên của họ I κ B. Bcl-3, với đặc tính liên kết mới, có thể ức chế liên kết DNA của cả tiểu đơn vị NF- κ B p50 đồng hợp tử. Sự phosphoryl hóa Bcl-3 vô hiệu hóa một phần đặc tính ức chế của nó [10].

Sự phosphoryl hóa các gốc serine (như gốc serine 65, 337 và 342) rất quan trọng đối với sự hoạt hóa họ NF- κ B, liên kết DNA nhưng không phải đối với sự dimer hóa của nó. Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy sự phosphoryl hóa p50 tại serine 337 được trung gian bởi PKA [80].

1.3.2.2. Chức năng của protein p50

Cho đến nay các chức năng sinh học của p50, trong điều hòa biểu hiện protein ít được hiểu rõ hơn so với các tiểu đơn vị khác của họ NF- κ B. Một số chức năng sinh học chính của p50 được minh họa trên *Hình 1.8*.



Hình 1.8. Các chức năng chính của p50

* Nguồn: Theo Yu Y. và cộng sự (2009) [10]

p50 được tạo ra từ p105 với việc loại bỏ đầu C bởi proteasome 26S. Heterodimer của p105/p50 cũng có thể được cắt bởi proteasome 26S thành homodimer p50/p50 hoạt động và trở thành phức hợp không hoạt động khi tái liên kết với p105.

- Homodimer p50/p50 có thể kích hoạt MAPK hoặc tham gia vào quá trình điều hòa tăng biểu hiện Cyclin D1, dẫn đến thúc đẩy tăng sinh tế bào.

- Homodimer p50/p50 liên kết với HDAC1 có thể liên kết với vùng khởi động gen mục tiêu và ức chế biểu hiện gen mục tiêu của nó.

- Tiếp xúc với các chất hóa học đặc biệt như arsenit, homodimer p50 được hoạt hóa có thể làm tăng quá trình khử ubiquitin hóa protein GADD45 α , sau đó hoạt hóa JNK và từ đó dẫn đến quá trình chết theo chương trình tế bào.

- Homodimer p50/p50 cũng có thể liên kết với Bcl-3 để tạo phức hợp Bcl-3/p50, đóng vai trò quan trọng trong việc chống chết theo chương trình của tế bào và gây ung thư.

p50 biểu hiện quá mức trong các khối u ác tính có thể góp phần vào quá trình sinh bệnh. Nghiên cứu chỉ ra rằng đa hình NF- κ B1 rs4648068 có liên quan đến sự tăng sinh và khả năng hoạt động của tế bào trong ung thư dạ dày [100]. Tương tự như vậy, một nghiên cứu trên bệnh nhân bệnh bạch cầu tủy cấp tính cho thấy phức hợp RelA/p50 và p50/p50 của con đường NF- κ B kinh điển luôn hoạt động trong các tế bào bạch cầu [81].

1.3.3. Gen NF- κ B p65 và vai trò trong ung thư biểu mô tế bào gan

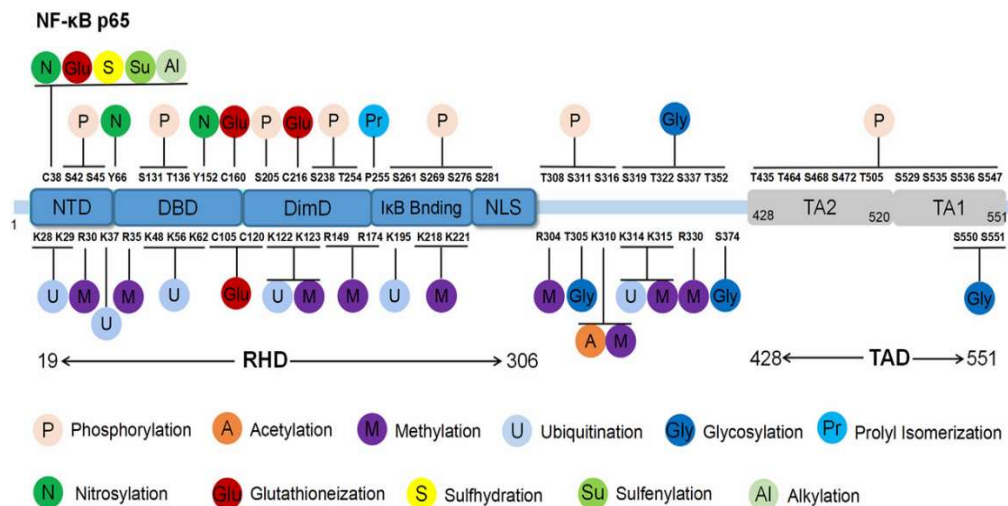
1.3.3.1. Gen NF- κ B p65 và protein p65

Gen NF- κ B p65, còn được gọi là *RelA*, *CMCU*; *NFKB3*; *AIF3BL3* ở người nằm trên nhiễm sắc thể 13, vị trí 11q13.1, gồm 13 đoạn trình tự mã hóa exon. Gen mã hóa phân tử protein có trọng lượng 65 kDa (p65), bao gồm 551 acid amin, có mặt trong hầu hết tế bào nhân thực [82]. Cấu trúc của p65 (hay còn gọi RelA) cũng tương tự như các protein Rel khác (RelB, cRel) bao gồm:

Miền RHD nằm giữa acid amin thứ 19 và 306 của p65, thể hiện cấu trúc

bậc hai dạng beta-barrel đặc trưng của họ Rel. Thông qua kỹ thuật tinh thể học, miền RHD bao gồm các miền con như miền N-terminal (NTD), miền liên kết DNA (DBD), miền dimer hóa (DimD), một vị trí liên kết với phân tử ức chế I κ B và một miền con trình tự định vị nhân (NLS). Miền NLS chịu trách nhiệm liên kết DNA, dimer hóa và chuyển vị vào nhân. Trong trạng thái nghỉ, I κ B liên kết với miền NLS, cản trở sự tương tác của p65 với các gen mục tiêu và ngăn chặn nó nhận biết các tín hiệu kích hoạt, do đó duy trì trạng thái không hoạt động. Các kích thích từ bên ngoài kích hoạt sự phân hủy I κ B, phơi bày vùng NLS và cho phép p65 chuyển vào nhân để điều chỉnh biểu hiện gen [83], [82].

Miền TAD, nằm giữa acid amin thứ 428 và 551, chủ yếu điều chỉnh hoạt động phiên mã của p65. TAD là một miền lưỡng cực giàu acid amin và bao gồm hai miền con, TA1 và TA2. TA1 nằm giữa acid amin thứ 520 và 549 gần đầu C tận, trong khi TA2 trải dài từ acid amin thứ 428 đến 520, nằm giữa NLS và TA1. Sự tương tác và phối hợp chức năng của các miền cấu trúc này cho phép NF- κ B p65 điều chỉnh mạng tín hiệu khác nhau và quá trình sinh học như phiên mã gen, phát triển tế bào, quá trình chết theo chương trình và viêm [82].



Hình 1.9. Cấu trúc và các vị trí điều chỉnh sau phiên mã của protein p65

* Nguồn: Theo Sun X. và cộng sự (2024) [82]

Hoạt động chức năng của protein p65 phụ thuộc rất nhiều vào các sửa đổi sau phiên mã của nó, trong đó sửa đổi phosphoryl hóa giữ vai trò rất quan trọng.

trong, liên quan đến toàn bộ con đường truyền tín hiệu. Hiện tại, đã xác định được 18 vị trí phosphoryl hóa serine và 5 vị trí threonine trên p65, cùng với một số kinase liên quan (Hình 1.9). Phosphoryl hóa tại các vị trí này điều chỉnh mức độ phiên mã của p65, có thể kích hoạt hoặc ức chế con đường NF- κ B, thúc đẩy biến đổi trong tế bào chất và nhân, đồng thời thay đổi vị trí tiêu thể và chức năng sinh học. Ngoài sửa đổi phosphoryl hóa, sửa đổi methyl hóa, acetyl hóa, ubiquitin hóa và các hình thức sửa đổi khác cũng thu hút sự chú ý. Sự điều chỉnh sai lệch của các sửa đổi sau phiên mã của p65 có thể làm thay đổi tín hiệu NF- κ B, góp phần vào sự phát triển của nhiều khối u và khiến nó trở thành một mục tiêu điều trị quan trọng [83], [82].

1.3.3.2. Chức năng của protein p65

Là một thành phần thiết yếu của con đường tín hiệu NF- κ B, p65 đảm nhận chức năng quan trọng trong việc điều chỉnh các phản ứng miễn dịch và các quá trình viêm. Cụ thể:

- p65 điều khiển sự điều chỉnh phiên mã của nhiều cytokin và thụ thể bề mặt tế bào trong hệ miễn dịch, từ đó tạo điều kiện kích hoạt tế bào T, điều chỉnh sự sống sót cũng như chức năng của chúng. Hơn nữa, p65 còn quan trọng cho chức năng của tế bào B, vì điều chỉnh sai lệch của tiểu đơn vị này có thể dẫn đến các bệnh lý liên quan đến tế bào B. Thêm vào đó, p65 cũng không thể thiếu cho phản ứng miễn dịch bẩm sinh vì ảnh hưởng đến hoạt động của đại thực bào và tế bào trình diện kháng nguyên [84]. Những chức năng này đóng vai trò quan trọng trong việc tạo điều kiện cho phòng thủ tế bào chống lại các tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, virus và các tác nhân gây bệnh khác.

- p65 được xác định là yếu tố điều chỉnh chính các cytokin và các yếu tố hóa động, tạo điều kiện kích hoạt các yếu tố tế bào khác như IL-1 β , TNF- α và các yếu tố hóa động, từ đó thúc đẩy sự di chuyển của các tế bào miễn dịch đến các vị trí nhiễm trùng và viêm, qua đó củng cố phản ứng miễn dịch. Trong bối cảnh viêm, p65 điều khiển biểu hiện của một loạt cytokin tiền viêm như TNF-

α và các Interleukin khác như IL-1 β , IL-6, kích thích các phản ứng viêm tại chỗ và khởi động các phản ứng miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên [85].

- p65 được chứng minh là tăng cường sự biểu hiện của các phân tử bám dính, bao gồm ICAM-1 và VCAM-1, trên các tế bào nội mô, tạo điều kiện cho sự bám dính và di chuyển của các tế bào viêm qua nội mô mạch vào các mô bị viêm. Các phản ứng viêm mạn tính là những hiện tượng phức tạp được đặc trưng bởi sự tương tác của nhiều trung gian viêm và các tương tác tế bào [82]. p65 đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì môi trường viêm mạn tính bằng cách điều chỉnh các thành phần đa dạng của phản ứng viêm hoặc các điều kiện thiếu oxy liên quan. Trong các bệnh tự miễn và viêm mạn tính, sự kích hoạt quá mức của yếu tố phiên mã p65 thường liên quan đến việc kéo dài và làm trầm trọng thêm các triệu chứng. Điều này bao gồm việc kích hoạt kéo dài của các tế bào viêm, tăng cường sản xuất cytokin, tổn thương mô và xơ hóa. Thêm vào đó, p65 đóng vai trò trong sự sống sót của tế bào và quá trình chết theo chương trình bằng cách kích thích các gen chống quá trình chết theo chương trình như *Bcl-2*, cũng như điều chỉnh chu kỳ tế bào và ảnh hưởng đến sự phát triển của tế bào. Do đó, sự biểu hiện quá mức p65 cũng có liên quan đến có chế bệnh sinh của nhiều loại ung thư khác nhau như bệnh đa u tủy xương, ung thư vú, ung thư đầu mặt cổ,... và trong đó có UTBMTBG [86].

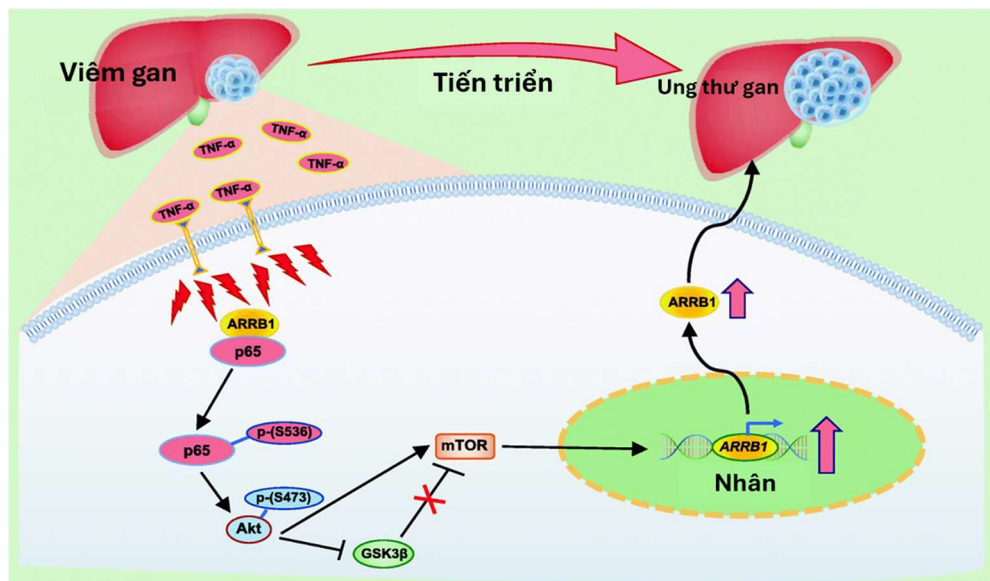
Vai trò của NF- κ B p65 trong bệnh sinh của UTBMTBG đã được một số nghiên cứu gần đây đề cập. Nghiên cứu của Shinoda K. và cộng sự (2015) ghi nhận Pin1, một enzym chuyên đổi đồng phân cis/trans peptidyl-prolyl (peptidyl-prolyl cis-/trans-isomerase) tăng biểu hiện trong mô UTBMTBG. Tăng biểu hiện Pin1 giúp thúc đẩy phosphoryl hóa p65 tại vị trí serine 276 và threonine 254, từ đó hoạt hóa con đường tín hiệu NF- κ B dẫn đến kéo dài chu kỳ tế bào, tăng sinh mạch và ức chế chết tế bào theo chương trình. Khi tế bào UTBMTBG được điều trị bằng chất ức chế Pin1, biểu hiện phosphoryl hóa NF- κ B-p65 (Ser276) giảm và ức chế di trú tế bào [87].

Nghiên cứu Dong M. và cộng sự (2018) ghi nhận NF- κ B p65 điều chỉnh

biểu hiện enzym Glutaminase 1 (GLS1) trong tế bào UTBMTBG. Biểu hiện GLS1 tăng cao tương quan với mức độ mô học của khối u, và sự rối loạn điều hòa p53-GLS1 có liên quan đến tiên lượng xấu. Việc ức chế GLS1 sẽ làm giảm sự tăng sinh tế bào UTBMTBG [88].

Diethylnitrosamine (DEN), một hợp chất hữu cơ đã được khẳng định là nhân tố gây ung thư gan thông qua kích hoạt con đường tín hiệu NF- κ B p53/Bcl-2. Sử dụng các hạt nano oxid kẽm phủ acid gallic (Zn-GANP) nhằm mục tiêu vào con đường truyền tín hiệu NF- κ B p53/Bcl-2 sẽ giảm tổn thương gan (thể hiện giảm AST, ALT, GGT), ngừng chu kỳ tế bào S và G2/M và quá trình chết theo chương trình G0/G1, phục hồi mô học và cấu trúc siêu nhỏ của gan ở chuột bị DEN gây ra [89].

Đặc biệt vào năm 2021, Xu X. và cộng sự đã chứng minh được vai trò của NF- κ B p53 trong cơ chế gây UTBMTBG (Hình 1.10).



Hình 1.10. Cơ chế phosphoryl hóa NF- κ B p53 thúc đẩy quá trình sinh UTBMTBG

* Nguồn: Theo Xu X. và cộng sự (2021) [11]

Các cytokin viêm, chẳng hạn như TNF- α , kích thích β -arrestin1 (ARRB1) và thúc đẩy ARRB1 liên kết với NF- κ B p53, tạo điều kiện cho quá trình phosphoryl hóa p53 tại Ser536. Sau đó, quá trình phosphoryl hóa p53

(Ser536) kích hoạt tín hiệu Akt/mTOR để thúc đẩy sự tăng sinh tế bào gan ác tính, dẫn đến quá trình sinh UTBMTBG [11].

1.4. Vai trò của SUMO trong ung thư biểu mô tế bào gan

1.4.1. Các gen SUMO

Năm 1995 thành viên đầu tiên của họ gen *SUMO* đã được phát hiện và có liên quan đến các quá trình nguyên phân và giảm phân. Các thành viên khác của họ gen *SUMO* sau đó đã được báo cáo trong động vật nguyên sinh, động vật đa bào, thực vật và nấm. Năm 2002, Su H. L. và cộng sự công bố cấu trúc cụ thể và vị trí của các gen *SUMO 1/2/3* [90]. Theo đó, gen *SUMO1* với mã số trên ngân hàng gen là BC00462, có vị trí trên nhiễm sắc thể số 2 (q33); gồm 5 trình tự exon và 8 trình tự pseudogene; gen *SUMO2*, mã số BV008485, có vị trí trên nhiễm sắc thể số 17 (q25.1), gồm 4 trình tự exon và 23 trình tự pseudogene; gen *SUMO3*, mã số XM009805, có vị trí trên nhiễm sắc thể số 21 (q22.13), gồm 4 trình tự exon và không có trình tự pseudogene. Các gen *SUMO1* và *SUMO2* được nhân đôi ở động vật có xương sống, và gen *SUMO3* ở động vật có vú có nguồn gốc từ gen *SUMO2*. Chi tiết về chiều dài của các trình tự exon và intron trong cấu trúc các gen *SUMO* được đề cập dưới đây:

Bảng 1.1. Chiều dài của các trình tự exon và intron của các gen SUMO

Các gen	Số exon	Chiều dài(bp)	Số Intron	Chiều dài (bp)
SUMO-1	1	78 (66 + 12)	1	18,333
	2	75	2	5597
	3	78	3	3646
	4	72	4	3413
	5	714 (66 + 648)		
	cDNA	1212		
SUMO-2	1	101 (80 + 21)	1	1625
	2	132	2	6233
	3	72	3	6350
	4	395 (60 + 335)		
	cDNA	910		
SUMO-3	1	107 (86 + 21)	1	3843
	2	129	2	4857
	3	72	3	2006
	4	1416 (87 + 1329)		
	cDNA	1733		

* Nguồn: Theo Su H.L. và cộng sự (2002) [90]

Gen *SUMO4* là một retrogene, biểu hiện mRNA của nó đã được xác định thông qua phương pháp ribosome-profiling với mức độ thấp hơn nhiều so với mRNA của *SUMO2* hoặc *SUMO3* và chỉ biểu hiện giới hạn ở thận, tế bào miễn dịch, tuyến tụy và nhau thai. Protein SUMO4 chứa một proline ở đầu C tận, được cho là có tác dụng ức chế sự trưởng thành. Một số báo cáo chỉ ra rằng SUMO4 không được liên hợp, trong khi những báo cáo khác cho rằng có sự liên hợp và khả năng được trưởng thành bởi enzym không phải SENP. Do đó, sự liên quan của SUMO4 đối với sinh học tế bào hiện nay vẫn còn mơ hồ [7].

Gen *SUMO5* mới được phát hiện gần đây có liên quan đến ubiquitin. Protein SUMO5 có tính đồng nhất cao với SUMO1 nhưng được đặc trưng bởi hai đặc điểm cụ thể: tính đặc hiệu theo loài và tính đặc hiệu theo mô. *SUMO5* chỉ được biểu hiện một cách độc đáo ở các loài linh trưởng và được phiên mã tích cực trong một số loại mô, đặc biệt là trong tinh hoàn và máu [7], [91].

1.4.2. Protein SUMO và quá trình SUMO hóa

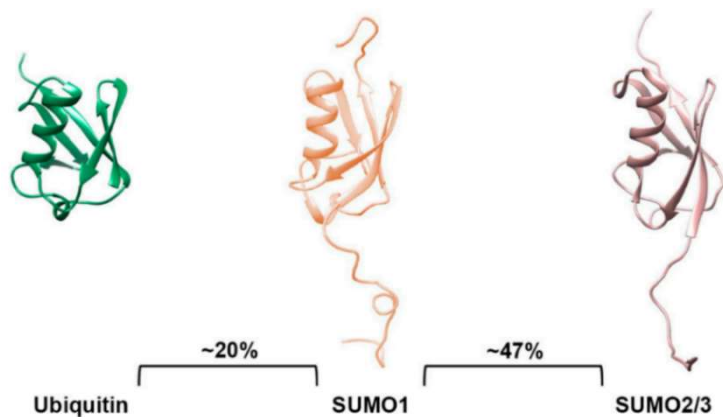
1.4.2.1. Các protein SUMO

Ubiquitin là một protein điều hòa có kích thước nhỏ, tính bảo tồn cao, được thấy phổ biến ở tế bào nhân thực. Ubiquitin hóa là quá trình sửa đổi sau dịch mã của một protein bằng việc gắn cộng hóa trị một hay nhiều đơn phân ubiquitin vào protein này (thông qua một liên kết isopeptid). Chức năng nổi bật nhất của ubiquitin là đánh dấu các protein cho quá trình tiêu hủy nó trong các proteasome [92]. Năm 1996, một protein giống ubiquitin mới được phát hiện, được gọi là Sentrin có khả năng gắn đặc hiệu với vùng nội bào của thụ thể FAS trên màng tế bào và điều hòa tín hiệu gây chết tế bào, sau đó đổi tên thành SUMO (small ubiquitin-like modifier), có khả năng biến đổi cộng hóa trị với protein RanGAP1 và thống nhất sử dụng cho đến ngày nay [93].

Protein SUMO có khả năng tạo liên kết với các protein khác nhau trong tế bào và điều chỉnh chức năng của chúng. Quá trình này gọi là quá trình SUMO hóa (SUMOylation). Cũng giống như ubiquitin hóa, SUMO hóa là quá trình

điều chỉnh ở giai đoạn sau dịch mã và trải qua nhiều phản ứng liên tiếp nhau. SUMO đóng vai trò then chốt trong nhiều quá trình khác nhau trong tế bào như truyền tín hiệu qua màng nhân, điều hòa phiên mã, chết theo chương trình của tế bào, đảm bảo tính ổn định của protein, đáp ứng với kích thích [94].

Có 4 dạng đồng phân của SUMO được xác định ở người: SUMO1, SUMO2, SUMO3 và SUMO4. Protein SUMO1 có 101 amino acid và trọng lượng 11,6 kDa, SUMO2 và SUMO3 có lần lượt 103 và 95 amino acid. Tuy nhiên về cấu trúc, SUMO2 và SUMO3 có tới 95% trình tự amino acid giống nhau và thường được gọi chung là SUMO2/3, SUMO1 giống SUMO2 ở khoảng 47% trình tự amino acid.



Hình 1.11. Mô hình cấu trúc phân tử protein SUMO 1, 2, 3

* Nguồn: Theo Wang W. và cộng sự (2024) [95]

SUMO4 tương tự như SUMO2/3 nhưng khác ở chỗ có acid amin Proline thay vì Glutamine ở vị trí 90. Vì lý do đó SUMO4 không được xử lý và liên hợp trong điều kiện bình thường, nhưng được sử dụng trong việc sửa đổi protein trong các điều kiện stress tế bào như tình trạng thiếu dinh dưỡng [7].

Protein SUMO1 thường tham gia vào các quá trình sinh lý bình thường của tế bào trong khi SUMO 2 và 3 chủ yếu liên quan đến đáp ứng của tế bào với kích thích. Mặc dù khác biệt về mặt cấu trúc, tất cả protein SUMO được hoạt hóa và liên hợp bởi các loại enzym giống nhau.

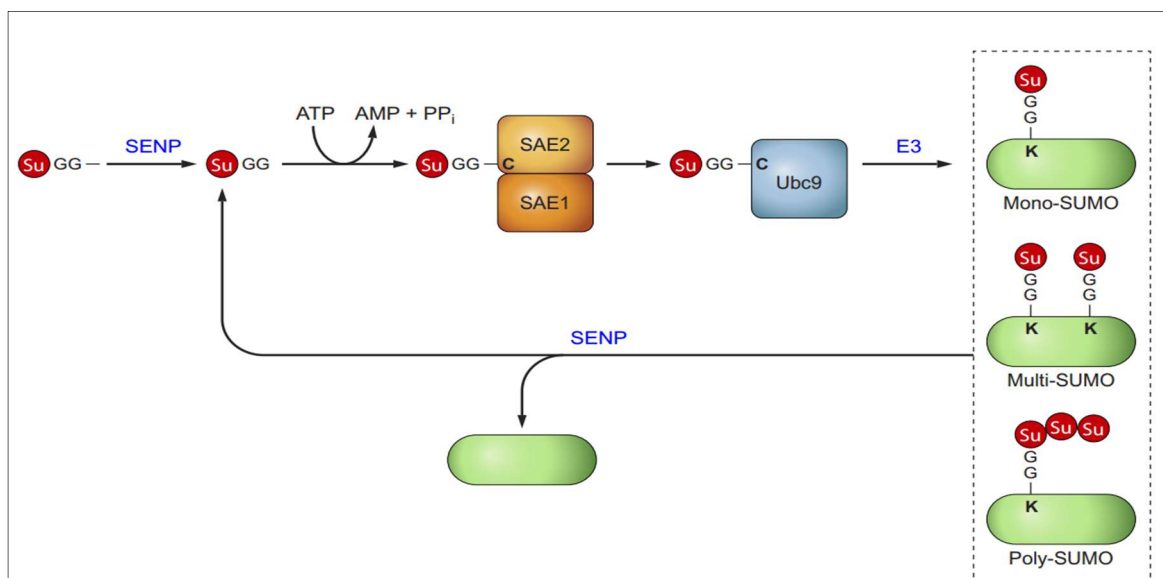
Các gen *SUMO* trên thực tế mã hóa cho protein tiền thân của *SUMO* chứa vùng đầu tận carboxyl, được phân cắt bởi các protease (SENP ở người)

để tạo ra *SUMO* trưởng thành có tận cùng bởi 2 acid amin Glycin [96]. Cấu trúc Glycin-Glycin ở đầu tận carboxyl cùng với “nếp gấp ubiquitin” là đặc trưng cấu trúc của các protein giống ubiquitin như SUMO.

1.4.2.2. Quá trình SUMO hóa

SUMO hóa là một trong các quá trình sửa đổi sau dịch mã có thể thay đổi các đặc tính của protein, bao gồm định vị, bảo đảm tính ổn định và tương tác với protein khác, nhưng không giới hạn các hoạt động của chúng [97].

Quá trình SUMO hóa bao gồm một loạt các bước phản ứng enzym để trưởng thành, hoạt hóa, tiếp hợp, nối và giải tiếp hợp, cuối cùng là sự liên kết cộng hóa trị với protein đích và cần sự tham gia của nhiều thành phần, bao gồm protein SUMO, enzym hoạt hóa SUMO E1 (SUMO activating E1 enzym - SAE1) và enzym hoạt hóa SUMO E2 (SUMO activating E2 enzym - SAE2), enzym liên hợp SUMO E2 (SUMO conjugating enzym E2 hoặc Ubc9), enzym liên kết SUMO E3 (SUMO E3 ligase) và protease đặc hiệu SUMO (SUMO-specific proteases) (Hình 1.13) [98].



Hình 1.12. Các bước của con đường SUMO hóa

* Nguồn: Theo Chang H. M. và cộng sự (2005) [98]

Quá trình SUMO hóa có thể gắn một hoặc nhiều protein SUMO ở một (mono-SUMOylation) hoặc nhiều vị trí (multi, poly-SUMOylation) (Hình

1.12). SUMO hóa nhiều vị trí (multi-SUMOylation) xảy ra khi có nhiều vị trí phù hợp trên protein đích gắn kết được với SUMO. SUMO hóa thành chuỗi (poly-SUMOylation) chủ yếu thông qua gắn kết của SUMO2/3 vì trình tự gắn phù hợp bên trong SUMO cho phép liên kết lặp lại của chuỗi poly-SUMO [98].

Các enzym SENP cũng điều phối quá trình khử SUMO hóa bằng cách loại bỏ SUMO khỏi protein đích. Sự cân bằng giữa SUMO hóa và khử SUMO hóa có ảnh hưởng sâu sắc đến chức năng sinh lý trong tế bào [99]. Trong chu trình thuận nghịch này, các protease đặc hiệu cho SUMO có hai chức năng, vừa làm các protein SUMO trưởng thành, vừa có thể loại bỏ SUMO khỏi protein đích. Các protease đặc hiệu sentrin (sentrin-specific proteases - SENPs) ở động vật có xương sống được xác định dựa trên sự tương đồng về trình tự [100]. Có 6 thành viên thuộc họ SENP đã được xác định, bao gồm SENP1-3 và SENP5-7, mỗi loại đều thể hiện các hoạt động riêng biệt đối với các SUMO riêng lẻ. Ví dụ, SENP1 biểu hiện tăng cường hoạt động trên SUMO1, trong khi SENP2 ưu thế trên SUMO2 hơn, SENP3 đóng vai trò quan trọng đối với sự trưởng thành của SUMO2/3 [101], các enzym SENP điều phối quá trình khử SUMO hóa bằng cách loại bỏ SUMO khỏi protein đích.

1.4.2.3. Vai trò của quá trình SUMO hóa

Ở điều kiện bình thường, SUMO hóa tham gia vào hàng loạt quá trình trong tế bào, ảnh hưởng lên hoạt động tế bào theo nhiều cơ chế khác nhau.

SUMO hóa thường đóng vai trò ức chế hoạt động các yếu tố phiên mã bằng cách thay đổi tương tác với DNA và nhiễm sắc thể nhằm làm giảm biểu hiện gen. Khi giảm sự gắn SUMO với các yếu tố phiên mã như Elk-1, C/EBPs, c-Myb và STAT-1 có thể làm tăng hoạt động phiên mã [102]. SUMO hóa điều chỉnh sự ổn định, phân bố hoặc hoạt động của protein và có thể tác động hiệp đồng, thúc đẩy hoặc đối nghịch với các quá trình sửa đổi sau dịch mã khác như ubiquitin hóa, phosphoryl hóa, acetyl hóa,... do đó ảnh hưởng đến hoạt động của tế bào, góp phần cân bằng nội môi và có thể gây nên bệnh lý.

Trong tình trạng bệnh lý, các protein SUMO và enzym SENP đóng vai trò then chốt đảm bảo cân bằng giữa quá trình SUMO hóa và khử SUMO hóa với các protein đích, cho nên bất kể thay đổi nào trong chu trình đều có thể liên quan đến các bệnh lý. SUMO hóa có thể tăng cường sự tương tác của các phân tử protein bằng cách thêm một bề mặt tương tác hoặc che giấu các tương tác của phân tử protein này. Protein sau khi được SUMO hóa có các biến đổi khác nhau, phụ thuộc vào vị trí, tính ổn định và hoạt động của protein. Các biến đổi SUMO hóa bất thường của protein mục tiêu có liên quan đến nhiều loại ung thư bao gồm ung thư đại trực tràng, ung thư biểu mô tuyến/tuyến vảy cổ tử cung... [58]. Việc ngăn chặn SUMO hóa các protein mục tiêu có thể ức chế sự tiến triển của tế bào ung thư và kích thích sự truyền tín hiệu interferon, do đó tăng cường phản ứng miễn dịch với khối u của cơ thể [103].

Trong tế bào khối u, SUMO hóa protein điều phối các quá trình phân tử thiết yếu, nổi bật nhất là ảnh hưởng đến sự ổn định của protein, tương tác giữa các protein, chuyển vị protein và hoạt động phiên mã. Nó cũng gây rối loạn cân bằng nội môi thông qua các cơ chế cảm ứng biểu hiện gen, tác động vào chu kỳ tế bào, các con đường truyền tín hiệu, phản ứng phá hủy DNA và RNA. Con đường SUMO hóa có thể gây ra sự tăng sinh tế bào, khả năng chống lại quá trình chết theo chương trình của tế bào và khả năng di căn bằng cách điều chỉnh các protein liên quan đến quá trình gây ung thư [104]. Trong hầu hết trường hợp, SUMO hóa đóng vai trò không thể thiếu trong sự khởi đầu, tiến triển của khối u và phản ứng với các liệu pháp điều trị.

1.4.3. Quá trình SUMO hóa và ung thư biểu mô tế bào gan

Protein SUMO hóa đã được chứng minh có vai trò giữ cân bằng trạng thái ổn định của các chức năng protein trong mô bình thường và nhiều loại khối u khác nhau. Bằng chứng ngày càng tăng cho thấy enzym SUMO tham gia vào cơ chế bệnh sinh UTBMTBG thông qua một loạt các quá trình trong tế bào và/hoặc ngoại bào phức tạp. Cụ thể như sau:

Protein SUMO có thể thúc đẩy quá trình hình thành UTBMTBG trong môi trường viêm mạn tính do nó có thể kích hoạt con đường tín hiệu NF- κ B. Đặc biệt trong tình trạng nhiễm HBV mạn tính, SUMO hóa HBx (gắn protein SUMO vào HBx) sẽ tăng cường khả năng tương tác của nó với CPAP, từ đó thúc đẩy các cơ chế gây ung thư liên quan đến HBx.

Protein SUMO cần thiết trong việc duy trì khả năng gây ung thư trong UTBMTBG. Đó là, protein SUMO điều chỉnh chức năng của yếu tố NRF2 (Nuclear factor erythroid-2 related factor 2), đây là một yếu tố đóng vai trò then chốt trong quá trình chuyển hóa của tế bào ung thư. Khi con đường NRF2 trong tế bào ung thư được hoạt hóa sẽ dẫn đến tái lập trình quá trình trao đổi chất trung gian để hỗ trợ tế bào ung thư sống sót và tăng sinh, từ đó hình thành khối u. Trong UTBMTBG, các nghiên cứu đã ghi nhận SUMO hóa NRF2 có thể làm tăng tốc độ dinh dưỡng nội bào, cải thiện khả năng chịu đựng của các tế bào ung thư gan đối với stress thiếu oxy, giúp thúc đẩy sự phát triển và tăng sinh của tế bào u. Ngược lại khi ức chế quá trình SUMO hóa NRF2 có thể làm chậm quá trình sinh ung thư của UTBMTBG [105].

Các protein SUMO cũng cần thiết cho sự di căn và xâm lấn của UTBMTBG, chủ yếu thông qua con đường tín hiệu ảnh hưởng đến NF- κ B [103]. Điều thú vị là protein SUMO có thể vừa thúc đẩy và vừa ức chế sự di căn của UTBMTBG, phản ánh sự đa dạng và phức tạp của protein SUMO trong UTBMTBG.

1.5. Mối liên quan giữa con đường tín hiệu NF- κ B (p50/p65) và SUMO trong cơ chế bệnh sinh ung thư biểu mô tế bào gan

Protein SUMO, quá trình SUMO hóa và con đường tín hiệu NF- κ B (đặc biệt là p65) đã được nhiều nghiên cứu ghi nhận có mối liên quan mật thiết với nhau trong cơ chế bệnh sinh hình thành, tiến triển, xâm lấn và di căn của UTBMTBG.

Trước hết protein SUMO là một yếu tố thiết yếu để kích hoạt con đường tín hiệu NF- κ B (nhất là sự tương tác giữa SUMO1 và p65), và do đó có thể thúc đẩy quá trình hình thành UTBMTBG trong môi trường viêm [105]. Sự vận chuyển vào nhân của p65 dẫn đến việc hoạt hóa NF- κ B p65 chứa nhiều trình tự tương tác SUMO. Vai trò tiềm năng của SUMO1 trong UTBMTBG được chứng minh bằng cách điều chỉnh vị trí trong tế bào của p65. Kết quả ghi nhận trong các mô khối u của bệnh nhân UTBMTBG, phản ứng miễn dịch dương tính của SUMO1 và p65 cao hơn đáng kể so với các mô lân cận. Dữ liệu cho thấy rằng có mối tương quan dương tính giữa phản ứng miễn dịch của SUMO1 và p65 ($r = 0,851$, $p = 0,002$) [106]. Người ta cho rằng sự tăng điều chỉnh của TNF- α và môi trường thiếu oxy làm tăng SUMO hóa p65 thông qua trung gian SUMO1. SUMO1 có thể tăng chuyển vị vào trong nhân của p65 và thúc đẩy hoạt động phiên mã của NF- κ B [106].

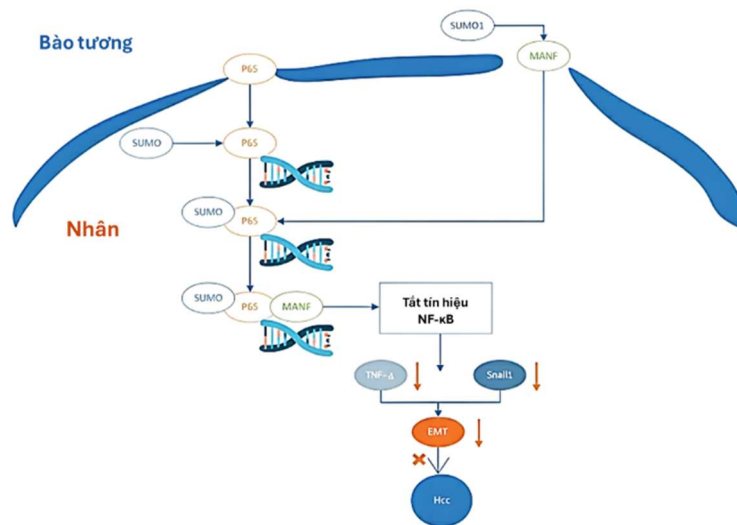
NF- κ B p65 là một trong những tiểu đơn vị quan trọng nhất của họ NF- κ B và là phân tử điều hòa chính trong sự phát triển UTBMTBG. Các nghiên cứu đã chỉ ra p65 có thể được điều chỉnh bởi SUMO3 và được biểu hiện trên dòng tế bào thận phôi người (HEK-293) [106] Liu J. và cộng sự (2016) nhận thấy trong các mô lân cận UTBMTBG, SUMO2/3 được biểu hiện với số lượng lớn trong bào tương. Ngược lại, mức SUMO2/3 trong các mô khối u lại thấp hơn. Phù hợp với kết quả này, sự biểu hiện của p65 cũng tăng lên trong các mô lân cận và chủ yếu nằm trong tế bào chất. Điều này có nghĩa SUMO2/3 có liên quan chặt chẽ đến sự biểu hiện của p65 trong mô gan và được đồng định vị cùng nhau. Protein SUMO đồng định vị với NF- κ B p65, do đó sẽ ảnh hưởng đến sự tương tác của NF- κ B p65 với các protein khác.

Các nghiên cứu sâu hơn xác nhận thêm kết luận về mối tương quan chặt chẽ giữa p65 và SUMO2/3 thông qua kết tủa miễn dịch và huỳnh quang miễn dịch đánh dấu kép (hệ số tương quan $r = 0,80$, $p = 0,006$) [107]. Ngoài ra, Liu J. và cộng sự (2015) còn nhận thấy SUMO2/3 tăng cường biểu hiện phụ thuộc

vào liều lượng của p65 trong bào tương nhưng không ảnh hưởng đến mức mRNA của nó. Đồng thời, TNF- α gây gia tăng liên kết của SUMO2/3 với p65, kèm theo giảm liên kết ubiquitin với p65 [107]. Ngoài ra, một số nghiên cứu còn ghi nhận biểu hiện quá mức SUMO2/3 làm giảm khả năng tăng sinh của tế bào UTBMTBG nhưng không ảnh hưởng đến sự di cư của chúng [7], [107].

Protein STAT4 (PIAS4) điều chỉnh các hoạt động sinh học khác nhau, bao gồm cả các sửa đổi sau dịch mã protein, chẳng hạn như quá trình SUMO hóa. PIAS4, dưới dạng liên kết E3-SUMO, có thể ức chế chức năng của nhiều loại protein như AMPK α và NEMO (một chất điều biến thiết yếu của hệ NF- κ B). Trong nghiên cứu của Liu Q. và cộng sự (2020), vai trò của PIAS4 trong UTBMTBG đã được khám phá. Phân tích sự biểu hiện của PIAS4 trong 38 bệnh nhân UTBMTBG với các mô ung thư và các mô lân cận và mối quan hệ của nó với tiên lượng của bệnh nhân. Kết quả cho thấy những bệnh nhân có nồng độ PIAS4 tăng trong mô ung thư gan có tiên lượng xấu ($p < 0,05$). Tăng bậc lộ PIAS4 thúc đẩy quá trình SUMO hóa AMPK α và NEMO. Điều này dẫn đến sự tăng sinh, di cư và xâm lấn của các tế bào UTBMTBG. Kết quả này chỉ ra rằng PIAS4 thúc đẩy sự tiến triển của UTBMTBG bằng cách thúc đẩy SUMO hóa của NEMO [103].

Trong trạng thái stress của lưới nội chất, sự chế tiết ra các yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc tế bào sao (astrocyte-derived neurotrophic factor - MANF) ở các vùng từ não phải đến não giữa có thể được tăng cường [108]. MANF là yếu tố được chứng minh có liên quan đến SUMO và con đường tín hiệu NF- κ B trong bệnh sinh UTBMTBG. Đó là, MANF có thể gắn với SUMO1 và thúc đẩy việc chuyển MANF vào nhân tế bào. Đồng thời, SUMO hóa p65 có thể tăng cường sự kết hợp giữa p65 và MANF, tạo thành một phức hợp ức chế. Phức hợp này ngăn chặn sự truyền tín hiệu của NF- κ B, dẫn đến việc giảm biểu hiện của TNF- α và Snails, hai yếu tố nằm ở hạ lưu của đường dẫn tín hiệu NF- κ B và kết quả cuối cùng là làm chậm sự tiến triển của UTBMTBG (*Hình 1.13*).



Hình 1.13. Mối liên quan giữa con đường tín hiệu NF-κB p65 và SUMO trong cơ chế bệnh sinh UTBMTBG

* Nguồn: Theo Yuan H. và cộng sự (2021) [7]

Ngoài ra, MANF có thể tương tác với p65 để ức chế quá trình viêm qua trung gian p65. Nghiên cứu của Liu J. và cộng sự (2020) ghi nhận trong mô UTBMTBG, nồng độ mRNA và protein MANF thấp hơn đáng kể so với mô cận u [108]. Bệnh nhân có mức MANF cao hơn có thời gian sống không bệnh và thời gian sống toàn bộ tốt hơn. Các cơ chế này cho thấy vai trò quan trọng của SUMO trong điều chỉnh tín hiệu viêm và sự phát triển của UTBMTBG, mở ra hướng nghiên cứu mới cho các phương pháp điều trị và tiên lượng tiềm năng.

