

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



TRẦN NGỌC MINH

**NGHIÊN CỨU MÔ BỆNH HỌC VÀ
HÓA MÔ MIỄN DỊCH TỔN THƯƠNG
TIỀN UNG THƯ VÀ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2020

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



TRẦN NGỌC MINH

**NGHIÊN CỨU MÔ BỆNH HỌC VÀ
HÓA MÔ MIỄN DỊCH TỔN THƯƠNG
TIỀN UNG THƯ VÀ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN**

Ngành: Giải phẫu bệnh và Pháp y

Mã số: 62720105

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS. Nguyễn Văn Hưng

HÀ NỘI - 2020

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin trân trọng cảm ơn Đảng ủy, Ban Giám Hiệu, Phòng Đào tạo Sau Đại học, Bộ môn Giải phẫu bệnh Trường Đại Học Y Hà Nội đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi tận tình trong thời gian học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám đốc, Phòng Kế Hoạch tổng hợp, Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện ĐHY Hà Nội, Bệnh viện Ung bướu Hà Nội, Bệnh Viện Việt Đức và Trung tâm Giải phẫu bệnh – Tế bào học Bệnh Viện Bạch Mai đã tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành nghiên cứu của mình.

Tôi xin trân trọng bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Thầy hướng dẫn của tôi - PGS.TS. Nguyễn Văn Hưng - đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và cũng là người thầy đầu tiên hướng dẫn tôi vào học ngành Giải phẫu bệnh, người khai phá và truyền cho tôi ý tưởng niềm cảm hứng và say mê khi đi sâu nghiên cứu lĩnh vực này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các Thầy, cô, anh, chị, em đồng nghiệp trong Bộ môn Giải phẫu bệnh thân yêu của tôi, đặc biệt Cô TS. Nguyễn Thúy Hương đã truyền đạt kiến thức, luôn dìu dắt, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập cũng như trong công tác hàng ngày.

Tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn sự giúp đỡ nhiệt tình của các thầy, cô, anh chị em nhân viên tập thể Khoa Giải phẫu bệnh – Bệnh viện ĐHY Hà Nội, nơi tôi làm việc và nghiên cứu hàng ngày đã hết lòng vì tôi để hoàn thành Luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bạn đồng nghiệp đã nhiệt tình giúp đỡ, trao đổi và hợp tác với tôi trong công việc chuyên môn và nghiên cứu khoa học để đến ngày hôm nay tôi mới có thể hoàn thành xong luận án này.

Tôi xin bày tỏ sự cảm ơn tới các bệnh nhân đã góp phần, hỗ trợ giúp tôi hoàn thành nghiên cứu này.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình – các Bố, Mẹ và Vợ, các con tôi, cùng người thân và bạn bè đã luôn sát cánh, dành cho tôi sự yêu thương vô bờ và hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài này.

Hà Nội, ngày tháng 12 năm 2020

Tác giả

Trần Ngọc Minh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Trần Ngọc Minh, nghiên cứu sinh khóa 31 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Giải phẫu bệnh và Pháp Y, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS. TS. Nguyễn Văn Hưng.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam

3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày tháng 12 năm 2020

Tác giả

Trần Ngọc Minh

NHỮNG TỪ VIẾT TẮT

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases (Hội gan mật Hoa Kỳ)
AFP	Alpha Fetoprotein
APASL	Asian Pacific Association for the Study of Liver (Hội Gan mật Châu Á Thái Bình Dương)
Arg-1	Arginase-1
B-HCA	β -catenin-mutated HCA – U tuyến tế bào gan đột biến gen Beta-catenin
BN	Bệnh nhân
BĐTBL	Biến đổi tế bào lớn
BĐTBN	Biến đổi tế bào nhỏ
CDHA	Chẩn đoán hình ảnh
CHT	Cộng hưởng từ
CLVT	Cắt lớp vi tính
EASL	European Association for the Study of the Liver (Hội Gan mật Châu Âu)
FNA	(Fine Needle Aspiration) - Chọc hút bằng kim nhỏ
GPB	Giải phẫu bệnh
GPC-3	Glypican-3
GS	Glutamine Synthetase
HepPar-1	Hepatocyte Paraffin-1
H-HCA	Hepatocyte nuclear factor 1 α -mutated HCA – U tuyến tế bào gan đột biến yếu tố 1 α trong nhân tế bào gan.
HMMD	Hóa mô miễn dịch
HSP-70	Heat shock protein – 70 – Protein sốc nhiệt 70.

I-HCA	Inflammatory HCA- U tuyến tế bào gan viêm
JSH	(Japan Society of Hepatology) - Hội Gan mật Nhật Bản
L-FABP	Liver fatty acid binding protein (Protein liên kết với acid béo của gan)
MBH	Mô bệnh học
NC	Nghiên cứu
NLS	Nốt loạn sản
PAS	Periodic Acid Shiff
pCEA	Polyclonal Carcinoembryonic Antigen
QSNKT	Quá sản nốt khu trú
SAA	Serum Amyloid A – Protein Amyloid A huyết thanh
SIR	Society of Interventional Radiology (Hội can thiệp điện quang)
TERT	Telomerase sao chép ngược
TNM	Phân loại T, N, M
U-HCA	Unclassified HCA – U tuyến tế bào gan không phân loại
UTBM	Ung thư biểu mô
UTBMTBG	Ung thư biểu mô tế bào gan
UTG	Ung thư gan
UTKNT	U thần kinh nội tiết
UTTBS	U tuyến tế bào gan
VGB	Viêm gan B
VGC	Viêm gan C

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Cơ sở phân tử của UTBMTBG.....	3
1.2. Chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan.....	5
1.2.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán UTBMTBG của Bộ Y tế Việt Nam.....	5
1.2.2. Dấu ấn sinh học chẩn đoán	6
1.2.3. Chẩn đoán hình ảnh	7
1.2.4. Chẩn đoán giai đoạn lâm sàng	8
1.2.5. Sinh thiết và tế bào học chẩn đoán	9
1.3. Tồn thương tiền ung thư gan.....	12
1.3.1 Biến đổi tế bào gan	13
1.3.2. Ô loạn sản	18
1.3.3. Nốt loạn sản	18
1.3.4. U tuyến tế bào gan	19
1.4. Ung thư biểu mô tế bào gan.....	23
1.4.1. Ung thư biểu mô tế bào gan sớm.....	23
1.5. Hóa mô miễn dịch liên quan đến chẩn đoán UTBMTBG và tiền ung thư gan.....	26
1.5.1. Hepatocyte Paraffin-1	26
1.5.2. Arginase-1.....	27
1.5.3. Glypican-3.....	27
1.5.4. Glutamine Synthetase	28
1.5.5. Polyclonal Carcinoembryonic Antigen.....	29
1.5.6. Protein sốc nhiệt 70.....	29
1.5.7. Dấu ấn CD34.....	30

1.5.8. Các dấu ấn khác	30
1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước và quốc tế.....	31
1.6.1. Trong nước.....	31
1.6.2. Quốc tế	34
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	36
2.1. Đối tượng nghiên cứu	36
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn.....	36
2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	36
2.2. Phương pháp nghiên cứu	37
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu	37
2.2.2. Cách chọn mẫu nghiên cứu.....	37
2.2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	37
2.2.4. Biến số nghiên cứu.....	38
2.2.5. Phương tiện và kỹ thuật được sử dụng trong nghiên cứu.....	40
2.2.6. Quy trình nghiên cứu	42
2.2.7. Tiêu chuẩn xác định, đánh giá biến số nghiên cứu.....	43
2.3. Xử lý số liệu và hạn chế sai số.....	52
2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu	52
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	54
3.1. Một số đặc điểm chung	54
3.1.1. Đặc điểm phân bố về tuổi, giới của bệnh nhân UTBMTBG	54
3.1.2. Đặc điểm phân bố về tuổi, giới của bệnh nhân UTTBG	55
3.1.3. Đặc điểm phân bố về số lượng u của bệnh nhân UTBMTBG	55
3.1.4. Đặc điểm phân bố về kích thước u của bệnh nhân UTBMTBG	56
3.1.5. Đặc điểm phân bố về nồng độ AFP huyết thanh của bệnh nhân UTBMTBG	56
3.1.6. Đặc điểm phân bố về tình trạng nhiễm vi rút viêm gan B, C của bệnh nhân UTBMTBG	57