1.6. Các nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam về *NF-κB p50, p65* và *SUMO* ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan

1.6.1. Trên thế giới

1.6.1.1. Các nghiên cứu về *NF-κB p50, p65*

Hiện nay trên thế giới còn khá ít nghiên cứu biểu hiện *NF-κB p50, p65* ở bệnh nhân UTBMTBG, chủ yếu là nghiên cứu trên thực nghiệm nhằm chứng minh vai trò của gen trong cơ chế bệnh sinh UTBMTBG. Chúng tôi chỉ mới ghi nhận một vài nghiên cứu như nghiên cứu của Gaballah H.H. và cộng sự (2014) xác định mức độ biểu hiện tiểu đơn vị *NF-κB p65* trong máu ngoại vi

bằng phương pháp Realtime PCR ở 20 bệnh nhân UTBMTBG so sánh với chỉ số tương ứng ở 20 bệnh nhân xơ gan và 20 người khỏe mạnh. Kết quả cho thấy, biểu hiện *NF-κB p65* tăng cao rõ trong máu ngoại vi khi so sánh với nhóm chứng và có liên quan tiên lượng kém. Điều này cho thấy, *NF-κB p65* tăng biểu hiện ở bệnh nhân UTBMTBG và có thể là dấu ấn tiên lượng tiềm năng [109].

Nghiên cứu của Kang K. và cộng sự (2013) trên 4 nhóm (bệnh nhân UTBMTBG, xơ gan, viêm gan B mạn và người khỏe mạnh) ghi nhận mức độ biểu hiện *NF-κB p65 mRNA* trong mô gan cao hơn có ý nghĩa ở nhóm UTBMTBG so với các nhóm còn lại và không có tương quan với tuổi, phân độ mô bệnh học theo Edmondson, HBsAg và tình trạng di căn [110].

Yokoo H. và cộng sự (2011) nghiên cứu mối liên quan giữa tình trạng tái phát UTBMTBG với tình trạng biểu hiện tiểu đơn vị *NF-κB p50* trong nhân tế bào UTBMTBG bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch. Kết quả cho thấy, *NF-κB p50* dương tính trong nhân tế bào là dấu hiệu tiên lượng nguy cơ tái phát sớm (< 6 tháng) sau phẫu thuật điều trị UTBMTBG [111].

1.6.1.2. Các nghiên cứu về SUMO

Năm 2011, Guo W. và cộng sự nghiên cứu thấy *SUMO1* biểu hiện quá mức trên các dòng tế bào UTBMTBG thực nghiệm và trong mô UTBMTBG, cao hơn 6,96 lần so với mô cận u. Tương tự, nghiên cứu của Liu J. và cộng sự (2015) cho thấy biểu hiện của protein SUMO2/3 trong mô UTBMTBG có nhiễm HBV thấp hơn so với mô cận u. Đồng thời nồng độ SUMO2/3 và p65 tăng lên trong mô cận u và sự biểu hiện quá mức SUMO2/3 làm tăng nồng độ protein p65 trong bào tương tế bào [107]. Ngược lại, protein SUMO1 biểu hiện tăng trong nhân ở mô UTBMTBG so với mô cận u. Có mối tương quan chặt chẽ giữa biểu hiện SUMO1, SUMO2/3 và p65 trong mô gan [106], [107]. Ức chế SUMO1 làm giảm chuyển vị vào trong nhân của p65 và ức chế hoạt động phiên mã của NF-κB. Những kết quả này cho thấy SUMO1 góp phần vào tiến triển của UTBMTBG bằng cách thúc đẩy sự chuyển vị nhân p65 và điều chỉnh hoạt động của NF-κB.

Nghiên cứu của Chen J. và cộng sự (2021) cho kết quả khác biệt. Thực hiện trên 70 bệnh nhân UTBMTBG ghi nhận biểu hiện gen *SUMO2* trong mô UTBMTBG cao hơn có ý nghĩa so với mô cận u. Bệnh nhân có biểu hiện protein SUMO2 trên tế bào u cao có thời gian sống còn toàn bộ ngắn hơn so với biểu hiện *SUMO2* tế bào u thấp. Hơn nữa, nghiên cứu trên dòng tế bào UTBMTBG thực nghiệm, tác giả cũng ghi nhận bất hoạt gen *SUMO2* gây ức chế đáng kể tăng sinh, di cư và xâm lấn tế bào u. Bằng kỹ thuật Western blot thấy giảm biểu hiện SUMO2 làm giảm đáng kể biểu hiện của dấu ấn Ki67, MMP-9 và VEGF - các dấu ấn thể hiện tăng sinh tế bào và phát triển của tổ chức ung thư. Điều này cho thấy SUMO2 thúc đẩy tăng sinh và xâm lấn của tế bào UTBMTBG thông qua các cơ chế liên quan đến MMP-9 và VEGF. Do đó, SUMO2 có thể là một yếu tố tiên lượng và là mục tiêu điều trị tiềm năng cho bệnh nhân UTBMTBG [13].

Cho tới nay, đã có một số nghiên cứu ứng dụng lâm sàng protein SUMO. Nghiên cứu của Ong J.R. và cộng sự (2021) nhận thấy mức mRNA của *SAE1* trong mô ung thư gan tăng đáng kể ($p < 0,0001$). Bệnh nhân có nồng độ mRNA *SAE1* cao có tỷ lệ sống với bệnh và tỉ lệ sống bệnh không tiến triển thấp hơn [83]. Điều này phù hợp với vai trò của protein SUMO hóa như SUMO1 và UBC9 trong UTBMTBG. Nghiên cứu sâu hơn cho thấy *SAE1* liên quan chặt chẽ đến tình trạng thiếu oxy và suy giảm trao đổi chất. *SAE1* tăng biểu hiện hoạt hóa con đường cân bằng nội môi cholesterol, cho thấy tiềm năng của *SAE1* như một dấu ấn sinh học để tiên lượng UTBMTBG.

Peek J. và cộng sự (2018) tạo ra một đoạn tái tổ hợp không hoạt động xúc tác miền UD của KmUlp1, có tên là KmUTAG. KmUTAG có thể liên kết hiệu quả với các protein trong họ SUMO. Hợp chất kết hợp có độ ổn định cao và không làm biến tính protein ngay cả trong điều kiện khắc nghiệt. Thông qua thử nghiệm này đã tiết lộ điều quan trọng về liên kết với protein đích trong quá trình SUMO hóa. Quan trọng hơn, KmUTAG tái tổ hợp có thể cho thấy được sự phân bố, chuyển hóa protein SUMO và quá trình SUMO hóa các protein

trong tế bào sống [112]. Nó cung cấp những ý tưởng và phương pháp mới cho tương lai trong nghiên cứu vai trò của SUMO hóa trong UTBMTBG.

Từ cơ sở dữ liệu GEPIA, Tang Z. và cộng sự (2017) nghiên cứu biểu hiện mRNA của *SUMO1*, *2*, *3* trong mô UTBMTBG so với mô gan lành thấy mức độ biểu hiện của SUMO1, SUMO2 và SUMO3 trong tế bào UTBMTBG cao hơn đáng kể so với tế bào bình thường ($p < 0,01$) [113]. Điều này chỉ ra protein SUMO đóng vai trò thiết yếu trong sự phát triển của UTBMTBG và cho thấy tiềm năng của SUMO là mục tiêu nghiên cứu trong tương lai.

1.6.2. Tại Việt Nam

Tại Việt Nam hiện nay còn rất ít nghiên cứu về *NF- κ B p50*, *p65* và *SUMO* trên người bệnh UTBMTBG cũng như các bệnh lý khác. Năm 2010, Nguyễn Lĩnh Toàn và cộng sự xác định tương tác của HBx với *NF- κ B* trong quá trình phát sinh UTBMTBG. Kết quả cho thấy biểu hiện gen HBx cả chủng hoang dại và đột biến trên tế bào nuôi cấy đều gây tăng hoạt tính luciferase của *NF- κ B* từ 2,5 - 6 lần so với chúng. Kết quả này nhấn mạnh vai trò quan trọng của HBx đột biến trong bệnh sinh UTBMTBG liên quan điều hòa dòng tín hiệu *NF- κ B* [114]. Chúng tôi cũng ghi nhận nghiên cứu tách dòng, biểu hiện và tinh sạch nhân tổ phiên mã *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65* của người trong tế bào vật chủ *E. Coli* của Đỗ Thị Thanh Huyền và cộng sự năm 2017 và năm 2021, đã tạo ra được sản phẩm tái tổ hợp với độ tinh sạch cao có thể ứng dụng trong nghiên cứu và sàng lọc các chất ức chế tiềm năng cho bệnh ung thư liên quan đến rối loạn con đường tín hiệu *NF- κ B* của người [115], [116].

Như vậy, các nghiên cứu về biểu hiện gen *NF- κ B* và *SUMO* trong UTBMTBG hiện vẫn còn rất hạn chế. Do đó cần có các nghiên cứu tổng quát và hệ thống hơn để hiểu rõ hơn vai trò của các gen này trong cơ chế sinh bệnh và tiến triển của UTBMTBG. Việc làm sáng tỏ tác động và mối quan hệ của *NF- κ B* và *SUMO* có thể mở ra những hướng đi mới trong chẩn đoán và điều trị UTBMTBG.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 69 bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg (+), được điều trị phẫu thuật triệt căn tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện Trung ương Quân đội (TWQĐ) 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Bệnh nhân được lựa chọn khi có đủ tiêu chuẩn sau:

- Chẩn đoán xác định UTBMTBG theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam năm 2020 [29]: khi thỏa mãn tiêu chuẩn sau:

- + Hình ảnh điển hình trên phim chụp CLVT ổ bụng có cản quang hoặc CHT ổ bụng có tương phản từ và AFP ≥ 400 ng/mL **hoặc**

- + Hình ảnh điển hình của UTBMTBG trên chụp CLVT có cản quang hoặc CHT có tương phản từ và xét nghiệm AFP tăng cao hơn bình thường (chưa đến ngưỡng 400ng/mL) nhưng kết hợp có nhiễm HBV **hoặc**

- + Có bằng chứng UTBMTBG trên mô bệnh học hoặc tế bào học.

- Xét nghiệm miễn dịch HBsAg (+).

- Có chỉ định và được phẫu thuật loại bỏ khối ung thư gan, kết quả mô bệnh học sau phẫu thuật khẳng định lại UTBMTBG.

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân UTBMTBG đã được nút mạch hóa chất (TACE), đốt sóng cao tần (RFA), tiêm cồn tuyệt đối hoặc điều trị đích với Sorafenib/Lenvatinib.

- Ung thư gan thứ phát.

- Bệnh nhân nhiễm HIV.

- Bệnh nhân UTBMTBG có các yếu tố nguy cơ khác: lạm dụng rượu (xác định khi AUDIT-C ở nam > 4 điểm, nữ > 3 điểm), tiền sử dùng thuốc hoặc tiếp xúc với hóa chất độc gan kéo dài trên 6 tháng, nhiễm HCV...

- Mẫu bệnh phẩm khối u và mô cận u lấy sau phẫu thuật không đạt tiêu chuẩn cho phân tích biểu hiện gen hoặc kết quả phân tích không rõ ràng.

- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu hoặc không có đầy đủ dữ liệu theo đề cương nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang loạt ca bệnh có phân tích.

2.2.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

Cỡ mẫu: Do chưa có nghiên cứu tương tự được tiến hành trên thế giới về khảo sát đồng thời cả 5 gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF-κB p50*, *NF-κB p65* trong mẫu mô UTBMTBG nên chúng tôi lấy cỡ mẫu tối đa có thể các đối tượng đáp ứng đủ tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ trong thời gian nghiên cứu, bao gồm 69 bệnh nhân UTBMTBG.

Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện.

2.2.3. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

2.2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu được thu thập tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

Bệnh phẩm khối u dùng cho phân tích biểu hiện gen sau khi thu thập được lưu trữ và bảo quản tại Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y - Bệnh viện Quân y 103.

Tiêu bản, khối nén chứa bệnh phẩm được hội chẩn tại Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y - Bệnh viện Quân y 103.

Các thông tin chẩn đoán hình ảnh (chụp CLVT, CHT) được hội chẩn tại Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh - Bệnh viện Quân y 103.

Các kỹ thuật phân tích biểu hiện gen thực hiện tại phòng Hệ gen học miễn dịch, Viện Nghiên cứu Hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.3.2. Thời gian nghiên cứu:

Từ tháng 7/2022 đến tháng 7/2025.

2.2.4. Thiết bị, hóa chất dùng trong nghiên cứu

2.2.4.1. Dụng cụ, trang thiết bị và hóa chất nghiên cứu

* **Dụng cụ, trang thiết bị**

- Máy hấp và máy sấy vô trùng dụng cụ.
- Tủ lạnh sâu (- 30°C; - 80°C).
- Tủ lạnh (- 20°C và 4°C).
- Máy ly tâm lạnh Mikro 22r (Hettch, Cộng hòa liên bang Đức).
- Máy vortex và ủ nhiệt Eppendorf ThermoMier C (Thermo Fisher, Hoa Kỳ).
- Buồng hút đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học cấp I.
- Máy spindown Eppendorf loại 1,5mL và 0,2mL.
- Máy ổn nhiệt cho Eppendorf loại 1,5mL.
- Lò vi sóng.
- Pipette loại 1000μL, 100μL, 10μL.
- Ống EDTA, ống Eppendorf loại 1,5mL, 0,2mL, ống falcol 15mL, 50mL, găng tay, giấy thấm đã được hấp trùng.
- Máy PCR Bio-Rad T100 Thermal Cyclers (*Hình 2.1*).



Hình 2.1. Máy PCR Bio-Rad T100 Thermal Cyclers

* Nguồn: Phòng Hệ gen học miễn dịch, Viện Nghiên cứu hệ gen,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- Máy quang phổ đo nồng độ DNA và RNA SpectraMax Quickdrop (Molecular Devices, Hoa Kỳ).
- Hệ thống máy Roche RT PCR Lightcycles 96 Real-time PCR (*Hình 2.2*).



Hình 2.2. Hệ thống máy Realtime PCR Lightcycles 96 của Roche

** Nguồn: Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

- Các phần mềm tin sinh học sử dụng để phân tích kết quả.
- Một số máy và trang thiết bị giúp thu thập các thông số cận lâm sàng như máy siêu âm, máy chụp CLVT đa dãy/CHT; các máy huyết học, sinh hóa, miễn dịch tại các Bệnh viện và Viện nghiên cứu.

*** Nguyên vật liệu, hóa chất**

- Bộ Kit xét nghiệm HBsAg và HBeAg, BIOLINE (Standard Diagnostics, Inc, Hàn Quốc).
- Bộ Kit xét nghiệm anti-HCV, BIOLINE (Standard Diagnostics, Inc, Hàn Quốc).
- Bộ kit định lượng HBV-DNA huyết tương HBV Real-TM Quant Dx (Sacace Biotechnologies, Ý).
- Bộ Kit xét nghiệm anti-HIV (Standard Diagnostics, Inc, Hàn Quốc).
- Bộ kit tách RNA tổng số từ mẫu mô MasterPure Complete DNA and RNA Purification (LGC, Biosearch Technologies, Teddington, UK).

- Bộ kit tổng hợp cDNA: Maxima First Strand cDNA Synthesis (ThermoFisher, Waltham).

- Một số hoá chất khác: Isopropanol, cồn 70°, nước cất DEPC, NEBNext High-Fidelity 2X PCR Master Mix của hãng Biolabs, Primer F, Primer R của Công ty Cổ phần Phù Sa genomics.

2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

2.3.1. Lựa chọn đối tượng nghiên cứu

Các bệnh nhân thỏa mãn tiêu chuẩn nghiên cứu được khám lâm sàng và tiến hành các xét nghiệm cần thiết theo mẫu bệnh án thống nhất (*Phụ lục 1*).

2.3.1.1. Khám lâm sàng

- *Khai thác tiền sử:*

- + Tiền sử viêm gan, xơ gan (thời gian, các biến chứng đã có, thuốc đang điều trị...).

- + Tiền sử uống rượu (thời gian, số lượng/ngày, tính điểm AUDIT-C).

- + Tiền sử nhiễm và điều trị virus viêm gan B (thuốc, thời gian dùng).

- *Triệu chứng cơ năng:* mệt mỏi thường xuyên, đau hạ sườn phải, rối loạn tiêu hóa, sốt, sụt cân, chảy máu cam, chảy máu răng lợi, chảy máu dưới da, tình trạng ý thức...

- *Triệu chứng thực thể:*

- + Hội chứng suy chức năng gan: tình trạng da và niêm mạc (xạm, vàng, xuất huyết dưới da), sao mạch, lòng bàn tay son, phù 2 chi dưới.

- + Hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa: cổ trướng tự do, tuần hoàn bàng hệ, lách to.

- + Thay đổi hình thái gan: gan to, chắc hoặc gan teo.

2.3.2.2. Cận lâm sàng

- *Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu (hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, bạch cầu, tiểu cầu):* Thực hiện theo nguyên lý dòng chảy đa góc

trên máy Unicel DxH 600/XN 1000 tại Trung tâm Huyết học - Truyền máu Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

- *Xét nghiệm sinh hóa máu:*

+ Nồng độ glucose huyết tương: Được định lượng theo phương pháp Hexokinase trên hệ thống máy AU5800 của hãng Beckman Coulter (Hoa Kỳ).

+ Nồng độ ure, creatinin huyết tương: Được định lượng bằng phương pháp đo màu điểm cuối trên hệ thống máy AU5800 của hãng Beckman Coulter (Hoa Kỳ).

+ Hoạt độ các enzym AST (aspartate transaminase), ALT (alanine transaminase), GGT (gamma glutamyl transpeptidase): Được đo bằng phương pháp động học enzym trên hệ thống máy AU5800 của hãng Beckman Coulter, (Hoa Kỳ).

+ Nồng độ albumin, bilirubin (toàn phần và trực tiếp), điện giải (K^+ , Ca^{++} , Na^+ , Cl^-): Dựa trên nguyên lý đo quang bằng máy phân tích hóa sinh tự động tại khoa Sinh hóa.

- *Xét nghiệm đông máu (tỷ lệ prothrombin, INR):* Đo trực tiếp trên máy xét nghiệm đông máu tự động tại Trung tâm Huyết học - Truyền máu Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

- *Xét nghiệm các marker virus:* Định tính HBsAg và anti-HCV bằng kỹ thuật miễn dịch gắn enzym ELISA với chất đánh dấu là enzym Peroxidase tại khoa Vi sinh - Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

Đo tải lượng HBV-DNA huyết tương trên máy Realtime Sacycler 96 và xác định dấu ấn HBeAg, anti HBe theo nguyên lý kháng nguyên kháng thể trên máy Cobas E411, được thực hiện tại Khoa Vi sinh Y học, Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

- *Định lượng AFP huyết tương:* Bằng phương pháp miễn dịch miễn dịch điện hóa phát quang trên máy xét nghiệm sinh hóa miễn dịch tại khoa sinh hóa

Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội.

- Chẩn đoán hình ảnh

+ Điện tim, chụp XQ tim phổi thẳng, nội soi đường tiêu hoá trên đánh giá tình trạng giãn tĩnh mạch thực quản, tĩnh mạch dạ dày.

+ Siêu âm gan mật: thực hiện tại Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội. Siêu âm đánh giá kỹ về kích thước gan, tình trạng nhu mô gan, bờ gan, tĩnh mạch cửa (TMC), khảo sát các tạng trong ổ bụng, dịch tự do ổ bụng. Với bệnh nhân có khối u gan sẽ xác định vị trí, số lượng và kích thước khối u; tình trạng tăng sinh và xâm lấn mạch máu (TMC, tĩnh mạch gan, tĩnh mạch chủ dưới...), di căn hạch rốn gan và ổ bụng.

+ Chụp CLVT ổ bụng cản quang, chụp CHT ổ bụng tiêm tương phản từ: thực hiện tại Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội. Đánh giá vị trí, kích thước, số lượng, hình thái và thể tích khối u, hình ảnh tăng sinh mạch, các nguồn động mạch nuôi khối u, huyết khối/xâm lấn mạch và di căn ngoài gan trong ổ bụng.

Hình ảnh chụp CLVT và CHT được thu thập và hội chẩn lại với bác sĩ của Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Quân y 103, đọc thống nhất theo các chỉ tiêu nghiên cứu.

- Xét nghiệm mô bệnh học

Với những trường hợp không đủ tiêu chí chẩn đoán UTBMTBG theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam năm 2020, chúng tôi tiến hành sinh thiết gan để chẩn đoán [29]. Kỹ thuật thực hiện dưới hướng dẫn siêu âm theo Quy trình kỹ thuật Bộ Y tế năm 2013 [117]. Mẫu sinh thiết (dài tối thiểu 1,5cm) được cố định bằng formaldehyde đậm trung tính 10%, gửi làm tiêu bản. Tất cả tiêu bản mô bệnh của bệnh nhân đều được hội chẩn lại tại khoa Giải phẫu bệnh lý - Bệnh viện Quân y 103, đọc thống nhất theo các chỉ tiêu nghiên cứu.

Ngoài ra, tất cả khối u gan sau phẫu thuật được thu gom, phẫu tích, lựa chọn cẩn thận vùng bệnh phẩm cho phân tích biểu hiện gen (mô ung thư và mô cận u) thì phần khối u còn lại cũng sẽ được sử dụng cho xét nghiệm mô bệnh học theo quy trình chuẩn của Bộ Y tế năm 2016 [118], bao gồm xử lý bệnh phẩm, đúc khối parafin, cắt mảnh và nhuộm mảnh cắt bằng phương pháp Hematoxylin-Eosin. Mô bệnh học được hội chẩn tiêu bản bởi các bác sĩ chuyên khoa giải phẫu bệnh theo các chỉ tiêu nghiên cứu tại Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh lý, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103 theo tiêu chuẩn chẩn đoán của WHO (2019) [119].

- Can thiệp điều trị

Sau khi xác chẩn UTBMTBG, bệnh nhân sẽ được tiến hành can thiệp điều trị bằng các phương pháp khác nhau theo kết luận hội chẩn của Tiểu ban ung thư cấp bệnh viện dựa trên khuyến cáo của Bộ Y tế Việt Nam 2020 [29]. Trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ lựa chọn các bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật cắt gan nhằm mục đích lấy được bệnh phẩm cho phân tích biểu hiện các gen nghiên cứu (lấy được mẫu mô ung thư và mẫu mô cận u đạt tiêu chuẩn). Cụ thể, đây là các bệnh nhân UTBMTBG mà thể tích phần gan dự kiến còn lại sau phẫu thuật $\geq 50\%$ thể tích gan, 100% bệnh nhân có phân độ chức năng gan Child - Pugh A, điểm hoạt động cơ thể (Performance Status - PS) 0 - 2. Có thể phẫu thuật cắt gan cho các trường hợp có huyết khối tĩnh mạch cửa cùng bên với phần gan định cắt hoặc có di căn nhưng vẫn có thể lấy bỏ được khi thực hiện phẫu thuật.

2.3.2. Đánh giá mức độ biểu hiện gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF- κ B p65*, *NF- κ B p50* trong mô u và mô cận u

Đánh giá mức độ biểu hiện gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF- κ B p65* và *NF- κ B p50* trong mô ung thư và mô cận u trên hệ thống máy Roche RT PCR Lightcycles 96 Real-time PCR tại Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

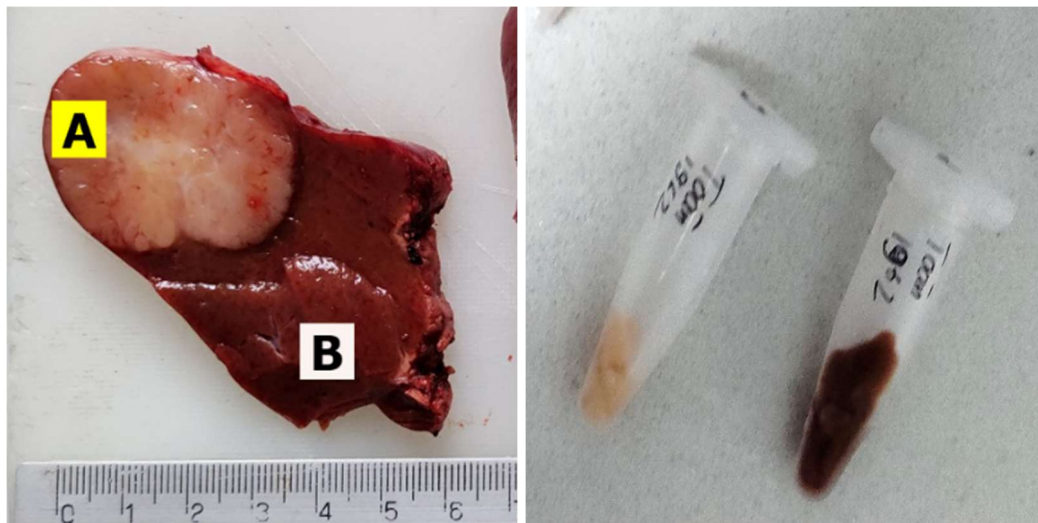
2.3.2.1. Lấy mẫu và bảo quản mẫu nghiên cứu

Chúng tôi lấy hai vùng mô theo cặp cho mỗi bệnh nhân: (1) mô ung thư và (2) mô gan lành cận u.

Bệnh phẩm cắt gan sau khi được lấy ra khỏi cơ thể được phẫu tích ngay. Tiến hành cắt các lát cắt song song, dày 1cm qua toàn bộ bệnh phẩm để đánh giá các đặc điểm đại thể, xác định vùng mô u, vùng hoại tử, chảy máu và mô gan lành (Hình 2.3).

- Dùng dao sạch lấy mẫu bệnh phẩm u và mô lành cận u: chọn vùng đại diện của u, tránh các vùng hoại tử, chảy máu; vùng lành cận u cách rìa khối u từ 2 cm trở lên, tránh mạch máu lớn và vùng xơ hoá nặng; kích thước mỗi chiều cho mẫu là 4-5 mm, đưa mẫu vào ống Eppendorf 1,5mL tương ứng (Hình 2.3).

- Tại các vị trí ngay sát vùng lấy mẫu, cắt thêm các mảnh và cố định trong formol để đối chiếu và khẳng định vùng lấy mẫu trên tiêu bản nhuộm HE. Mô gan lành cận u phải không có tế bào ung thư trên tiêu bản.



Hình 2.3. Mẫu bệnh phẩm mô u và cận u cho nghiên cứu biểu hiện gen

A. Mẫu u

B. Mẫu cận u

** Nguồn: Bệnh phẩm từ nghiên cứu*

Thêm vào các ống đựng mẫu dung dịch bảo quản RNAlater (AM7024, ThermoFisher), đậy nắp và lưu các ống chứa bệnh phẩm trong tủ lạnh ở nhiệt

độ -80°C. Khi đủ số lượng mẫu nghiên cứu sẽ tiến hành đánh giá mức độ biểu hiện các gen nghiên cứu theo các quy trình sau.

2.3.2.2. Tách chiết RNA tổng số từ mẫu mô ung thư và mô cận u

Tách chiết RNA bằng bộ kit MasterPure Complete DNA and RNA Purification (LGC, Biosearch Technologies, Teddington, UK) theo hướng dẫn của Hãng sản xuất. Nguyên lý chung: cấu trúc tế bào bị phá vỡ bằng biện pháp cơ học và các chất hóa học để giải phóng nucleoprotein. Biến tính phức hợp nucleoprotein bằng proteinase K và thu acid nucleic toàn phần bằng isopropanol, loại bỏ DNA bằng dung dịch DNase.

Thí nghiệm được tiến hành như sau:

* **Ly giải mẫu mô**

- Bước 1: Lấy 1 - 5mg mẫu mô để làm thí nghiệm.
- Bước 2: Với mỗi mẫu bệnh phẩm bổ sung 1μL Proteinase K trong 300 μL dung dịch ly giải mô và tế bào (Tissue and Cell Lysis Solution).
- Bước 3: Nghiền nhỏ mẫu mô trong môi trường Nitơ lỏng để đảm bảo RNA không bị phân hủy.
- Bước 4: Thêm 300μL dung dịch ly giải mô và tế bào đã có proteinase K vào ống ly tâm, trộn kỹ dung dịch.
- Bước 5: Ủ dung dịch ở 65°C trong 15 phút, mỗi 5 phút lấy ống ra và thực hiện vortex.
- Bước 6: Đặt ống dung dịch trên mặt đá trong 3 - 5 phút, mẫu mô đã được ly giải, chuyển sang giai đoạn tủa acid nucleic toàn phần.

* **Tủa acid nucleic toàn phần**

- Bước 1: Thêm 150 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent vào 300 μL dung dịch mẫu đã ly giải và vortex mạnh trong 10 giây.
- Bước 2: Ly tâm ống dung dịch trong điều kiện 4°C, $\geq 10.000 \times g$ trong 10 phút để tạo cặn lắng. Nếu cặn ly tâm ít hoặc rời rạc, thêm tiếp 25 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent, trộn đều và ly tâm thêm 1 lần nữa.

- Bước 3: Chuyển phần dịch nổi phía trên sang ống mới, đổ bỏ cặn lắng.
- Bước 4: Thêm 500 μL isopropanol vào dung dịch vừa thu được. Đậy kín và lật ống nhẹ nhàng 30 - 40 lần để trộn đều dung dịch.
- Bước 5: Ly tâm ống dung dịch ở 4°C trong 10 phút để lấy tủa acid nucleic toàn phần.
- Bước 6: Sau khi ly tâm, nhẹ nhàng đổ bỏ dịch phía trên để lấy được kết tủa acid nucleic toàn phần, chuyển sang giai đoạn loại bỏ DNA.

*** Loại DNA bằng dung dịch DNase**

- Bước 1: Dùng pipet hút hết phần isopropanol còn trong ống ly tâm.
- Bước 2: Với mỗi mẫu bệnh phẩm: pha loãng 5 μL dung dịch RNase-Free DNase I trong đệm 1X DNase Buffer để được 200 μL dung dịch DNase I.
- Bước 3: Làm tan hoàn toàn cặn acid nucleic toàn phần trong 200 μL dung dịch DNase I.
- Bước 4: Ủ ống dung dịch ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút (có thể ủ thêm tới 30 phút để loại bỏ tất cả DNA).
- Bước 5: Thêm 200 μL dung dịch ly giải 2x T and C Lysis Solution, vortex trong 5 giây.
- Bước 6: Thêm 200 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent, vortex trong 10 giây, đặt ống trên đá trong 5 - 10 phút.
- Bước 7: Ly tâm ống dung dịch ở 4°C , trong 10 phút, tốc độ 10000xg để tạo cặn lắng.
- Bước 8: Chuyển dịch nổi phía trên chứa RNA tổng số vào ống mới, loại bỏ cặn lắng.
- Bước 9: Thêm 500 μL isopropanol lạnh vào dung dịch thu được, đậy kín và lật ống 30 - 40 lần để tủa RNA.
- Bước 10: Ly tâm ống dung dịch ở 4°C trong 10 phút.
- Bước 11: Sau ly tâm, nhẹ nhàng đổ bỏ dung dịch isopropanol phía trên để lấy cặn RNA tinh sạch.

- Bước 12: Nhẹ nhàng thêm dung dịch còn 70°C vào ống để rửa cặn RNA tinh sạch, thực hiện bước này 2 lần. Nếu cặn RNA bị bong ra khỏi đáy ống, có thể ly tâm lại, sau đó dùng pipet hút bỏ dung dịch phía trên.

- Bước 13: Hòa tan tủa RNA trong 10 - 35 μL dung dịch đệm TE Buffer.

- Bước 14: Thêm 1 μL dung dịch RiboGuard RNase Inhibitor.

2.3.2.3. Tổng hợp cDNA

cDNA được tổng hợp từ RNA tổng số theo quy trình như sau: lấy 1 μg RNA tổng số pha loãng vào nước cất DEPC thành 12,5 μL . Sau đó, thêm 1 μL oligo-dT primer (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và ủ ở nhiệt độ 70°C trong 2 phút. Cho thêm vào ống đựng mẫu 2 μL 10x reaction buffer, 1 μL dNTP mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 10 mM mỗi loại), 0,5 μL chất ức chế RNase, 0,1 μL enzym phiên mã ngược M-MuLV và 2,9 μL nước cất DEPC. Trộn đều mẫu sau đó ủ ở 42°C trong 1 giờ. Để dừng phản ứng tổng hợp cDNA, các mẫu được ủ ở 94°C trong 5 phút và dự trữ ở -80°C.

2.3.2.4. Tiến hành phản ứng RTq-PCR

Sử dụng gen *GAPDH* (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) làm gen tham chiếu (housekeeping gene). Các trình tự gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* và *NF- κ B p50/p65* được tra cứu từ cơ sở dữ liệu GenBank thuộc Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia Hoa Kỳ (NCBI). Cụ thể, các mã số truy cập (Accession Number) được sử dụng gồm: *SUMO1* - NM_003352.4; *SUMO2* - NM_006937.4; *SUMO3* - NM_006936.4; *NF- κ B p50* - NM_003998.5; *NF- κ B p65* - NM_021975.4.

Dựa trên các trình tự này, cặp mồi đặc hiệu được thiết kế bằng phần mềm Primer-BLAST (NCBI), với các tiêu chí:

- Chiều dài mồi từ 18 - 22 bp, nhiệt độ gắn mồi (T_m) khoảng 58 - 62°C, sản phẩm khuếch đại có kích thước 100 - 200 bp.

- Trình tự mồi được đặt trên vùng mã hóa (exon), ưu tiên vùng nối exon - exon nhằm bảo đảm chỉ khuếch đại trình tự cDNA, tránh khuếch đại trình tự DNA gốc.

- Các vị trí mồi được đối chiếu với cơ sở dữ liệu biến thể đơn nucleotide (dbSNP, NCBI) để loại trừ các vùng chứa đa hình hoặc đột biến phổ biến có thể ảnh hưởng đến hiệu quả bắt cặp và độ đặc hiệu.

Các cặp mồi sau khi thiết kế được kiểm tra tính đặc hiệu bằng phân tích in silico trên Primer-BLAST và xác nhận thực nghiệm thông qua phản ứng real-time PCR. Trình tự mồi cho các gen nghiên cứu và gen *GAPDH* được trình bày cụ thể trong *Bảng 2.1*.

Bảng 2.1. Trình tự mồi nghiên cứu

Tên cặp mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	Kích thước sản phẩm (bp)
<i>SUMO1-F</i>	ACCGTCATCATGTCTGACCA	183
<i>SUMO1-R</i>	TGGAACACCCTGTCTTTGAC	
<i>SUMO2-F</i>	GGGCAACCAATCAATGAAAC	198
<i>SUMO2-R</i>	AGTCAGGATGTGGTGGGAACC	
<i>SUMO3-F</i>	CTGGCCCTCAAGCATGTAAC	201
<i>SUMO3-R</i>	AAATCTGAGGCCACAACACC	
<i>NF-κB p50-F</i>	TGGCACTGCCAACAGATGG	182
<i>NF-κB p50-R</i>	AACCTTTGCTGGTCCCACAT	
<i>NF-κB p65-F</i>	CTGAATGCTGTGCGGCTCT	199
<i>NF-κB p65-R</i>	GCACCTTGTCACACAGTAGGAA	
<i>GAPDH-F</i>	GGAGCGAGATCCCTCCAAA	197
<i>GAPDH-R</i>	GGCTGTTGTCATACTTCTCAT	

* Nguồn: Trình tự mồi do nhóm nghiên cứu tự thiết kế

Phản ứng RTq-PCR chứa 20 μ L tổng thể tích gồm:

Bảng 2.2. Thành phần của phản ứng *RTq-PCR*

STT	Thành phần	Thể tích (μ L)
1	cDNA	2
3	Primers F	0,3
4	Primers R	0,3
5	NEBNext High-Fidelity 2X PCR Master Mix	10
6	Nước DEPC	12,4

Phản ứng RTq-PCR được thực hiện trên hệ thống LightCycler System (Roche Diagnostics) với chu trình nhiệt như sau:

Bảng 2.3. Chu trình nhiệt của phản ứng *RTq-PCR*

Giai đoạn	Biến tính	Bắt cặp	Kéo dài
Nhiệt độ	95°C	62°C	72°C
Thời gian	10 giây	10 giây	16 giây
Chu kỳ		40	

Chu kỳ ngưỡng (Ct) của các gen nghiên cứu và gen tham chiếu ở các mẫu được xác định bằng phần mềm LightCycler.

2.3.2.5. Phương pháp phân tích mức độ biểu hiện gen

- Đánh giá mức độ biểu hiện gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* và *GAPDH* dựa trên phương pháp so sánh chu kỳ ngưỡng [120], [121]:

Ct của các gen nghiên cứu được chuẩn hóa theo Ct của gen tham chiếu (*GAPDH*) theo công thức: $\Delta Ct = Ct (gen\ NC) - Ct (gen\ GAPDH)$

Tính toán và phân tích kết quả

+ Ct (NC/U): là Ct của gen đích (NC) trong mẫu mô ung thư (U).

+ Ct (GAPDH/U): là Ct của gen GAPDH trong mẫu mô ung thư (U).

+ Ct (NC/N): là Ct của gen đích (NC) trong mẫu mô cận u (N).

+ Ct (GAPDH/N): là Ct của gen GAPDH trong mẫu mô cận u (N).

Dựa trên các thông số này, chúng ta sẽ hiệu chỉnh chu kỳ ngưỡng của gen đích trên mẫu mô ung thư (U) và mô cận u (N) bằng cách tính hiệu số chênh lệch Ct của gen đích với gen GAPDH trên các mẫu:

Mẫu mô ung thư: $\Delta Ct(U) = Ct(NC/U) - Ct(GAPDH/U)$

Mẫu mô cận u: $\Delta Ct(N) = Ct(NC/N) - Ct(GAPDH/N)$

Sau đó, các giá trị ΔCt được sử dụng như một biến số đại diện cho mức biểu hiện tương đối của gen đích (đã hiệu chỉnh so với gen tham chiếu) trên từng loại mẫu mô ung thư và mô cận u. Kết quả nghiên cứu sử dụng giá trị ($-\Delta Ct$) để thuận lợi hơn trong việc phân tích thống kê và minh họa dựa trên các biểu đồ.

2.4. Các chỉ số nghiên cứu và tiêu chuẩn chẩn đoán

2.4.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

- *Tuổi*: chia phân nhóm tuổi gồm < 40 tuổi, 40 - 49 tuổi, 50 - 59 tuổi, 60 - 69 tuổi và ≥ 70 tuổi, tuổi trung bình của các nhóm nghiên cứu.

- *Giới*: nam, nữ, tỷ lệ nam/nữ.

- *Triệu chứng lâm sàng*: chia thành các giá trị (có/không) tính theo số lượng bệnh nhân và tỷ lệ phần trăm, bao gồm:

+ Triệu chứng cơ năng: đau hạ sườn phải, mệt mỏi, chán ăn/ăn kém, rối loạn tiêu hóa, sốt (thân nhiệt $> 37^{\circ}\text{C}$), gầy sút cân (giảm $> 10\%$ trọng lượng cơ thể trong 6 tháng).

+ Triệu chứng thực thể: sao mạch, lòng bàn tay son, phù 2 chi dưới, vàng da niêm mạc, gan to, lách to, cổ trướng, tuần hoàn bàng hệ.

- *Cận lâm sàng*:

+ Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi: Hồng cầu (T/L), Hemoglobin (g/L), Bạch cầu (G/L), Tiểu cầu (G/L).

+ Sinh hóa máu: Ure (mmol/L), Creatinin ($\mu\text{mol/L}$), AST (U/L), ALT (U/L), Bilirubin toàn phần ($\mu\text{mol/L}$), Protein (g/L), Albumin (g/L).

+ Đông máu: tỷ lệ prothrombin (%), INR.

+ AFP huyết tương chia 3 mức độ: bình thường ($\leq 20\text{ng/mL}$), tăng ($20 - 400\text{ng/mL}$) và tăng cao ($> 400\text{ng/mL}$), nếu đơn vị tính của AFP là IU/mL sẽ được quy đổi theo công thức quy chuẩn $\text{ng/mL} = \text{IU/mL} \times 1,21$.

Bảng 2.4. Giá trị bình thường các chỉ số công thức máu, chức năng gan và enzym gan

Thông số		Giá trị bình thường	Tăng	Giảm
Hồng cầu (T/L)	Nam	4,3 - 5,8	$> 5,8$	$< 4,3$
	Nữ	3,9 - 4,2	$> 4,2$	$< 3,9$
Hemoglobin (g/L)	Nam	130 - 160	> 160	< 130
	Nữ	120 - 145	> 145	< 120
Bạch cầu (G/L)		4 - 12	> 12	< 4
Tiểu cầu (G/L)		150 - 400	> 400	< 150
Protein (g/L)		66 - 83	> 83	< 66
Albumin (g/L)		35 - 42	> 42	< 35
Bilirubin TP ($\mu\text{mol/L}$)		≤ 21	> 21	-
Tỷ lệ Prothrombin (%)		≥ 70	-	< 70
AST (U/L)		< 40	≥ 40	-
ALT (U/L)		< 40	≥ 40	-

* Nguồn: Giá trị các chỉ số xét nghiệm máu theo ngưỡng máy xét nghiệm

- Đánh giá chức năng gan theo thang điểm Child - Pugh

Bảng 2.5. Đánh giá chức năng gan theo Child-Pugh

Các chỉ số đánh giá	1 điểm	2 điểm	3 điểm
Cấp độ bệnh não gan	Không	1 - 2	3 - 4
Cổ trướng	Không	Ít	Vừa, nhiều
Bilirubin huyết tương ($\mu\text{mol/L}$)	< 34	34 - 51	> 51
Albumin huyết tương (g/L)	> 35	28 - 35	< 28
Tỷ lệ prothrombin (%)	> 54	45 - 54	< 45

* Nguồn: Theo Pugh R.N.H và cộng sự (1973) [122]

Chức năng gan đánh giá theo 3 mức độ:

Child-Pugh A: 5 - 6 điểm.

Child-Pugh B: 7 - 9 điểm.

Child-Pugh C: 10 - 15 điểm.

- Chỉ tiêu khối u gan trên chẩn đoán (CLVT đa dây ổ bụng có tiêm cản quang hoặc CHT ổ bụng có tiêm tương phản từ):

+ Vị trí khối u gan: thùy phải, thùy trái hoặc cả 2 thùy.

+ Số lượng khối u: 1 khối và ≥ 2 khối u.

+ Kích thước khối u gan (đơn vị cm): đường kính lớn nhất của khối u trên chụp CLVT đa dây. Trường hợp nhiều khối u sẽ chọn khối u có đường kính lớn nhất để tính kích thước. Chia thành các phân nhóm $< 50\text{mm}$ và $\geq 50\text{mm}$.

+ Tình trạng xâm lấn/huyết khối TMC: xác định trên chụp CLVT (khối u gan nằm sát ngay nhánh TMC, xâm lấn rõ tạo huyết khối trong lòng TMC và sau tiêm thuốc cản quang có hình ảnh tăng tỷ trọng của huyết khối (mạch tân tạo trong huyết khối)).