3.2. Đặc điểm tổn thương tiền ung thư gan và UTBMTBG.....	58
3.2.1. Tổn thương tiền ung thư gan	58
3.2.2. Các đặc điểm của UTBMTBG	60
3.3. Đối chiếu và tìm mối liên quan của một số yếu tố khác và mô học.....	66
3.3.1. Đối chiếu giữa kích thước u với độ mô học trong UTBMTBG	66
3.3.2. Đối chiếu giữa nồng độ AFP huyết thanh với độ mô học trong UTBMTBG	67
3.3.3. Đối chiếu giữa tít MBH với độ mô học trong UTBMTBG.....	68
3.3.4. Đối chiếu giữa xâm nhập mạch với độ mô học trong UTBMTBG	69
3.4. Đặc điểm HMMD trong tổn thương tiền ung thư và UTBMTBG	70
3.4.1. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTTGB.....	70
3.4.2. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong NLS.....	71
3.4.3. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTBMTBG	72
3.4.4. Đặc điểm bộc lộ khi nhuộm 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GPC-3, GS) trong UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao.....	73
3.4.5. Giá trị khi nhuộm phối hợp 3 dấu ấn (HSP-70, GPC-3, GS) trong chẩn đoán phân biệt UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao.....	74
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	77
4.1. Một số đặc điểm chung	77
4.1.1. Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm bệnh nhân UTBMTBG.....	77
4.1.2. Đặc điểm về tuổi, giới của nhóm bệnh nhân UTTBG.....	78
4.1.3. Sự phân bố về số lượng u của nhóm bệnh nhân UTBMTBG	79
4.1.4. Sự phân bố về kích thước u của nhóm bệnh nhân UTBMTBG.	80
4.1.5. Nồng độ AFP của nhóm bệnh nhân UTBMTBG	82
4.1.6. Tình trạng nhiễm vi rút viêm gan ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG	83
4.2. Đặc điểm mô bệnh học của tổn thương tiền ung thư.....	84
4.2.1. Nút loạn sản tế bào gan.....	84

4.2.2. U tuyến tế bào gan.	87
4.3. Các đặc điểm mô bệnh học của UTBMTBG.....	89
4.3.1. Đặc điểm các típ mô bệnh học.....	89
4.3.2. Đặc điểm tế bào u	93
4.3.3. Độ mô học.....	94
4.3.4. Tình trạng xâm nhập mạch trong UTBMTBG	96
4.3.5. Tình trạng xơ hóa gan ở mô quanh UTBMTBG	97
4.4. Đối chiếu một số đặc điểm mô học với độ mô học.	99
4.4.1. Đối chiếu kích thước u với độ mô học.	99
4.4.2. Đối chiếu nồng độ AFP huyết thanh và với độ mô học	100
4.4.3. Đối chiếu giữa típ mô bệnh học với độ mô học	101
4.4.4. Đối chiếu tình trạng xâm nhập mạch với độ mô học.....	102
4.5. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán các tổn thương gan.	103
4.5.1. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán UTBMTBG	104
4.5.2. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán các NLS và UTBMTBG ...	112
KẾT LUẬN	124
KHUYẾN NGHỊ	126
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Bảng tóm tắt đặc điểm tế bào học và mô bệnh học của NLS và UTBM gan sớm.	19
Bảng 2.1.	Bảng thông tin kháng thể nhuộm trong nghiên cứu	41
Bảng 2.2.	Bảng đặc điểm mô bệnh học phân loại các tổn thương	47
Bảng 3.1.	Phân bố giữa tuổi và giới của UTTBG	55
Bảng 3.2.	Phân bố về số lượng u	55
Bảng 3.3.	Phân bố về kích thước u	56
Bảng 3.4.	Phân bố về nồng độ AFP huyết thanh.....	56
Bảng 3.5.	Phân bố tình trạng nhiễm vi rút viêm gan.....	57
Bảng 3.6.	Phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của NLS	58
Bảng 3.7.	Phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của các típ UTTBG	59
Bảng 3.8.	Phân bố tổn thương theo típ MBH của UTBMTBG.....	60
Bảng 3.9.	Phân bố tổn thương theo hình thái tế bào học của UTBMTBG...	62
Bảng 3.10.	Phân bố tổn thương theo độ mô học của UTBMTBG	64
Bảng 3.11.	Tình trạng xâm nhập mạch trong UTBMTBG	65
Bảng 3.12.	Phân bố tình trạng xơ hóa gan trong UTBMTBG	66
Bảng 3.13.	Đôi chiếu giữa kích thước u với độ mô học	66
Bảng 3.14.	Liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với độ mô học	67
Bảng 3.15.	Liên quan giữa típ MBH với ĐMH của UTBMTBG	68
Bảng 3.16.	Đôi chiếu tình trạng xâm nhập mạch với độ mô học	69
Bảng 3.17.	Tình trạng bộc lộ dấu ấn HMMD trong các típ UTTBG	70
Bảng 3.18.	Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn HMMD trong nốt loạn sản	71
Bảng 3.19.	Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn HMMD trong UTBMTBG.....	72
Bảng 3.20.	Tỷ lệ bộc lộ khi phối hợp 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GS, GPC-3) trong UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao	73

Bảng 3.21.	Tỷ lệ bộc lộ khi nhuộm phối hợp 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GS, GPC-3) trong chẩn đoán UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao	74
Bảng 4.1.	So sánh tỷ lệ các típ của UTTBG với một số NC khác	87
Bảng 4.2.	Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTTBG	108
Bảng 4.3.	So sánh độ nhạy, và độ đặc hiệu khi sử dụng 3 dấu ấn HSP-70, GPC-3, GS theo Panel đơn độc và Panel phối hợp cặp 2/3 dương tính	120
Bảng 4.4.	So sánh độ nhạy, và độ đặc hiệu khi sử dụng 3 dấu ấn HSP-70, GPC-3, GS theo Panel ít nhất 1/3 hoặc ít nhất 2/3 hoặc cả 3 dấu ấn đồng thời dương tính	122

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Phân bố theo giới và nhóm tuổi của bệnh nhân UTBMTBG	54
--------------	--	----

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1:	Cơ chế phân tử chuyển dạng ác tính của UTBMTBG	3
Hình 1.2:	Súng sinh thiết Magnum – Bard sử dụng nhiều lần kim sử dụng một lần	11
Hình 2.1:	Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	53
Hình 4.1.	Thuật toán chẩn đoán UTTBG	110
Hình 4.2.	Thuật toán chẩn đoán UTTBG	111

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 1.1.	Biến đổi tế bào lớn.	16
Ảnh 1.2.	Biến đổi tế bào nhỏ.	17
Ảnh 1.3.	U tuyến tế bào gan	22
Ảnh 3.1.	(A) UTBMTBG thể giả tuyến với các tế bào u sắp xếp dạng giả tuyến hoặc nang (HE x 200, mã số: 3837-18). (B) UTBMTBG thể đặc với các tế bào u đứng thành mảng đặc, không rõ xoang mạch (HE x 100,.....	61
Ảnh 3.2.	UTBMTBG đa hình thái, không biệt hóa (A) (HE x 200, mã số: 4257-18), UTBMTBG tấp giàu lympho bào (B) (HE x 200 mã số: A87578)	61
Ảnh 3.3.	UTBMTBG thể điển hình với các tế bào hình đa diện, bào tương dạng hạt, ưa toan, trong lòng chứa mật (A) (HE x 400, mã số: 241-19), UTBMTBG thể tế bào sáng với các tế bào u có bào tương rộng, sáng màu (B) (HE x 400, mã số: 5685)	62
Ảnh 3.4.	UTBMTBG thể thoái hóa mỡ với các giọt mỡ hình cầu nằm trong bào tương tế bào u (A) (HE x 100, mã số: 1122-19), UTBMTBG thể chế tiết mật với các giọt mật (màu nâu đỏ) hoặc trong các vi quản mật (B).....	63
Ảnh 3.5.	UTBMTBG có thể Mallory (các thể hình cầu), ưa toan trong bào tương (A) (HE x 200, mã số: 4259-18), UTBMTBG với thể vùi kính mờ nằm trong nhân tế bào u (B) (HE x 200, mã số 701)	63
Ảnh 3.6.	UTBMTBG thể đa hình với các tế bào u đa dạng về kích thước, có cả tế bào khổng lồ, nhân quái (A, B) (HE x 400, mã số:1107)	64
Ảnh 3.7.	UTBMTBG xâm nhập mạch (A) (HE x 100, mã số: 1073-18); ..	65