+ Tình trạng di căn ngoài gan: di căn phổi, di căn hạch, di căn tuyến thượng thận, di căn phúc mạc...

- Đánh giá giai đoạn bệnh UTBMTBG sau phẫu thuật: Dựa theo tiêu chuẩn phân chia giai đoạn ung thư gan lâm sàng Barcelona 2022 (BCLC):

Bảng 2.6. Phân loại giai đoạn UTBMTBG theo Barcelona 2022

Giai đoạn bệnh	Thể trạng (ECOG)	Đặc điểm khối u	Child - Pugh
0 (rất sớm)	0-1	1 khối $< 2\text{cm}$	A
A (sớm)	0-1	1 khối hoặc 2-3 khối $< 3\text{cm}$	A-B
B (trung gian)	0-1	Nhiều khối/khối lớn	A-B
C (tiến triển)	0-2	Huyết khối tĩnh mạch cửa, di căn hạch hoặc di căn xa	A-B
D (cuối)	> 2	Bất kỳ T, N hoặc M	C

* Nguồn: Theo Reig M. và cộng sự (2022) [30]

- *Đặc điểm mô bệnh học:*

Đánh giá các đặc điểm mô bệnh học trên tất cả tiêu bản nhuộm Hematoxylin-Eosin, trên tất cả các vi trường.

+ Phân độ mô học: dựa vào đặc điểm hình thái vi thể (đặc điểm cấu trúc u và đặc điểm tế bào u) và so sánh mức độ khác biệt với mô gan bình thường. Dựa vào vùng mô u có độ mô học cao nhất (kém biệt hoá nhất) để phân độ cho toàn bộ khối u.

Theo phân loại của WHO (2019), được chia thành 3 độ

Bảng 2.7. Phân độ mô học UTBMTBG theo WHO 2019

Phân độ	Tiêu chuẩn hình thái
Độ 1 - Biệt hóa cao	Nhân tế bào bất thường tối thiểu hoặc biến đổi nhẹ, bào tương trung bình tới rộng, bắt màu trung tính tới ái toan.
Độ 2 - Biệt hóa vừa	Nhân tế bào bất thường nhiều hơn, đôi khi thấy tế bào u có nhiều nhân, bào tương trung bình tới rộng, bắt màu trung tính tới ái toan.
Độ 3 - Biệt hoá kém	Nhân tế bào đa hình thái rõ rệt, có thể có tế bào khổng lồ u, bào tương ít tới trung bình, thường bắt màu ưa kiềm.

** Nguồn: Theo Nagtegaal I.D. và cộng sự (2020) [119]*

Phân độ mô học theo Edmondson và Steiner: được chia thành 4 độ:

Bảng 2.8. Độ biệt hóa tế bào theo Edmondson và Steiner

Hệ thống xếp độ biệt hóa tế bào theo Edmondson và Steiner	
Độ I	Biệt hóa cao nhất gồm tế bào ung thư nhỏ xếp thành bè mỏng
Độ II	Tế bào lớn hơn với nhân bất thường, có thể có cấu trúc tuyến.
Độ III	Tế bào có nhân lớn hơn và tăng sắc hơn độ II, tế bào chất có hạt và ưa acid nhưng ít hơn độ II
Độ IV	Tế bào không biệt hóa với nhân tăng sắc và mất cấu trúc bè

** Nguồn: Theo Schlageter M. và cộng sự (2014) [123]*

+ Thể mô bệnh học (architecture subtypes) [124]: chia làm các thể mô bệnh học chính:

. Thể bè (trabecular): tế bào u sắp xếp thành bè/dải giống bè tế bào gan bình thường, dày từ 1-2 tới vài lớp tế bào, ngăn cách bởi khoảng trống dạng xoang mạch (sinusoid-like spaces).

. Thể bè lớn (macrotrabecular): các bè tế bào u dày trên 6 tế bào tạo thành các dải tế bào u lớn, nổi bật, lòng xoang mạch hẹp lại, chiếm phần lớn mô u.

. Thể giả tuyến (pseudoglandular): tế bào u tạo vòng tròn khép kín, có khoảng trống ở trung tâm - cấu trúc giả tuyến.

. Thể đặc (solid): tế bào u xếp thành đám hoặc mảng lớn, giữa các tế bào không còn khoảng xoang mạch.

. Thể hỗn hợp: có từ 2 kiểu cấu trúc trở lên

+ Biến thể mô học (histologic variants) [124]:

. Thể thông thường (usual): hình thái tế bào u giống tế bào gan, nhân tế bào tròn, hạt nhân rõ, bào tương đa diện, thể bè, giả tuyến hoặc thể đặc.

. Biến thể gan nhiễm mỡ (steatohepatic variant): bào tương có các không bào mỡ lớn, chiếm ưu thế trong tế bào.

. Biến thể tế bào sáng (clear cell variant): phần lớn tế bào u có bào tương rộng sáng, nhân tế bào u nhỏ, lệch tâm, hạt nhân nhỏ

. Biến thể xơ cứng (scirrhous variant): mô đệm u là mô xơ nổi bật, chiếm tỉ lệ lớn trong u, các đám tế bào u nằm rải rác trong nền xơ dày

. Biến thể tế bào kỵ màu (chromophobe variant): tế bào u có bào tương nhạt màu, có thể vùi trong bào tương, nhân tế bào tròn, tăng sắc, hạt nhân nhỏ.

+ Tế bào u xâm nhập mạch: có/không.

+ Xơ gan: Chẩn đoán xơ gan bằng hình ảnh mô bệnh học dựa vào đặc điểm tăng sinh xơ lan toả, xơ phát triển từ khoảng cửa - khoảng cửa và khoảng cửa - tĩnh mạch trung tâm làm đảo lộn hoàn toàn cấu trúc, đồng thời mô gan

xuất hiện các ổ tái tạo tế bào gan. Các đặc điểm kèm theo gồm: thoái hóa tế bào gan, hoại tử từng ổ, viêm mạn tính quanh khoảng cửa và tăng sinh ống mật.

2.4.2. Mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu

- Mức độ biểu hiện tương đối các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư và mô cận u: tính trung vị, tứ phân vị, so sánh mức độ biểu hiện trong mô ung thư và mô cận u.

- Đánh giá mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* với nhau trong mô ung thư và mô cận u.

2.4.3. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen nghiên cứu với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

- Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với tuổi, giới và một số đặc điểm lâm sàng.

- Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với một số xét nghiệm sinh hóa máu (enzym gan, Albumin, Bilirubin toàn phần), tiểu cầu máu ngoại vi, tỷ lệ Prothrombin và AFP huyết tương.

- Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với đường kính u, số lượng u, tình trạng huyết khối tĩnh mạch cửa.

- Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với mô bệnh học khối u (mức độ biệt hóa tế bào u, cấu trúc u, tình trạng xâm nhập mạch và xơ gan kèm theo).

- Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với và giai đoạn bệnh UTBMTBG theo phân loại BCLC sau phẫu thuật.

2.5. Phân tích và xử lý số liệu

- Số liệu được lưu giữ và quản lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.
- Các số liệu được mã hoá đưa vào máy tính. Sử dụng các thuật toán phân tích thống kê y học trên phần mềm Medcalc version 20.019 để xử lý số liệu.

Kiểm định phân phối chuẩn bằng kiểm định Kolmogorov-Smirnov (cỡ mẫu lớn hơn 50) và Shapiro-Wilk (cỡ mẫu nhỏ hơn 50).

** Với các biến định tính*

- Trình bày dưới dạng tần số, tỷ lệ.
- So sánh sự khác biệt giữa các tỷ lệ bằng kiểm định Khi bình phương (Chi square test) hoặc Fisher's exact test (khi có bất kỳ số tính toán lý thuyết nào dưới 5).

** Với biến định lượng*

- Trình bày bằng số trung bình, độ lệch chuẩn (biến tuân theo quy luật phân phối chuẩn), trung vị, tứ phân vị, giá trị nhỏ nhất, lớn nhất (biến không tuân theo quy luật phân phối chuẩn).

- So sánh giữa hai mẫu ghép cặp: sử dụng thuật toán so sánh hai giá trị của mẫu ghép cặp (Wilcoxon test).

- So sánh giữa hai mẫu độc lập tuân theo luật phân phối chuẩn: sử dụng thuật toán so sánh hai giá trị trung bình (independent sample t-test).

- Với biến định lượng không tuân theo luật phân phối chuẩn: sử dụng thuật toán so sánh hai mẫu độc lập cho biến phi tham số (Mann-Whitney test).

- Phân tích tương quan tuyến tính giữa hai biến định lượng, tính hệ số tương quan "rho" với các biến có phân phối chuẩn, tính hệ số tương quan Spearman (r_s) với các biến có phân phối không chuẩn.

+ Nếu $0 < |r_s| < 0,2$: hai biến có tương quan tuyến tính rất yếu.

+ Nếu $0,2 \leq |r_s| < 0,4$: hai biến có tương quan tuyến tính yếu.

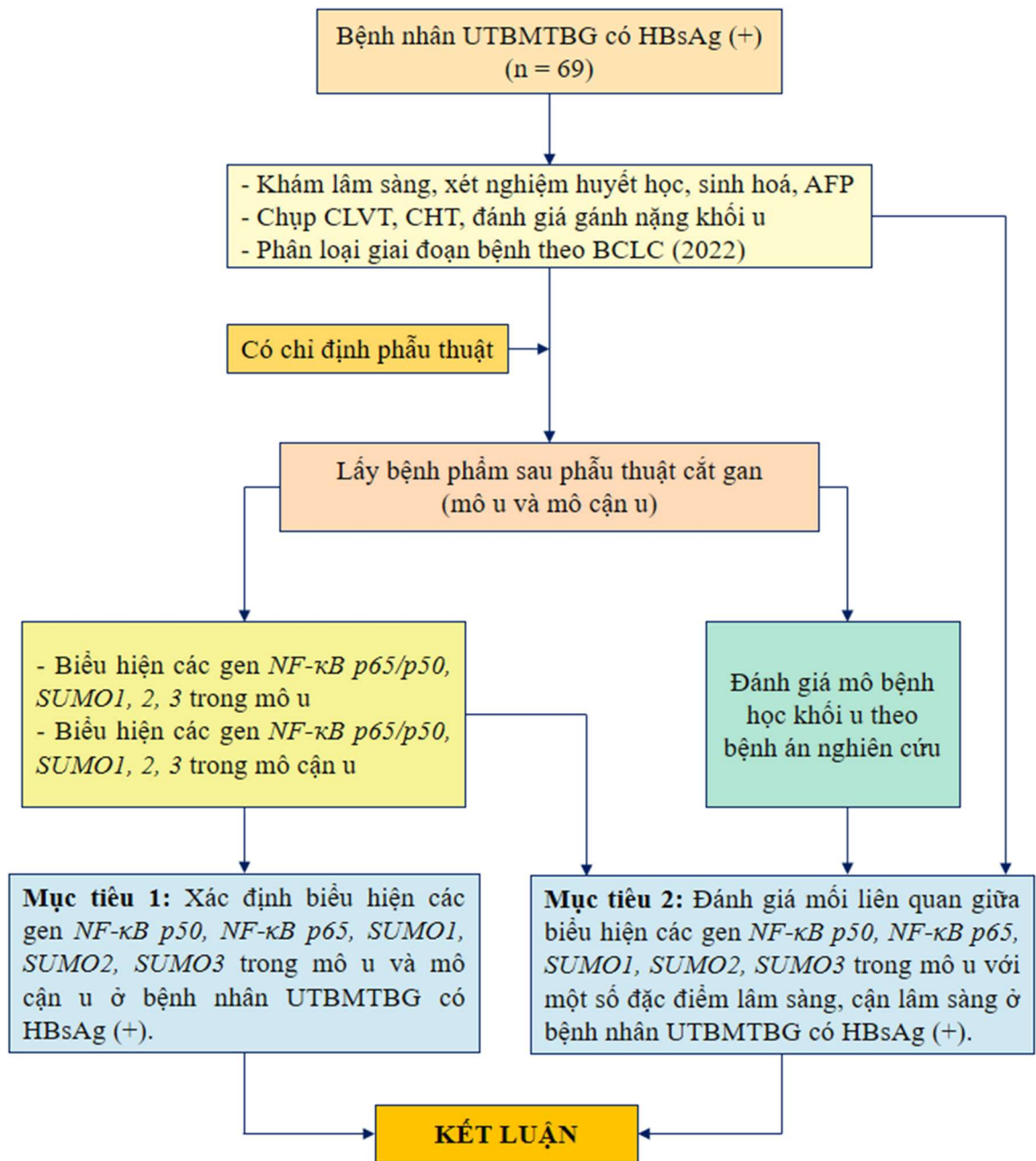
+ Nếu $0,4 \leq |r_s| < 0,6$: hai biến có tương quan tuyến tính trung bình.

+ Nếu $0,6 \leq |r_s| < 0,8$: hai biến có tương quan tuyến tính chặt chẽ.

- + Nếu $|r_s| \geq 0,8$: hai biến có tương quan tuyến tính rất chặt chẽ.
- + Nếu “ r_s ” mang giá trị dương: hai biến có tương quan thuận.
- + Nếu “ r_s ” mang giá trị âm: hai biến có tương quan nghịch.
- Đánh giá: $p > 0,05$: sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê và $p < 0,05$: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

2.6. Đạo đức nghiên cứu

- Tất cả bệnh nhân tham gia nghiên cứu là hoàn toàn tự nguyện và có quyền rút lui khỏi nghiên cứu khi không muốn tham gia nghiên cứu.
- Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh - Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y, số 25/2022/CNChT- HĐĐĐ ngày 28 tháng 6 năm 2022.
- Các thông tin liên quan đến bệnh nhân được đảm bảo bí mật. Tôn trọng bệnh nhân và quyền tự quyết của bệnh nhân.
- Kỹ thuật, thao tác liên quan đến bệnh nhân được tuân thủ đúng quy trình chuyên môn.
- Xét nghiệm đánh giá biểu hiện gen do nghiên cứu viên tự chi trả và chỉ nhằm mục đích nghiên cứu, không ảnh hưởng đến quá trình điều trị bệnh cũng như tăng gánh nặng tài chính cho bệnh nhân.



Hình 2.4. Sơ đồ nghiên cứu

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian nghiên cứu từ 7/2022 đến 7/2025 chúng tôi đã thu thập được 69 bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg (+) đáp ứng đủ tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ. Sau đây là kết quả nghiên cứu:

3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Đặc điểm tuổi, giới nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi, giới (n = 69)

Tuổi, giới		Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Tuổi (năm)	< 40	3	4,34
	40 - 49	11	15,94
	50 - 59	30	43,48
	60 - 69	20	28,99
	≥ 70	5	7,25
	$\bar{X} \pm SD$	57,35 ± 8,92	
Giới	Nam	63	91,30
	Nữ	6	8,70

Nhận xét:

Phần lớn bệnh nhân UTBMTBG có tuổi lớn hơn 50 (chiếm 79,72%), trong đó có 43,48% bệnh nhân nằm trong độ tuổi 50 - 59 tuổi, với tuổi trung bình là 57,35 ± 8,92 tuổi. Bên cạnh đó, nhóm tuổi trẻ (< 40 tuổi) chỉ có 3/69 bệnh nhân (4,34%), thấp nhất trong các nhóm tuổi.

Trong số 69 bệnh nhân tham gia nghiên cứu có 63 nam, chiếm tỷ lệ chủ yếu (91,30%) và chỉ có 6 nữ, chiếm tỷ lệ 8,70%. Tỷ lệ nam/nữ là 10,5/1.

3.1.2. Đặc điểm triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm máu

Bảng 3.2. Đặc điểm một số triệu chứng lâm sàng (n = 69)

Triệu chứng lâm sàng	Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Mệt mỏi	12	17,39
Chán ăn, ăn kém	11	15,94
Gầy sút cân	12	17,39
Đau hạ sườn phải	34	49,28
Đau thượng vị	7	10,14
Các triệu chứng thực thể khác*	0	0,00

(*) Các triệu chứng thực thể khác: sốt, vàng da, phù, gan to, lách to...

Nhận xét:

Trong số các triệu chứng cơ năng thì đau hạ sườn phải là triệu chứng thường gặp nhất (chiếm 49,28%), ít gặp nhất là triệu chứng đau thượng vị với 10,14%. Không có bệnh nhân nào xuất hiện các triệu chứng thực thể như sốt, vàng da, phù, gan to, lách to...

Bảng 3.3. Đặc điểm một số chỉ số công thức máu và đông máu (n = 69)

Chỉ số		Giá trị
Bạch cầu (G/L)	Median (Q1 - Q3)	6,78 (5,60 - 8,43)
Hồng cầu (T/L)	Mean $\pm$ SD	4,72 $\pm$ 0,71
Huyết sắc tố (g/L)	Median (Q1 - Q3)	147,00 (136,50 - 156,25)
Hematocrit (%)	Median (Q1 - Q3)	0,44 (0,41 - 0,47)
Tiểu cầu (G/L)	Median (Q1 - Q3)	185,00 (156,75 - 222,00)
	> 400 (n, %)	2 (2,90%)
	150 - 400 (n, %)	54 (78,26%)
	< 150 (n, %)	13 (18,84%)
INR	Median (Q1 - Q3)	1,05 (1,00 - 1,11)
Tỷ lệ Prothrombin (%)	Mean $\pm$ SD	93,71 $\pm$ 12,02
	≥ 70 (n,%)	67 (97,10%)
	< 70 (n,%)	2 (2,90%)

Nhận xét:

Giá trị trung vị của các chỉ số xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và đông máu (INR, tỷ lệ Prothrombin) của 69 bệnh nhân nghiên cứu đều nằm trong giới hạn bình thường.

Phần lớn bệnh nhân có chỉ số tiểu cầu từ 150 - 400 G/L (54/69 bệnh nhân, chiếm 78,26%); chỉ có 2/69 bệnh nhân có mức tiểu cầu > 400 G/L (chiếm 2,90%).

Có 67/69 bệnh nhân (chiếm 97,10%) có tỉ lệ Prothrombin ≥ 70 % và 2/69 bệnh nhân có tỉ lệ Prothrombin < 70 %.

Bảng 3.4. Đặc điểm một số chỉ số xét nghiệm sinh hóa máu

Chỉ số		Số bệnh nhân	Tỷ lệ (%)	Mean $\pm$ SD Median (Q1 - Q3)
AST (U/L)	≥ 40	40	57,97	42,80 (33,99 - 62,83)
	< 40	29	42,03	
ALT (U/L)	≥ 40	37	53,62	43,00 (29,55 - 63,03)
	< 40	32	46,38	
Albumin (g/L)	≥ 35	61	88,41	40,62 $\pm$ 4,39
	< 35	8	11,59	
Bilirubin toàn phần ($\mu\text{mol/L}$)	≤ 21	60	86,96	12,40 (9,48 - 15,03)
	> 21	9	13,04	

Nhận xét:

Giá trị trung vị của chỉ số xét nghiệm sinh hóa máu của đối tượng nghiên cứu như Bilirubin, Albumin đều nằm trong giới hạn bình thường, ngoại trừ trung vị enzym gan AST, ALT tăng nhẹ (42,80 U/L và 43,00 U/L, theo thứ tự).

Trong số 69 bệnh nhân, có đến 57,97% và 53,62% bệnh nhân có mức AST và ALT cao trên giới hạn bình thường (40 U/L); 11,59% bệnh nhân có mức Albumin huyết tương dưới 35 g/L và 13,04% bệnh nhân có mức Bilirubin toàn phần huyết thanh $> 21 \mu\text{mol/L}$.

3.1.3. Đặc điểm gánh nặng khối u và giai đoạn bệnh

Bảng 3.5. Một số đặc điểm u gan trên chẩn đoán hình ảnh (n = 69)

Đặc điểm u gan		Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Vị trí	Thùy phải	51	73,91
	Thùy trái	15	21,74
	Cả hai thùy	3	4,35
Số lượng	1 khối	58	84,06
	≥ 2 khối	11	15,94
Kích thước u lớn nhất (mm)	< 50	38	55,07
	≥ 50	31	44,93
	Trung vị (tứ phân vị)	46,00 (36,00 - 71,00)	
Huyết khối TMC	Có	6	8,70
	Không	63	91,30
Di căn ngoài gan	Có	1	1,45
	Không	68	98,55

Nhận xét:

Phần lớn bệnh nhân UTBMTBG trong nghiên cứu có một khối u (84,06%), vị trí khối u thuộc thùy gan phải (73,91%). Kích thước trung vị của khối u lớn nhất là 46,00 mm; trong đó kích thước khối u lớn nhất < 50 mm chiếm 55,07%.

Trong tổng số 69 bệnh nhân, chỉ có 6/69 bệnh nhân (8,70 %) có tình trạng u xâm lấn tạo huyết khối TMC và 1/69 bệnh nhân (1,45%) di căn ngoài gan.

Bảng 3.6. Đặc điểm mô bệnh học khối u gan (n = 69)

Mô bệnh học		Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Phân độ mô học theo WHO	Biệt hóa cao - vừa	62	89,86
	Biệt hóa kém	7	10,14
Phân độ mô học theo ES	I-II	30	43,48
	III-IV	39	56,52
Cấu trúc mô học	Thể bè	33	47,83
	Thể đặc	20	28,99
	Thể giả tuyến	3	4,35
	Thể hỗn hợp	13	18,84
Biến thể mô học	Biến thể thông thường	41	59,42
	Biến thể tế bào sáng	14	20,29
	Biến thể gan nhiễm mỡ	4	5,80
	Biến thể xơ cứng	1	1,45
	Biến thể tế bào kỵ màu	1	1,45
	Biến thể hỗn hợp	8	11,59
Hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch	Có	34	49,28
	Không	35	50,72
Xơ gan kèm theo	Có	50	72,46
	Không	19	27,54

Nhận xét:

Theo phân độ mô học của WHO, UTBMTBG biệt hóa cao và vừa chiếm chủ yếu (89,86%). Theo phân độ mô học của ES, độ III-IV chiếm tỷ lệ lớn hơn (56,52%). Về type mô bệnh học, UTBMTBG thể bè chiếm tỷ lệ lớn nhất với 47,83% và 59,42% có biến thể mô học thể thông thường. 49,28% bệnh nhân có tình trạng khối u xâm nhập mạch và phần lớn (72,46%) có xơ gan kèm theo.

Bảng 3.7. Mối liên quan giữa mô bệnh học khối u gan với phân mức nồng độ AFP huyết tương (n = 69)

Mô bệnh học		n	AFP (ng/mL)		p
			≤ 400 (n,%)	> 400 (n,%)	
WHO	Biệt hóa cao - vừa	62	41 (59,42)	21 (30,43)	1,00**
	Biệt hóa kém	7	5 (7,25)	2 (2,90)	
ES	I-II	30	21 (30,43)	9 (13,04)	0,61*
	III-IV	39	25 (36,23)	14 (20,29)	
Cấu trúc u	Thể bè	33	25 (36,23)	8 (11,59)	0,13*
	Thể khác	36	21 (30,43)	15 (21,74)	
U xâm nhập mạch	Có	34	19 (27,54)	15 (21,74)	0,06*
	Không	35	27 (39,13)	8 (11,59)	
Xơ gan kèm theo	Có	50	33 (47,83)	17 (24,64)	0,85*
	Không	19	13 (18,84)	6 (8,70)	

* Kiểm định Chi-square; ** Kiểm định Fisher's exact

Nhận xét:

Theo bảng trên cho thấy, các chỉ số đặc điểm mô học khác không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm bệnh nhân có mức nồng độ AFP huyết tương > 400 ng/mL và ≤ 400 ng/mL ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Đặc điểm nồng độ AFP huyết tương (n = 69)

Nồng độ AFP huyết tương (ng/mL)		Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Phân mức	< 20	24	34,79
	20 - 400	22	31,88
	> 400	23	33,33
Trung vị (tứ phân vị)		61,50 (8,60 - 966,77)	

Nhận xét:

Phân bố bệnh nhân theo mức nồng độ AFP huyết tương là đồng đều; trong đó, 33,33% bệnh nhân có nồng độ AFP huyết tương > 400 ng/mL; 34,79% bệnh nhân có chỉ số AFP huyết tương bình thường (< 20ng/mL). Trung vị nồng độ AFP huyết tương là 61,50 ng/mL.

Bảng 3.9. Đánh giá chức năng gan và giai đoạn bệnh theo BCLC (n = 69)

Giai đoạn		Số bệnh nhân (n = 69)	Tỷ lệ (%)
Chức năng gan theo Child-Pugh	A	69	100,00
	B/C	0	0,0
Giai đoạn bệnh theo BCLC	0	2	2,90
	A	56	81,16
	B	4	5,80
	C	7	10,14

Nhận xét:

Theo phân loại bệnh theo BCLC, bệnh nhân ở giai đoạn 0 và A (giai đoạn rất sớm và sớm) chiếm chủ yếu với 58/69 bệnh nhân (chiếm 84,06%), còn lại các giai đoạn sau (B, C) là 15,94%.

Phân loại chức năng gan theo thang điểm Child - Pugh cho thấy, toàn bộ 69/69 bệnh nhân đều có thang điểm Child - Pugh A (5-6 điểm).

3.2. Biểu hiện các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF-κB p65*, *NF-κB p50* trong mô gan ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng giá trị ΔC_t như một biến số đại diện cho mức biểu hiện tương đối của gen đích (đã hiệu chỉnh so với gen tham chiếu) trên từng loại mẫu mô ung thư và mô cận u để thuận lợi trong việc tính toán và phiên giải kết quả nghiên cứu.

Bảng 3.10. Biểu hiện các gen *SUMO* và *NF-κB* trong mô u (n = 69)

Các gen nghiên cứu	Median	Q1 – Q3
<i>SUMO1</i>	1,11	(-0,33) – 4,87
<i>SUMO2</i>	4,88	0,38 – 6,24
<i>SUMO3</i>	0,26	(-1,94) – 4,32
<i>NF-κB p65</i>	1,43	(-5,18) – 4,73
<i>NF-κB p50</i>	(-4,87)	(-9,41) – (-0,93)

Nhận xét:

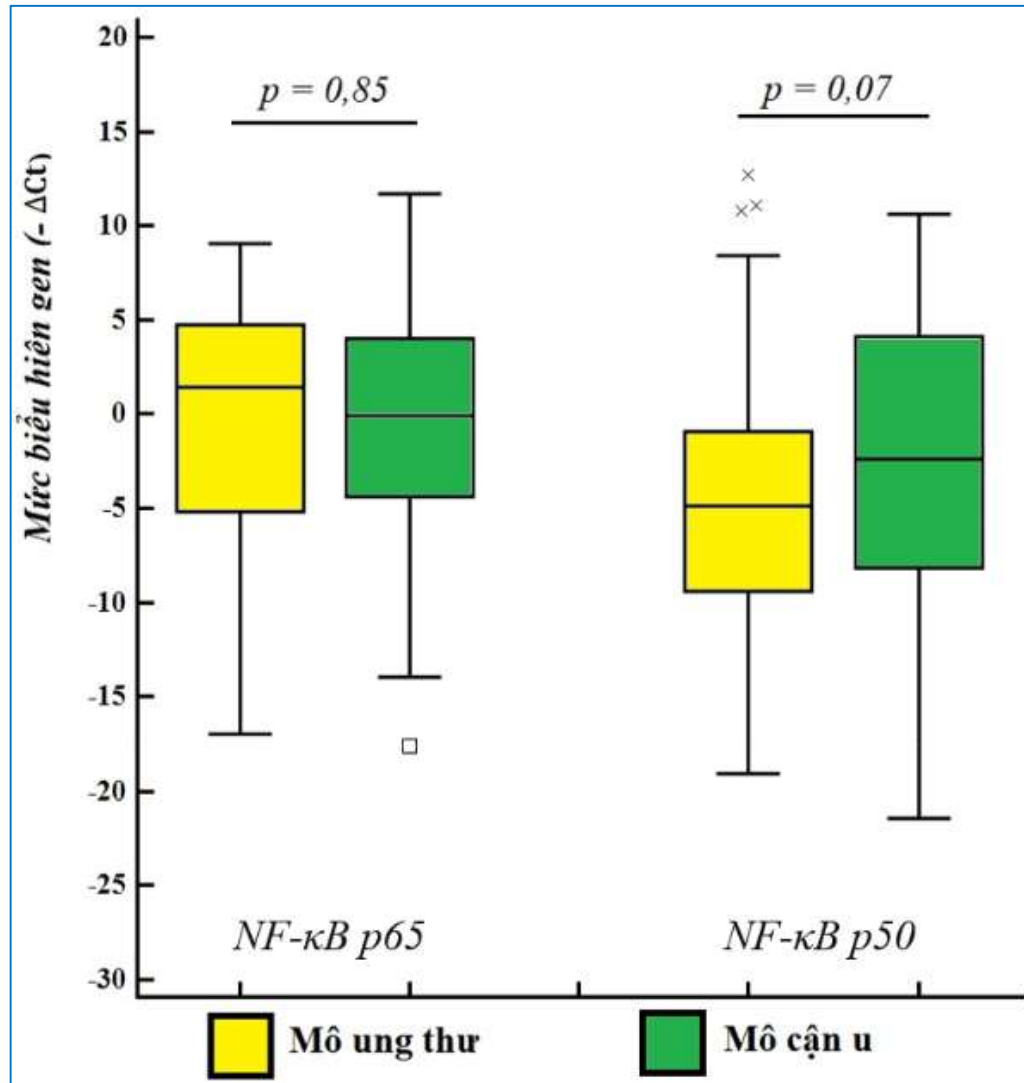
Mức độ biểu hiện của gen *SUMO2* trong mẫu mô ung thư cao nhất trong số các gen (trung vị: 4,88), trong khi mức độ biểu hiện thấp nhất là gen *NF-κB p50* (trung vị: (-4,87)).

Bảng 3.11. Biểu hiện các gen *SUMO* và *NF-κB* trong mô cận u (n = 69)

Các gen nghiên cứu	Median	Q1 – Q3
<i>SUMO1</i>	0,38	(-4,10) – 6,24
<i>SUMO2</i>	0,22	(-1,58) – 5,94
<i>SUMO3</i>	0,81	(-1,48) – 6,05
<i>NF-κB p65</i>	(-0,08)	(-4,38) – 4,02
<i>NF-κB p50</i>	(-2,38)	(-8,17) – 4,11

Nhận xét:

Mức độ biểu hiện của gen *NF-κB p50* thấp nhất trong số các gen (trung vị: (-2,38)), trong khi biểu hiện các gen còn lại khá tương đồng.



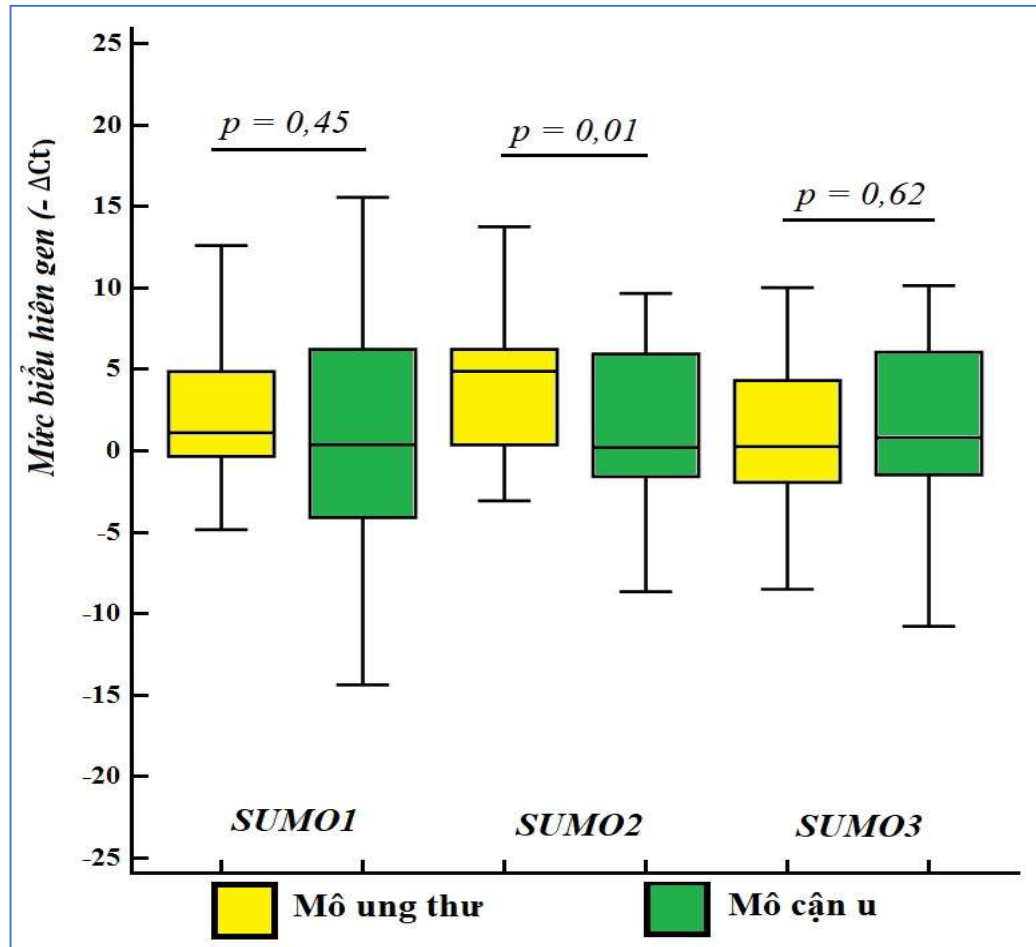
* Kiểm định Wilcoxon

Hình 3.1. So sánh mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* và *NF-κB p50* giữa mô ung thư và mô cận u (n = 69)

Nhận xét:

Biểu hiện của gen *NF-κB p65* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mẫu mô ung thư so với mẫu mô lân cận u (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: 1,43 ((-5,18) – 4,73) so với (-0,08) ((-4,38) – 4,02); $p = 0,85$).

Tương tự, biểu hiện của gen *NF-κB p50* cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mẫu mô ung thư so với mẫu mô lân cận u (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: (-4,87) ((-9,41) – (-0,93)) so với (-2,38) ((-8,17) – 4,11); $p = 0,07$).



*Kiểm định Wilcoxon

Hình 3.2. So sánh mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* giữa mô ung thư và mô cận u (n = 69)

Nhận xét:

Biểu hiện của gen *SUMO1* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mẫu mô ung thư so với mẫu mô lân cận u (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: 1,11 ((-0,33) – 4,87) so với 0,38 ((- 4,10) – 6,23); $p = 0,45$).

Biểu hiện của gen *SUMO2* có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mẫu mô ung thư so với mẫu mô lân cận u (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: 4,88 (0,38 – 6,24) so với 0,22 ((-1,58) – 5,94); $p = 0,01$).

Biểu hiện của gen *SUMO3* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mẫu mô ung thư so với mẫu mô lân cận u (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: 0,26 ((-1,94) – 4,32) so với 0,81 ((-1,48) – 6,05); $p = 0,62$).

Bảng 3.12. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô ung thư (n = 69)

Các gen	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>		<i>NF-κB p65</i>	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
<i>SUMO1</i>								
<i>SUMO2</i>	0,62	<0,00001						
<i>SUMO3</i>	0,47	0,00005	0,37	0,002				
<i>NF-κB p65</i>	0,10	0,40	0,19	0,11	0,05	0,70		
<i>NF-κB p50</i>	0,38	0,001	0,11	0,35	0,40	0,0006	0,21	0,08

* Kiểm định tương quan Spearman

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối các gen *SUMO* (*SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*) đều có mối tương quan thuận, mức độ yếu đến trung bình (hệ số tương quan r từ 0,37 đến 0,62; $p = 0,002$ và $p < 0,00001$); trong khi không ghi nhận mối tương quan giữa 2 gen thuộc họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) ($p = 0,08$).

Mối liên quan giữa các gen *SUMO* với các gen của họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) trong mẫu mô ung thư: Chỉ ghi nhận mối tương quan thuận, mức độ yếu đến trung bình giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* với *SUMO1* và *SUMO3* (hệ số tương quan lần lượt 0,38 và 0,40; theo thứ tự, $p = 0,001$ và $0,0006$), trái lại không nhận thấy mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* với các gen *SUMO*.

Bảng 3.13. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50*, *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô cận u (n = 69)

Các gen	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>		<i>NF-κB p65</i>	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
<i>SUMO1</i>								
<i>SUMO2</i>	0,77	<0,00001						
<i>SUMO3</i>	0,73	<0,00001	0,73	<0,00001				
<i>NF-κB p65</i>	0,42	0,0003	0,33	0,005	0,49	0,00002		
<i>NF-κB p50</i>	0,13	0,28	0,09	0,44	0,26	0,03	0,48	0,00002

* Kiểm định tương quan Spearman

Nhận xét:

Trong mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện tương đối của các gen *SUMO* (*SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*) đều có mối tương quan thuận, mức độ chặt chẽ với nhau (hệ số tương quan r từ 0,73 đến 0,77; $p < 0,00001$); trong khi đó, cũng ghi nhận mối tương quan thuận, trung bình giữa 2 gen thuộc họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) ($p = 0,00002$).

Mối liên quan giữa các gen *SUMO* với các gen của họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) trong mẫu mô cận u: Ghi nhận mối tương quan thuận, mức độ trung bình giữa biểu hiện gen *NF-κB p65* với các gen *SUMO* ($p = 0,0003$; 0,005 và 0,00002). Trong khi đó, biểu hiện gen *NF-κB p50* chỉ ghi nhận mối tương quan thuận với biểu hiện gen *SUMO3* ($p = 0,03$).

Bảng 3.14. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen *SUMO* trong mô ung thư và các gen nghiên cứu trong mô cận u (n = 69)

Mô cận u	Mô ung thư					
	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p
<i>SUMO1</i>	-0,01	0,93	-0,40	0,0006	0,20	0,10
<i>SUMO2</i>	0,04	0,76	-0,22	0,08	0,34	0,005
<i>SUMO3</i>	0,02	0,89	-0,24	0,051	0,36	0,003
<i>NF-κB p65</i>	-0,09	0,45	-0,32	0,007	0,02	0,86
<i>NF-κB p50</i>	0,24	0,04	0,11	0,38	0,02	0,90

* Kiểm định tương quan Spearman

Nhận xét:

Biểu hiện tương đối gen *SUMO1* và *SUMO3* trong mô ung thư có mối tương quan thuận, mức độ yếu với biểu hiện gen *NF-κB p50*; *SUMO2* và *SUMO3* trong mô cận u (hệ số tương quan tương ứng r_s : 0,24; 0,34 và 0,36; $p = 0,04$; 0,34 và 0,36).

Trái lại, biểu hiện tương đối của gen *SUMO2* trong mô ung thư có mối tương quan nghịch, mức độ yếu với biểu hiện tương đối của gen *SUMO1* và *NF-κB p65* trong mô cận u (hệ số tương quan tương ứng r_s : (-0,40) và (-0,32), $p = 0,0006$ và 0,007).

Bảng 3.15. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen *NF-κB* trong mô ung thư và các gen nghiên cứu mô cận u (n = 69)

Mô cận u	Mô ung thư			
	<i>NF-κB p65</i>		<i>NF-κB p50</i>	
	r_s	p	r_s	p
<i>SUMO1</i>	-0,24	0,049	0,26	0,03
<i>SUMO2</i>	-0,34	0,004	0,23	0,058
<i>SUMO3</i>	-0,14	0,26	0,20	0,10
<i>NF-κB p65</i>	0,30	0,01	0,35	0,003
<i>NF-κB p50</i>	0,39	0,0008	0,46	0,00007

* Kiểm định tương quan Spearman

Nhận xét:

Biểu hiện tương đối gen *NF-κB p65* và *NF-κB p50* trong mô ung thư có mối tương quan thuận, mức độ từ yếu đến trung bình với biểu hiện gen *NF-κB p65* và *NF-κB p50* trong mô lân cận u (hệ số tương quan tương ứng r_s : 0,30; 0,39; 0,35 và 0,46; $p = 0,01$; 0,008; 0,003 và 0,00007).

Trái lại, biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* trong mô ung thư có mối tương quan nghịch, mức độ yếu với biểu hiện các gen *SUMO1* và *SUMO2* trong mô cận u (hệ số tương quan tương ứng r_s : (-0,24) và (-0,34); $p = 0,049$ và 0,004).

3.3. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

3.3.1. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng

Bảng 3.16. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng (n = 69)

Đặc điểm lâm sàng		n	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>	
			Trung vị (tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (tứ phân vị)	<i>p</i>
Tuổi	< 60	44	0,54 ((-0,37) – 3,33)	0,14	4,29 ((-017) – 6,11)	0,36	(-0,12) ((-1,95) – 3,31)	0,14
	≥ 60	25	2,83 ((-0,33) – 5,38)		5,00 (1,73 – 6,24)		3,25 ((-1,78) – 6,68)	
Giới	Nam	63	0,79 ((-,50) – 4,80)	0,34	4,88 (0,49 – 6,26)	0,73	(-0,13) ((-1,82) – 4,31)	0,14
	Nữ	6	2,44 (1,04 – 5,02)		2,96 ((-0,46) – 6,22)		3,71 (0,64 – 4,78)	
Mệt mỏi	Có	12	0,24 ((-1,46) – 5,36)	0,53	4,72 (0,21 – 5,78)	0,62	3,31 ((-0,49) – 7,47)	0,08
	Không	57	1,44 ((-0,21) – 4,87)		4,88 (0,38 – 6,30)		(-0,13) ((-2,05) – 4,07)	
Đau HSP	Có	34	1,28 ((-0,60) – 5,15)	0,79	5,42 (2,01 – 7,01)	0,063	0,52 ((-2,46) – 5,37)	0,95
	Không	35	1,04 ((-0,29) – 4,53)		2,44 ((-0,07) – 5,62)		0,14 ((-1,47) – 3,43)	

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Mức độ biểu hiện tương đối của các gen họ *SUMO* (*SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*) trong mô ung thư không có mối liên quan với tuổi, giới cũng như với một số triệu chứng lâm sàng (mệt mỏi, đau HSP) (các $p > 0,05$).

Bảng 3.17. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65* trong mô ung thư với một số đặc điểm lâm sàng (n = 69)

Đặc điểm lâm sàng		n	<i>NF-κB p65</i>		<i>NF-κB p50</i>	
			Trung vị (tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (tứ phân vị)	<i>p</i>
Tuổi	< 60	44	2,53 ((-5,22) – 5,07)	0,21	(-6,72) ((-12,23) – (-2,96))	0,0005
	≥ 60	25	(-1,69) ((-5,18) – 3,38)		(-0,46) ((-5,67) – 6,06)	
Giới	Nam	63	1,36 ((-5,42) – 4,56)	0,06	(-5,39) ((-10,91) – (-1,51))	0,11
	Nữ	6	6,10 ((-1,83) – 7,24)		(-2,55) ((-4,05) – 5,95)	
Mệt mỏi	Có	12	(-2,09) ((-5,23) – 4,69)	0,66	(-5,11) ((-7,07) – 1,59)	0,44
	Không	57	2,05 ((-5,10) – 4,73)		(-4,84) ((-11,31) – (-0,93))	
Đau HSP	Có	34	1,74 ((-6,30) – 4,97)	0,58	(-6,78) ((-11,84) – (-1,69))	0,25
	Không	35	1,36 ((-4,13) – 4,64)		(-4,05) ((-7,04) – (-0,62))	

* Kiểm định Mann-Whitney

Nhận xét:

Biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* trong mô ung thư khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh nhân tuổi ≥ 60 tuổi và < 60 tuổi ($p = 0,0005$).

Ngoài ra, không ghi nhận các mối liên quan khác giữa biểu hiện gen *NF-κB p65*, *NF-κB p50* với tuổi, giới và một số triệu chứng lâm sàng (các $p > 0,05$).

Bảng 3.18. Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các triệu chứng lâm sàng và mức độ biểu hiện các gen họ *SUMO* và *NF-κB* (n = 69)

Gen nghiên cứu	Biến độc lập	Hệ số β	SE	p
<i>SUMO1</i>	Tuổi (< 60 và ≥ 60)	1,46	0,89	0,11
	Giới tính (Nam và Nữ)	-0,59	1,57	0,71
	Mệt mỏi (Có; không)	0,58	1,14	0,61
	Đau HSP (Có; không)	-0,34	0,88	0,70
<i>SUMO2</i>	Tuổi (< 60 và ≥ 60)	0,92	0,93	0,33
	Giới tính (Nam và Nữ)	0,45	1,64	0,79
	Mệt mỏi (Có; không)	0,54	1,20	0,65
	Đau HSP (Có; không)	-1,66	0,92	0,07
<i>SUMO3</i>	Tuổi (< 60 và ≥ 60)	1,99	1,11	0,08
	Giới tính (Nam và Nữ)	-2,45	1,95	0,21
	Mệt mỏi (Có; không)	-2,44	1,42	0,09
	Đau HSP (Có; không)	-0,86	1,09	0,43
<i>NF-κB p65</i>	Tuổi (< 60 và ≥ 60)	-1,63	1,75	0,36
	Giới tính (Nam và Nữ)	-4,58	3,08	0,14
	Mệt mỏi (Có; không)	0,23	2,24	0,92
	Đau HSP (Có; không)	0,69	1,72	0,69
<i>NF-κB p50</i>	Tuổi (< 60 và ≥ 60)	6,97	1,77	0,0002
	Giới tính (Nam và Nữ)	-4,85	3,12	0,13
	Mệt mỏi (Có; không)	-1,86	2,27	0,42
	Đau HSP (Có; không)	0,96	1,74	0,58

Nhận xét:

Phân tích hồi quy đa biến đánh giá ảnh hưởng của các triệu chứng lâm sàng với mức biểu hiện đã hiệu chỉnh của các gen nghiên cứu cho thấy yếu tố tuổi (< 60 và ≥ 60) có ảnh hưởng độc lập đối với biểu hiện gen *NF-κB p50* (hệ số $\beta = 6,97$; $p = 0,0002$).

3.3.2. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô ung thư với một số đặc điểm cận lâm sàng

Bảng 3.19. Mối tương quan giữa biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô ung thư với một số chỉ số máu (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Tiểu cầu (G/L)	0,07	0,55	0,01	0,93	0,13	0,28
Tỷ lệ Prothrombin (%)	0,10	0,42	0,01	0,93	0,20	0,11
AST (U/L)	0,003	0,98	-0,09	0,48	0,12	0,33
ALT (U/L)	-0,01	0,94	-0,08	0,54	0,07	0,57
Bilirubin TP (μmol/L)	-0,08	0,52	-0,18	0,14	-0,02	0,86
Albumin (g/L)	0,04	0,77	0,03	0,78	0,24	0,04
AFP (ng/mL)	-0,09	0,48	-0,10	0,43	0,03	0,78

* Kiểm định tương quan Pearson

Nhận xét:

Biểu hiện tương đối gen *SUMO3* trong mẫu mô ung thư có mối tương quan thuận, mức độ yếu với nồng độ Albumin huyết tương ($p = 0,04$).

Ngoài ra, không ghi nhận mối tương quan nào giữa mức độ biểu hiện các gen *SUMO* trong mô ung thư với các chỉ tiêu xét nghiệm máu trên (các $p > 0,05$).

Bảng 3.20. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* trong mô ung thư với một số chỉ số máu (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	<i>NF-κB p65</i>		<i>NF-κB p50</i>	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Tiểu cầu (G/L)	0,09	0,46	0,03	0,78
Tỷ lệ Prothrombin (%)	0,09	0,48	0,06	0,64
AST (U/L)	-0,02	0,90	0,11	0,39
ALT (U/L)	0,03	0,84	0,11	0,38
Bilirubin TP (μmol/L)	-0,02	0,89	0,06	0,61
Albumin (g/L)	0,07	0,53	-0,01	0,94
AFP (ng/mL)	0,05	0,66	-0,07	0,55

* Kiểm định tương quan Pearson

Nhận xét:

Không ghi nhận có mối tương quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* ở mẫu mô ung thư với một số chỉ số xét nghiệm máu như tiểu cầu, tỷ lệ Prothrombin, hoạt độ enzym gan (AST, ALT), chỉ số đánh giá chức năng gan (Albumin, Bilirubin) và nồng độ AFP huyết tương (các $p > 0,05$).

Bảng 3.21. Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các triệu chứng cận lâm sàng và mức độ biểu hiện các gen họ *SUMO* và *NF-κB*
(n = 69)

Gen nghiên cứu	Biến độc lập	Hệ số β	SE	p
<i>SUMO1</i>	Tiểu cầu (G/L)	0,003	0,007	0,65
	Tỷ lệ Prothrombin (%)	0,03	0,04	0,49
	AST (U/L)	0,01	0,02	0,63
	ALT (U/L)	-0,005	0,02	0,77
	Bilirubin TP (μmol/L)	-0,03	0,08	0,68
	Albumin (g/L)	0,03	0,11	0,77
	AFP (ng/mL)	-0,000	0,001	0,40
<i>SUMO2</i>	Tiểu cầu (G/L)	-0,001	0,008	0,92
	Tỷ lệ Prothrombin (%)	-0,003	0,04	0,93
	AST (U/L)	-0,001	0,02	0,97
	ALT (U/L)	-0,003	0,02	0,87
	Bilirubin TP (μmol/L)	-0,11	0,09	0,22
	Albumin (g/L)	0,01	0,11	0,91
	AFP (ng/mL)	-0,000	0,001	0,48
<i>SUMO3</i>	Tiểu cầu (G/L)	0,06	0,05	0,25
	Tỷ lệ Prothrombin (%)	0,04	0,03	0,19
	AST (U/L)	-0,01	0,02	0,12
	ALT (U/L)	-0,00	0,10	0,64
	Bilirubin TP (μmol/L)	0,30	0,13	0,97
	Albumin (g/L)	-0,00	0,001	0,02
	AFP (ng/mL)	0,06	0,05	0,96
<i>NF-κB p65</i>	Tiểu cầu (G/L)	-0,009	0,01	0,51
	Tỷ lệ Prothrombin (%)	-0,04	0,07	0,58

	AST (U/L)	0,003	0,04	0,95
	ALT (U/L)	-0,01	0,03	0,74
	Bilirubin TP ($\mu\text{mol/L}$)	-0,11	0,15	0,49
	Albumin (g/L)	-0,02	0,20	0,93
	AFP (ng/mL)	-0,001	0,001	0,30
<i>NF-κB p50</i>	Tiểu cầu (G/L)	0,01	0,02	0,70
	Tỷ lệ Prothrombin (%)	0,05	0,09	0,58
	AST (U/L)	0,02	0,05	0,63
	ALT (U/L)	0,01	0,03	0,86
	Bilirubin TP ($\mu\text{mol/L}$)	0,07	0,18	0,71
	Albumin (g/L)	0,01	0,24	0,96
	AFP (ng/mL)	-0,001	0,001	0,49

Nhận xét:

Phân tích hồi quy đa biến đánh giá ảnh hưởng của các triệu chứng cận lâm sàng với mức biểu hiện đã hiệu chỉnh của các gen nghiên cứu cho thấy, các chỉ số xét nghiệm máu không có ảnh hưởng độc lập đối với biểu hiện các gen quan tâm.

Bảng 3.22. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức số lượng tiểu cầu ($n = 69$)

Mức độ biểu hiện gen	Số lượng tiểu cầu máu ngoại vi		<i>p</i>
	< 150 U/L ($n = 13$) Trung vị (tứ phân vị)	≥ 150 U/L ($n = 56$) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	1,04 ((-1,11) – 3,61)	1,12 ((-0,18) – 5,09)	0,28
<i>SUMO2</i>	5,15 (0,19 – 7,05)	4,77 (0,28 – 6,18)	0,98
<i>SUMO3</i>	(-1,62) ((-5,29) – 4,30)	0,71 ((-1,61) – 4,55)	0,14
<i>NF-κB p65</i>	(-3,83) ((-10,99) – 5,90)	1,74 ((-4,60) – 4,60)	0,57
<i>NF-κB p50</i>	(-7,78) ((-15,50) – (-2,18))	(-4,59) ((-7,95) – (-0,77))	0,14

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu trong mô ung thư giữa hai nhóm bệnh nhân có số lượng tiểu cầu máu ngoại vi < 150 G/L và ≥ 150 G/L (các $p > 0,05$).

Bảng 3.23. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức mức hoạt độ AST huyết tương ($n = 69$)

Mức độ biểu hiện gen	Hoạt độ AST huyết tương		<i>p</i>
	< 40 U/L ($n = 29$) Trung vị (tứ phân vị)	≥ 40 U/L ($n = 40$) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	1,12 ((-0,11) – 3,61)	1,08 ((-0,56) – 5,12)	0,93
<i>SUMO2</i>	5,22 (0,04 – 6,37)	4,43 (0,54 – 5,95)	0,53
<i>SUMO3</i>	0,64 ((-1,64) – 3,77)	(-0,21) ((-2,11) – 4,32)	0,82
<i>NF-κB p65</i>	2,22 ((-5,18) – 6,25)	(-0,46) ((-5,22) – 4,54)	0,63
<i>NF-κB p50</i>	(-6,45) ((-10,38) – (-2,20))	(-3,78) ((-8,11) – 1,64)	0,33

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu giữa hai nhóm bệnh nhân có hoạt độ AST huyết tương tăng (> 40 U/L) và bình thường (≤ 40 U/L) (các $p > 0,05$).

Bảng 3.24. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức hoạt độ ALT huyết tương (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	Hoạt độ ALT huyết tương		<i>p</i>
	< 40 U/L (n = 32) Trung vị (tứ phân vị)	≥ 40 U/L (n = 37) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	1,89 ((-0,13) – 5,18)	0,62 ((-0,57) – 4,20)	0,36
<i>SUMO2</i>	5,19 (0,56 – 6,45)	4,42 ((-0,06) – 5,85)	0,41
<i>SUMO3</i>	0,02 ((-152) – 5,07)	1,19 ((-2,29) – 4,30)	0,72
<i>NF-κB p65</i>	(-1,76) ((-5,39) – 4,68)	2,22 ((-4,22) – 4,73)	0,49
<i>NF-κB p50</i>	(-5,09) ((-7,95) – 1,28)	(-4,87) ((-12,04) – (-2,07))	0,38

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh nhân có hoạt độ ALT huyết tương tăng (> 40 U/L) và bình thường (≤ 40 U/L) (các *p* > 0,05).

Bảng 3.25. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức nồng độ Albumin huyết tương (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	Nồng độ Albumin huyết tương		<i>p</i>
	< 35 g/L (n = 8) Trung vị (tứ phân vị)	≥ 35 g/L (n = 61) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	0,24 ((-0,46) – 3,40)	1,12 ((-0,22) – 4,87)	0,56
<i>SUMO2</i>	3,74 (1,49 – 6,55)	4,90 (0,04 – 6,24)	0,76
<i>SUMO3</i>	(-1,19) ((-2,82) – 2,18)	0,64 ((-1,77) – 4,93)	0,16
<i>NF-κB p65</i>	4,41 ((-5,07) – 5,66)	1,36 ((-5,18) – 4,68)	0,52
<i>NF-κB p50</i>	(-2,85) ((-5,61) – 3,45)	(-5,39) ((-10,38) – (1,36))	0,20

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét: Không ghi nhận sự khác biệt về mức độ biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu ở mẫu mô ung thư giữa hai nhóm bệnh nhân có chỉ số Albumin huyết tương < 35 g/L và ≥ 35 g/L (các *p* > 0,05).

Bảng 3.26. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức Bilirubin toàn phần huyết tương (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	Nồng độ Bilirubin toàn phần huyết tương		<i>p</i>
	≤ 21 μmol/L (n = 60) Trung vị (tứ phân vị)	> 21 μmol/L (n = 9) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	1,28 ((-0,18) – 5,09)	0,09 ((-2,26) – 3,72)	0,18
<i>SUMO2</i>	5,15 (0,79 – 6,30)	(-0,12) ((-1,64) – 4,54)	0,02
<i>SUMO3</i>	0,20 ((-1,95) – 4,30)	0,86 ((-1,84) – 4,90)	0,80
<i>NF-κB p65</i>	1,71 ((-5,23) – 4,81)	1,43 ((-6,42) – 4,86)	0,79
<i>NF-κB p50</i>	(-5,13) ((-10,65) – (-1,39))	(-3,16) ((-7,47) – 1,98)	0,51

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Biểu hiện gen *SUMO2* khác biệt có ý nghĩa thống kê về giữa nhóm bệnh nhân có nồng độ Bilirubin huyết tương ≤ 21 μmol/L và > 21 μmol/L (*p* = 0,02).

Các gen còn lại không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh nhân trên (các *p* > 0,05).

Bảng 3.27. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân mức nồng độ AFP huyết tương (n = 69)

Chỉ số xét nghiệm	Nồng độ AFP huyết tương		<i>p</i>
	≤ 20 ng/mL (n = 24) Trung vị (tứ phân vị)	> 20 ng/mL (n = 45) Trung vị (tứ phân vị)	
<i>SUMO1</i>	0,87 ((-0,40) – 5,07)	1,12 ((-0,33) – 4,87)	0,90
<i>SUMO2</i>	2,47 ((-0,30) – 5,91)	5,00 (0,83 – 6,30)	0,37
<i>SUMO3</i>	(-0,60) ((-2,48) – 2,99)	0,64 ((-1,64) – 4,93)	0,30
<i>NF-κB p65</i>	0,73 ((-5,29) – 4,84)	1,43 ((-4,30) – 4,73)	0,69
<i>NF-κB p50</i>	(-3,29) ((-7,58) – (-0,96))	(-5,73) ((-11,74) – (-0,37))	0,52

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét: Không ghi nhận sự khác biệt về mức độ biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu ở mẫu mô ung thư giữa hai nhóm bệnh nhân có chỉ số AFP huyết tương ≤ 20 ng/mL và > 20 ng/mL (các *p* > 0,05).

Bảng 3.28. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô ung thư với một số đặc điểm khối u gan (n = 69)

Đặc điểm u gan		n	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>	
			Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>
Đường kính u lớn nhất	< 50 mm	38	1,28 ((-0,55) – 4,56)	0,67	4,54 ((-0,04) – 5,71)	0,35	0,02 ((-2,22) – 4,31)	0,49
	≥ 50 mm	31	0,79 ((-0,07) – 5,28)		5,22 (0,86 – 6,27)		0,78 ((-1,33) – 4,44)	
Số lượng	1 khối	58	1,12 ((-0,36) – 5,09)	0,74	4,78 ((-0,04) – 6,31)	0,72	0,45 ((-1,96) – 4,29)	0,84
	> 1 khối	11	0,56 ((-0,23) – 3,62)		4,88 (0,91 – 5,24)		(-0,20) ((-1,28) – 5,22)	
Huyết khối TMC	Có	6	0,30 ((-2,24) – 5,15)	0,55	6,01 (2,19 – 6,58)	0,33	1,53 ((-1,11) – 3,41)	0,57
	Không	63	1,12 ((-0,29) – 4,80)		4,66 (0,17 – 6,09)		0,26 ((-1,98) – 4,33)	

* Kiểm định Mann – Whitney

Nhận xét:

Không có mối liên quan được ghi nhận giữa mức biểu hiện tương đối của gen *SUMO* (*SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*) ở mô ung thư với các chỉ số về đặc điểm khối u gan như kích thước, số lượng u, huyết khối tĩnh mạch cửa (các $p > 0,05$).

Bảng 3.29. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* trong mô ung thư với một số đặc điểm khối u gan (n = 69)

Đặc điểm u gan		n	<i>NF-κB p65</i>		<i>NF-κB p50</i>	
			Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>
Kích thước u lớn nhất	< 50 mm	38	0,17 ((-6,30) – 5,08)	0,42	(-5,52) ((-11,18) – (-1,45))	0,48
	≥ 50 mm	31	2,48 ((-2,67) – 4,56)		(-4,84) ((-8,03) – (-0,15))	
Số lượng u	1 khối	58	1,74 ((-5,32) – 5,06)	0,96	(-4,59) ((-9,18) – (-1,08))	0,81
	> 1 khối	11	(-1,12) ((-3,63) – 4,61)		(-5,73) ((-11,49) – 1,52)	
Huyết khối TMC	Có	6	2,20 ((-1,12) – 4,50)	0,41	(-5,54) ((-6,57) – (-3,50))	0,65
	Không	63	1,43 ((-5,42) – 4,89)		(-4,84) ((-9,88) – (-0,15))	

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Không ghi nhận sự khác biệt mức độ biểu hiện gen họ *NF-κB* giữa hai nhóm có sự khác biệt về kích thước khối u, số lượng u và huyết khối TMC (các $p > 0,05$).

Bảng 3.30. Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các đặc điểm khối u gan và mức độ biểu hiện các gen họ *SUMO* và *NF-κB* (n = 69)

Gen nghiên cứu	Biến độc lập	Hệ số β	SE	<i>p</i>
<i>SUMO1</i>	Kích thước u lớn nhất ($< 50\text{ mm}$ và $\geq 50\text{ mm}$)	0,85	0,93	0,37
	Số lượng u (1 khối và > 1 khối)	-0,30	1,24	0,81
	Huyết khối TMC (có và không)	1,32	1,66	0,43
<i>SUMO2</i>	Kích thước u lớn nhất ($< 50\text{ mm}$ và $\geq 50\text{ mm}$)	1,00	0,98	0,31
	Số lượng u (1 khối và > 1 khối)	-0,75	1,31	0,57
	Huyết khối TMC (có và không)	-0,88	1,75	0,62
<i>SUMO3</i>	Kích thước u lớn nhất ($< 50\text{ mm}$ và $\geq 50\text{ mm}$)	0,46	1,21	0,70
	Số lượng u (1 khối và > 1 khối)	-0,43	1,61	0,79
	Huyết khối TMC (có và không)	-0,63	2,15	0,77
<i>NF-κB p65</i>	Kích thước u lớn nhất ($< 50\text{ mm}$ và $\geq 50\text{ mm}$)	-0,83	1,75	0,64
	Số lượng u (1 khối và > 1 khối)	-0,78	2,34	0,74
	Huyết khối TMC (có và không)	0,07	3,13	0,98
<i>NF-κB p50</i>	Kích thước u lớn nhất ($< 50\text{ mm}$ và $\geq 50\text{ mm}$)	2,06	2,07	0,32
	Số lượng u (1 khối và > 1 khối)	0,32	2,76	0,91
	Huyết khối TMC (có và không)	3,32	3,70	0,37

Nhận xét:

Phân tích hồi quy đa biến đánh giá ảnh hưởng của các đặc điểm khối u gan với mức biểu hiện đã hiệu chỉnh của các gen nghiên cứu cho thấy, các đặc điểm khối u gan không có ảnh hưởng độc lập đối với biểu hiện các gen quan tâm.

Bảng 3.31. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* trong mô ung thư với đặc điểm mô bệnh học khối u gan
(n = 69)

Đặc điểm mô bệnh khối u gan		n	<i>SUMO1</i>		<i>SUMO2</i>		<i>SUMO3</i>	
			Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>	Trung vị (Tứ phân vị)	<i>p</i>
Cấu trúc u	Thể bè	33	1,12 ((-0,33) – 4,88)	0,93	4,66 (0,02 – 6,38)	0,83	(-0,57) ((-2,09) – 2,73)	0,06
	Thể khác	36	0,83 ((-0,39) – 4,79)		4,89 (0,61 – 6,04)		2,33 ((-1,78) – 5,97)	
Hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch	Có	34	0,59 ((-0,55) – 5,02)	0,88	4,72 (0,48 – 5,71)	0,87	0,99 ((-1,71) – 5,37)	0,49
	Không	35	1,56 ((-0,28) – 4,71)		4,88 (0,20 – 6,31)		(-0,13) ((-1,95) – 3,39)	
Xơ gan kèm theo	Có	50	1,08 ((-0,55) – 4,81)	0,77	4,78 (0,59 – 6,29)	0,71	0,20 ((-1,93) – 4,34)	0,94
	Không	19	1,12 ((-0,14) – 4,95)		4,88 ((-0,40) – 6,03)		0,64 ((-1,90) – 2,51)	

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Không có mối liên quan được ghi nhận giữa mức biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* ở mô ung thư với các chỉ số về đặc điểm mô bệnh khối u gan như cấu trúc u, hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch và tình trạng xơ gan (các $p > 0,05$).

Bảng 3.32. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* trong mô ung thư với đặc điểm mô bệnh học khối u gan
(n = 69)

Đặc điểm mô bệnh học khối u gan		n	<i>NF-κB p65</i>		<i>NF-κB p50</i>	
			Trung vị (Tứ phân vị)	p	Trung vị (Tứ phân vị)	p
Cấu trúc u	<i>Thể bè</i>	33	2,05 ((-5,35) – 4,63)	0,74	(-4,84) ((-8,25) – (-2,35))	1,00
	<i>Thể khác</i>	36	1,40 ((-4,60) – 5,02)		(-5,11) ((-11,44) – 1,64)	
Hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch	<i>Có</i>	34	2,09 ((-3,90) – 4,5)	0,67	(-4,85) ((-9,18) – (-1,08))	0,61
	<i>Không</i>	35	1,36 ((-5,56) – 4,88)		(-5,39) ((-10,94) – (-0,93))	
Xơ gan kèm theo	<i>Có</i>	50	1,74 ((-4,21) – 5,06)	0,33	(-3,76) ((-8,68) – 1,51)	0,12
	<i>Không</i>	19	(-1,83) ((-6,13) – 3,93)		(-7,23) ((-10,68) – (-3,49))	

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Theo bảng trên cho thấy, không ghi nhận mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* ở mô ung thư với các chỉ số đặc điểm mô bệnh học khối u gan như cấu trúc u, hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch và tình trạng xơ gan (các $p > 0,05$).

Bảng 3.33. Phân tích hồi quy đa biến đánh giá sự ảnh hưởng giữa các đặc điểm mô bệnh học khối u và mức độ biểu hiện các gen họ *SUMO* và *NF-κB* (n = 69)

Gen nghiên cứu	Biến độc lập	Hệ số β	SE	p
<i>SUMO1</i>	Cấu trúc u (<i>thể bè và thể khác</i>)	0,11	0,87	0,90
	Xơ gan kèm theo (<i>có và không</i>)	-0,67	1,20	0,58
	Huyết khối TMC (<i>có và không</i>)	0,80	1,54	0,61
<i>SUMO2</i>	Cấu trúc u (<i>thể bè và thể khác</i>)	0,13	0,13	0,89
	Xơ gan kèm theo (<i>có và không</i>)	0,14	0,14	0,39
	Huyết khối TMC (<i>có và không</i>)	1,26	1,26	0,39
<i>SUMO3</i>	Cấu trúc u (<i>thể bè và thể khác</i>)	2,08	1,09	0,06
	Xơ gan kèm theo (<i>có và không</i>)	-1,02	1,51	0,50
	Huyết khối TMC (<i>có và không</i>)	-0,98	1,94	0,61
<i>NF-κB p65</i>	Cấu trúc u (<i>thể bè và thể khác</i>)	-1,23	1,67	0,46
	Xơ gan kèm theo (<i>có và không</i>)	3,93	2,30	0,09
	Huyết khối TMC (<i>có và không</i>)	-2,11	2,96	0,48
<i>NF-κB p50</i>	Cấu trúc u (<i>thể bè và thể khác</i>)	-0,61	1,88	0,75
	Xơ gan kèm theo (<i>có và không</i>)	5,53	2,59	0,08
	Huyết khối TMC (<i>có và không</i>)	2,94	3,33	0,38

Nhận xét:

Phân tích hồi quy đa biến đánh giá ảnh hưởng của các đặc điểm mô bệnh học khối u với mức biểu hiện đã hiệu chỉnh của các gen nghiên cứu cho thấy, các đặc điểm mô bệnh học không có ảnh hưởng độc lập đối với biểu hiện các gen quan tâm.

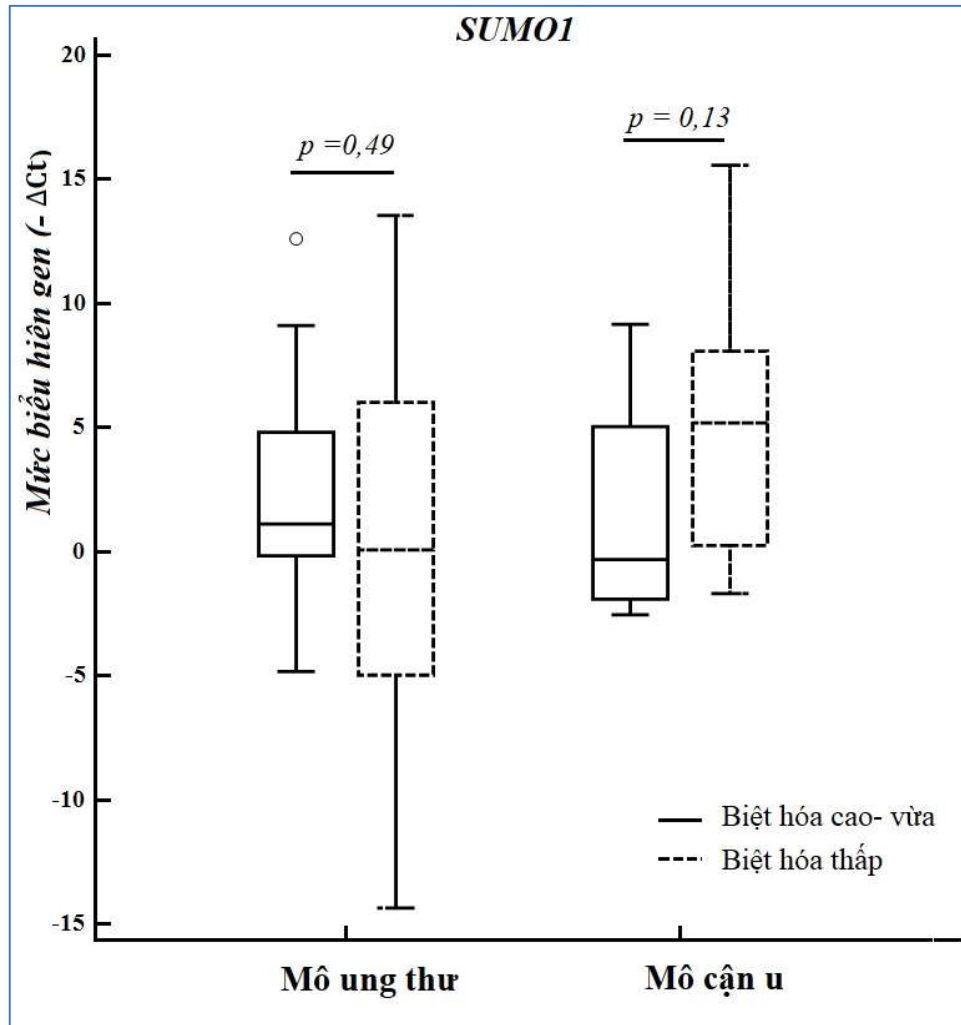
Bảng 3.34. Mối liên quan giữa biểu hiện tương đối của các gen nghiên cứu trong mô ung thư với phân độ mô học theo Edmondson - Steiner (ES) (n = 69)

Mức độ biểu hiện gen	Phân độ ES		p
	I-II (n = 30) <i>Trung vị (Tứ phân vị)</i>	III-IV (n = 39) <i>Trung vị (Tứ phân vị)</i>	
<i>SUMO1</i>	1,50 ((-0,18) – 5,09)	0,79 ((-0,49) – 4,72)	0,82
<i>SUMO2</i>	3,58 ((-0,39) – 6,22)	5,00 (0,74 – 6,20)	0,57
<i>SUMO3</i>	(-0,16) ((-1,96) – 6,00)	0,86 ((-1,71) – 4,31)	0,91
<i>NF-κB p65</i>	(-1,48) ((-5,45) – 4,50)	2,22 ((-3,95) – 5,53)	0,30
<i>NF-κB p50</i>	(-2,85) ((-7,23) – 2,62)	(-6,35) ((-10,91) – (-2,50))	0,12

* Kiểm định Mann - Whitney

Nhận xét:

Không có mối liên quan được ghi nhận giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF-κB p50* và *NF-κB p65* ở mô ung thư với đặc điểm phân độ mô học theo Edmondson - Steiner (ES) (các $p > 0,05$).



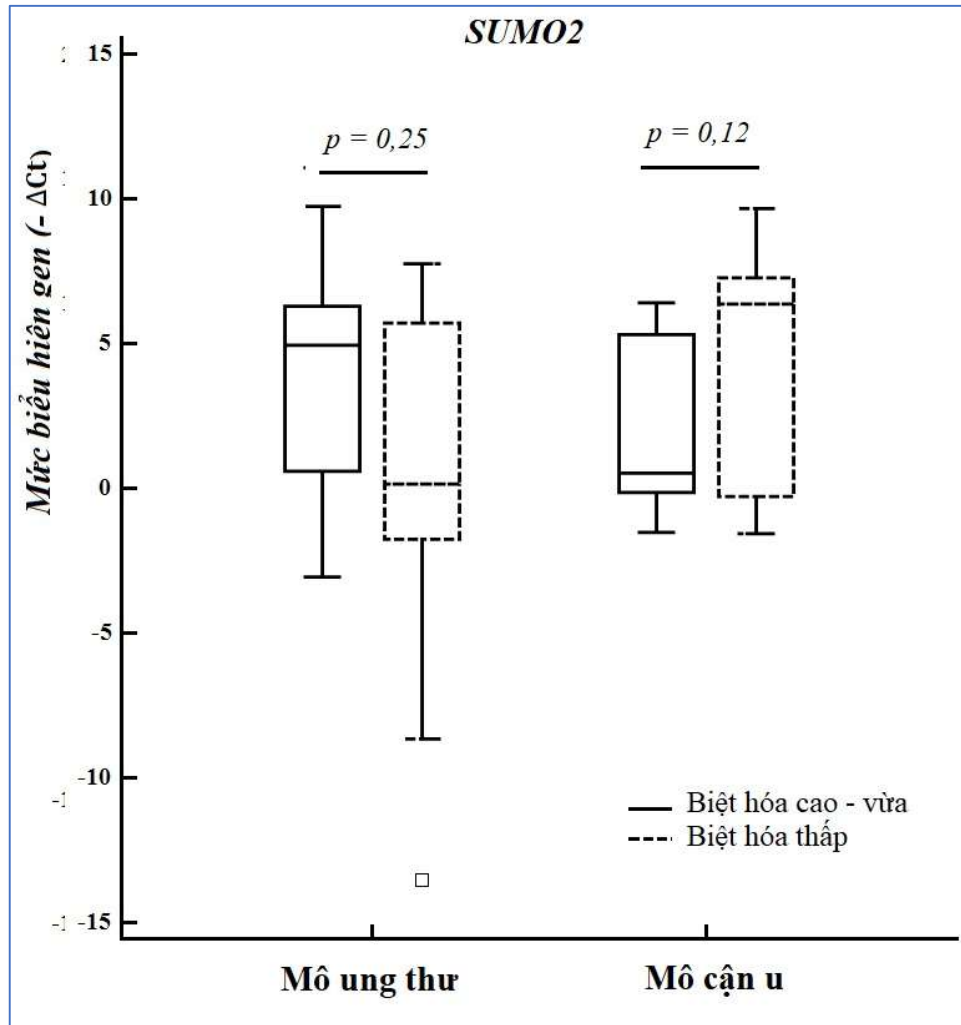
* Kiểm định Mann - Whitney

Hình 3.3. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1* với phân độ mô học theo WHO (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1* không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa cao - vừa so với nhóm UTBMTBG biệt hóa kém theo phân độ của WHO (Trung vị (tứ phân vị): 1,12 ((-0,17) – 4,82) so với (-0,32) ((-1,91) – 5,03) theo thứ tự; $p = 0,49$).

Với mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện của gen *SUMO1* ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa cao - vừa thấp hơn so với UTBMTBG biệt hóa kém theo phân độ theo WHO nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Trung vị (tứ phân vị): 0,08 ((-4,98) – 6,02) so với 5,20 (0,25 – 8,08) theo thứ tự; $p = 0,13$).



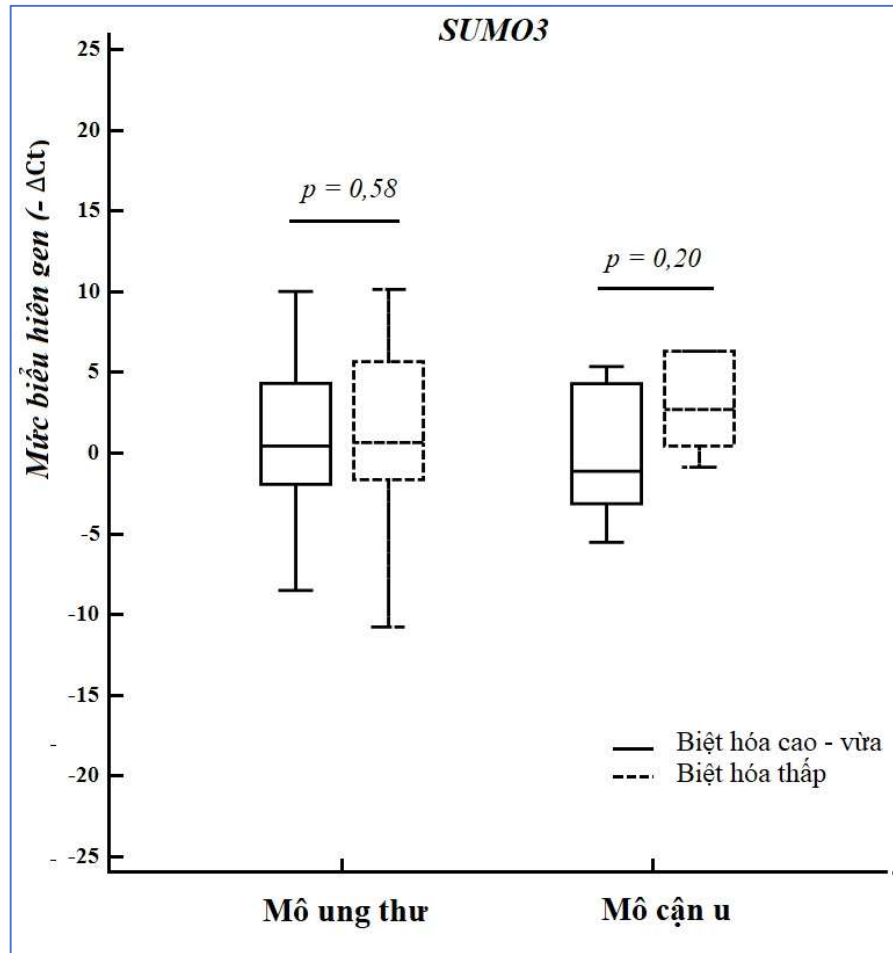
* Kiểm định Mann - Whitney

Hình 3.4. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO2* với phân độ mô học theo WHO (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO2* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm UTBMTBG biệt hóa cao - vừa và UTBMTBG biệt hóa kém theo phân độ của WHO (Trung vị (tứ phân vị): 4,95 (0,59 – 6,29) so với 0,53 ((-0,14) – 5,32) theo thứ tự; $p = 0,25$).

Tương tự, với mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO2* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm UTBMTBG giai đoạn biệt hóa cao - vừa và UTBMTBG giai đoạn biệt hóa kém theo phân độ của WHO (Trung vị (tứ phân vị): 0,15 ((-1,76) – 5,71) so với 6,37 ((-0,28) – 7,27) theo thứ tự; $p = 0,12$).



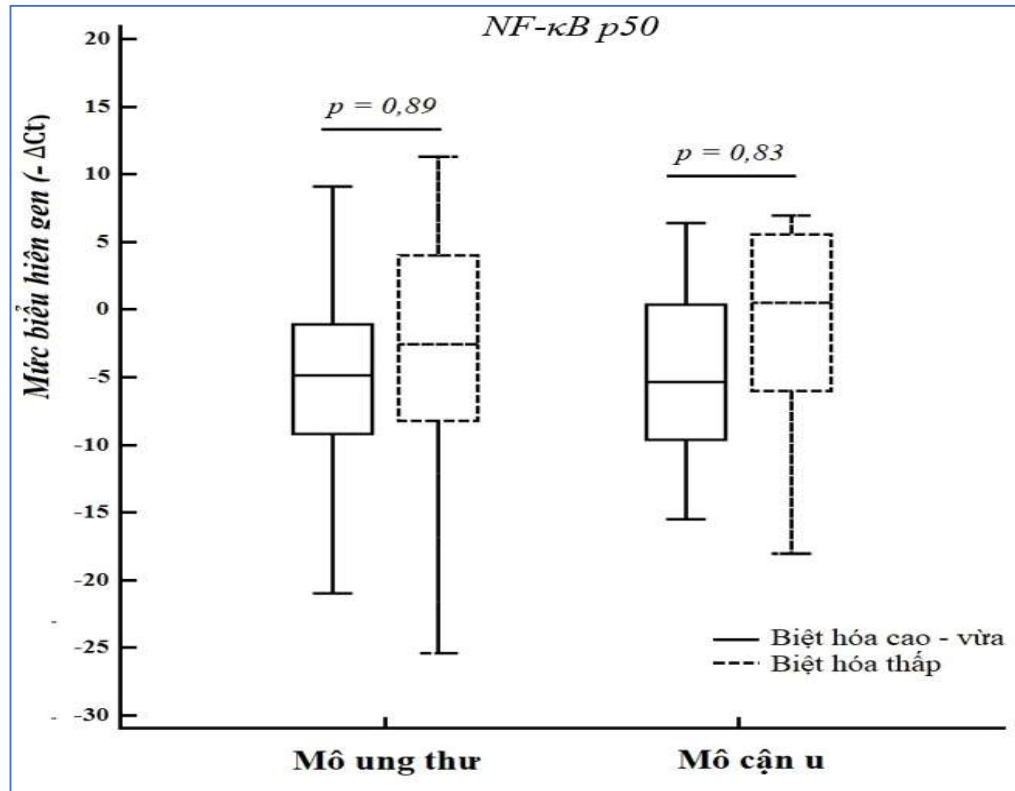
* Kiểm định Mann - Whitney

Hình 3.5. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO3* với phân độ mô học theo WHO (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO3* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm UTBMTBG giai đoạn biệt hóa cao - vừa và UTBMTBG giai đoạn biệt hóa kém theo phân độ của WHO (Trung vị (tứ phân vị): 0,45 ((-1,93) – 4,34) so với (-1,11) ((-3,12) – 4,31) theo thứ tự; $p = 0,58$).

Trái lại trong mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO3* thấp hơn rõ rệt ở nhóm UTBMTBG có độ biệt hóa cao - vừa so với bệnh nhân UTBMTBG có độ biệt hóa kém theo phân độ của WHO (Trung vị (tứ phân vị): 0,66 ((-1,63) – 5,68) so với 2,71 (0,44 – 6,32) theo thứ tự; $p = 0,20$).



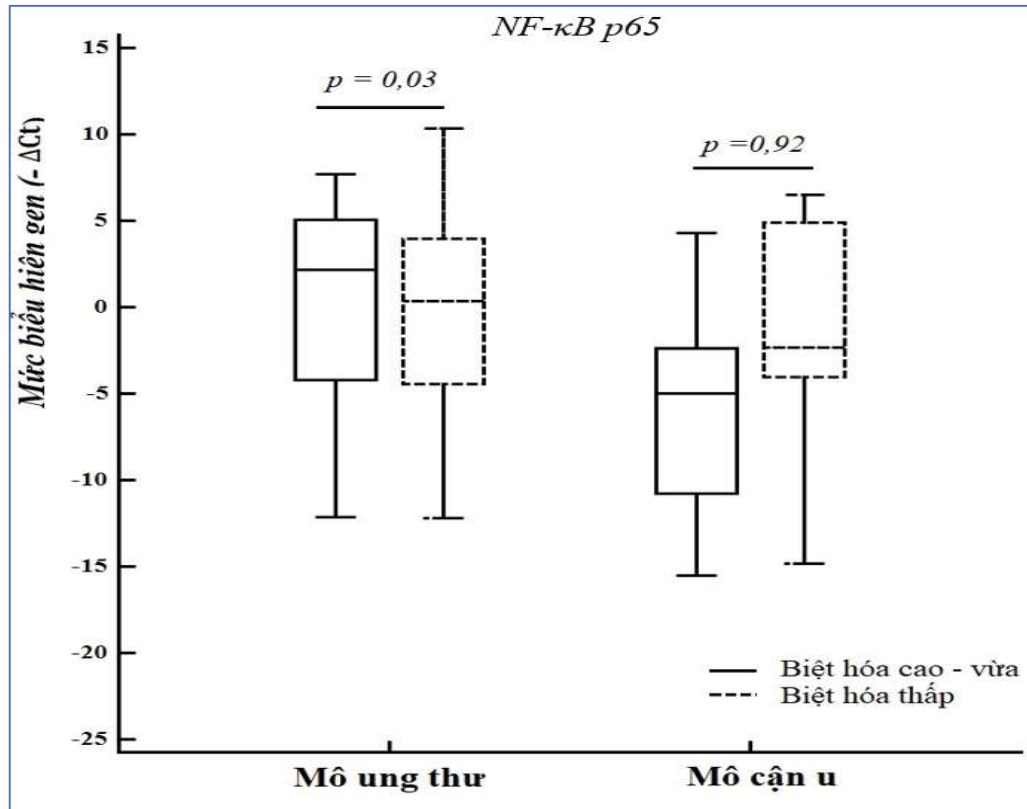
* Kiểm định Mann - Whitney

Hình 3.6. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* với phân độ mô học theo WHO (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa cao - vừa so với UTBMTBG biệt hóa kém, phân độ theo WHO (Trung vị (tứ phân vị): (-4,86) ((-9,18) – (-1,08)) theo thứ tự; $p = 0,89$).