Ảnh 3.8:	Mô u tuyến dương tính với dấu ấn β -catenin (A) (x100, mã số: SS7433) và dấu ấn SAA (B) (x 100, mã số: SL1662)71
Ảnh 3.9:	Mô ung thư dương tính với dấu ấn GPC-3 (A) và dấu ấn HSP-70 (B) (x 100, mã số: BV10041-19)75
Ảnh 3.10:	Mô ung thư dương tính với dấu ấn Arginase -1 (A) và dấu ấn GPC-3 (B) (x 100, mã số: BV10041-19)76

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo GLOBOCAN năm 2018, tại Việt Nam, ung thư gan (UTG) đã vượt ung thư phổi để trở thành bệnh ung thư (UT) phổ biến nhất khi mỗi năm có 25.335 trường hợp mắc mới và 25.404 trường hợp tử vong. Bên cạnh đó, Việt Nam hiện được xếp hạng là một trong số các quốc gia có tỷ lệ UTG cao nhất thế giới (đứng thứ 4 trên toàn thế giới), trong đó, cứ 100.000 người thì có 23.2 người bị UTG (tính chung cho cả hai giới) [1]. Khoảng 80% các trường hợp UTG xuất phát từ tế bào biểu mô gan nguyên phát hay còn gọi là ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) và thường phát triển trên một nền gan xơ, hậu quả gây nên bởi các tổn thương lâu dài tại gan bao gồm nhiễm Vi rút viêm gan B hoặc C mạn tính, bệnh gan do rượu hoặc viêm gan nhiễm mỡ không do rượu hoặc viêm gan tự miễn [2]. Tình trạng viêm gan mạn tính có thể tạo nên các biến đổi di truyền và ngoại di truyền trong tế bào gan và hậu quả là sự phát sinh thành UT [3]. Trong quá trình tạo UTBMTBG, tế bào u trải qua nhiều giai đoạn với nhiều cấp độ biến đổi theo trình tự từ các tổn thương lành tính tiền ung thư (nốt tái tạo, nốt loạn sản (NLS) cho đến các tổn thương ác tính (UTBMTBG sớm, UTBMTBG tiến triển) [4]. Do UTBMTBG sớm được coi là tổn thương tiền thân của UTBMTBG tiến triển, nên sự biệt hóa ở giai đoạn từ NLS (đặc biệt là NLS độ cao) thành UTBMTBG sớm là rất quan trọng vì NLS độ cao là tổn thương tiền UT. Mặc dù có mang các đặc điểm loạn sản nhưng không có bằng chứng mô học cho rằng đó là tổn thương ác tính, vì vậy lâm sàng có thể coi các tổn thương này là những “nốt gan giáp biên” [5], [6], [7].

Mặc dù u tuyến tế bào gan (UTTBG) vẫn được xếp vào nhóm tổn thương lành tính, nhưng những nghiên cứu (NC) về phân tử đã phát hiện UTTBG có khả năng chuyển dạng ác tính mà các xét nghiệm cận lâm sàng

cũng như chẩn đoán hình ảnh (CDHA) không thể phân biệt được. Mặc dù hiện nay, các phương tiện CDHA đã rất hiện đại, phát triển hiện đại, vượt bậc, cải thiện rất nhiều khả năng phát hiện và chẩn đoán sớm UTBMTBG cũng như một số tổn thương tiền ung thư, tuy nhiên, đối với những tổn thương là những “nốt gan giáp biên” thì CDHA vẫn còn rất nhiều những hạn chế. Vì vậy, Giải phẫu bệnh phải đối mặt với thách thức rất lớn là phải chẩn đoán các tổn thương gan trên những mảnh bệnh phẩm sinh thiết rất nhỏ với các dấu hiệu bệnh học cũng như CDHA không rõ ràng. Gần đây, một số dấu ấn hóa mô miễn dịch (HMMD) mới được nghiên cứu và ứng dụng trong chẩn đoán có thể giúp phân biệt được các tổn thương lành tính với các tổn thương ác tính của gan mà CDHA khoa có thể phân biệt được [8], [9], [10].