Tương tự trong mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa cao - vừa so với UTBMTBG giai đoạn biệt hóa kém, phân độ theo WHO (Trung vị (tứ phân vị): (-2,57) ((-8,21) – 4,02) so với 0,52 ((-6,01) – 5,55) theo thứ tự; $p = 0,83$).



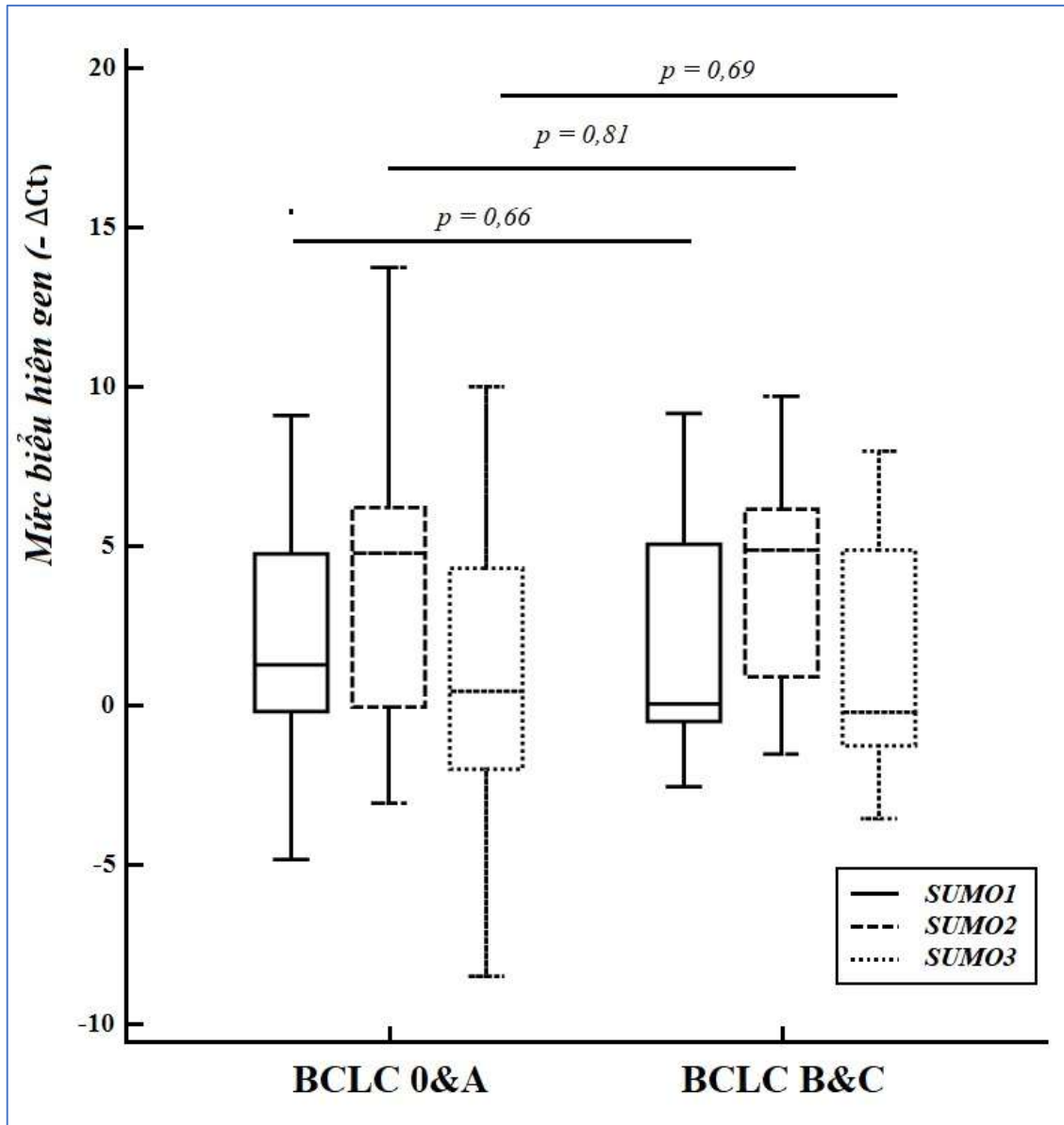
* Kiểm định Mann - Whitney

Hình 3.7. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* với phân độ mô học theo WHO (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG giai đoạn biệt hóa cao - vừa so với UTBMTBG biệt hóa kém, phân độ theo WHO (Trung vị (tứ phân vị): 2,18 ((-4,21) – 5,06) so với (-4,98) (-10,77) – (-2,38)) theo thứ tự; $p = 0,03$).

Tương tự trong mẫu mô cận u, mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm UTBMTBG giai đoạn biệt hóa cao - vừa so với UTBMTBG biệt hóa kém, phân độ theo WHO (Trung vị (tứ phân vị): 0,36 ((-4,44) – 3,97) so với (-2,33) ((-4,03) – 4,89) theo thứ tự; $p = 0,92$).

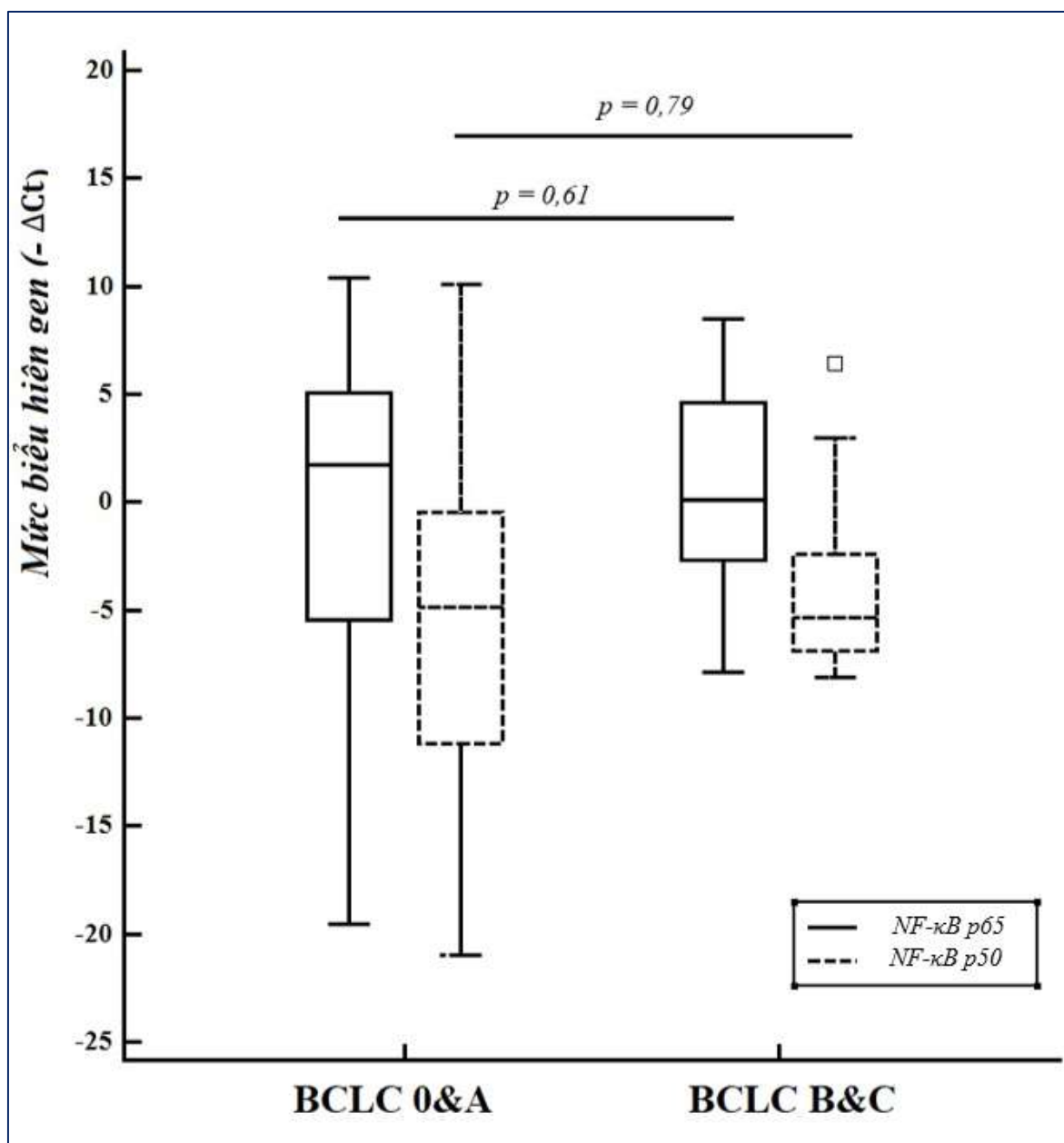


*Kiểm định Mann-Whitney

Hình 3.8. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối các gen họ *SUMO* trong mô ung thư với giai đoạn bệnh theo BCLC (n = 69)

Nhận xét:

Trong mẫu ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG giai đoạn bệnh 0 & A với UTBMTBG giai đoạn bệnh B & C theo BCLC (các $p > 0,05$).



*Kiểm định Mann-Whitney

Hình 3.9. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện tương đối của các gen họ *NF-κB* trong mô ung thư với giai đoạn bệnh theo BCLC (n = 69)

Nhận xét:

Trong mô ung thư, mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p50* và *NF-κB p65* không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân UTBMTBG giai đoạn bệnh 0 & A với UTBMTBG giai đoạn bệnh B & C theo BCLC (các $p > 0,05$).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

4.1.1. Đặc điểm tuổi, giới của nhóm nghiên cứu

4.1.1.1. Đặc điểm tuổi

UTBMTBG có thể xảy ra ở mọi lứa tuổi, nhưng tỷ lệ càng tăng dần khi độ tuổi càng cao. Ở nghiên cứu của chúng tôi tiến hành trên 69 bệnh nhân UTBMTBG có độ tuổi trung bình là $57,35 \pm 8,92$ tuổi. Nhóm tuổi có tỷ lệ bệnh nhân cao nhất là 50 - 59 tuổi (chiếm 43,48%). Tuổi trung bình bệnh nhân UTBMTBG trong nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu ở trong nước là tương đương nhau.

Ở Việt Nam, có một số nghiên cứu đề cập đến tuổi bệnh nhân UTBMTBG do HBV có chỉ định phẫu thuật cắt gan như Hồ Tấn Phát (2022) nghiên cứu tại Bệnh viện Chợ Rẫy, tuổi trung bình của nhóm UTBMTBG là $51,4 \pm 11,4$ tuổi, tuổi của nhóm nghiên cứu dao động từ 24 - 80 tuổi [125], theo nghiên cứu của Nguyễn Việt Phương (2023) tại Bệnh viện K, tuổi của bệnh nhân UTBMTBG có giá trị trung bình là $58,37 \pm 11,27$ tuổi, chủ yếu gặp ở lứa tuổi 50 - 69 chiếm 70,7% [126]. Một số nghiên cứu ở bệnh nhân UTBMTBG có chỉ định cắt gan cũng cho kết quả tương tự như nghiên cứu của Huỳnh Thanh Long (2023) tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, tuổi trung bình của bệnh nhân UTBMTBG là $55,2 \pm 10,2$ tuổi [127].

Tuy nhiên tuổi mắc UTBMTBG ở các nước trên thế giới có sự khác biệt tương đối lớn. Tuổi mắc UTBMTBG thay đổi theo từng khu vực, ở các nước có nguy cơ cao, UTBMTBG có thể xuất hiện trước 20 tuổi, trong khi ở các nước có nguy cơ thấp thì UTBMTBG hiếm khi xuất hiện trước 50 tuổi [128]. Ở các nước phương Tây, theo nghiên cứu tại Vương Quốc Anh tuổi trung bình mắc UTBMTBG là 69 tuổi [129]. Sự khác biệt về tuổi mắc bệnh có liên quan

đến tỷ lệ các yếu tố nguy cơ. Tại Nhật Bản với yếu tố nguy cơ chủ yếu của UTBMTBG là HCV, độ tuổi UTBMTBG trong khoảng 70 - 79 tuổi [130], trong khi ở Hàn Quốc, nước có tỷ lệ mắc UTBMTBG với yếu tố nguy cơ chủ yếu là HBV thì độ tuổi trung bình mắc bệnh là 55 tuổi [131]. Theo nghiên cứu tại Đài Loan, tuổi mắc UTBMTBG trung bình ở nhóm bệnh nhân nhiễm HBV là $53,2 \pm 13,6$ tuổi trong khi ở nhóm bị nhiễm HCV là $65,1 \pm 9,1$ tuổi [132].

Các nghiên cứu đã chỉ ra HCV thường bị nhiễm ở độ tuổi trưởng thành trong khi hầu hết những người mang HBV bị nhiễm từ khi còn bé chính vì vậy mà độ tuổi bệnh nhân UTBMTBG có nhiễm HBV thường nhỏ hơn so với bệnh nhân nhiễm HCV. Độ tuổi xuất hiện ung thư gan theo một số nghiên cứu khác trên thế giới cũng tập trung ở lứa tuổi trung niên, như trong nghiên cứu của tác giả Kim J. H. (2011) độ tuổi trung bình là $57,9 \pm 10,5$ tuổi [133]; trong nghiên cứu của tác giả Takaki H. (2011) độ tuổi trung bình là $66,0 \pm 10,5$ tuổi [134]. Như vậy có sự tương đồng về độ tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi với các tác giả trên.

4.1.1.2. Đặc điểm giới

Nghiên cứu của chúng tôi trên 69 bệnh nhân UTBMTBG, nam giới chiếm chủ yếu với 91,30 %, trong khi nữ giới chỉ chiếm 8,70%. Tỷ lệ nam/nữ: 10,5/1. Tại Việt Nam chưa có thống kê một cách toàn diện, tuy nhiên báo cáo từ nhiều nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ UTBMTBG ở nam đều cao hơn nữ nhiều lần. Trên đối tượng cắt gan do UTBMTBG có nhiễm HBV, tỷ lệ nam/ nữ là 3,1/1 theo công bố của tác giả Nguyễn Việt Phương năm 2023 [126], nghiên cứu của Hồ Tấn Phát (2022) trên 107 bệnh nhân UTBMTBG, nam giới chiếm 87,9%, nữ giới chiếm 12,1% [125]. Tỷ lệ nam giới trong nghiên cứu của Nguyễn Đình Song Huy (2022) chiếm 84,1%, trong khi nữ giới chỉ chiếm 15,9% [135].

Chênh lệch về tỷ lệ mắc UTBMTBG ở nam và nữ vẫn chưa thực sự được hiểu rõ. Có thể do tỷ lệ các yếu tố nguy cơ UTBMTBG ở nam cao hơn nữ [131].

Điều này được giải thích là do một số yếu tố nguy cơ gây xơ gan như nghiện rượu và viêm gan B gặp chủ yếu ở nam giới, cùng với vai trò testosterone gây ra sự khác biệt này. Giả thuyết về sự liên quan giữa hormon sinh dục với tiến triển của ung thư gan đã được đề cập trong một số nghiên cứu [136]. Các nghiên cứu nhận thấy testosterone làm tăng các con đường dẫn truyền thông qua thụ thể androgen có thể ảnh hưởng đến sự phát sinh UTBMTBG liên quan đến HBV ở nam giới [137]. Qua các nghiên cứu, việc sử dụng rượu bia ở nam nhiều gấp nhiều lần so với nữ giới và mức độ sử dụng là cao hơn so với một số nước trong khu vực. Nhiều tác giả chỉ ra rằng mức độ sử dụng rượu bia là yếu tố nguy cơ dễ dẫn đến gan nhiễm mỡ, viêm gan rượu, xơ gan và ung thư gan. Hơn nữa nam giới có tỷ lệ nhiễm virus viêm gan B, viêm gan C cao hơn, hút thuốc lá nhiều hơn, hay chỉ số BMI ở nam cao hơn nữ, dự trữ sắt ở nam nhiều hơn ở nữ, từ những yếu tố trên sẽ làm tăng nguy cơ bị ung thư gan nên có sự khác biệt giữa nam giới và nữ giới [137], [138], [139].

4.1.2. Đặc điểm triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm máu.

4.1.2.1. Đặc điểm lâm sàng

Các bệnh nhân UTBMTBG khi đã có biểu hiện lâm sàng khiến bệnh nhân phải đi khám bệnh thì triệu chứng thường đa dạng.

Phần lớn UTBMTBG hình thành trên nền bệnh gan mạn tính và có đến 72,46% trên nền gan xơ. Ở bệnh nhân có xơ gan, triệu chứng của người bệnh thường do xơ gan gây ra chứ không phải do khối u, đó là các triệu chứng không đặc hiệu như chán ăn, mệt mỏi, các triệu chứng này xuất hiện với tỷ lệ cao đáng kể trong nghiên cứu của chúng tôi. Mệt mỏi chiếm 17,39%, bệnh nhân có triệu chứng chán ăn, ăn kém chiếm 15,94% số bệnh nhân. Triệu chứng sút cân chiếm tỷ lệ 17,39%, phản ánh phần nào tốc độ phát triển của khối u. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các triệu chứng lâm sàng hay gặp nhất là đau hạ sườn phải chiếm tỷ lệ 49,28%.

Theo kết quả từ một số nghiên cứu lâm sàng trong nước, tỷ lệ xuất hiện

triệu chứng của UTBMTBG có sự dao động đáng kể. Nghiên cứu của Nguyễn Việt Phương (2020) cho thấy triệu chứng phổ biến nhất ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG có nhiễm HBV được phẫu thuật cắt gan là đau hạ sườn phải (65,9%), tiếp theo là mệt mỏi (22,0%), chán ăn (17,1%) và sụt cân (12,2%) [126]. Trong một nghiên cứu khác của Huỳnh Thanh Long (2023) trên 48 bệnh nhân phẫu thuật cắt gan tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, TP Hồ Chí Minh, các triệu chứng thường gặp bao gồm đau bụng (79,2%), chán ăn (70,8%), sụt cân (50%), vàng da (6,3%), cổ trướng (2,1%) và tình cờ phát hiện bệnh trong 20,8% trường hợp [127]. Có thể thấy rằng biểu hiện lâm sàng của UTBMTBG trong các nghiên cứu trên có sự biến thiên và không mang tính đặc hiệu. Điều này phản ánh một thực tế rằng việc chẩn đoán sớm UTBMTBG dựa trên triệu chứng lâm sàng là một thách thức, đặc biệt khi bệnh còn ở giai đoạn sớm.

4.1.2.2. Đặc điểm xét nghiệm máu

Giá trị trung vị của các chỉ số xét nghiệm huyết học, đông máu của hai nhóm UTBMTBG và BGMT được thể hiện trong *Bảng 3.3*. Bệnh nhân giảm tiểu cầu $< 150\text{G/L}$ chiếm tỷ lệ 18,84% và có 2,90% số bệnh nhân giảm tỷ lệ Prothrombin $< 70\%$.

Ở bệnh nhân UTBMTBG, số lượng tiểu cầu có thể dao động, tăng hoặc giảm tùy theo tình trạng bệnh lý nền và đặc điểm khối u. Giảm tiểu cầu thường gặp ở bệnh nhân có khối u nhỏ trên nền gan xơ hóa nặng, đi kèm với giảm albumin máu. Cơ chế chính dẫn đến hiện tượng này chủ yếu là do suy giảm tổng hợp thrombopoietin (TPO), một yếu tố kích thích tăng sinh tiểu cầu, cùng với sự hình thành các tự kháng thể. Ngược lại, ở những bệnh nhân có chức năng gan còn bảo tồn tốt (Child - Pugh A) và có khối u lớn, số lượng tiểu cầu lại có xu hướng tăng [140].

Tiểu cầu được xác định là một yếu tố quan trọng thúc đẩy sự tăng sinh và xâm lấn của UTBMTBG thông qua các tín hiệu VEGF, HGF, IGF-1 và cơ chế đáp ứng miễn dịch của gan [140]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra

rằng sự mất cân bằng giữa khối u và quá trình đông máu có thể góp phần làm tăng sinh, xâm lấn và di căn của UTBMTBG. Đặc biệt, giảm prothrombin đã được xác định là một yếu tố nguy cơ độc lập của UTBMTBG, mặc dù cơ chế vẫn chưa được hiểu rõ. Giả thuyết được đặt ra cho rằng sự suy giảm tổng hợp các yếu tố đông máu tại gan (bao gồm yếu tố XIII, X, V...) có thể đóng vai trò quan trọng. Hơn nữa, tình trạng tăng hoạt hóa hệ thống đông máu trong ung thư có thể dẫn đến sự tiêu thụ quá mức các yếu tố đông máu, đồng thời các mảnh fibrin được tạo ra bởi khối u có khả năng kích thích sản xuất các chất ức chế đông máu, từ đó làm giảm khả năng hình thành cục máu đông.

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận ở nhóm UTBMTBG: nồng độ Albumin là $40,62 \pm 4,39$ g/L; Bilirubin toàn phần là $12,40$ ($9,48 - 15,03$) $\mu\text{mol/L}$, hoạt độ enzym gan AST là $42,80$ ($33,99 - 62,83$) U/L và ALT là $43,00$ ($29,55 - 63,03$) U/L (Bảng 3.4).

Kết quả này cũng tương đương với nghiên cứu khác trong nước trên đối tượng được phẫu thuật cắt gan như của Huỳnh Thanh Long (2023), hoạt độ enzym gan AST là $45,6 \pm 15,2$ U/L, ALT $58,8 \pm 21,6$ U/L, Bilirubin toàn phần là $30,0 \pm 7,3$ $\mu\text{mol/L}$ và Albumin là $37,4 \pm 3,1$ g/dL [127].

Theo nghiên cứu của Caviglia G. và cộng sự (2016) nồng độ trung bình AST của nhóm bệnh nhân UTBMTBG là 64 ($17 - 327$) U/L, nồng độ trung bình ALT: 48 ($12 - 382$) U/L [141]. Mặc dù enzym gan (AST, ALT) không có ý nghĩa trong chẩn đoán UTBMTBG nhưng phân tích, đánh giá enzym gan có ý nghĩa trong theo dõi, tiên lượng bệnh nhân UTBMTBG. Như đã biết ALT chỉ có trong bào tương, còn AST có cả trong bào tương lẫn trong ty thể, khi nồng độ AST tăng cao hơn nồng độ ALT có ý nghĩa biểu hiện tình trạng tổn thương nhu mô gan trầm trọng hay mạn tính.

4.1.3. Đặc điểm gánh nặng khối u và giai đoạn bệnh

4.1.3.1. Đặc điểm khối u gan

Trong số 69 bệnh nhân UTBMTBG, chúng tôi nhận thấy đa số bệnh nhân có khối u ở thùy phải (73,91%), u ở cả hai thùy có 3 trường hợp chiếm 4,35%. Số bệnh nhân có một khối u chiếm 84,06%, khối u có kích thước < 50 mm chiếm tỉ lệ 55,07%.

Kết quả này có sự khác biệt so với một số kết quả nghiên cứu trong nước khác. Ở nhóm đối tượng UTBMTBG do HBV được phẫu thuật, theo Nguyễn Việt Phương (2023), tại bệnh viện K khảo sát trên 41 bệnh nhân thì số bệnh nhân có một khối u có 30 trường hợp, chiếm tỷ lệ cao nhất (73,2%), khối u nằm ở bên phải chiếm ưu thế (68,3%), u có kích thước $\geq 5\text{cm}$ chiếm tỉ lệ 43,9% [126]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Đình Song Huy (2022) tại Bệnh viện Chợ Rẫy ghi nhận đa phần bệnh nhân UTBMTBG có một khối u (85,5%), tuy nhiên kích thước trung bình khối u dưới 5cm là 23,1% [135].

4.1.3.2. Đặc điểm xâm lấn mạch máu và di căn ngoài gan

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ xâm lấn mạch máu được xác định thông qua hình ảnh huyết khối tĩnh mạch cửa trên chụp cắt lớp vi tính (CLVT), chiếm 8,70%, trong khi đó có 1 bệnh nhân di căn ngoài gan (di căn phúc mạc quanh túi mật được phát hiện sau mổ), tương ứng với 1,45% (Bảng 3.5).

Các nghiên cứu trong nước trên cùng nhóm đối tượng như theo Nguyễn Đình Song Huy (2022), tỷ lệ bệnh nhân có xâm lấn mạch máu là 10% [135]. Trên thế giới, một nghiên cứu gần đây tại Đài Loan năm 2022 trên nhóm 706 bệnh nhân UTBMTBG ghi nhận tỷ lệ xâm lấn mạch máu ở mức 3,9%, như vậy kết quả khá tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi.

Xâm lấn mạch máu và di căn xa là những dấu hiệu chỉ điểm cho giai đoạn tiến triển của UTBMTBG, phản ánh mức độ lan rộng và phá hủy của khối u ác tính. Đáng chú ý, tình trạng xâm lấn mạch máu, di căn xa ảnh hưởng nhiều đến kết quả điều trị, được xem là một yếu tố tiên lượng xấu, liên quan chặt chẽ

đến thời gian sống còn ngắn và kết quả điều trị kém. Tình trạng này cần được khảo sát một cách chính xác trước khi tiến hành điều trị cho người bệnh.

4.1.3.3. Đặc điểm mô bệnh học

Đánh giá mức độ biệt hóa u theo tiêu chuẩn của WHO 2019 chúng tôi nhận thấy đa số tế bào u có mức độ biệt hóa cao và vừa (89,86%), tỷ lệ u biệt hóa kém là 10,14%. Kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu của Yan B. và cộng sự khi ghi nhận tỷ lệ tế bào u biệt hóa vừa và kém lần lượt là 59% và 17%. Theo tác giả Hồ Tấn Phát cho kết quả theo thứ tự là 78,5% và 21,5% [125].

Phân loại mức độ biệt hóa theo Edmondson –Steiner (ES) cho thấy tỷ lệ ES độ III - IV chiếm đa số (56,52%), cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Hồ Tấn Phát (2022), tỷ lệ ES độ III là 58,9% [125].

Cấu trúc u dạng bè (47,83%) và biến thể mô học thông thường (59,42%) là chính. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Hồ Tấn Phát (57%) [125], Lauwers (48,5%). Chiếm tỷ lệ thấp hơn là dạng u đặc, chiếm 28,99%, tương tự nghiên cứu của Lauwers (36%). Xâm nhập mạch là hiện tượng thường gặp trong UTBMTBG, thể hiện khối u tiến triển, trong đó chủ yếu là xâm lấn tĩnh mạch cửa. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ này là 49,28%, nằm trong khoảng tỷ lệ 6,5 - 48% theo một số nghiên cứu.

4.1.3.4. Đặc điểm nồng độ AFP huyết tương

Nồng độ AFP huyết tương dao động trong khoảng từ 8,60 đến 966,77 ng/mL. Trong đó, tỷ lệ số bệnh nhân có nồng độ AFP < 20 ng/mL là 34,78%.

Nồng độ AFP huyết tương có sự biến động đáng kể giữa các nghiên cứu. Theo khảo sát của Huỳnh Thanh Long (2023), tỷ lệ bệnh nhân có AFP < 20 ng/mL chiếm 12,5%, trong khi tỷ lệ AFP tăng trên 400 ng/mL đạt 68,8% [127]. Trong nghiên cứu của Nguyễn Việt Phương (2023) trên bệnh nhân UTBMTBG do HBV có chỉ định cắt gan, tỷ lệ AFP < 20 ng/mL cao hơn đáng kể, lên tới 41,5% [126]. Ngoài ra, theo Nguyễn Đình Song Huy (2022), nồng độ AFP ≥ 400 ng/mL được ghi nhận ở 45,4% trường hợp [135].

Trên thế giới, nghiên cứu của Liu C. và cộng sự (2013) trên 2304 bệnh nhân UTBMTBG cho thấy giá trị trung bình của AFP là $555,3 \pm 546,6$ ng/mL, trong đó có 631 bệnh nhân (27,4%) có AFP < 20 ng/mL. Mặc dù AFP là một trong ba tiêu chí chẩn đoán UTBMTBG theo Bộ Y tế, nhưng độ nhạy của chỉ dấu này vẫn chưa cao, dẫn đến những hạn chế nhất định trong việc sử dụng AFP đơn lẻ để phát hiện bệnh.

AFP vẫn giữ vai trò quan trọng trong tầm soát, chẩn đoán và tiên lượng UTBMTBG. Hiện nay, nhiều hướng dẫn chẩn đoán và điều trị trên thế giới khuyến cáo kết hợp AFP với siêu âm trong tầm soát UTBMTBG, đặc biệt theo Hiệp Hội Nghiên cứu Bệnh gan Hoa Kỳ và Hội Nghiên cứu Bệnh gan Châu Á Thái Bình Dương (APASL). Tuy nhiên, AFP không được đưa vào hệ thống hướng dẫn của Hội Nghiên cứu Bệnh gan Châu Âu. Điều này phản ánh sự khác biệt trong cách tiếp cận chẩn đoán UTBMTBG giữa các khu vực và nhấn mạnh sự cần thiết của việc nghiên cứu thêm để xác định giá trị tối ưu của AFP trong thực hành lâm sàng.

4.1.3.5. Đặc điểm chức năng gan theo Child-Pugh

Nghiên cứu của chúng tôi chọn các bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật cắt gan nên chức năng gan theo Child - Pugh còn tốt, 100% bệnh nhân có phân độ Child - Pugh A.

Phân độ chức năng gan được chia làm 3 phân độ gồm phân độ Child - Pugh A mức độ nhẹ, thời gian sống trung bình là 37 tháng, phân độ Child - Pugh B mức độ trung bình, thời gian sống trung bình 16 tháng, phân độ Child - Pugh C mức độ nặng thời gian sống trung bình 7 tháng. Trong nghiên cứu của chúng tôi 100% bệnh nhân UTBMTBG có phân loại Child - Pugh A, là do yêu cầu lựa chọn bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật điều trị. Theo nghiên cứu của Nguyễn Việt Phương (2023), bệnh nhân ở giai đoạn trước điều trị cắt gan theo phân độ Child - Pugh A với tỷ lệ 100%; kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi.

4.1.3.6. Giai đoạn bệnh theo Barcelona (BCLC) 2022

Trong phân loại giai đoạn bệnh UTBMTBG, ngoài đặc điểm khối u, chức năng gan đóng vai trò quan trọng trong việc xác định phương pháp điều trị phù hợp. Hiện nay, có nhiều hệ thống phân loại được đề xuất để áp dụng cho UTBMTBG, mỗi hệ thống đều có những ưu điểm và hạn chế riêng. Tuy nhiên, chưa có một hệ thống phân loại nào được xem là toàn diện, và cũng chưa có sự đồng thuận quốc tế về việc lựa chọn hệ thống phân loại tối ưu để đánh giá giai đoạn bệnh trong thực hành lâm sàng.

Hội Nghiên cứu Bệnh gan Hoa Kỳ (AASLD) và Hội Nghiên cứu Bệnh gan Châu Âu (EASL) ưu tiên sử dụng hệ thống phân loại Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) để phân giai đoạn UTBMTBG [30]. Hệ thống BCLC kết hợp nhiều yếu tố, bao gồm kích thước và số lượng khối u, chức năng gan theo thang điểm Child - Pugh, tình trạng toàn thân theo ECOG, và khả năng điều trị để đưa ra hướng tiếp cận phù hợp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hệ thống BCLC để đánh giá giai đoạn bệnh của bệnh nhân UTBMTBG, từ đó xác định chiến lược điều trị hiệu quả nhất.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân được lựa chọn là những bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật cắt gan. Chính vì thế, tỷ lệ bệnh nhân ở giai đoạn 0 (giai đoạn rất sớm) và A (giai đoạn sớm) rất cao với 58/69 bệnh nhân (chiếm 84,06%). Phân nhóm còn lại gồm giai đoạn BCLC B và C chỉ chiếm 15,94%.

Kết quả này cũng khác với các nghiên cứu trong và ngoài nước khác do theo cách chọn bệnh nhân của chúng tôi là nhóm bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật, thường ở giai đoạn sớm, có chức năng gan còn tốt và quần thể người bệnh của chúng tôi là nhóm bệnh nhân nhiễm HBV.

Những bệnh nhân ở giai đoạn tiến triển (giai đoạn C) còn chỉ định phẫu thuật là do có tình trạng huyết khối tĩnh mạch cửa ở các nhánh nhỏ, có thể loại bỏ hoàn toàn qua phẫu thuật.

4.2. Biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg dương tính

UTBMTBG là một bệnh lý ác tính phổ biến và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong liên quan đến ung thư trên toàn thế giới. Hiện nay, cơ chế bệnh sinh phân tử dẫn đến UTBMTBG vẫn chưa được hiểu đầy đủ, dẫn đến tỷ lệ chẩn đoán sớm thấp. Do đó, việc phát hiện ra các cơ chế phân tử và các dấu ấn sinh học chẩn đoán của UTBMTBG có ý nghĩa lâm sàng to lớn. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định và đánh giá biểu hiện của các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF- κ B p65* và *NF- κ B p50* có liên quan đến sự phát triển của mô UTBMTBG. Tương tự như con đường ubiquitin hóa, SUMO hóa là một quá trình sửa đổi sau dịch mã cần thiết cho nhiều quá trình tế bào khác nhau. Sửa đổi sau dịch mã liên quan đến các sửa đổi enzym của protein sau khi sinh tổng hợp và được cho là có tác động đáng kể đến sự tiến triển của UTBMTBG và các phương pháp điều trị UTBMTBG. SUMO hóa, cùng với các sửa đổi sau dịch mã khác, có thể làm thay đổi các đặc điểm của protein mục tiêu, chẳng hạn như hoạt động, vị trí, độ ổn định và tương tác với các protein khác [142]. Ngoài ra, SUMO hóa còn đóng vai trò chính trong điều hòa phiên mã, điều hòa nhiều con đường truyền tín hiệu, con đường thụ thể hormone steroid, quá trình tái cấu trúc chromatin và quá trình phân chia tế bào [143]. Do đó, sự mất cân bằng trong các sửa đổi sau dịch mã có thể dẫn đến sự phát triển của các bệnh khác nhau, bao gồm cả ung thư [144]. SUMO hóa không đều của các protein cụ thể có liên quan đến một số loại ung thư, chẳng hạn như ung thư đại trực tràng, ung thư biểu mô tuyến cổ tử cung và ung thư biểu mô tuyến vảy cổ tử cung [58]. Ức chế SUMO hóa của protein mục tiêu có thể cản trở sự tiến triển của các tế bào ung thư và kích hoạt quá trình truyền tín hiệu interferon, do đó thúc đẩy phản ứng miễn dịch của khối u. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy protein SUMO có liên quan đáng kể đến sự tiến triển của UTBMTBG. Điều chỉnh biểu hiện

protein SUMO có khả năng phá vỡ sự phát triển của UTBMTBG, định vị SUMO là mục tiêu đầy hứa hẹn cho liệu pháp UTBMTBG. Hơn nữa, các mức độ biểu hiện protein SUMO khác nhau có thể ảnh hưởng đến độ nhạy cảm của UTBMTBG với hóa trị liệu và tác động đến khả năng kháng thuốc điều trị UTBMTBG [145].

4.2.1. Biểu hiện tương đối gen *SUMO2* trong mô u và mô cận u

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự gia tăng đáng kể trong biểu hiện của *SUMO2* ở các khối u UTBMTBG so với các mô lân cận khối u. Cụ thể, 69 mẫu mô ung thư và 69 mẫu mô gan cận u được thu thập từ bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg dương tính. Kết quả này không chỉ xác nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê mà còn gợi mở một sự thay đổi định lượng rõ rệt, phản ánh có thể là sự tăng hoạt động phiên mã hoặc tăng ổn định của mRNA *SUMO2* trong môi trường khối u. Sự chênh lệch lớn về biểu hiện tương đối của *SUMO2* so với gen tham chiếu (trung vị lần lượt là 4,88 ở mô u và 0,22 ở mô cận u) gợi ý rằng *SUMO2* có thể đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành và tiến triển của UTBMTBG ở bệnh nhân nhiễm HBV, qua đó góp phần làm sáng tỏ một cơ chế bệnh sinh tiềm năng liên quan đến quá trình SUMO hóa trong ung thư gan. Sự tăng biểu hiện này có thể là hệ quả của tình trạng viêm mạn tính và stress tế bào do virus HBV gây ra, tạo môi trường thuận lợi cho các protein điều hòa như SUMO2 được biểu hiện quá mức để đáp ứng với các tổn thương DNA và rối loạn tín hiệu tế bào.

Sự tăng biểu hiện của *SUMO2* trong mô ung thư gợi ý rằng gen này có thể tham gia tích cực vào quá trình điều hòa tăng sinh tế bào, xâm lấn và di căn, vốn là những đặc trưng sinh học quan trọng của ung thư gan. Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy việc giảm biểu hiện *SUMO2* bằng siRNA có thể ức chế đáng kể khả năng tăng trưởng và xâm lấn của tế bào ung thư gan, chứng tỏ *SUMO2* đóng vai trò thúc đẩy quá trình ung thư hóa. *SUMO2* được biết là một trong những thành phần chính của hệ thống SUMO hóa, tham gia điều chỉnh

chu kỳ tế bào, ổn định protein, và hoạt động của các yếu tố phiên mã. Thông qua các tương tác này, *SUMO2* có thể ảnh hưởng đến nhiều con đường tín hiệu liên quan đến sinh ung, đặc biệt là *NF-κB*, một yếu tố trung tâm trong phản ứng viêm mạn tính và ung thư gan do HBV. Điều này đặt ra giả thuyết rằng, trong bối cảnh nhiễm HBV, *SUMO2* có thể đóng vai trò như một chất điều biến quan trọng, khuếch đại tín hiệu viêm và tồn tại tế bào thông qua con đường *NF-κB*, từ đó tạo điều kiện cho tế bào gan vượt qua các điểm kiểm soát tăng trưởng bình thường. Sự hoạt hóa liên tục của *NF-κB* có thể dẫn đến tăng biểu hiện các gen tiền ung thư, góp phần vào sự tồn tại, nhân đôi và xâm lấn của tế bào u. Từ đó, có thể giả thuyết rằng *SUMO2* hoạt động như một phân tử cầu nối, liên kết giữa quá trình viêm mạn tính do HBV và cơ chế ung thư hóa ở gan, qua đó củng cố khả năng của *SUMO2* như một chỉ thị sinh học (biomarker) và đích điều trị tiềm năng cho UTBMTBG.

Kết quả phù hợp với nghiên cứu của tác giả Chen J. và cộng sự năm 2021, nghiên cứu trên 70 mẫu mô ung thư và mô gan bình thường thu thập trên bệnh nhân điều trị từ năm 2012 đến 2013 tại bệnh viện Quảng Châu số 1 (Trung Quốc). Trước đó, nhóm tác giả đã có kết quả nhận định về vai trò của *SUMO2* trên các cơ sở dữ liệu công khai. Mức độ biểu hiện mRNA của *SUMO2* ở 421 bệnh nhân (371 mô khối u gan và 50 mẫu mô liên kết) được lấy từ cơ sở dữ liệu TCGA, trong khi đó mức độ biểu hiện mRNA của 167 bệnh nhân khác (115 mô khối u gan và 52 mẫu mô liên kết) được lấy từ cơ sở dữ liệu *GEO*. Kết quả phân tích của Chen J. và cộng sự cho thấy mức độ biểu hiện mRNA của *SUMO2* trong các mô ung thư gan cao hơn đáng kể so với mức độ biểu hiện mRNA ở các mô liên kết. Trong khi đó, phân tích Kaplan - Meier đối với 364 bệnh nhân ung thư gan cho thấy thời gian sống sót tổng thể ở những bệnh nhân có mức độ biểu hiện *SUMO2* cao ngắn hơn đáng kể so với những bệnh nhân có mức độ biểu hiện *SUMO2* thấp [13]. Kết quả nghiên cứu trong nhóm 70 bệnh nhân UTBMTBG cho thấy, protein *SUMO2*, chủ yếu nằm ở nhân, được biểu hiện cao ở 45/70 bệnh nhân

UTBMTBG (chiếm tỷ lệ là 64,3%). Trái lại, chỉ có 14/70 mẫu mô gan bình thường (lân cận ung thư) có biểu hiện cao *SUMO2* (chiếm tỷ lệ 20,0%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,026 < 0,05$). Phân tích Kaplan - Meier đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện của gen *SUMO2* và tỷ lệ sống sót chung cho thấy, thời gian sống sót chung ở bệnh nhân có biểu hiện *SUMO2* cao ngắn hơn so với bệnh nhân có biểu hiện *SUMO2* thấp (lần lượt là 23,0 tháng so với 61,0 tháng; $p < 0,001$), chỉ ra mức độ biểu hiện cao của protein SUMO2 là yếu tố dự báo tiên lượng xấu ở bệnh nhân UTBMTBG. Ngoài ra, biểu hiện cao của *SUMO2* liên quan đến các đặc điểm lâm sàng như di căn hạch lympho (AUC = 0,704; $p < 0,001$) và xâm lấn mạch máu (AUC = 0,771; $p < 0,001$). Khi giảm biểu hiện của *SUMO2* trong các dòng tế bào UTBMTBG (đặc biệt là SMMC-7721 và Bel-7404), hoạt động của tế bào bị ức chế rõ rệt như giảm khả năng phát triển, xâm nhập và di chuyển của tế bào. Kết quả phân tích Western blot và PCR, khi giảm biểu hiện gen *SUMO2*, các protein như Ki-67, MMP-9, và VEGF cũng giảm theo, cho thấy *SUMO2* thúc đẩy ung thư phát triển qua các cơ chế liên quan tới MMP-9 và VEGF [13]. Tóm lại, nghiên cứu của Chen J. và cộng sự cho thấy gen *SUMO2* đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển, xâm lấn và tiến triển của ung thư gan. Biểu hiện cao của gen *SUMO2* là yếu tố dự đoán tiên lượng xấu, liên quan đến thời gian sống trung bình ngắn hơn và các đặc điểm lâm sàng nghiêm trọng hơn. Giảm biểu hiện gen *SUMO2* làm giảm khả năng phát triển, di chuyển và xâm nhập của tế bào ung thư, chủ yếu qua ảnh hưởng đến các protein như MMP-9, VEGF và Ki-67.

Như vậy, dù nghiên cứu của Chen J. và cộng sự (2021) chưa đánh giá biểu hiện của các gen khác thuộc họ *SUMO*, nhưng rõ ràng có sự tương đồng giữa nghiên cứu của chúng tôi với tác giả trên về kết luận liên quan của biểu hiện gen *SUMO2* với sự phát triển và/hoặc tiến triển của UTBMTBG ở bệnh nhân nhiễm HBV [13]. Cơ chế tiềm năng mà *SUMO2* thúc đẩy sự phát triển của UTBMTBG có thể liên quan đến việc điều hòa các yếu tố kiểm soát chu

kỳ tế bào (như p53, c-Myc), các protein tăng sinh (Ki-67), và các yếu tố xâm lấn - di căn (MMP-9, VEGF). Cụ thể, khi biểu hiện *SUMO2* tăng cao, hoạt động của các gen thúc đẩy tăng trưởng như MMP-9 và VEGF được kích hoạt, giúp tế bào ung thư xâm nhập mô lân cận và tạo mạch máu mới. Ngược lại, khi giảm biểu hiện *SUMO2*, hoạt động của các yếu tố này giảm đáng kể, làm suy giảm khả năng phát triển và di chuyển của tế bào ung thư. Ngoài ra, *SUMO2* còn có thể tác động gián tiếp qua các con đường tín hiệu PI3K/AKT, NF- κ B và HIF-1 α , giúp tế bào ung thư thích nghi trong môi trường thiếu oxy và kháng lại quá trình chết theo chương trình. Đặc biệt, tương tác với NF- κ B có thể tạo thành một vòng lặp khuếch đại dương tính: viêm mạn tính do HBV kích hoạt NF- κ B, NF- κ B thúc đẩy biểu hiện các gen mục tiêu trong đó có thể có *SUMO2*, và *SUMO2* lại củng cố hoạt động của NF- κ B thông qua SUMO hóa, từ đó duy trì trạng thái tiền ung thư. Những cơ chế này góp phần củng cố luận điểm rằng *SUMO2* là nhân tố điều hòa đa chiều trong sinh ung và tiến triển của UTBMTBG.

Về vai trò của *SUMO2* trong bệnh sinh UTBMTBG, một số nghiên cứu đã cho thấy, một trong những vai trò quan trọng nhất của tăng biểu hiện *SUMO2* ở bệnh UTBMTBG là khả năng duy trì và thúc đẩy các tế bào gốc ung thư gan (Liver cancer stem cell - LCSC) [146], [147]. Các LCSC là những tế bào tiền thân hoặc chưa trưởng thành trong khối u gan, đóng vai trò then chốt trong sự hình thành, phát triển, di căn và tái phát của ung thư gan. Đồng thời, các LCSC có khả năng tự làm mới và biệt hóa thành các tế bào ung thư khác nhau, dẫn đến khả năng kháng lại liệu pháp điều trị thông thường. Nghiên cứu của Zhenxiang P. và cộng sự năm 2024 đã chứng minh protein SUMO2 liên kết trực tiếp và làm SUMO hóa Flap Endonuclease 1 (FEN1), một loại enzym quan trọng trong chuyển hóa DNA [146]. Để xác định các protein tương tác với FEN1 trong LCSCs, nhóm nghiên cứu đã sử dụng phương pháp đồng miễn dịch kết tủa (kết hợp với khối phổ (LC-MS/MS) trên các dòng tế bào UTBMTBG.

Phân tích cho thấy SUMO2 là một trong những protein nổi bật có khả năng liên kết với FEN1 trong cả hai dòng tế bào ung thư gan được sử dụng (MHCC-97H và Huh7). Sự tương tác trực tiếp giữa FEN1 và SUMO2 sau đó được xác nhận lại bằng các thí nghiệm đồng miễn dịch kết tủa (Co-IP), củng cố bằng chứng về mối liên kết phân tử giữa chúng trong LCSCs. Điều quan trọng là, nghiên cứu đã chứng minh mức độ biến đổi FEN1 qua trung gian SUMO2 đã tăng lên đáng kể trong các tế bào CD133+ (một dấu ấn của LCSCs) so với các tế bào ung thư gan thông thường. Ngoài ra, nghiên cứu còn chỉ ra cách SUMO2 điều chỉnh FEN1. Mặc dù việc suy giảm (knockdown) hay biểu hiện quá mức (overexpression) SUMO2 không làm thay đổi mức độ mRNA của FEN1 nhưng biểu hiện quá mức SUMO2 lại làm tăng đáng kể mức độ protein FEN1, trong khi suy giảm SUMO2 lại dẫn đến giảm mức độ protein FEN1. Để giải thích hiện tượng này, nhóm nghiên cứu đã sử dụng chất ức chế proteasome là MG132. Kết quả cho thấy khi con đường thoái giáng qua proteasome bị chặn, tác động của việc suy giảm SUMO2 lên FEN1 đã bị vô hiệu hóa. Điều này chứng tỏ rằng SUMO2 làm tăng biểu hiện protein FEN1 bằng cách ngăn chặn (antagonizing) sự thoái giáng của FEN1 thông qua con đường proteasome. Mức biểu hiện SUMO2 cao cũng có liên quan đến tiên lượng xấu hơn ở bệnh nhân. Phân tích mối tương quan cho thấy không có mối liên hệ đáng kể giữa mức độ mRNA của SUMO2 và FEN1. Tuy nhiên, một mối tương quan thuận mạnh giữa mức độ biểu hiện protein của SUMO2 và FEN1 trong các mẫu mô UTBMTBG ($r = 0,671$, $p < 0,01$) [146]. Điều này hoàn toàn phù hợp với cơ chế điều hòa sau dịch mã mà nghiên cứu đã phát hiện. Như vậy, nghiên cứu này đã chứng minh vai trò của SUMO2 trong việc ổn định protein FEN1 bằng cách ngăn chặn sự thoái giáng của FEN1 thông qua con đường proteasome, dẫn đến sự tích tụ protein FEN1 trong các tế bào gốc ung thư gan. FEN1 tăng cao sẽ thúc đẩy khả năng tự làm mới và tăng cường khả năng tạo khối u của LCSC. Do đó, việc tăng biểu hiện gen SUMO2 sẽ trực tiếp khuếch đại cơ chế này, làm

tăng số lượng và hoạt động của các tế bào gốc ung thư, khiến khối u trở nên ác tính hơn và khả năng di căn cao hơn. Việc nhắm mục tiêu vào tương tác SUMO2-FEN1 được xem là một chiến lược tiềm năng để tiêu diệt LCSCs [146]. Những phát hiện này nhấn mạnh rằng *SUMO2* không chỉ là một dấu ấn sinh học tiềm năng mà còn là một mục tiêu điều trị hấp dẫn trong UTBMTBG. Việc phát triển các liệu pháp nhắm vào *SUMO2* hoặc các tương tác cụ thể do nó điều khiển có thể mở ra những hướng đi mới để kiểm soát sự tiến triển của căn bệnh nguy hiểm này.

Tương tự như nhận định về *SUMO2* ở trên, nghiên cứu của Liu Y. và cộng sự (2022) được thực hiện nhằm làm sáng tỏ vai trò của các gen liên quan đến SUMO hóa, đặc biệt là *SAE1*, trong cơ chế bệnh sinh và tiên lượng ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG). Tác giả sử dụng dữ liệu RNA-seq kết hợp với phân tích tin sinh học để xác định vai trò sinh học của *SAE1* trong UTBMTBG. Dữ liệu được thu thập từ hai nguồn lớn là TCGA (The Cancer Genome Atlas) và GTEx (Genotype-Tissue Expression), với tổng cộng 424 mẫu, gồm 369 mẫu UTBMTBG và 55 mẫu mô gan bình thường. Biểu hiện của *SAE1* cùng các gen liên quan đến SUMO hóa được so sánh giữa hai nhóm mô, đồng thời tiến hành phân tích Gene Ontology (GO) và Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) để xác định chức năng của *SAE1* trong các quá trình chu kỳ tế bào, sao chép DNA và sửa chữa DNA.

Bên cạnh đó, nhóm tác giả tiến hành các thí nghiệm sinh học bao gồm knockdown (ức chế biểu hiện gen) và overexpression (tăng cường biểu hiện gen) trên các dòng tế bào UTBMTBG để đánh giá vai trò chức năng của *SAE1*. Kết quả cho thấy *SAE1* tăng cao có ý nghĩa trong mô UTBMTBG so với mô bình thường ($p < 0,01$), và biểu hiện cao của *SAE1* liên quan đến tiên lượng xấu, thể hiện qua tỷ lệ sống 5 năm thấp hơn rõ rệt (Log-rank test, $p < 0,001$). Phân tích GO và KEGG cho thấy *SAE1* tham gia vào các quá trình sinh học quan trọng như chu kỳ tế bào, sao chép DNA và sửa chữa DNA. Dựa trên dữ

liệu TCGA_LIHC, nhóm tác giả xác định các gen biểu hiện khác biệt giữa mô khối u và mô bình thường, trong đó có bốn gen liên quan đến SUMO hóa gồm *SUMO2*, *PIAS3*, *SAE1* và *CBX4* được điều hòa tăng. So sánh biểu hiện cho thấy *SUMO2* và *SAE1* được tăng đáng kể trong mô ung thư, trong khi *PIAS3* và *CBX4* không có ý nghĩa thống kê về tiên lượng. Đáng chú ý, bệnh nhân có biểu hiện cao *SUMO2* và *SAE1* có thời gian sống sau phẫu thuật ngắn hơn đáng kể. Trong thí nghiệm ản gen, giảm biểu hiện *SAE1* làm giảm khả năng tăng sinh tế bào UTBMTBG (test MTT, $p < 0,01$) và gây ngừng chu kỳ tế bào tại pha G1, trong khi tăng biểu hiện *SAE1* thúc đẩy tăng sinh tế bào (đánh giá theo DNA synthesis, $p < 0,01$). Mô hình SRRS (SUMO-related risk score) dựa trên biểu hiện *SAE1* cho thấy độ chính xác cao trong dự đoán nguy cơ ($AUC = 0,81$) và liên quan đến tiên lượng xấu hơn, đặc biệt ở bệnh nhân điều trị hóa trị qua động mạch (TACE) ($p < 0,05$). Kết quả nghiên cứu nhấn mạnh rằng *SAE1* đóng vai trò trung tâm trong cơ chế sinh bệnh của UTBMTBG, có thể là đích điều trị tiềm năng, trong khi mô hình SRRS mang lại giá trị tiên lượng hữu ích trong phân tầng nguy cơ và cá thể hóa chiến lược điều trị. Tuy nhiên, các nghiên cứu lâm sàng mở rộng vẫn cần thiết để xác nhận vai trò của *SAE1* trong UTBMTBG.

Tiểu đơn vị 1 của enzym hoạt hóa SUMO (*SAE1*) là một thành phần của một chất điều biến liên quan đến ubiquitin nhỏ di hợp tử đóng vai trò quan trọng trong SUMO hoá, một sửa đổi sau dịch mã liên quan đến các sự kiện của tế bào như điều hòa phiên mã, chu kỳ tế bào và quá trình chết theo chương trình của tế bào. Sự biểu hiện quá mức của *SAE1* được báo cáo trong u thần kinh đệm theo cách phụ thuộc vào giai đoạn cho thấy nó có thể có vai trò trong quá trình khởi phát và tiến triển của ung thư. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra sự gia tăng đáng kể trong mức độ biểu hiện của *SAE1* trong các mô ung thư ở bệnh nhân UTBMTBG. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh rằng *SAE1* được biểu hiện quá mức trong các mẫu mô UTBMTBG so với mô gan bình thường và có liên quan đến khả năng sống sót kém trên bệnh

nhân UTBMTBG. Biểu hiện của SAE1 có giá trị chẩn đoán UTBMTBG ở mức rất tốt ($AUC = 0,925$, Hệ số Youden's $J = 0,71$, $SE = 0,01$, $p < 0,0001$); giá trị chẩn đoán giai đoạn bệnh cũng ở mức tương tự (AUC chẩn đoán giai đoạn UTBMTBG I, II, III, và IV lần lượt là: $0,92$ ($p < 0,0001$), $0,93$ ($p < 0,0001$), $0,94$ ($p < 0,0001$), $1,00$ ($p = 0,0003$), tương ứng) và biểu hiện SAE1 cao có mối tương quan mạnh với di căn và tiến triển của bệnh [83].

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy về biểu hiện tăng cao của gen *SUMO2* ở mô u so với mô cận u, gợi ý rằng *SUMO2* có thể giữ vai trò nổi bật hơn trong quá trình sinh ung của tế bào gan. Sự tăng biểu hiện chọn lọc của *SUMO2*, so với các đồng dạng SUMO khác, có thể chỉ ra một cơ chế điều hòa tinh vi trong đáp ứng với stress tế bào đặc thù do HBV hoặc các đột biến nền trong tế bào ung thư gan. Sự tăng biểu hiện của *SUMO2* có thể phản ánh hoạt động SUMO hóa tăng cường, góp phần thúc đẩy tăng sinh tế bào và duy trì đặc tính ác tính của khối u. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy *SUMO2* liên quan đến tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư gan. Việc không ghi nhận thay đổi ở các gen còn lại cho thấy cơ chế điều hòa SUMO hóa có thể mang tính chọn lọc, tập trung vào *SUMO2* hơn là các đồng dạng khác. Điều này làm nổi bật *SUMO2* không chỉ như một thành phần thụ động của hệ thống SUMO hóa, mà như một yếu tố chủ động được tế bào ung thư lợi dụng để đạt được lợi thế tăng trưởng và sống sót. Từ đó, *SUMO2* có thể được xem như một chỉ dấu phân tử tiềm năng, đồng thời là hướng nghiên cứu đáng quan tâm trong việc tìm hiểu cơ chế bệnh sinh và phát triển các chiến lược điều trị đích cho ung thư gan.

4.2.2. Biểu hiện tương đối gen *SUMO1*, *SUMO3* trong mô u và mô cận u

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận biểu hiện của các gen *SUMO1*, *SUMO3* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mẫu mô ung thư và mẫu mô cận u.

Nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả Liu J. và cộng sự (2015) đã cho thấy mức độ biểu hiện protein SUMO2/3 trong tế bào chất cao hơn ở các mô lân cận u so với các mô khối u UTBMTBG. Tác giả nghiên cứu trên mẫu mô của 5 bệnh nhân viêm gan và 8 bệnh nhân UTBMTBG, được thu thập tại Bệnh viện tỉnh An Huy (Trung Quốc) nhằm đánh giá vai trò của protein SUMO2/3 trong sự phát triển của UTBMTBG liên quan đến viêm gan B mạn tính, đặc biệt là mối liên hệ của nó với yếu tố phiên mã p65 của phức hợp NF- κ B trong mô gan của bệnh nhân, đồng thời xác định cách các protein này ảnh hưởng đến quá trình viêm và carcinogenesis ở gan. Vì sử dụng kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch để phát hiện và ước tính biểu hiện của cả NF- κ B p65 và SUMO2/3 trong mẫu mô gan, do đó không phân biệt được protein SUMO2 và SUMO3, vì chúng giống nhau đến 97% về trình tự aminoacid, gọi chung là SUMO2/3. Kết quả nghiên cứu cho thấy, SUMO2/3 tăng đáng kể ở các mô lân cận khối u, so với trong các mô ung thư. Kết quả thử nghiệm Western blot cũng cho thấy SUMO2/3 đều tăng đáng kể ở mô cận u [107].

Như vậy có thể thấy, kết quả của Liu J. và cộng sự có sự khác biệt với chúng tôi về mức độ biểu hiện của *SUMO2/3* khi so sánh giữa mô ung thư và mô lân cận u. Sự khác biệt này có thể do khác biệt về cách tiếp cận, khi chúng tôi đánh giá mức độ biểu hiện của gen *SUMO2/3* thông qua định lượng biểu hiện tương đối của mRNA trong các mẫu mô so với gen tham chiếu GAPDH, trong khi tác giả trên xác định biểu hiện của gen *SUMO2/3* thông qua kỹ thuật hóa mô miễn dịch. Việc không phân định rõ được biểu hiện của *SUMO2* và *SUMO3* khi so sánh giữa mẫu mô ung thư và mô gan không ung thư có thể là nguyên nhân quan trọng. Vì căn cứ trên kết quả nghiên cứu của chúng tôi, biểu hiện tương đối của gen *SUMO3* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mẫu mô ung thư và mô lân cận u trên cùng một bệnh nhân nghiên cứu. Như vậy, nếu gộp biểu hiện tương đối của cả gen *SUMO2* và *SUMO3* thì có thể không ghi nhận sự khác biệt này giữa mẫu mô ung thư

và mô lân cận u. Bên cạnh đó, việc sử dụng mẫu mô gan từ 5 bệnh nhân viêm gan ở giai đoạn sớm làm mẫu mô đối chứng khi phân tích trong nghiên cứu của tác giả Liu J. và cộng sự cũng có thể là một trong những căn nguyên dẫn đến sự khác biệt này [107]. Ngoài ra, khác biệt về chủng tộc và số lượng mẫu đầu vào cũng có thể là những nguyên nhân góp phần vào sự không đồng nhất giữa nghiên cứu của chúng tôi và nhóm tác giả nói trên.

Trong khi đó, một nghiên cứu của tác giả Wang P. và cộng sự (2021) nghiên cứu trên dòng tế bào ung thư gan Hep3B, được phơi nhiễm với isoflurane 2%, như điều kiện của bệnh nhân trải qua phẫu thuật khối u gan có sử dụng isoflurane là thuốc gây mê chủ yếu. Trong nghiên cứu này, các tế bào UTBMTBG đã được cho tiếp xúc với isoflurane 2% trong 12 giờ, sau đó ngừng thuốc trong 36 giờ và sự hình thành các liên hợp SUMO2/3 được đánh giá. Kết quả phân tích Western blot cho thấy rằng sự hình thành các liên hợp SUMO2/3 tăng lên đáng kể sau khi các tế bào UTBMTBG tiếp xúc với isoflurane trong 0,5 giờ và tiếp tục tăng trong 48 giờ, ngay cả sau khi thuốc đã được ngừng. Hơn nữa, các tế bào UTBMTBG tiếp xúc với isoflurane biểu hiện hoạt động tăng sinh và xâm lấn tăng lên trong giai đoạn quan sát tiếp theo. Protease đặc hiệu SUMO3 (SENP3), ức chế sự liên kết của SUMO2/3 với các protein mục tiêu của nó, đã được biểu hiện quá mức và người ta phát hiện ra rằng SUMO hoá do isoflurane gây ra đã bị ức chế đáng kể và do đó, khả năng tăng sinh và xâm lấn của các tế bào UTBMTBG đã giảm xuống ở một mức độ nhất định. Những phát hiện này chỉ ra rằng SUMO2/3 có liên quan đến sự tiến triển của các tế bào UTBMTBG, ít nhất là trong dòng tế bào Hep3B, do isoflurane gây mê gây ra và việc ức chế SUMO2/3 có thể đối kháng với phản ứng. Dù không trực tiếp khảo sát sự khác biệt về biểu hiện của SUMO2/3 giữa mô ung thư và mô lân cận u, nhưng kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy sự tăng của các protein SUMO2/3 có liên quan đến sự gia tăng nguy cơ mắc UTBMTBG do phơi nhiễm isoflurane 2%, gợi ý mối liên

quan thuận giữa biểu hiện của gen *SUMO2/3* đối với sự hình thành UTBMTBG ở người. Kết quả nghiên cứu không đồng nhất giữa các công bố sử dụng các kỹ thuật khó có thể phân biệt *SUMO2* và *SUMO3* có thể là một hạn chế của cách tiếp cận này trong việc đánh giá vai trò của biểu hiện các gen *SUMO* trong bệnh sinh UTBMTBG ở người [148]. Như vậy, có thể thấy các kết quả nghiên cứu của chúng tôi và một số nghiên cứu trên thế giới đã góp phần nhấn mạnh vai trò của các gen *SUMO* trong cơ chế hình thành, phát triển và mức độ nghiêm trọng của UTBMTBG trên bệnh nhân nhiễm HBV, cũng như tiềm năng của mức độ biểu hiện gen *SUMO2* như một dấu hiệu chẩn đoán bệnh UTBMTBG ở người.

Mặc dù sự điều hòa tăng các dòng tế bào ung thư gan (HepG2 và Huh7) và bệnh nhân UTBMTBG thu thập tại *SUMO1* và *SUMO3* trong khối u UTBMTBG và vai trò của chúng trong sự tiến triển của UTBMTBG đã được báo cáo rộng rãi, kết quả phân tích về biểu hiện tương đối của gen *SUMO1* và *SUMO3* trong nghiên cứu của chúng tôi không cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa khối u UTBMTBG và mô không phải khối u. Khác với nghiên cứu của chúng tôi, tác giả Jiang C. và cộng sự (2024) nghiên cứu từ các mẫu mô gan của bệnh nhân UTBMTBG cho thấy mức độ biểu hiện của *SUMO1* được phosphoryl hóa tại các vị trí S276 và S536 đều tăng đáng kể so với các mô bình thường bên cạnh khối u. Ngược lại, mức độ của *SUMO2/3* trong các mô ung thư lại giảm so với mô không ung thư, cho thấy sự điều hòa đặc hiệu của *SUMO1* trong bệnh lý này [148].

Ngoài ra, một công bố trước đây của nhóm tác giả Guo W.H. và cộng sự năm 2011, trên nhóm 26 bệnh nhân UTBMTBG, đã trải qua phẫu thuật triệt căn tại bệnh viện Đại học Nanchang (Trung Quốc) cho thấy, biểu hiện tương đối của gen *SUMO1* so với gen tham chiếu cao hơn ở mô ung thư so với mô lân cận u, có ý nghĩa thống kê. Theo đó, mức độ biểu hiện của gen *SUMO1* được tính toán so với gen tham chiếu β -lactin cho thấy, mức độ biểu

hiện của *SUMO1* trong SMMC- 7721, Hep G2, Hep3B và các mẫu UTBMTBG lâm sàng gấp lần lượt là 4,96; 4,82; 4,28 và 6,96 lần so với trong các mô gan lân cận u liền kề. Nghiên cứu này có tổng số 22/26 bệnh nhân UTBMTBG có mức AFP $\geq 8,00$ ng/mL, thì cả 26 bệnh nhân đều cho thấy mức biểu hiện *SUMO1* cao hơn đáng kể ở mẫu mô ung thư so với nhóm còn lại. Dù có sự khác biệt về chủng tộc, tình trạng bệnh UTBMTBG đầu vào hay kỹ thuật định lượng biểu hiện gen *SUMO1*. Trong đó, một nhóm lớn các nguyên nhân có thể là sự khác biệt về đặc điểm tình trạng lâm sàng và cận lâm sàng của nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu. Theo đó, nghiên cứu của chúng tôi, có tổng số 58/69 bệnh nhân UTBMTBG ở giai đoạn bệnh sớm và sát sớm theo phân loại BCLC và có mức AFP máu ngoại vi trung bình là 61,50 (8,60 - 966,77) ng/mL. Trong khi nghiên cứu của nhóm tác giả Guo W. H., 26 bệnh nhân UTBMTBG có nồng độ AFP trung bình máu ngoại vi cao hơn, ở mức 1245,41 (136,43 - 13548,22) ng/mL [143]. Các nghiên cứu tin cậy trên thế giới đã cho thấy, mức độ AFP tại thời điểm trước điều trị có liên quan đến phân độ mô học, sự tiến triển và thời gian sống sót của bệnh nhân UTBMTBG [149]. Cụ thể hơn, trong nghiên cứu trên tổng cộng 78.743 bệnh nhân UTBMTBG, kết quả phân tích hồi quy logistic cho thấy mức AFP khi chẩn đoán là yếu tố nguy cơ độc lập của phân độ mô học (OR: 2,559; 95%CI: 2,075 - 3,157; $p < 0,001$), giai đoạn TNM-7 (OR: 2,794; 95%CI: 2,407 - 3,242; $p < 0,001$) và kích thước khối u (OR: 1,748; 95%CI: 1,574 - 1,941; $p < 0,001$). Phân tích hồi quy Cox đa biến xác định nồng độ AFP là một yếu tố dự báo độc lập về nguy cơ sống sót của những bệnh nhân UTBMTBG không phẫu thuật (tỷ lệ nguy cơ [HR]: 1,660; 95%CI: 1,534 - 1,797; $p < 0,001$) và những bệnh nhân đã phẫu thuật (HR: 1,534; 95%CI: 1,348 - 1,745; $p < 0,001$). Như vậy, rõ ràng rằng, dù nghiên cứu của Guo W.H. có dữ liệu AFP đầu vào cao hơn so với chúng tôi, dù tác giả không đề cập đến giai đoạn bệnh, nhưng kết luận về sự biểu hiện cao hơn của gen *SUMO1* giữa mô ung

thư và mô lân cận u đều được rút ra từ nghiên cứu của chúng tôi và tác giả Guo W.H., cho thấy vai trò của biểu hiện của gen *SUMO1* trong bệnh sinh UTBMTBG [142].

Một kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Zhou Y. và cộng sự công bố năm 2018 về vai trò của *SUMOIP3* (Small ubiquitin-like modifier 1 pseudogene 3 (*SUMOIP3*) - Gen giả số 3 giống SUMO1, một thành viên của họ gen giả *SUMO*), là một lncRNA mới được xác định ban đầu được xác định là tăng cường trong ung thư dạ dày [150]. *SUMOIP3* là một pseudogene của gen *SUMO1* thuộc họ các pseudogene SUMO, một thành viên của gia đình protein nhỏ giống như ubiquitin (SUMO). Pseudogene này được xác định là một ncRNA dài không mã hóa (lncRNA) và lần đầu tiên được phát hiện có sự tăng lên rõ rệt trong ung thư dạ dày (gastric cancer), và sau đó cũng được chứng minh có vai trò trong ung thư bàng quang. *SUMOIP3* là pseudogene của *SUMO1*, hoạt động như một ncRNA và có vai trò thúc đẩy tiến trình ung thư, trong khi SUMO1 là một protein điều hòa các hoạt động sinh lý tế bào bằng quá trình SUMO hoá. Mối quan hệ giữa chúng có thể liên quan đến việc *SUMOIP3* ảnh hưởng đến các cơ chế điều hòa liên quan đến SUMO hoá hoặc các chức năng sinh học của protein SUMO1, từ đó góp phần vào sự phát triển và tiến triển của ung thư, đặc biệt là trong UTBMTBG. Nghiên cứu này đã khảo sát mức độ của *SUMOIP3* trong các mẫu mô của bệnh nhân mắc UTBMTBG, nhằm xác định mối liên hệ giữa mức độ của phân tử này với tiến triển của bệnh, đồng thời đánh giá tác động của việc giảm biểu hiện của *SUMOIP3* lên khả năng phát triển và nhạy cảm với xạ trị của các tế bào ung thư gan. Nghiên cứu thu thập 23 mẫu mô gan ung thư từ các bệnh nhân đến phẫu thuật cắt bỏ khối u tại Bệnh viện Zhengzhou, Trung Quốc, trong khoảng thời gian từ năm 2014 đến 2016. Trong số các bệnh nhân này, không ai đã từng nhận điều trị trước phẫu thuật như tia xạ, hóa trị hoặc các liệu pháp khác nhằm giảm ảnh hưởng tới kết quả nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ của *SUMOIP3* cao hơn rõ rệt

trong các mô ung thư gan so với mô gan bình thường kề bên. Cụ thể, trong 23 mẫu mô, mức độ của *SUMOIP3* được đo qua qRT-PCR, kết quả cho thấy biểu hiện của phân tử này tăng đáng kể ở phần lớn các mẫu. Hơn nữa, các bệnh nhân có giai đoạn TNM cao đều có biểu hiện của *SUMOIP3* cao hơn so với các bệnh nhân ở giai đoạn thấp, cho thấy mối liên hệ tích cực giữa mức độ biểu hiện của *SUMOIP3* và mức độ tiến triển của ung thư gan [150].

Hơn nữa, khi thực hiện ản gen *SUMOIP3* bằng siRNA, nhóm tác giả nhận thấy khả năng tăng sinh, xâm lấn của các tế bào ung thư gan bị ức chế đáng kể. Số lượng tế bào sống sót sau khi giảm *SUMOIP3* giảm rõ rệt so với nhóm đối chứng (sử dụng siRNA không đặc hiệu). Các tế bào còn sống ít hơn trong thử nghiệm hình thành cụm, đồng thời khả năng xâm nhập của tế bào cũng giảm, phản ánh vai trò của *SUMOIP3* trong thúc đẩy sự phát triển và xâm lấn của ung thư gan. Bên cạnh đó, giảm biểu hiện của *SUMOIP3* cũng làm tăng quá trình quá trình chết theo chương trình của tế bào (apoptosis), điều này có nghĩa là phân tử này có thể giúp tế bào ung thư tránh quá trình chết theo chương trình để duy trì sự sống trong quá trình tiến triển. Hơn nữa, các tế bào ung thư gan đã giảm *SUMOIP3* trở nên nhạy cảm hơn với xạ trị, thể hiện qua tỷ lệ sống còn thấp hơn sau xạ trị, từ đó tăng khả năng tiêu diệt tế bào ung thư. Các kết quả này cho thấy *SUMOIP3* đóng vai trò như một yếu tố thúc đẩy sự tiến triển của ung thư gan, đồng thời làm giảm nhạy cảm của tế bào với điều trị xạ. Từ đó, tác giả đề xuất rằng *SUMOIP3* không chỉ là một biomarker dự đoán tiến triển bệnh mà còn là một mục tiêu điều trị tiềm năng. Việc ức chế *SUMOIP3* có thể giúp làm chậm tiến trình ung thư và tăng khả năng tiêu diệt tế bào ung thư bằng xạ trị [150].

Nghiên cứu của nhóm tác giả Yu H. năm 2020 về mức độ biểu hiện của *SUMOIP3* trong mẫu mô bệnh nhân UTBMTBG tiếp tục đánh giá ý nghĩa lâm sàng của *SUMOIP3* trong quá trình điều trị và cho thấy những kết luận tương tự. Theo đó, nghiên cứu này khảo sát vai trò dự báo của mức độ biểu hiện

lncRNA *SUMOIP3* đối với bệnh UTBMTBG. Tổng cộng 123 bệnh nhân UTBMTBG được chẩn đoán bệnh và tiến hành phẫu thuật tại Đại học Y khoa Cửu Long, Trung Quốc, trong khoảng thời gian từ tháng 3 năm 2014 đến tháng 11 năm 2019. Mẫu mô ung thư và mô gan bình thường kề bên được thu thập để phân tích biểu hiện *SUMOIP3* bằng kỹ thuật RT-PCR định lượng. Phương pháp nghiên cứu bao gồm xác định mức biểu hiện tương đối của *SUMOIP3* sử dụng kỹ thuật PCR theo chu kỳ nhiệt, với chuẩn hóa dữ liệu theo GAPDH. Sự khác biệt về biểu hiện giữa mô ung thư và mô bình thường được phân tích bằng kiểm định t cho mẫu ghép đôi. Phân tích tương quan giữa mức biểu hiện *SUMOIP3* và các yếu tố lâm sàng - mô học được sử dụng kiểm định Chi-square; thời gian sống còn được đánh giá bởi phương pháp Kaplan - Meier và kiểm định log-rank; các yếu tố dự báo độc lập của tiên lượng được đánh giá qua mô hình hồi quy Cox đa biến. Kết quả chính cho thấy mức biểu hiện của *SUMOIP3* trong mô ung thư cao hơn đáng kể so với mô gan bình thường kề bên (trung bình $\pm$ SD: $4,341 \pm 1,320$ so với $1,000 \pm 0,367$; $p < 0,001$). Phân tích Chi-square chỉ ra biểu hiện *SUMOIP3* có ý nghĩa thống kê với kích thước khối u ($p = 0,031$), xâm lấn bao gan ($p = 0,011$), xâm lấn mạch máu ($p = 0,004$), mức độ phân bào theo Edmondson - Steiner ($p = 0,002$) và giai đoạn TNM ($p = 0,001$). Trong nhóm 123 bệnh nhân, 63 trường hợp có mức biểu hiện *SUMOIP3* cao hơn mức trung vị và 60 trường hợp còn lại có mức thấp hơn. Biểu đồ Kaplan - Meier cho thấy bệnh nhân nhóm biểu hiện *SUMOIP3* cao có thời gian sống còn trung bình 5 năm thấp hơn đáng kể so với nhóm biểu hiện thấp ($p = 0,034$). Phân tích hồi quy đa biến xác nhận rằng mức biểu hiện *SUMOIP3* là yếu tố dự báo độc lập cho tử vong với hazard ratio (HR): 2,107; 95%CI: 1,478 - 9,014; $p = 0,031$ [151].

Như vậy, kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Yu H. cho thấy LncRNA đóng vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học và phát triển ung thư. *SUMOIP3* trước đây đã được ghi nhận có vai trò trong nhiều loại ung thư, đóng

góp vào sự phát triển ác tính qua các con đường phân tử khác nhau. Những dữ liệu từ nghiên cứu này lần đầu tiên chứng minh mối liên hệ rõ ràng giữa biểu hiện *SUMO1P3* tại mô và tiên lượng của bệnh nhân UTBMTBG. Nghiên cứu cũng ghi nhận hạn chế khi chỉ khảo sát ở dân số người châu Á và chưa đánh giá biểu hiện *SUMO1P3* trong huyết thanh bệnh nhân, tiềm năng cho chẩn đoán và theo dõi. Mức biểu hiện mô của *SUMO1P3* có thể là một biomarker đáng tin cậy để dự báo kết quả lâm sàng của bệnh nhân UTBMTBG, từ đó cung cấp một cơ sở phân tầng nguy cơ và hỗ trợ quyết định điều trị trong tương lai.

4.2.3. Biểu hiện tương đối gen *NF-κB p65* và *NF-κB p50* trong mô u và mô cận u

Bên cạnh các gen *SUMO1*, *SUMO2* và *SUMO3*, nghiên cứu của chúng tôi đã đánh giá mức độ biểu hiện của *NF-κB p65* và *p50*, 2 thành viên của họ *NF-κB* đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa tình trạng viêm và quá trình hình thành khối u. Chúng tôi quan sát thấy mức độ biểu hiện mRNA của *NF-κB p65* và *p50* ở khối u UTBMTBG so với các mô không phải khối u lân cận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả mức độ biểu hiện *NF-κB p65* và *p50* trong mô gan ở bệnh nhân UTBMTBG chưa có sự thống nhất trong kết quả của các nghiên cứu trên thế giới. Nghiên cứu của tác giả Jiang C. và cộng sự (2024) ở bệnh nhân UTBMTBG thu thập tại Bệnh viện Đại học An Huy (Trung Quốc) cho thấy mức độ biểu hiện của *NF-κB p65* tăng cao ở mô ung thư so với mô lân cận u [152]. Hơn nữa, việc biểu hiện quá mức của gen *SUMO1* có tác dụng thúc đẩy quá trình xâm nhập vào nhân tế bào của protein *p65* đã được SUMO hóa và làm tăng hoạt động phiên mã của *NF-κB*. Ngược lại, nghiên cứu của Liu J. và cộng sự (2015) lại ghi nhận *NF-κB p65* biểu hiện mạnh trong các mô gan không ung thư và chủ yếu tập trung ở nhân tế bào, nơi nó kích hoạt các gen liên quan tới viêm và tiền ung thư. Trong mô ung thư, biểu hiện của *p65* giảm đáng kể và phân bố chủ yếu ở vùng tế bào chất, cho thấy sự thay đổi trong cài đặt

phân phối của *p65* theo quá trình bệnh lý. Phân tích thống kê cho thấy, mức biểu hiện *p65* trong mô không ung thư cao hơn rõ rệt so với mô ung thư ($p < 0,01$), và có mối tương quan mạnh với biểu hiện của *SUMO2/3* (hệ số tương quan $r = 0,800$; $p = 0,006$) [107]. Tác giả Silva-Gomez và cộng sự còn chứng minh điều hòa giảm biểu hiện *NF- κ B p65* có thể ức chế sự tiến triển của UTBMTBG [153].

Như vậy, sự trái ngược về kết quả nghiên cứu đánh giá biểu hiện các gen của con đường tín hiệu *NF- κ B* cho thấy vẫn cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu hơn với cỡ mẫu lớn, đa trung tâm để khẳng định rõ vai trò của biểu hiện *NF- κ B* trong bệnh sinh UTBMTBG nhằm có thể ứng dụng dấu ấn này trong chẩn đoán, tiên lượng và điều trị căn bệnh có độ ác tính vào hàng cao nhất hiện nay.

4.2.4. Mối tương quan giữa mức độ biểu hiện các gen nghiên cứu

SUMO hoá được biết là có liên quan đến quá trình sinh bệnh của UTBMTBG bằng cách ảnh hưởng đến nhiều protein trong một số con đường truyền tín hiệu, bao gồm con đường *NF- κ B*. Kết quả của chúng tôi cho thấy, trong mô ung thư, mức độ biểu hiện các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF- κ B p65* và *NF- κ B p50* đều có mối tương quan thuận mức độ trung bình trở lên. Cụ thể, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong mẫu mô ung thư, biểu hiện tương đối của gen *NF- κ B p50* với biểu hiện của các gen *SUMO1* và *SUMO3* có mối tương quan thuận, mức độ trung bình (Hệ số tương quan r lần lượt là 0,38 và 0,40; các $p < 0,05$). Trái lại, biểu hiện gen *SUMO2* không ghi nhận mối tương quan tuyến tính với biểu hiện của các gen họ *NF- κ B*. Hơn nữa, biểu hiện của gen *NF- κ B p65* cũng không ghi nhận có mối tương quan tuyến tính với biểu hiện các gen thuộc họ *SUMO* đang nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy, mối tương quan của biểu hiện các gen thuộc họ *SUMO* và *NF- κ B* có sự khác biệt trong mẫu mô cận u so với mô ung thư. Theo đó, biểu hiện gen *NF- κ B p65* đều có mối tương quan tuyến tính thuận, mức độ trung

bình với biểu hiện các gen thuộc họ *SUMO* (Hệ số tương quan r : $0,33 - 0,49$; $p < 0,05$). Trong khi, biểu hiện gen *NF- κ B p50* chỉ ghi nhận mối tương quan thuận mức độ yếu với biểu hiện gen *SUMO3* (Hệ số tương quan $r = 0,26$; $p = 0,03$). Như vậy, rõ ràng mối tương quan giữa biểu hiện các gen thuộc họ *SUMO* và *NF- κ B* có sự khác biệt giữa mô ung thư và mô cận u. Điều này hết sức thú vị và cần nhiều nghiên cứu tương lai để xác nhận lại và làm rõ hơn.

Một nghiên cứu của tác giả trước đây đã chỉ ra rằng SUMO hoá của *NF- κ B p65* bởi protein SUMO1 có thể thúc đẩy quá trình nhập nhân p65, tăng hoạt động của *NF- κ B* và góp phần gây ra UTBMTBG [152]. Trong nghiên cứu này, Jiang và cộng sự đã cho thấy, tỷ lệ tế bào dương tính với *SUMO1* và *NF- κ B p65* có mối tương quan mức độ trung bình ($r = 0,687$, $p = 0,013$). Bên cạnh đó, tác giả Liu J. và cộng sự (2016) trong nghiên cứu trên cả các dòng tế bào ung thư gan như HepG2 và mẫu mô gan UTBMTBG ở bệnh nhân được điều trị trong bệnh viện cho thấy cả *SUMO1* và *NF- κ B p65* trong các mô khối u đều tăng đáng kể so với mức độ trong các mô lân cận khối u ($p < 0,01$ và $< 0,001$, tương ứng). Ngoài ra, kết quả phân tích cũng cho thấy, có mối tương quan thuận, mức độ chặt chẽ giữa *SUMO1* và *NF- κ B p65* trong các mô gan của bệnh nhân UTBMTBG bị nhiễm HBV ($r = 0,851$, $p = 0,002$) [106]. Như đã biết, *NF- κ B p65* là một trong những tiểu đơn vị quan trọng nhất của họ *NF- κ B* và chủ yếu tồn tại ở tế bào chất. Các cơ chế bệnh sinh của UTBMTBG đã cho thấy, *NF- κ B p65* xâm nhập vào nhân tế bào là điều kiện tiên quyết để kích hoạt các gen mục tiêu của nó và duy trì hoạt động phiên mã của *NF- κ B*. Do đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi gợi ý nhận định rằng quá trình SUMO hoá liên quan đến *SUMO1* có thể liên quan đến sự di chuyển vị trí từ tế bào chất vào trong nhân của *NF- κ B p65*.

Ngoài ra, nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận mối tương quan giữa mức độ biểu hiện của gen *NF- κ B p50* với *SUMO1* (Hệ số tương quan $r = 0,38$; $p = 0,001 < 0,05$) và *SUMO3* (Hệ số tương quan $r = 0,40$; $p = 0,0006$)

trong các mẫu mô ung thư. Kết quả này cho thấy *NF- κ B p50* có thể được SUMO hóa bởi gen *SUMO*, dẫn đến những bất thường trong chu kỳ tế bào. Tác giả Liu và cộng sự trong công bố năm 2015 trên nhóm bệnh nhân UTBMTBG cho thấy, nồng độ *SUMO2/3* bị điều hòa tiêu cực trong mô khối u so với mô lân cận khối u, trái lại *NF- κ B p65* có tình trạng tăng cao trong mô ung thư so với mô gan lân cận. Ngoài ra, có mối tương quan thuận, mức độ mạnh giữa biểu hiện của *SUMO2/3* với *NF- κ B p65* trong các mô gan nói chung ($r = 0,80$; $p = 0,006$). Sự tương tác giữa *NF- κ B p65* và *SUMO2/3* đã được xác định bằng xét nghiệm đồng kết tủa miễn dịch và miễn dịch huỳnh quang gắn nhãn kép. Xử lý bằng TNF- α (10 ng/mL) trong 30 phút không chỉ điều hòa tăng *SUMO2/3* liên hợp với tế bào chết mà còn tăng cường tương tác *SUMO2/3-p65*. Hơn nữa, sự biểu hiện quá mức *SUMO2/3* làm giảm khả năng tăng sinh của các tế bào gan, nhưng không ảnh hưởng đến quá trình di căn [107]. Các kết quả nghiên cứu trên dẫn đến đề xuất rằng *SUMO2* cũng có thể tham gia vào quá trình SUMO hoá của *NF- κ B p65* và *p50* trong khối u UTBMTBG. Mặc dù kết quả của chúng tôi được tìm thấy ở những bệnh nhân UTBMTBG bị nhiễm HBV, nhưng kết quả tương tự cũng có thể được tìm thấy ở những bệnh nhân UTBMTBG có liên quan đến các yếu tố khác [154]. Tuy nhiên, tương tác giữa các protein SUMO với con đường truyền tín hiệu NF- κ B có thể dễ bị UTBMTBG hơn do viêm gan virus mạn tính.

4.3. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

4.3.1. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô ung thư với đặc điểm lâm sàng

Bên cạnh các kết quả về biểu hiện tương đối của các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mẫu mô ung thư, so sánh với biểu hiện của các gen này trong mẫu mô lân cận khối u ở mỗi bệnh nhân,

nghiên cứu này cũng thu được các kết quả về mối liên quan giữa biểu hiện các gen này với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân. Trên thực tế, do đảm bảo tính khả thi khi thực hiện đề tài, các mẫu mô thu thập đều của những bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật triệt căn khối u gan. Do đó, trong số 69 bệnh nhân UTBMTBG tham gia nghiên cứu, có đến 58 bệnh nhân (chiếm 84,06%) đều ở giai đoạn sớm và rất sớm, phân loại theo BCLC. Hơn nữa, phân độ mô học theo WHO, chỉ có 7/69 bệnh nhân ở giai đoạn biệt hóa kém, đây là những bệnh nhân bị thay đổi phân loại sau kết quả mô bệnh học từ mô thu được khi phẫu thuật. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu chúng tôi thu được về mối liên quan giữa biểu hiện của các gen quan tâm với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng có thể sẽ bị ảnh hưởng đáng kể do cách chọn mẫu này.

Các triệu chứng cơ năng khai thác được từ bệnh nhân UTBMTBG, gồm có tuổi, giới, mệt mỏi, chán ăn, đau hạ sườn phải... đều được khảo sát mối liên quan với mức độ biểu hiện các gen quan tâm. Kết quả cho thấy, với các đặc điểm lâm sàng, biểu hiện của gen *NF- κ B p50* trong mô ung thư có sự khác biệt giữa nhóm người bệnh ≥ 60 tuổi so với những người còn lại, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,0005$).

4.3.2. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô ung thư với đặc điểm cận lâm sàng

Với các đặc điểm cận lâm sàng, biểu hiện của gen *SUMO3* và nồng độ Albumin huyết tương có mối tương quan thuận, mức độ yếu (Hệ số tương quan $r = 0,24$; $p = 0,04$). Các triệu chứng cận lâm sàng thu thập được trên nhóm bệnh nhân nghiên cứu chính gồm có các chỉ số sinh hóa máu liên quan đến hoạt độ các enzym gan (AST và ALT); chỉ số AFP máu ngoại vi; các thông số về đặc điểm khối u gan (vị trí, kích thước u lớn nhất, số lượng, huyết khối tĩnh mạch cửa, di căn ngoài gan). Kết quả nghiên cứu này không ghi nhận có sự khác biệt về mức độ biểu hiện của các gen quan tâm với các đặc điểm cận lâm sàng của người tham gia nghiên cứu.

Như đã đề cập ở trên, một nghiên cứu đánh giá toàn diện về mối tương quan lâm sàng giữa nồng độ alpha-fetoprotein (AFP) khi chẩn đoán và các cấp độ bệnh lý, tình trạng tiến triển và khả năng sống sót của bệnh nhân UTBMTBG [149]. Tổng cộng 78.743 bệnh nhân trong UTBMTBG đã đăng ký Chương trình giám sát, dịch tễ học và kết quả cuối cùng đã được phân tích. Kết quả xét nghiệm AFP đối với bệnh nhân UTBMTBG chủ yếu được ghi nhận là AFP âm tính và AFP dương tính. Phân tích hồi quy logistic cho thấy mức AFP khi chẩn đoán là yếu tố nguy cơ độc lập của cấp độ bệnh lý (tỷ lệ chênh lệch [OR]: 2,559; 95%CI: 2,075 - 3,157; $p < 0,001$), giai đoạn TNM-7 (OR: 2,794; 95%CI: 2,407 - 3,242; $p < 0,001$) và kích thước khối u ([OR]: 1,748; 95%CI: 1,574 - 1,941; $p < 0,001$). Phân tích hồi quy Cox đa biến xác định nồng độ AFP là một yếu tố dự báo độc lập về nguy cơ sống sót của những bệnh nhân UTBMTBG không phẫu thuật (tỷ lệ nguy cơ [HR]: 1,660; 95% CI: 1,534 - 1,797; $p < 0,001$) và những bệnh nhân đã phẫu thuật ([HR]: 1,534; 95%CI: 1,348 - 1,745; $p < 0,001$). Các kết quả nghiên cứu đã chứng minh, nồng độ AFP tại thời điểm chẩn đoán là một yếu tố dự báo nguy cơ độc lập liên quan đến cấp độ bệnh lý, tiến triển và khả năng sống sót của bệnh nhân UTBMTBG.

Tác giả Ong J.R. và cộng sự trong một công bố năm 2021 nghiên cứu trên 54 mẫu mô ung thư của bệnh nhân UTBMTBG điều trị tại Bệnh viện Shuang Ho, Đại học Y khoa Đài Bắc (Đài Loan) đã đánh giá mức độ biểu hiện của gen *SAE1*, *SUMO1*, *SUMO2* và *UBC9* giữa mẫu mô ung thư và mô lân cận u. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, biểu hiện của *SAE1* không có sự khác biệt giữa các nhóm tuổi (≤ 65 và > 65 ; $p = 0,494$); nồng độ AFP (< 400 ng/mL và ≥ 400 ng/mL; $p = 0,379 > 0,05$). Hơn nữa, phân tích hồi quy Cox cũng chứng minh biểu hiện của *SAE1* ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG không có liên quan với mức nồng độ AFP (HR: 1,053; 95%CI: 0,29 - 3,821; $p = 0,9378$) [83]. Dù nghiên cứu không đề cập đến mối liên quan giữa nồng

độ AFP máu ngoại vi với mức độ biểu hiện của các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* ở bệnh nhân UTBMTBG, tuy nhiên *SAE1* là tiểu đơn vị 1 của enzym hoạt hóa SUMO, một thành phần của chất điều chỉnh liên quan đến ubiquitin nhỏ di hợp tử đóng vai trò quan trọng trong SUMO hoá, một sửa đổi sau dịch mã liên quan đến các sự kiện tế bào như điều hòa phiên mã, chu kỳ tế bào và quá trình chết theo chương trình. Sự biểu hiện quá mức của *SAE1* trong u thần kinh đệm theo cách phụ thuộc vào giai đoạn cho thấy nó có thể có vai trò trong quá trình khởi phát và tiến triển của ung thư.

Bên cạnh các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng, nghiên cứu của chúng tôi cũng khảo sát mối liên quan giữa biểu hiện của các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* với một số đặc điểm của khối u, gồm có: vị trí khối u (thùy phải và vị trí khác); kích thước khối u lớn nhất (< 50 mm và $\geq$ 50 mm); số lượng (1 khối u và > 1 khối u); tình trạng huyết khối tĩnh mạch cửa (có và không); di căn ngoài gan (có và không); cấu trúc khối u (dạng bè và dạng khác); hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch (có và không) và tình trạng xơ gan kèm theo (có và không). Kết quả nghiên cứu cho thấy, mức độ biểu hiện gen *SUMO1* và *NF- κ B p50* không có liên quan tới vị trí khối u, kích thước khối u hay tình trạng huyết khối tĩnh mạch cửa; đặc điểm cấu trúc u trên mô bệnh học, hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch hoặc tình trạng xơ gan kèm theo ở bệnh nhân. Riêng tình trạng di căn ngoài gan, chỉ ghi nhận 01/69 bệnh nhân có di căn ngoài gan, do đó các phân tích thống kê không đảm bảo yêu cầu dữ liệu đầu vào.

Về mối liên quan giữa biểu hiện các gen thuộc họ *SUMO* và *NF- κ B* với các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng, nhóm tác giả Chen J. và cộng sự trong một công bố năm 2021 trên 70 mẫu mô ung thư và mô lân cận u tương ứng ở bệnh nhân UTBMTBG trải qua phẫu thuật cắt một phần gan, từ năm 2012 đến 2013 tại bệnh viện Đại học Y Phúc Kiến (Trung Quốc) cho thấy một số kết quả khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [13]. Tác giả nghiên cứu

đánh giá mức độ biểu hiện của gen *SUMO2* so với gen tham chiếu *GAPDH* bằng kỹ thuật qRT-PCR và đánh giá mối liên quan với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng như giới tính, tuổi (≥ 48 và < 48 tuổi), phân độ mô học (biệt hóa cao, biệt hóa trung bình và kém), kích thước khối u ($\geq 7,50$ cm và $< 7,50$ cm), tình trạng di căn xa (có và không), tình trạng xâm nhập tĩnh mạch (có và không), giai đoạn T (T1+T2 và T3+T4) và tình trạng sống sót của bệnh nhân. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mức độ biểu hiện tương đối của gen *SUMO2* so với gen tham chiếu *GAPDH* có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh nhân khác nhau về tình trạng di căn xa; tình trạng xâm nhập tĩnh mạch và tình trạng sống sót của bệnh nhân (các $p < 0,001$). Trái lại, biểu hiện của *SUMO2* không có sự khác biệt phân nhóm theo mức tuổi, giới tính, phân độ mô học; kích thước khối u và giai đoạn T của bệnh (các $p > 0,05$). Phân tích hồi quy Cox đa biến bao gồm tuổi, giới tính, mức độ biệt hóa, kích thước khối u, giai đoạn T, sự hiện diện của di căn hạch bạch huyết và xâm lấn mạch máu, và các đặc điểm lâm sàng - bệnh lý khác làm biến số để kiểm tra liệu biểu hiện protein SUMO2 có ảnh hưởng đến tiên lượng của bệnh nhân UTBMTBG hay không. Kết quả phân tích này cho thấy tình trạng di căn hạch bạch huyết, xâm lấn mạch máu và trạng thái biểu hiện protein SUMO2 là các yếu tố tiên lượng độc lập đối với tình trạng sống sót của bệnh nhân UTBMTBG (tỷ lệ nguy cơ [HR] lần lượt: 2,12; 2,24 và 2,35; các $p < 0,05$). Cuối cùng, kiểm định chi-square/ Fisher's exact đã được sử dụng để phân tích mối tương quan giữa biểu hiện SUMO2 và các đặc điểm lâm sàng - bệnh lý ở 70 bệnh nhân UTBMTBG. Các biến số bao gồm tuổi, giới tính, mức độ biệt hóa, kích thước khối u, giai đoạn T và sự hiện diện của di căn hạch bạch huyết và xâm lấn mạch máu. Biểu hiện cao của protein SUMO2 được phát hiện có liên quan chặt chẽ với di căn hạch bạch huyết (85,3%) và xâm lấn mạch máu (87,5%), với tỷ lệ tử vong cao (82,0%), nhưng không tương quan đáng kể với các đặc điểm lâm sàng bệnh lý khác như kích thước khối u; giai đoạn T; phân độ mô học... Những kết quả

này cho thấy rằng protein SUMO2 có thể là một yếu tố tiên lượng độc lập đối với bệnh nhân mắc UTBMTBG. Di căn khối u liên quan đến sự di cư và gieo mầm của các tế bào ung thư tại các vị trí thứ phát và là nguyên nhân gây ra hầu hết các ca tử vong liên quan đến ung thư. Do đó, biện pháp quan trọng nhất để giảm tỷ lệ mắc bệnh và tử vong là phòng ngừa hoặc loại trừ di căn khối u [155].

Tương tự với kết luận trên, tác giả Ong J.R. và cộng sự trong công bố năm 2021 cũng cho thấy, bất kể các trường hợp bị loại trừ, biểu hiện trung bình của mRNA *SAE1* vẫn được điều chỉnh tăng đáng kể trong các mẫu khối u ($\approx 1,1$ lần, $p < 0,0001$). Bên cạnh đó, biểu hiện của gen *SAE1* tăng theo giai đoạn UTBMTBG, bằng chứng là biểu hiện cao hơn ở giai đoạn tiến triển (giai đoạn III/IV) và giai đoạn II so với giai đoạn I hoặc không phải khối u (giai đoạn II-IV > giai đoạn I >> không phải khối u) ($p < 0,0001$), cho thấy biểu hiện tăng của *SAE1* là nguyên nhân gây khối u và liên quan đến tiến triển của bệnh. Hơn nữa, biểu hiện của *SAE1* tăng khi cấp độ mô học tăng ($p < 0,0001$), không rõ ràng đối với giới tính và cao hơn một chút ở những bệnh nhân < 60 tuổi. Hơn nữa, biểu hiện *SAE1* trong T1 < T2 < T3 < T4 ($p = 0,0009$), cao hơn một chút ở N1 và M1 so với N0 ($p = 0,255$) và M0 ($p = 0,682$), tương ứng [83]. Sự khác biệt về kết quả nghiên cứu của chúng tôi và nhóm tác giả Chen J. về mối liên quan của mức biểu hiện *SUMO2* với các đặc điểm khối u như kích thước khối u hay tình trạng di căn xa... có thể do sự khác biệt về nhóm nghiên cứu, cũng như kỹ thuật sử dụng trong phân tích biểu hiện các gen mục tiêu. Ngoài ra, cỡ mẫu nhỏ và cách chọn mẫu chỉ được thu thập ở những bệnh nhân ở giai đoạn bệnh sớm và rất sớm theo phân loại BCLC cũng có thể là yếu tố gây nhiễu trong các kết luận liên quan giữa biểu hiện các gen mục tiêu và triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân UTBMTBG.

Hệ thống phân loại UTBMTBG BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) xem xét tất cả các yếu tố như: số lượng và kích thước khối u trong gan; tình

trạng sức khỏe và thể lực chung (PS) và tình trạng chức năng gan (hệ thống điểm Child - Pugh). Nghiên cứu này có 58/69 bệnh nhân ở giai đoạn BCLC 0 và A (sớm và rất sớm), chỉ có 11/69 bệnh nhân ở giai đoạn BCLC B và C (giai đoạn trung gian và tiến triển – có nhiều khối u trong gan hoặc tế bào ung thư đã lan vào các tĩnh mạch, hạch bạch huyết hoặc cơ quan khác) do ảnh hưởng của tiêu chuẩn lựa chọn trên những người bệnh đủ điều kiện phẫu thuật triệt căn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã so sánh mức độ biểu hiện của gen *SUMO* và *NF-κB* giữa các khối u giai đoạn đầu và giai đoạn sau. Chúng tôi quan sát thấy rằng biểu hiện mRNA của *SUMO*, *NF-κB p65* và *NF-κB p50* thấp hơn ở giai đoạn đầu (giai đoạn 0 và A) so với giai đoạn B và C của hệ thống phân loại BCLC; tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Với các luận điểm đã đề cập về vai trò của các gen mục tiêu là các *SUMO*; *NF-κB p65* và *p50* đối với sự hình thành, phát triển và tiên lượng khả năng sống sót của bệnh nhân UTBMTBG, kết luận trên là khá phù hợp khi những bệnh nhân ở giai đoạn muộn có mức độ biểu hiện các gen trên ở trong mô ung thư cao hơn so với những bệnh nhân giai đoạn sớm.

Bên cạnh đó, dù không đề cập rõ ràng như nghiên cứu của chúng tôi, tác giả Chen J. và cộng sự (2021) cũng cho thấy, không có sự khác biệt về biểu hiện của gen *SUMO2* giữa nhóm bệnh nhân có phân độ mô học biệt hóa cao với nhóm bệnh nhân có phân độ mô học trung bình hoặc kém biệt hóa ($p = 0,315 > 0,05$). Trong khi, theo tác giả Ong J. R., mức độ biểu hiện của *SEAI* (phân nhóm dựa trên giá trị điểm cắt của biểu hiện *SAEI* đối với chẩn đoán UTBMTBG) có sự khác biệt theo giai đoạn khối u [83]. Cụ thể, có đến 15/22 bệnh nhân (%) ở giai đoạn III và IV có mức biểu hiện *SAEI* cao, trong khi có 18/32 bệnh nhân (%) ở giai đoạn I+II có mức biểu hiện *SAEI* thấp ($p = 0,021 < 0,05$). Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi và một số nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đều cho thấy, vì các giới hạn của nghiên cứu ở cỡ mẫu, phân loại bệnh UTBMTBG không thể hiện mối liên quan đối với biểu hiện của cá

gen *SUMO*, *NF-κB p65* và *p50*, mặc dù các nghiên cứu cho thấy rằng sự gia tăng biểu hiện của *SUMO* và *NF-κB* có thể thúc đẩy sự tiến triển của khối u đến trạng thái hung hãn hơn [13], [156].

Bên cạnh phân chia giai đoạn bệnh UTBMTBG theo hệ thống điểm BCLC, các nhà lâm sàng còn sử dụng hệ thống phân loại mô học của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO). Hệ thống phân loại mô học của WHO dựa trên phương pháp nhuộm HE và so sánh sự biệt hóa của tế bào khối u với tế bào gan lành tính. WHO công bố hệ thống gồm có ba giai đoạn là UTBMTBG biệt hóa tốt (G1), biệt hóa vừa phải (G2) và biệt hóa kém (G3) [157]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, với hệ thống phân loại của WHO, biểu hiện của *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3*, *NF-κB p50* ở giai đoạn biệt hóa kém không có sự khác biệt so với giai đoạn biệt hóa cao và vừa trong mô khối u UTBMTBG (các $p > 0,05$). Hơn nữa, biểu hiện của gen *NF-κB p65* cao hơn ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa cao và vừa so với nhóm bệnh nhân UTBMTBG biệt hóa kém theo hệ thống phân loại của WHO về giai đoạn bệnh. Kết quả trái ngược này có thể được giải thích bởi quy mô mẫu hạn chế của những bệnh nhân mắc UTBMTBG giai đoạn G3 theo WHO trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ là 7/69 bệnh nhân UTBMTBG, đây là những bệnh nhân phải thay đổi chẩn đoán phân loại vì sự cập nhật của các chẩn đoán nhuộm HE trên mẫu mô sau phẫu thuật. Đây có thể là một trong những hạn chế của nghiên cứu hiện tại. Một hạn chế khác là hồ sơ biểu hiện của gen *SUMO* và *NF-κB* chưa được xác nhận bằng các phương pháp khác, chẳng hạn như Western blot hoặc miễn dịch mô học. Do đó, các kỹ thuật này nên được bổ sung để xác nhận biểu hiện của chúng trong mô UTBMTBG trước khi coi chúng là dấu ấn sinh học của UTBMTBG.

Trong công bố của tác giả Yu H. đã đề cập trên 123 bệnh nhân UTBMTBG được chẩn đoán bệnh và tiến hành phẫu thuật cắt bỏ u tại Khoa Phẫu thuật Gan Mật tụy, Bệnh viện Phụ thuộc thứ hai, Đại học Y khoa Cửu Long, Trung Quốc,

trong khoảng thời gian từ tháng 3 năm 2014 đến tháng 11 năm 2019 có ghi nhận sự khác biệt về biểu hiện của *SUMOIP3* giữa các nhóm người tham gia khác nhau về phân độ mô học theo Edmondson - Steiner. Theo đó, có 40/60 (66,67%) bệnh nhân có mức biểu hiện *SUMOIP3* thấp thuộc phân độ ES I và II, trong khi có tới 39/63 (61,90%) bệnh nhân có mức biểu hiện *SUMOIP3* cao thuộc phân độ ES III và IV ($p = 0,001$). Hơn nữa, phân tích đa biến cho thấy, phân độ mô học theo ES, cùng với tình trạng huyết khối tĩnh mạch và mức độ biểu hiện gen *SUMOIP3* là những yếu tố tiên lượng độc lập đối với thời gian sống của bệnh nhân UTBMTBG. Cụ thể, nhóm bệnh nhân có biểu hiện cao của *SUMOIP3* cũng có thời gian sống sót ngắn hơn, cho thấy mức độ ác tính cao hơn ở các khối u có phân độ thấp. *SUMOIP3* là yếu tố tiên lượng độc lập với tỷ lệ nguy cơ tử vong (hazard ratio).

Cơ chế bệnh sinh liên quan có thể là do *SUMOIP3* được cho là kích hoạt con đường tín hiệu Wnt/ β -catenin, qua đó thúc đẩy tính xâm lấn và tăng sinh của tế bào ung thư, góp phần làm giảm biệt hóa mô. Những dữ liệu trên cho thấy, biểu hiện của gen giả *SUMO1* như *SUMOIP3* là một chỉ dấu sinh học tiềm năng trong chẩn đoán và dự báo biến chứng ở bệnh nhân UTBMTBG.

HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên mẫu mô ung thư và mẫu mô lân cận khối u tương ứng thu thập ở 69 bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTBMTBG có HBsAg dương tính, điều trị nội trú tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện TWQĐ 108 và Bệnh viện K3, Hà Nội. Để đảm bảo tính khả thi của đề tài, toàn bộ bệnh nhân đều được lựa chọn trong nhóm đủ tiêu chuẩn phẫu thuật triệt căn. Hạn chế về cỡ mẫu nghiên cứu và lựa chọn bệnh nhân chủ yếu ở giai đoạn sớm theo phân loại BCLC. Điều này ảnh hưởng rõ rệt tới chiều hướng của các phân tích thống kê do sự mất cân đối về cỡ mẫu phân tích, hoặc hạn chế trong việc phân nhóm số liệu theo các tiêu chí khác nhằm loại bỏ các yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng.

Bên cạnh đó, mức độ biểu hiện các gen *SUMO* và *NF- κ B* được đánh giá một cách tương đối so với biểu hiện của gen tham chiếu là *GADPH* chỉ bằng kỹ thuật RTq-PCR với chất huỳnh quang SYBGR, mà chưa có điều kiện xác nhận bằng các phương pháp tham chiếu khác như Western blot hoặc miễn dịch mô học. Do vậy, các kết luận đưa ra có thể chưa đạt mức độ tin cậy như kỳ vọng, đặc biệt khi thực hiện so sánh với các nghiên cứu của tác giả khác trên thế giới nhằm xem xét các điểm phù hợp và chưa phù hợp giữa các nghiên cứu. Vì thế, các kỹ thuật trên có thể nên được bổ sung trong nghiên cứu tương lai, nhằm đưa ra kết luận có tính khẳng định tốt hơn về vấn đề biểu hiện gen *SUMO*, *NF- κ B* và mối liên quan của mức độ biểu hiện các gen này với triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg (+).

Nghiên cứu chưa phân tích được vai trò của nhiễm HBV (HBV-DNA, HBx, HBcrAg, HBsAg định lượng...) và mối liên quan giữa các yếu tố của HBV với biểu hiện các gen đích. Bên cạnh đó, nghiên cứu còn thiếu nhóm chứng BN UTBMTBG có HBsAg (-). Tuy nhiên điều này cũng gợi mở cho các hướng nghiên cứu trong tương lai về lĩnh vực này.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô gan và mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở 69 bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg dương tính và đủ điều kiện phẫu thuật, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô u và mô cận u ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

- Biểu hiện gen *SUMO2* cao hơn ở mẫu mô ung thư so với mô cận u trên bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg dương tính (Trung vị (tứ phân vị) lần lượt là: 4,88 (0,38 – 6,24) so với 0,22 ((-1,58) – 5,94); $p = 0,01$). Biểu hiện các gen còn lại (*SUMO1*, *SUMO3*, *NF-κB p65* và *NF-κB p50*) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mẫu mô ung thư và mô cận u (các $p > 0,05$).

- Trong mô ung thư, biểu hiện các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* có mối tương quan thuận, mức độ từ yếu đến trung bình (hệ số tương quan r từ 0,37 đến 0,62, $p < 0,05$); trong khi không ghi nhận mối tương quan giữa 2 gen thuộc họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) ($r = 0,21$; $p = 0,08$). Ngoài ra, có mối tương quan thuận, mức độ yếu giữa biểu hiện gen *NF-κB p50* với *SUMO1* và *SUMO3* (hệ số tương quan lần lượt 0,38 và 0,40; theo thứ tự, $p < 0,05$).

- Trong mô cận u, biểu hiện các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* đều có mối tương quan thuận, mức độ chặt chẽ (hệ số tương quan r từ 0,73 đến 0,77; $p < 0,00001$); trong khi đó, cũng ghi nhận mối tương quan mức độ trung bình, thuận giữa 2 gen thuộc họ *NF-κB* (*p65* và *p50*) (hệ số tương quan $r = 0,48$; $p = 0,00002$).

2. Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *NF-κB p50*, *NF-κB p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô u với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

- Với các đặc điểm lâm sàng, biểu hiện gen *NF-κB p50* trong mô ung thư có sự khác biệt giữa nhóm người bệnh ≥ 60 tuổi so với những người còn lại, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,0005$). Ngoài ra không ghi nhận mối liên quan nào khác giữa biểu hiện các gen còn lại với đặc điểm lâm sàng bệnh nhân UTBMTBG.

- Với các đặc điểm cận lâm sàng:

+ Biểu hiện gen *SUMO2* trong mô u liên quan đến nồng độ Bilirubin toàn phần huyết tương (biểu hiện cao hơn ở nhóm có Bilirubin $\leq 21\mu\text{mol/L}$ so với nhóm có Bilirubin $> 21\mu\text{mol/L}$, $p = 0,02$).

+ Mức độ biểu hiện tương đối của gen *NF-κB p65* cao hơn ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG giai đoạn biệt hóa cao - vừa so với UTBMTBG biệt hóa kém, phân độ theo WHO (Trung vị (tứ phân vị): 2,18 ((-4,21) – 5,06) so với (-4,98) (-10,77) – (-2,38)), theo thứ tự; $p = 0,03$).

+ Biểu hiện gen *SUMO3* trong mẫu mô ung thư và nồng độ Albumin huyết tương có mối tương quan thuận, mức độ yếu (hệ số tương quan $r = 0,24$; $p = 0,04$).

KIẾN NGHỊ

Các kết quả nghiên cứu của đề tài cho thấy đặc điểm biểu hiện của các gen *NF- κ B p50*, *NF- κ B p65*, *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mẫu mô ung thư và mẫu mô lân cận u, liên quan đến quá trình SUMO hoá và con đường truyền tín hiệu NF- κ B ở bệnh nhân UTBMTBG. Đặc biệt, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy gen *SUMO2* đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiến triển bệnh UTBMTBG, có tiềm năng trở thành một dấu ấn có thể giúp chẩn đoán, tiên lượng trong thực hành lâm sàng.

Chính vì vậy, cần tiến hành các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn, thời gian theo dõi dài hơn, với phổ quát các giai đoạn của bệnh và bổ sung các kỹ thuật đánh giá khác như Western blot hoặc miễn dịch mô học nhằm tiếp tục làm rõ vai trò của các gen trên trong tiến trình hình thành, phát triển và tiên lượng mức độ ác tính ở bệnh nhân UTBMTBG có HBsAg dương tính.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU
ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Khai N.X., Huy D.Q., Trang D.T. et al.** (2024). Expression of *SUMO* and *NF- κ B* genes in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma patients: An observational study. *Medicine*, 103(26), e38737.
2. **Nguyễn Xuân Khái, Dương Quang Huy, Đỗ Thị Trang, Nguyễn Thanh Hải, Cấn Văn Mão** (2025). Mối liên quan giữa biểu hiện các gen *SUMO1*, *SUMO2*, *SUMO3* trong mô u gan với một số đặc điểm khối u ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+). *Tạp chí Y học Việt Nam*, Tập 555 (số 2), tháng 10 năm 2025.
3. **Nguyễn Xuân Khái, Cấn Văn Mão, Đỗ Thị Trang, Nguyễn Thanh Hải, Dương Quang Huy** (2025). Mối liên quan giữa biểu hiện *NF- κ B p65*, *NF- κ B p50* trong mô u gan với một số đặc điểm khối u ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+). *Tạp chí Y học Việt Nam*, Tập 555 (số 2), tháng 10 năm 2025.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F., Laversanne M., Sung H., et al. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 74(3): 229-63.
2. Pham T., Bui L., Kim G., et al. (2019). Cancers in Vietnam-Burden and Control Efforts: A Narrative Scoping Review. *Cancer Control*, 26(1): 1073274819863802.
3. Llovet J.M., Kelley R.K., Villanueva A., et al. (2021). Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 7(1): 6.
4. Le V.Q., Nguyen V.H., Nguyen V.H., et al. (2019). Epidemiological Characteristics of Advanced Hepatocellular Carcinoma in the Northern Region of Vietnam. *Cancer Control*, 26(1): 1073274819862793.
5. Yeh S.H., Li C.L., Lin Y.Y., et al. (2023). Hepatitis B Virus DNA Integration Drives Carcinogenesis and Provides a New Biomarker for HBV-related HCC. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 15(4): 921-9.
6. Wilson V.G. (2017). Introduction to Sumoylation. *Adv Exp Med Biol*, 963: 1-12.
7. Yuan H., Lu Y., Chan Y. T., et al. (2021). The Role of Protein SUMOylation in Human Hepatocellular Carcinoma: A Potential Target of New Drug Discovery and Development. *Cancers (Basel)*, 13(22).
8. Xiao C., Ghosh S. (2005). NF-kappaB, an evolutionarily conserved mediator of immune and inflammatory responses. *Adv Exp Med Biol*, 560: 41-5.
9. Copetti T., Bertoli C., Dalla E., et al. (2009). p65/RelA modulates BECN1 transcription and autophagy. *Mol Cell Biol*, 29(10): 2594-608.
10. Yu Y., Wan Y., Huang C. (2009). The biological functions of NF-kappaB1 (p50) and its potential as an anti-cancer target. *Curr Cancer Drug Targets*, 9(4): 566-71.

11. Xu X., Lei Y., Chen L., et al. (2021). Phosphorylation of NF- κ Bp65 drives inflammation-mediated hepatocellular carcinogenesis and is a novel therapeutic target. *J Exp Clin Cancer Res*, 40(1): 253.
12. Wang F., Yang J.L., Yu K.K., et al. (2015). Activation of the NF- κ B pathway as a mechanism of alcohol enhanced progression and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 14(1): 10.
13. Chen J., Chen C., Lin Y., et al. (2021). Downregulation of SUMO2 inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation, migration and invasion. *FEBS Open Bio*, 11(6): 1771-84.
14. Yang J.D., Hainaut P., Gores G.J., et al. (2019). A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 16(10): 589-604.
15. Kim D.Y. (2024). Changing etiology and epidemiology of hepatocellular carcinoma: Asia and worldwide. *J Liver Cancer*, 24(1): 62-70.
16. Huang D.Q., Singal A.G., Kono Y., et al. (2022). Changing global epidemiology of liver cancer from 2010 to 2019: NASH is the fastest growing cause of liver cancer. *Cell Metab*, 34(7): 969-77.e2.
17. Tan Y., Zhang X., Zhang W., et al. (2019). The Influence of Metabolic Syndrome on the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Infection in Mainland China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 28(12): 2038-46.
18. Motta B.M., Masarone M., Torre P., et al. (2023). From Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) to Hepatocellular Carcinoma (HCC): Epidemiology, Incidence, Predictions, Risk Factors, and Prevention. *Cancers (Basel)*, 15(22): 5458.
19. Ramai D., Singh J., Lester J., et al. (2021). Systematic review with meta-analysis: bariatric surgery reduces the incidence of hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther*, 53(9): 977-84.

20. Yeung P., Wong D.K., Lai C.L., et al. (2011). Association of hepatitis B virus pre-S deletions with the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B. *J Infect Dis*, 203(5): 646-54.
21. Yuen M.F., Tanaka Y., Shinkai N., et al. (2008). Risk for hepatocellular carcinoma with respect to hepatitis B virus genotypes B/C, specific mutations of enhancer II/core promoter/precore regions and HBV-DNA levels. *Gut*, 57(1): 98-102.
22. Jang T.Y., Wei Y.J., Liu T.W., et al. (2021). Role of hepatitis D virus infection in development of hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B patients treated with nucleotide/nucleoside analogues. *Sci Rep*, 11(1): 8184.
23. Hu J., Liu K., Luo J. (2019). HIV-HBV and HIV-HCV Coinfection and Liver Cancer Development. *Cancer Treat Res*, 177: 231-50.
24. Varghese N., Majeed A., Nyalakonda S., et al. (2024). Review of Related Factors for Persistent Risk of Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)*, 16(4): 777.
25. Attwa M.H., El-Etreby S.A. (2015). Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*, 7(12): 1632-51.
26. Wang X., Zhang Y., Yang N., et al. (2020). Evaluation of the Combined Application of AFP, AFP-L3%, and DCP for Hepatocellular Carcinoma Diagnosis: A Meta-analysis. *Biomed Res Int*, 2020: 5087643.
27. Candita G., Rossi S., Cwiklinska K., et al. (2023). Imaging Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A State-of-the-Art Review. *Diagnostics (Basel)*, 13(4): 625.
28. Chartampilas E., Rafailidis V., Georgopoulou V., et al. (2022). Current Imaging Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)*, 14(16): 3997.

29. Bộ Y Tế (2020). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan*, Quyết định số: 3129/QĐ-BYT
30. Reig M., Forner A., Rimola J., et al. (2022). BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: The 2022 update. *J Hepatol*, 76(3): 681-93.
31. Jiang Y., Han Q., Zhao H., et al. (2021). The Mechanisms of HBV-Induced Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatocell Carcinoma*, 8: 435-50.
32. Wei F., Zheng Q., Li M., et al. (2017). The association between hepatitis B mutants and hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 96(19): e6835.
33. Pollicino T., Cacciola I., Saffiotti F., et al. (2014). Hepatitis B virus PreS/S gene variants: pathobiology and clinical implications. *J Hepatol*, 61(2): 408-17.
34. Gao Q., Zhu H., Dong L., et al. (2019). Integrated Proteogenomic Characterization of HBV-Related Hepatocellular Carcinoma. *Cell*, 179(2): 561-77.e22.
35. Trung N.T., Hoan N.X., Trung P.Q., et al. (2020). Clinical significance of combined circulating TERT promoter mutations and miR-122 expression for screening HBV-related hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 10(1): 8181.
36. Wang S.H., Yeh S.H., Chen P.J. (2021). Unique Features of Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma in Pathogenesis and Clinical Significance. *Cancers (Basel)*, 13(10): 2454.
37. Saitta C., Tripodi G., Barbera A., et al. (2015). Hepatitis B virus (HBV) DNA integration in patients with occult HBV infection and hepatocellular carcinoma. *Liver Int*, 35(10): 2311-7.

38. Sung W.K., Zheng H., Li S., et al. (2012). Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*, 44(7): 765-9.
39. Song M.A., Kwee S.A., Tiirikainen M., et al. (2016). Comparison of genome-scale DNA methylation profiles in hepatocellular carcinoma by viral status. *Epigenetics*, 11(6): 464-74.
40. Zhao J., Wu G., Bu F., et al. (2010). Epigenetic silence of ankyrin-repeat-containing, SH3-domain-containing, and proline-rich-region-containing protein 1 (ASPP1) and ASPP2 genes promotes tumor growth in hepatitis B virus-positive hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 51(1): 142-53.
41. Gao W., Jia Z., Tian Y., et al. (2020). HBx Protein Contributes to Liver Carcinogenesis by H3K4me3 Modification Through Stabilizing WD Repeat Domain 5 Protein. *Hepatology*, 71(5): 1678-95.
42. Ghouri Y.A., Mian I., Rowe J.H. (2017). Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *J Carcinog*, 16: 1.
43. Yip T.C., Wong V.W., Chan H.L., et al. (2020). Tenofovir Is Associated With Lower Risk of Hepatocellular Carcinoma Than Entecavir in Patients With Chronic HBV Infection in China. *Gastroenterology*, 158(1): 215-25.e6.
44. Thimme R., Wieland S., Steiger C., et al. (2003). CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol*, 77(1): 68-76.
45. Li M., Sun R., Xu L., et al. (2015). Kupffer Cells Support Hepatitis B Virus-Mediated CD8+ T Cell Exhaustion via Hepatitis B Core Antigen-TLR2 Interactions in Mice. *J Immunol*, 195(7): 3100-9.
46. Cheng Y., Zhu Y. O., Becht E., et al. (2019). Multifactorial heterogeneity of virus-specific T cells and association with the progression of human chronic hepatitis B infection. *Sci Immunol*, 4(32): eaau6905.

47. Levrero M., Zucman-Rossi J. (2016). Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 64(1 Suppl): S84-s101.
48. Neuveut C., Wei Y., Buendia M.A. (2010). Mechanisms of HBV-related hepatocarcinogenesis. *J Hepatol*, 52(4): 594-604.
49. Geng M., Xin X., Bi L.Q., et al. (2015). Molecular mechanism of hepatitis B virus X protein function in hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol*, 21(38): 10732-8.
50. Lee J.H., Han K.H., Lee J.M., et al. (2011). Impact of hepatitis B virus (HBV) x gene mutations on hepatocellular carcinoma development in chronic HBV infection. *Clin Vaccine Immunol*, 18(6): 914-21.
51. Rivière L., Quioc-Salomon B., Fallot G., et al. (2019). Hepatitis B virus replicating in hepatocellular carcinoma encodes HBx variants with preserved ability to antagonize restriction by Smc5/6. *Antiviral Res*, 172: 104618.
52. Huang M., Chen C., Geng J., et al. (2017). Targeting KDM1A attenuates Wnt/ β -catenin signaling pathway to eliminate sorafenib-resistant stem-like cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 398: 12-21.
53. Kim G.W., Imam H., Khan M., et al. (2021). HBV-Induced Increased N6 Methyladenosine Modification of PTEN RNA Affects Innate Immunity and Contributes to HCC. *Hepatology*, 73(2): 533-47.
54. Kim S.Y., Kim H., Kim S.W., et al. (2017). An Effective Antiviral Approach Targeting Hepatitis B Virus with NJK14047, a Novel and Selective Biphenyl Amide p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother*, 61(8): e00214-17.
55. Xie H., Xie D., Zhang J., et al. (2020). ROS/NF- κ B Signaling Pathway-Mediated Transcriptional Activation of TRIM37 Promotes HBV-Associated Hepatic Fibrosis. *Mol Ther Nucleic Acids*, 22: 114-23.

56. Sen R., Baltimore D. (1986). Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell*, 47(6): 921-8.
57. Gilmore T.D. (2006). Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25(51): 6680-4.
58. Han Z.J., Feng Y.H., Gu B.H., et al. (2018). The post-translational modification, SUMOylation, and cancer (Review). *Int J Oncol*, 52(4): 1081-94.
59. Tilstra J.S., Clauson C.L., Niedernhofer L.J., et al. (2011). NF-κB in Aging and Disease. *Aging Dis*, 2(6): 449-65.
60. Collares D.M. (2019). An alternative way to look at diffuse large B-cell lymphoma : the impact of frequent engagement of RelB NF-κB subunit on cell survival and patient outcome. Cellular Biology. Université Sorbonne Paris Cité.
61. Li Y., Zhao B., Peng J., et al. (2024). Inhibition of NF-κB signaling unveils novel strategies to overcome drug resistance in cancers. *Drug Resist Updat*, 73: 101042.
62. Xia Y., Shen S., Verma I.M. (2014). NF-κB, an active player in human cancers. *Cancer Immunol Res*, 2(9): 823-30.
63. Luedde T., Schwabe R.F. (2011). NF-κB in the liver--linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 8(2): 108-18.
64. Maeda S., Kamata H., Luo J.L., et al. (2005). IKKbeta couples hepatocyte death to cytokine-driven compensatory proliferation that promotes chemical hepatocarcinogenesis. *Cell*, 121(7): 977-90.
65. Luedde T., Beraza N., Kotsikoris V., et al. (2007). Deletion of NEMO/IKKgamma in liver parenchymal cells causes steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 11(2): 119-32.

66. He G., Yu G.Y., Temkin V., et al. (2010). Hepatocyte IKKbeta/NF-kappaB inhibits tumor promotion and progression by preventing oxidative stress-driven STAT3 activation. *Cancer Cell*, 17(3): 286-97.
67. Sunami Y., Ringelhan M., Kokai E., et al. (2016). Canonical NF-κB signaling in hepatocytes acts as a tumor-suppressor in hepatitis B virus surface antigen-driven hepatocellular carcinoma by controlling the unfolded protein response. *Hepatology*, 63(5): 1592-607.
68. Elsharkawy A.M., Mann D.A. (2007). Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology*, 46(2): 590-7.
69. Moles A., Sanchez A.M., Banks P.S., et al. (2013). Inhibition of RelA-Ser536 phosphorylation by a competing peptide reduces mouse liver fibrosis without blocking the innate immune response. *Hepatology*, 57(2): 817-28.
70. Czauderna C., Castven D., Mahn F.L., et al. (2019). Context-Dependent Role of NF-κB Signaling in Primary Liver Cancer-from Tumor Development to Therapeutic Implications. *Cancers (Basel)*, 11(8): 1053.
71. Oh H., Grinberg-Bleyer Y., Liao W., et al. (2017). An NF-κB Transcription-Factor-Dependent Lineage-Specific Transcriptional Program Promotes Regulatory T Cell Identity and Function. *Immunity*, 47(3): 450-65.e5.
72. Zheng L., You N., Huang X., et al. (2019). COMMD7 Regulates NF-κB Signaling Pathway in Hepatocellular Carcinoma Stem-like Cells. *Mol Ther Oncolytics*, 12: 112-23.
73. Castven D. , Czauderna C. , Marquardt J.U. (2017). Contribution of the Cancer Stem Cell Phenotype to Hepatocellular Carcinoma Resistance. *Resist Mol Ther Hepatocell Carcinoma*: 65–91.
74. Liu J., Liu Y., Meng L., et al. (2017). Targeting the PD-L1/DNMT1 axis in acquired resistance to sorafenib in human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*, 38(2): 899-907.

75. Mehmood T., Maryam A., Zhang H., et al. (2017). Deoxyelephantopin induces apoptosis in HepG2 cells via oxidative stress, NF- κ B inhibition and mitochondrial dysfunction. *Biofactors*, 43(1): 63-72.
76. Yu H., Pan C., Zhao S., et al. (2008). Resveratrol inhibits tumor necrosis factor-alpha-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Biomed Pharmacother*, 62(6): 366-72.
77. Lampiasi N., Azzolina A., Umezawa K., et al. (2012). The novel NF- κ B inhibitor DHMEQ synergizes with celecoxib to exert antitumor effects on human liver cancer cells by a ROS-dependent mechanism. *Cancer Lett*, 322(1): 35-44.
78. Taniguchi K., Karin M. (2018). NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*, 18(5): 309-24.
79. Urbanowicz I., Wołowiec D., Wysoczańska B., et al. (2021). NF- κ B1 - 94del/del ATTG polymorphic variant maintains CLL at an early, mildest stage. *Adv Clin Exp Med*, 30(5): 499-506.
80. Hou S., Guan H., Ricciardi R.P. (2003). Phosphorylation of serine 337 of NF-kappaB p50 is critical for DNA binding. *J Biol Chem*, 278(46): 45994-8.
81. Guzman M.L., Neering S.J., Upchurch D., et al. (2001). Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. *Blood*, 98(8): 2301-7.
82. Sun X., Cao S., Mao C., et al. (2024). Post-translational modifications of p65: state of the art. *Front Cell Dev Biol*, 12: 1417502.
83. Ong J.R., Bamodu O.A., Khang N.V., et al. (2021). SUMO-Activating Enzyme Subunit 1 (SAE1) Is a Promising Diagnostic Cancer Metabolism Biomarker of Hepatocellular Carcinoma. *Cells*, 10(1): 178.
84. Dorrington M.G., Fraser I.D.C. (2019). NF- κ B Signaling in Macrophages: Dynamics, Crosstalk, and Signal Integration. *Front Immunol*, 10: 705.

85. Wang B., Wei H., Prabhu L., et al. (2015). Role of Novel Serine 316 Phosphorylation of the p65 Subunit of NF- κ B in Differential Gene Regulation. *J Biol Chem*, 290(33): 20336-47.
86. Moles A., Butterworth J.A., Sanchez A., et al. (2016). A RelA(p65) Thr505 phospho-site mutation reveals an important mechanism regulating NF- κ B-dependent liver regeneration and cancer. *Oncogene*, 35(35): 4623-32.
87. Shinoda K., Kuboki S., Shimizu H., et al. (2015). Pin1 facilitates NF- κ B activation and promotes tumour progression in human hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*, 113(9): 1323-31.
88. Dong M., Miao L., Zhang F., et al. (2018). Nuclear factor- κ B p65 regulates glutaminase 1 expression in human hepatocellular carcinoma. *Onco Targets Ther*, 11: 3721-9.
89. AboZaid O.A.R., Abdel-Maksoud M.A., Saleh I.A., et al. (2024). Targeting the NF- κ B p65/Bcl-2 signaling pathway in hepatic cellular carcinoma using radiation assisted synthesis of zinc nanoparticles coated with naturally isolated gallic acid. *Biomed Pharmacother*, 172: 116274.
90. Su H.L., Li S.S. (2002). Molecular features of human ubiquitin-like SUMO genes and their encoded proteins. *Gene*, 296(1-2): 65-73.
91. Acuña M.L., García-Morin A., Orozco-Sepúlveda R., et al. (2023). Alternative splicing of the SUMO1/2/3 transcripts affects cellular SUMOylation and produces functionally distinct SUMO protein isoforms. *Sci Rep*, 13(1): 2309.
92. Ciechanover A. (2005). Intracellular protein degradation: from a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting. *Cell Death Differ*, 12(9): 1178-90.
93. Mahajan R., Delphin C., Guan T., et al. (1997). A small ubiquitin-related polypeptide involved in targeting RanGAP1 to nuclear pore complex protein RanBP2. *Cell*, 88(1): 97-107.

94. Yau T.Y., Sander W., Eidson C., et al. (2021). SUMO Interacting Motifs: Structure and Function. *Cells*, 10(11): 2825.
95. Wang W., Matunis M.J. (2023). Parologue-Specific Roles of SUMO1 and SUMO2/3 in Protein Quality Control and Associated Diseases. *Cells*, 13(1): 8.
96. Hickey C.M., Wilson N.R., Hochstrasser M. (2012). Function and regulation of SUMO proteases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(12): 755-66.
97. Zhong Q., Xiao X., Qiu Y., et al. (2023). Protein posttranslational modifications in health and diseases: Functions, regulatory mechanisms, and therapeutic implications. *MedComm (2020)*, 4(3): e261.
98. Chang H.M., Yeh E.T.H. (2020). SUMO: From Bench to Bedside. *Physiol Rev*, 100(4): 1599-619.
99. Yeh E.T. (2009). SUMOylation and De-SUMOylation: wrestling with life's processes. *J Biol Chem*, 284(13): 8223-7.
100. Tokarz P., Woźniak K. (2021). SENP Proteases as Potential Targets for Cancer Therapy. *Cancers (Basel)*, 13(9): 2059.
101. Kunz K., Piller T., Müller S. (2018). SUMO-specific proteases and isopeptidases of the SENP family at a glance. *J Cell Sci*, 131(6): jcs211904.
102. Ungureanu D., Vanhatupa S., Kotaja N., et al. (2003). PIAS proteins promote SUMO-1 conjugation to STAT1. *Blood*, 102(9): 3311-3.
103. Liu Q., Zhou B., Liao R., et al. (2020). PIAS4, upregulated in hepatocellular carcinoma, promotes tumorigenicity and metastasis. *J Cell Biochem*, 121(5-6): 3372-81.
104. Seeler J.S., Dejean A. (2017). SUMO and the robustness of cancer. *Nat Rev Cancer*, 17(3): 184-97.
105. Guo H., Xu J., Zheng Q., et al. (2019). NRF2 SUMOylation promotes de novo serine synthesis and maintains HCC tumorigenesis. *Cancer Lett*, 466: 39-48.

106. Liu J., Tao X., Zhang J., et al. (2016). Small ubiquitin-related modifier 1 is involved in hepatocellular carcinoma progression via mediating p65 nuclear translocation. *Oncotarget*, 7(16): 22206-18.
107. Liu J., Sha M., Wang Q., et al. (2015). Small ubiquitin-related modifier 2/3 interacts with p65 and stabilizes it in the cytoplasm in HBV-associated hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*, 15: 675.
108. Liu J., Wu Z., Han D., et al. (2020). Mesencephalic Astrocyte-Derived Neurotrophic Factor Inhibits Liver Cancer Through Small Ubiquitin-Related Modifier (SUMO)ylation-Related Suppression of NF- κ B/Snail Signaling Pathway and Epithelial-Mesenchymal Transition. *Hepatology*, 71(4): 1262-78.
109. Gaballah H.H., Zakaria S.S., Ismail S.A. (2014). Activity and expression pattern of NF- κ B /P65 in peripheral blood from hepatocellular carcinoma patients - link to hypoxia inducible factor -1 α . *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(16): 6911-7.
110. Kang K.F., Wang X.W., Chen X.W., et al. (2013). Beclin 1 and nuclear factor- κ Bp65 are upregulated in hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett*, 5(6): 1813-8.
111. Yokoo H., Yasuda J., Nakanishi K., et al. (2011). Clinicopathological significance of nuclear factor- κ B activation in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*, 41(3): 240-9.
112. Peek J., Harvey C., Gray D., et al. (2018). SUMO targeting of a stress-tolerant Ulp1 SUMO protease. *PLoS One*, 13(1): e0191391.
113. Tang Z., Li C., Kang B., et al. (2017). GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res*, 45(W1): W98-w102.
114. Nguyễn Lĩnh Toàn, Lê Hữu Song, C.T Bock (2010). Tương tác của HBx-Protein đột biến với NF- κ B có thể liên quan trong bệnh sinh ung thư tế bào gan. *Tạp chí y - học Quân sự* 35(Số chuyên đề Sinh Lý Bệnh): 25-30.

115. Đỗ Thị Thanh Huyền, Trần Thị Thùy Anh, Nguyễn Thị Hồng Vân (2017). Tách dòng, biểu hiện và tinh sạch nhân tố phiên mã NF- κ B p50 của người trong tế bào vật chủ E. Coli. *Tạp chí Khoa học: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 33(1S): 299-304.
116. Đỗ Thị Thanh Huyền, Phạm Thị Quyên, Nguyễn Thị Hồng Vân (2021). Biểu hiện và tinh sạch nhân tố phiên mã NF- κ B p65 của người sử dụng tế bào vật chủ E. coli định hướng ứng dụng sàng lọc chất ức chế ung thư. *Tạp Chí Y học Việt Nam*, 498(1): 136-41.
117. Bộ Y Tế (2013). *Hướng dẫn quy trình kỹ thuật Chẩn đoán hình ảnh và điện quang can thiệp*, Quyết định số: 25/QĐ-BYT.
118. Bộ Y Tế (2016). *Hướng dẫn quy trình kỹ thuật giải phẫu bệnh, tế bào học*, Quyết định số: 5199/QĐ-BYT
119. Nagtegaal I.D., Odze R.D., Klimstra D., et al. (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*, 76(2): 182-8.
120. Schmittgen Thomas D, Livak Kenneth J (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols*, 3(6): 1101-8.
121. Cui Xiangqin, Yu Shaohua, Tamhane Ashutosh, et al. (2015). Simple regression for correcting Δ Ct bias in RT-qPCR low-density array data normalization. *BMC genomics*, 16(1): 82.
122. Pugh R.N., Murray L.I.M., Dawson J.L., et al. (1973). Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*, 60(8): 646-9.
123. Schlageter M., Terracciano L.M., D'Angelo S., et al. (2014). Histopathology of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 20(43): 15955-64.
124. Paradis V. (2013). Histopathology of hepatocellular carcinoma. *Recent Results Cancer Res*, 190: 21-32.

125. Hồ Tấn Phát, Nguyễn Tiến Thịnh, Phạm Hùng Vân và CS. (2022). đặc điểm mô bệnh học của ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B. *Tạp chí Y dược lâm sàng* 108 17(số tháng 1/2022): 259-64.
126. Nguyễn Việt Phương, Phạm Bá Đức, Lê Văn Kỳ và CS (2023). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và mối liên quan với một số đặc điểm mô bệnh học trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan nhiễm HBV đã phẫu thuật tại Bệnh viện K Tân triều *Tạp chí Y học Việt Nam* 528(2): 259-64.
127. Huỳnh Thanh Long, Nguyễn Mạnh Khiên (2023). Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 528(1): 142-6.
128. Bosch F.X., Ribes J., Díaz M., et al. (2004). Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*, 127(5 Suppl 1): S5-s16.
129. Webb G.J., Wright K.V., Harrod E.C., et al. (2015). Surveillance for hepatocellular carcinoma in a mixed-aetiology UK cohort with cirrhosis: does α -fetoprotein still have a role? *Clin Med (Lond)*, 15(2): 139-44.
130. Tanaka H., Imai Y., Hiramatsu N., et al. (2008). Declining incidence of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan, from 1990 to 2003. *Ann Intern Med*, 148(11): 820-6.
131. Omata M., Cheng A.L., Kokudo N., et al. (2017). Asia-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatocellular carcinoma: a 2017 update. *Hepatol Int*, 11(4): 317-70.
132. Lu S.N., Su W.W., Yang S.S., et al. (2006). Secular trends and geographic variations of hepatitis B virus and hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Int J Cancer*, 119(8): 1946-52.
133. Kim J.H., Won H.J., Shin Y.M., et al. (2011). Medium-sized (3.1-5.0 cm) hepatocellular carcinoma: transarterial chemoembolization plus radiofrequency ablation versus radiofrequency ablation alone. *Ann Surg Oncol*, 18(6): 1624-9.

134. Takaki H., Yamakado K., Sakurai H., et al. (2011). Radiofrequency ablation combined with chemoembolization: treatment of recurrent hepatocellular carcinomas after hepatectomy. *AJR Am J Roentgenol*, 197(2): 488-94.
135. Nguyen D.S.H., Li W.F., Liu Y.W., et al. (2022). Comparisons of Viral Etiology and Outcomes of Hepatocellular Carcinoma Undergoing Liver Resection between Taiwan and Vietnam. *Viruses*, 14(11): 2571.
136. Montella M., D'Arena G., Crispo A., et al. (2015). Role of Sex Hormones in the Development and Progression of Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Int J Endocrinol*, 2015: 854530.
137. Yip T.C., Wong G.L., Chan H.L., et al. (2020). Elevated testosterone increases risk of hepatocellular carcinoma in men with chronic hepatitis B and diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol*, 35(12): 2210-9.
138. Zhu R.X., Seto W.K., Lai C.L., et al. (2016). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the Asia-Pacific Region. *Gut Liver*, 10(3): 332-9.
139. Kew M.C. (2014). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and risk factors. *J Hepatocell Carcinoma*, 1: 115-25.
140. Pavlovic N., Rani B., Gerwins P., et al. (2019). Platelets as Key Factors in Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)*, 11(7).
141. Caviglia G.P., Abate M.L., Petrini E., et al. (2016). Highly sensitive alpha-fetoprotein, Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxyprothrombin for hepatocellular carcinoma detection. *Hepatol Res*, 46(3): E130-5.
142. Dou L., Yang F., Xu L., et al. (2021). A comprehensive review of the imbalance classification of protein post-translational modifications. *Brief Bioinform*, 22(5): bbab089.

143. Guo W.H., Yuan L.H., Xiao Z.H., et al. (2011). Overexpression of SUMO-1 in hepatocellular carcinoma: a latent target for diagnosis and therapy of hepatoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 137(3): 533-41.
144. Wu Z., Jankowski V., Jankowski J. (2022). Irreversible post-translational modifications - Emerging cardiovascular risk factors. *Mol Aspects Med*, 86: 101010.
145. Bialik P., Woźniak K. (2017). SUMO proteases as potential targets for cancer therapy. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 71(0): 997-1004.
146. Peng Zhenxiang, Wang Shuling, Wen Diguang, et al. (2024). FEN1 upregulation mediated by SUMO2 via antagonizing proteasomal degradation promotes hepatocellular carcinoma stemness. *Translational Oncology*, 44: 101916.
147. Qu Wei, Gu Jinning, Liu Shanshan, et al. (2025). Mechanistic insights into SUMOylation and its role in cancer pathogenesis: bridging oncogenesis, immunity, and therapeutic opportunities. *International Immunopharmacology*, 164: 115332.
148. Wang P., Xue N., Zhang C., et al. (2021). Inhibition of SUMO2/3 antagonizes isoflurane-induced cancer-promoting effect in hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *Oncol Lett*, 21(4): 274.
149. Bai D.S., Zhang C., Chen P., et al. (2017). The prognostic correlation of AFP level at diagnosis with pathological grade, progression, and survival of patients with hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 7(1): 12870.
150. Zhou Y., He P., Xie X., et al. (2019). Knockdown of SUMO1P3 represses tumor growth and invasion and enhances radiosensitivity in hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem*, 450(1-2): 125-34.
151. Yu H., Bai Y., Xu C., et al. (2020). The tissue expression levels of SUMO1P 3 may be a reliable prognostic biomarker to predict the clinical outcomes in patients with HCC. *Medicine (Baltimore)*, 99(46): e21291.

152. Jiang C., Zhang C., Dai M., et al. (2024). Interplay between SUMO1-related SUMOylation and phosphorylation of p65 promotes hepatocellular carcinoma progression. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1871(1): 119595.
153. Silva-Gomez J.A., Galicia-Moreno M., Sandoval-Rodriguez A., et al. (2021). Hepatocarcinogenesis Prevention by Pirfenidone Is PPAR γ Mediated and Involves Modification of Nuclear NF- κ B p65/p50 Ratio. *Int J Mol Sci*, 22(21): 11360.
154. Liu Y., Wang X., Zeng X., et al. (2022). Bioinformatics-based analysis of SUMOylation-related genes in hepatocellular carcinoma reveals a role of upregulated SAE1 in promoting cell proliferation. *Open Med (Wars)*, 17(1): 1183-202.
155. Eccles S.A., Welch D.R. (2007). Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet*, 369(9574): 1742-57.
156. Lee J.S., Choi H.J., Baek S.H. (2017). Sumoylation and Its Contribution to Cancer. *Adv Exp Med Biol*, 963: 283-98.
157. D.M. Gisder, A. Tannapfel, I. Tischoff (2022). Histopathology of hepatocellular carcinoma-when and what. *Hepatoma Res*, 8: 4.

PHỤ LỤC 1. BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Tên đề tài: “**NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN CÁC GEN $NF-\kappa B$ p50, $NF-\kappa B$ p65, SUMO1, SUMO2, SUMO3 Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN CÓ HBsAg (+)**”

Số thứ tự :	
Số bệnh án:	Mã lưu mẫu mô :

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Họ và tên:		Năm sinh		Giới:	
Địa chỉ:					
Điện thoại:					
Ngày vào viện:					
Chẩn đoán:					
Ngày phẫu thuật					

1. Tiền sử

- Nhiễm HBV: 1. Có ☐ 2. Không ☐
- Nhiễm HCV: 1. Có ☐ 2. Không ☐
- Lạm dụng rượu: 1. Có ☐ 2. Không ☐
- Xơ gan: 1. Có ☐ 2. Không ☐

2. Lý do vào viện:.....

3. Triệu chứng lâm sàng:

Triệu chứng	Có	Không	Triệu chứng	Có	Không
Mệt mỏi	☐	☐	Bàn tay son	☐	☐
Chán ăn, ăn kém	☐	☐	Sao mạch	☐	☐
Gầy sút cân	☐	☐	Xuất huyết dưới da	☐	☐
Đau hạ sườn phải	☐	☐	Tuần hoàn bàng hệ	☐	☐
Đau thượng vị	☐	☐	Cổ trướng	☐	☐
Tình cờ phát hiện	☐	☐	Gan to	☐	☐
Sốt	☐	☐	Lách to	☐	☐
Vàng da	☐	☐	HC não gan	☐	☐
Phù	☐	☐	Điểm toàn trạng (PS)		

4. Cận lâm sàng:

4.1. Xét nghiệm máu

Công thức máu và đông máu		Sinh hóa máu		Vi sinh vật - Miễn dịch	
HC (T/L)		AST (U/L)		HBsAg	
HST (g/L)		ALT (U/L)		Anti – HCV	
HCT (L/L)		Bili TP ($\mu\text{mol/L}$)			
BC (G/L)		Bili TT ($\mu\text{mol/L}$)			
TC (G/L)		Protein (g/L)			
PT (%)		Albumin (g/L)			
INR		Ure (mmol/L)			
		Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)			
		AFP(ng/mL)			

4.2. Cắt lớp vi tính

4.2.1. Số lượng u:

- ☐ 1. 1 khối ☐ 2. 2 khối ☐ 3. 3 khối ☐ 4. > 3 khối

4.2.2. Kích thước khối u lớn nhất: 100mm

4.2.3. Vị trí u:

- ☐ 1. Gan phải ☐ 2. Gan trái ☐ 3. Hai thùy

4.2.4. Huyết khối tĩnh mạch cửa:

- ☐ 1. Có ☐ 2. Không

4.2.5. Hạch rốn gan:

- ☐ 1. Có ☐ 2. Không

4.2.6. Di căn xa:

- ☐ 1. Có ☐ 2. Không Vị trí di căn:

4.2.7. Hình ảnh xơ gan:

- ☐ 1. Có ☐ 2. Không

4.2.8. Cổ chướng:

- ☐ 1. Không ☐ 2. Ít, vừa ☐ 3. Nhiều

4.3. Giải phẫu bệnh

– **Phân độ mô học theo WHO**

☐ Độ 1 ☐ Độ 2 ☐ Độ 3

– **Phân độ mô học theo phân loại Edmondson - Steiner (ES)**

☐ Độ 1 ☐ Độ 2 ☐ Độ 3 ☐ Độ 4

– **Typ mô bệnh học (architecture subtypes)**

- ☐ Thể bè (trabecular)
- ☐ Thể đặc (solid)
- ☐ Thể giả tuyến (pseudoglandular)
- ☐ Thể bè lớn (macrotrabecular)

– **Biến thể mô học (histologic variants)**

- ☐ Thể thông thường (usual)
- ☐ Biến thể gan nhiễm mỡ (steatohepatic variant)
- ☐ Biến thể tế bào sáng (clear cell variant)
- ☐ Biến thể xơ cứng (scirrhous variant)
- ☐ Biến thể tế bào kỵ màu (chromophobe variant)
- ☐ Biến thể khác

– **Hình ảnh tế bào u xâm nhập mạch**

☐ Có ☐ Không

– **Xơ gan kèm theo**

☐ Có ☐ Không

5. Tình trạng xơ gan:

Nguyên nhân xơ gan:

	Có	Không
HBV	☐	☐
HCV	☐	☐
Rượu	☐	☐
Xơ gan	☐	☐

Điểm Child-Pugh:

Tiêu chí	Điểm số					
	1 điểm		2 điểm		3 điểm	
Bệnh não gan	Không	☐	Độ 1 - 2	☐	Độ 3 - 4	☐
Cổ trướng	Không	☐	Nhẹ	☐	Trung bình	☐
Bilirubin TP ($\mu\text{mol/l}$)	< 34	☐	34 – 51	☐	> 51	☐
Albumin máu (g/l)	> 35	☐	28 – 35	☐	< 28	☐
INR	< 1,7	☐	1,7 – 2,3	☐	> 2,3	☐
Tổng cộng						

Phân độ Child-Pugh:

Child-Pugh A (5 - 6 điểm) ☐	Child-Pugh B (7 - 9 điểm) ☐	Child-Pugh C (10 - 15 điểm) ☐
--	--	--

Giai đoạn BCLC:

Giai đoạn 0 ☐	Giai đoạn A ☐	Giai đoạn B ☐	Giai đoạn C ☐	Giai đoạn D ☐
---	---	---	---	---

6. Biểu hiện mRNA của các gen trong nghiên cứu:

- Mô u

Mã xét nghiệm	<i>SUMO1</i>	<i>SUMO2</i>	<i>SUMO3</i>	<i>NF-κB p65</i>	<i>NF-κB p50</i>

- Mô cận u

Mã xét nghiệm	<i>SUMO1</i>	<i>SUMO2</i>	<i>SUMO3</i>	<i>NF-κB p65</i>	<i>NF-κB p50</i>

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH

PHỤ LỤC 2. QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT RNA

(Tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ gen, viện sinh học – Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam)

Thiết kế thí nghiệm:	- Thực hiện tách DNA/RNA bằng bộ kit tách RNA từ mẫu mô MasterPure Complete DNA and RNA Purification của hãng Biosearch Technologies - Khối lượng mô: 1-5 mg - Thể tích RNA thu sau khi tách: 35μl
Dụng cụ, phương tiện hoá chất:	- Bộ kit MasterPure Complete DNA and RNA Purification, dung dịch Isopropanol, Ethanol 70%, dung dịch RiboGuard RNase Inhibitor, nước cất DEPC - Pipet, đầu côn, ống eppendorf 1,5ml, máy li tâm, máy ủ nhiệt, máy vortex.
Quy trình thao tác (các bước tiến hành):	
1. Chuẩn bị: - Với mỗi mẫu bệnh phẩm bổ sung 1μL Proteinase K trong 300 μL dung dịch ly giải mô và tế bào (Tissue and Cell Lysis Solution). - Chuẩn bị ống eppendorf 1,5ml, ghi tên mẫu tương ứng - Lấy 1-5mg mẫu mô để làm thí nghiệm 2. Tiến hành: 2.1. Ly giải mẫu mô - Nghiền nhỏ mẫu mô trong môi trường Nitơ lỏng, chuyển mô đã nghiền vào ống - Thêm 300μL dung dịch ly giải mô và tế bào đã có proteinase K vào ống, trộn kỹ dung dịch - Ủ ở 65 °C trong 15 phút, vortex ngắn mỗi 5 phút để tăng hiệu quả ly giải - Đặt ống dung dịch trên mặt đá trong 3-5 phút, mẫu mô đã được ly giải, chuyển sang giai đoạn tủa acid nucleic toàn phần	

2.2. Loại bỏ protein và thu acid nucleic toàn phần

- Thêm 150 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent vào 300 μL dung dịch mẫu đã ly giải và vortex mạnh trong 10 giây
- Ly tâm ống dung dịch ở 4°C , $\geq 10.000 \times g$ trong 10 phút để tạo cặn lắng. Nếu cặn ly tâm ít hoặc rời rạc, thêm tiếp 25 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent, trộn đều và ly tâm thêm 1 lần nữa.
- Chuyển phần dịch nổi (chứa acid nucleic) phía trên sang ống mới
- Thêm 500 μL isopropanol vào dịch nổi vừa thu được. Đậy kín và lật ống nhẹ nhàng 30 - 40 lần để trộn đều dung dịch, kết tủa acid nucleic
- Ly tâm ống dung dịch ở 4°C trong 10 phút để lấy tủa acid nucleic toàn phần
- Sau khi ly tâm, nhẹ nhàng đổ bỏ dịch phía trên để lấy được kết tủa acid nucleic toàn phần, chuyển sang giai đoạn loại bỏ DNA

2.3. Loại DNA bằng dung dịch Dnase

- Dùng pipet hút hết phần isopropanol còn trong ống ly tâm, rửa pellet 2 lần bằng cồn ethanol 70° .
- Với mỗi mẫu bệnh phẩm: pha loãng 5 μL dung dịch RNase-Free DNase I trong 195 μL đệm 1X DNase Buffer để được 200 μL dung dịch DNase I.
- Làm tan hoàn toàn cặn acid nucleic toàn phần trong 200 μL dung dịch DNase I.
- Ủ dung dịch ở 37°C trong 10 phút (có thể ủ thêm tới 30 phút để loại bỏ tất cả DNA).
- Thêm 200 μL dung dịch ly giải 2x Tissue and Cell Lysis Solution, vortex trong 5 giây.
- Thêm 200 μL dung dịch MPC Protein Precipitation Reagent, vortex trong 10 giây, đặt ống trên đá trong 5-10 phút.
- Ly tâm dung dịch ở 4°C , trong 10 phút, tốc độ 10000 $\times g$ để tạo cặn lắng.
- Chuyển dịch nổi phía trên chứa RNA tổng số vào ống mới, loại bỏ cặn lắng.

- Thêm 500 μL isopropanol lạnh vào dung dịch thu được, đậy kín và lật ống 30-40 lần để tủa RNA.
- Ly tâm ống dung dịch ở 4°C trong 10 phút.
- Sau ly tâm, nhẹ nhàng đổ bỏ dung dịch isopropanol phía trên để lấy cặn RNA tinh sạch.
- Rửa pellet 2 lần bằng cồn ethanol 70° .
- Hòa tan tủa RNA trong 35 μL dung dịch TE Buffer.
- Thêm 1 μL dung dịch RiboGuard RNase Inhibitor.

PHỤ LỤC 3. QUY TRÌNH TỔNG HỢP cDNA TỪ RNA TỔNG SỐ

(Tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ gen, viện sinh học – Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam)

Thiết kế thí nghiệm:	- Tổng hợp cDNA từ RNA bằng enzym phiên mã ngược, sử dụng oligo-dT làm môi và dNTP làm nguyên liệu. - Thể tích DNA thu sau khi tách: 20μL/ống.
Dụng cụ, phương tiện hoá chất:	- Dung dịch oligo-dT primer, enzym phiên mã ngược M-MuLV, 10$\times$RT buffer, dNTP mix, dung dịch RiboGuard RNase Inhibitor, nước cất DEPC. - Pipet, đầu côn, ống eppendorf 1,5ml, ống PCR 0,2mL, máy li tâm, máy ủ nhiệt, máy vortex.
Quy trình thao tác (các bước tiến hành):	
1. Chuẩn bị hỗn hợp A (RNA và môi) và biến tính RNA - Pha 1,0 μg RNA tổng số vào nước cất DEPC đủ 12,5 μL - Thêm 1,0 μL oligo-dT primer (500 μg/mL) $\rightarrow$ tổng 13,5 μL. - Ủ 70 $^{\circ}$C trong 2 phút (biến tính cấu trúc bậc 2). - Làm lạnh nhanh trên đá ở 4°C trong 1–2 phút. 2. Chuẩn bị hỗn hợp B (master mix enzyme) - Trong 1 ống sạch, pha 6,5 μL/phản ứng: + 2,0 μL 10$\times$ Reaction Buffer. + 1,0 μL dNTP mix (10 mM mỗi loại dATP/dCTP/dGTP/dTTP). + 0,5 μL dung dịch RiboGuard RNase Inhibitor. + 0,1 μL M-MuLV reverse transcriptase (enzym phiên mã ngược). + 2,9 μL nước cất DEPC - Thêm 6,5 μL hỗn hợp B vào mỗi ống 13,5 μL hỗn hợp A (tổng 20,0 μL) - Trộn đều và ủ ở 42°C trong 60 phút (phiên mã ngược). - Kết thúc phản ứng: ủ ở 94 $^{\circ}$C trong 5 phút (bất hoạt enzym). - Làm lạnh, bảo quản ở -80 $^{\circ}$C	

PHỤ LỤC 4. QUY TRÌNH PHẢN ỨNG RTq-PCR

(Tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ gen, viện sinh học – Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam)

Thiết kế thí nghiệm

Trình tự mỗi các gen nghiên cứu*

Tên cặp mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	KTSP (bp)
SUMO1-F	ACCGTCATCATGTCTGACCA	183
SUMO1-R	TGGAACACCCTGTCTTTGAC	
SUMO2-F	GGGCAACCAATCAATGAAAC	198
SUMO2-R	AGTCAGGATGTGGTGGGAACC	
SUMO3-F	CTGGCCCTCAAGCATGTAAC	201
SUMO3-R	AAATCTGAGGCCACAACACC	
NF-κB p50-F	TGGCACTGCCAACAGATGG	182
NF-κB p50-R	AACCTTTGCTGGTCCCACAT	
NF-κB p65-F	CTGAATGCTGTGCGGCTCT	199
NF-κB p65-R	GCACCTTGTCACACAGTAGGAA	
GAPDH-F	GGAGCGAGATCCCTCCAAA	197
GAPDH-R	GGCTGTTGTCATACTTCTCAT	

* Trình tự mồi do nhóm nghiên cứu tự thiết kế

Chuẩn bị các thành phần của phản ứng RTq-PCR

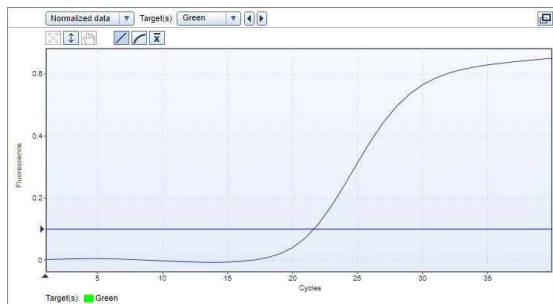
STT	Thành phần	Thể tích
1	cDNA	2 μL
3	Primers F	0,3 μL
4	Primers R	0,3 μL
5	NEBNext High-Fidelity 2X PCR Master Mix	10 μL
6	Nước cất DEPC	12,4 μL

Chu trình nhiệt của phản ứng RTq-PCR

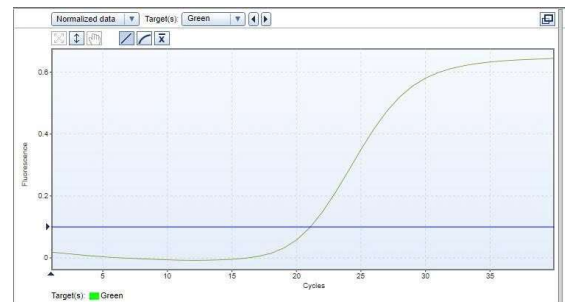
Giai đoạn	Biến tính	Bắt cặp	Kéo dài
Nhiệt độ	95°C	62°C	72°C
Thời gian	10 giây	10 giây	16 giây
Chu kỳ	40		

Dụng cụ, phương tiện hoá chất	- Hóa chất: dung dịch NEBNext High-Fidelity 2X PCR Master Mix của hãng Biolabs, Primer F, Primer R của Công ty Cổ phần Phù Sa genomics. - Dụng cụ: Pipet, đầu côn, ống eppendorf 1,5ml, ống PCR 0,2ml, máy li tâm, máy ủ nhiệt, máy vortex, máy Realtime PCR Lightcycler 96 của Roche
--------------------------------------	--

PHỤ LỤC 5 MINH HOẠ KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH BIỂU HIỆN GEN



A

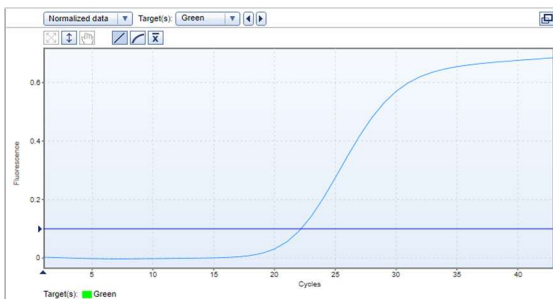


B

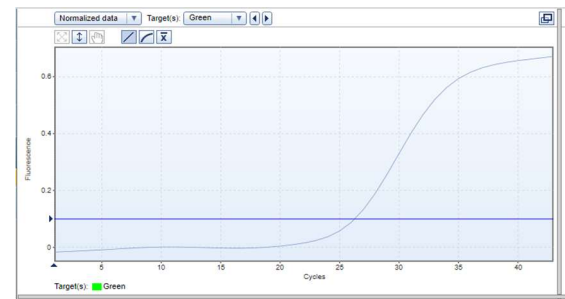
Tubes			Samples		Groups		Green				
☐	Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample C	
☐	1				Sample	Green	--	--	--		
☐	2				Sample	Green	--	--	--		
☐	3				Sample	Green	--	--	--		
☐	4				Sample	Green	--	--	--		
☐	5				Sample	Green	--	--	--		
☐	6				Sample	Green	--	--	--		
☐	7				Sample	Green	--	--	--		
☐	8				Sample	Green	--	--	--		
☐	9				Sample	Green	--	--	--		
☐	10				Sample	Green	--	--	--		
☒	11				Sample	Green	21.66	18.50	1.99	21.66	
☐	12				Sample	Green	--	--	--		
☐	13				Sample	Green	--	--	--		
☐	14				Sample	Green	--	--	--		
☐	15				Sample	Green	--	--	--		
☐	16				Sample	Green	--	--	--		

Tubes			Samples		Groups		Green			
Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq	
16				Sample	Green	...	...	...	...	
37				Sample	Green	...	...	...	...	
38				Sample	Green	...	...	...	...	
39				Sample	Green	...	...	...	...	
40				Sample	Green	...	...	...	...	
41				Sample	Green	...	...	...	...	
42				Sample	Green	...	...	...	...	
43				Sample	Green	...	...	...	...	
44				Sample	Green	...	...	...	...	
45				Sample	Green	...	...	...	...	
46				Sample	Green	...	...	...	...	
47				Sample	Green	21.08	18.00	1.66	21.08	
48				Sample	Green	...	...	...	...	
49				Sample	Green	...	...	...	...	
50				Sample	Green	...	...	...	...	
51				Sample	Green	...	...	...	...	

Biểu hiện gen (giá trị crossing point) *SUMO1* mô u (A) và mô cận u (B) của bệnh nhân Phan Văn H. (mã số 134)



A



B

Tubes			Samples		Groups		Green				
☐	Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq	
☐	1				Sample	Green	---	---	---	---	
☒	2				Sample	Green	22.19	19.30	1.91	22.19	
☐	3				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	4				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	5				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	6				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	7				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	8				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	9				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	10				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	11				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	12				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	13				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	14				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	15				Sample	Green	---	---	---	---	
☐	16				Sample	Green	---	---	---	---	

Tubes

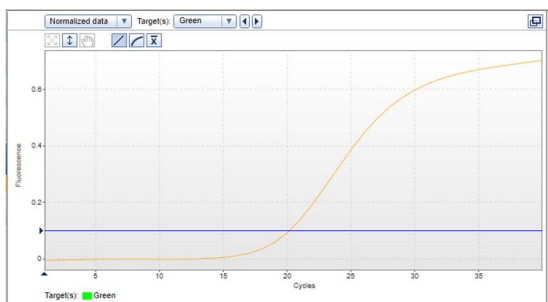
Samples

Groups

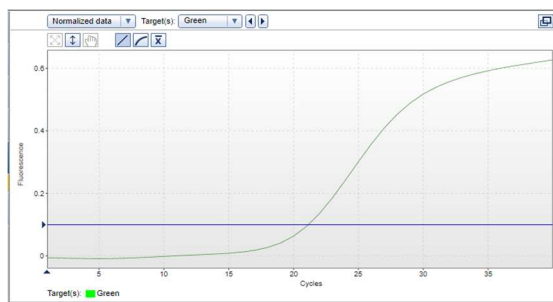
Green

Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq
16				Sample	Green		--	--	--
37				Sample	Green		--	--	--
38				Sample	Green	26.28	23.80	1.66	26.28
39				Sample	Green		--	--	--
40				Sample	Green		--	--	--
41				Sample	Green		--	--	--
42				Sample	Green		--	--	--
43				Sample	Green		--	--	--
44				Sample	Green		--	--	--
45				Sample	Green		--	--	--
46				Sample	Green		--	--	--
47				Sample	Green		--	--	--
48				Sample	Green		--	--	--
49				Sample	Green		--	--	--
50				Sample	Green		--	--	--
51				Sample	Green		--	--	--

Biểu hiện gen (giá trị crossing point) *SUMO2* mô u (A) và mô cận u (B) của bệnh nhân Chu Mạnh T. (mã số 123)



A



B

Tubes Samples Groups									
Green									
Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq
4				Sample	Green	--	--	--	--
5				Sample	Green	20.18	17.00	1.63	20.18
9				Sample	Green	--	--	--	--
7				Sample	Green	--	--	--	--
8				Sample	Green	--	--	--	--
9				Sample	Green	--	--	--	--
10				Sample	Green	--	--	--	--
11				Sample	Green	--	--	--	--
12				Sample	Green	--	--	--	--
13				Sample	Green	--	--	--	--
14				Sample	Green	--	--	--	--
15				Sample	Green	--	--	--	--
16				Sample	Green	--	--	--	--
17				Sample	Green	--	--	--	--
18				Sample	Green	--	--	--	--
19				Sample	Green	--	--	--	--

Tubes

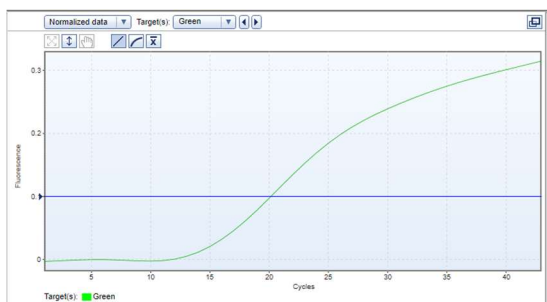
Samples

Groups

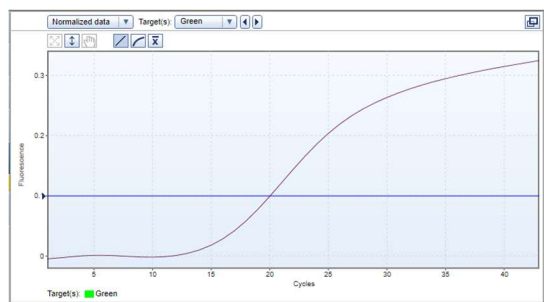
Green

Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq	Cq SD
10				Sample	Green	--	--	--	--	--
11				Sample	Green	--	--	--	--	--
12				Sample	Green	--	--	--	--	--
13				Sample	Green	--	--	--	--	--
14				Sample	Green	--	--	--	--	--
15				Sample	Green	--	--	--	--	--
16				Sample	Green	--	--	--	--	--
17				Sample	Green	--	--	--	--	--
18				Sample	Green	--	--	--	--	--
19				Sample	Green	--	--	--	--	--
20				Sample	Green	--	--	--	--	--
21				Sample	Green	21.14	17.80	1.63	21.14	--
22				Sample	Green	--	--	--	--	--
23				Sample	Green	--	--	--	--	--
24				Sample	Green	--	--	--	--	--
37				Sample	Green	--	--	--	--	--

Biểu hiện gen (giá trị crossing point) *SUMO3* mô u (A) và mô cận u (B) của bệnh nhân Đoàn Văn C. (mã số 127)



A



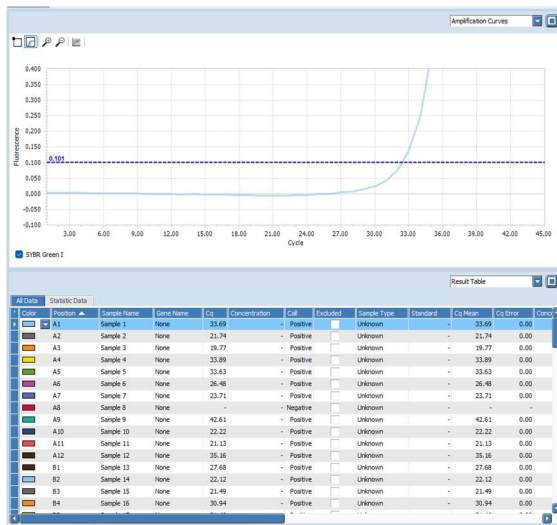
B

Tubes Samples Groups									
Green									
Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq
1				Sample	Green	--	--	--	--
2				Sample	Green	--	--	--	--
3				Sample	Green	20.14	10.10	0.96	20.14
4				Sample	Green	--	--	--	--
5				Sample	Green	--	--	--	--
6				Sample	Green	--	--	--	--
7				Sample	Green	--	--	--	--
8				Sample	Green	--	--	--	--
9				Sample	Green	--	--	--	--
10				Sample	Green	--	--	--	--
11				Sample	Green	--	--	--	--
12				Sample	Green	--	--	--	--
13				Sample	Green	--	--	--	--
14				Sample	Green	--	--	--	--
15				Sample	Green	--	--	--	--
16				Sample	Green	--	--	--	--

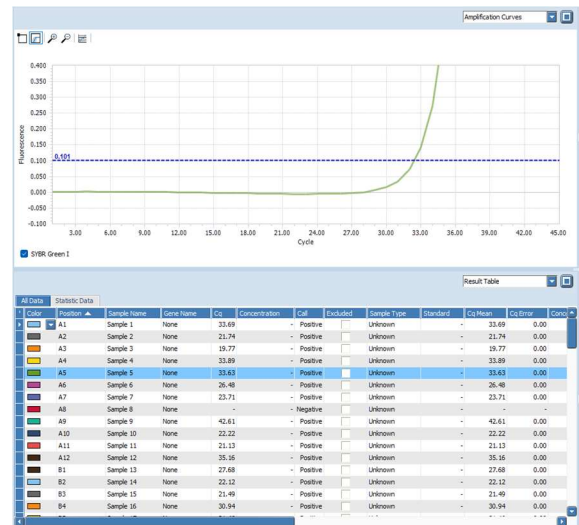
Tubes Samples Groups									
Green									
Tube	Style	Sample name	Sample groups	Sample type	Target	Cq	Take-off	Eff.	Sample Cq
15				Sample	Green	--	--	--	--
16				Sample	Green	--	--	--	--
17				Sample	Green	--	--	--	--
18				Sample	Green	--	--	--	--
19				Sample	Green	20.02	10.70	2.06	20.02
20				Sample	Green	--	--	--	--
21				Sample	Green	--	--	--	--
22				Sample	Green	--	--	--	--
23				Sample	Green	--	--	--	--
24				Sample	Green	--	--	--	--
25				Sample	Green	--	--	--	--
26				Sample	Green	--	--	--	--
27				Sample	Green	--	--	--	--
28				Sample	Green	--	--	--	--
29				Sample	Green	--	--	--	--
30				Sample	Green	--	--	--	--

Biểu hiện gen (giá trị crossing point) *NF-kB p50* mô u (A) và mô cận u (B) của bệnh nhân Đinh Công S. (mã số 124)

A



B



Biểu hiện gen (giá trị crossing point) *NF- κ B p65* mô u (A) và mô cận u (B) của bệnh nhân Nguyễn Văn T. (mã số 17)