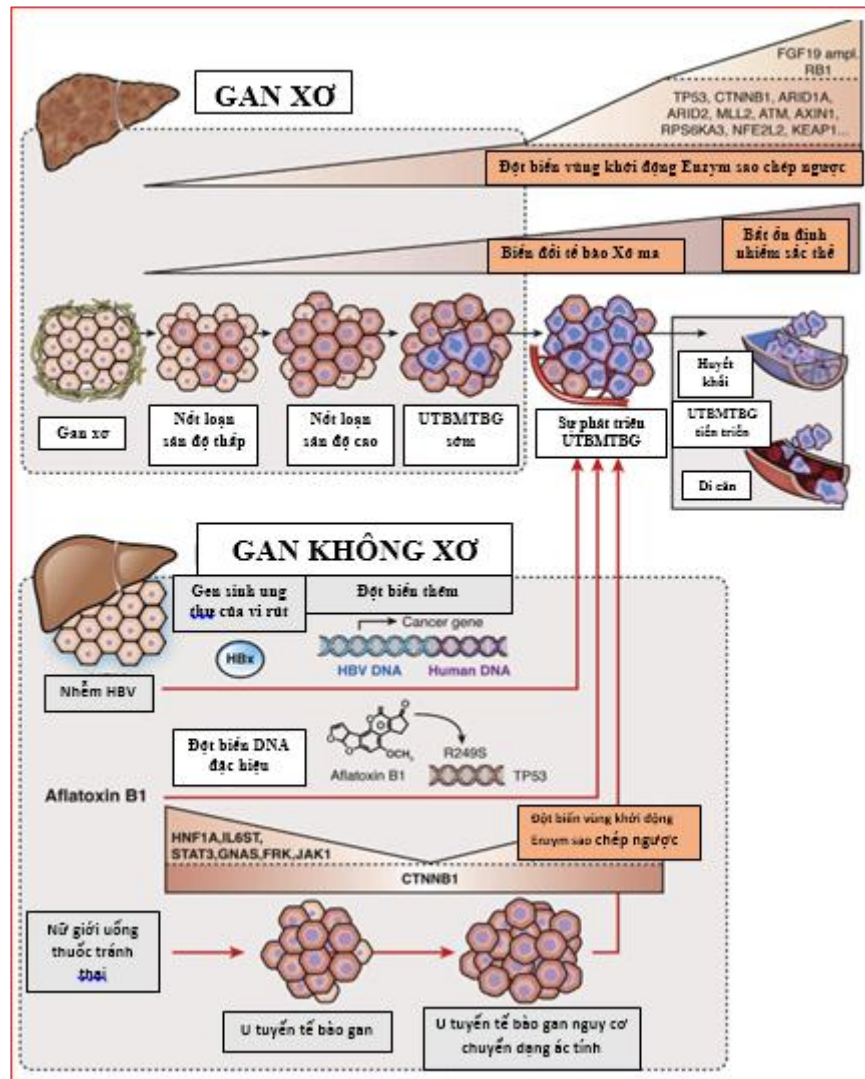
Tại Việt Nam, hiện vẫn chưa có tác giả nào nghiên cứu về các đặc điểm mô học của tổn thương tiền ung thư gan và sử dụng các dấu ấn HMMD một cách đồng bộ và đầy đủ, giúp chẩn đoán phân biệt các tổn thương đó với tổn thương ác tính, cũng như có thể phân loại dưới típ của u tuyến tế bào gan. Từ tất cả các lí do trên, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu mô bệnh học và hóa mô miễn dịch tổn thương tiền ung thư và ung thư biểu mô tế bào gan”** nhằm hai mục tiêu sau:

1. *Mô tả một số đặc điểm mô bệnh học tổn thương tiền ung thư và ung thư biểu mô tế bào gan.*
2. *Đối chiếu độ mô học với một số yếu tố liên quan khác của UTBMTBG. Đánh giá giá trị một số dấu ấn hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán tổn thương tiền ung thư và UTBMTBG biệt hóa cao.*

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Cơ sở phân tử của UTBMTBG



Hình 1.1: Cơ chế phân tử chuyển dạng ác tính của UTBMTBG [11].

Cơ chế bệnh sinh của UTBMTBG là một quá trình nhiều giai đoạn liên quan đến sự tích lũy tăng dần các biến đổi phân tử trong tế bào gan. Các NC ban đầu về sinh bệnh học UTBMTBG đã xác định được một số đường truyền tín hiệu quan trọng bị kích hoạt trong UTBMTBG, cũng như các đột biến hoạt

hóa gen ung thư (β -catenin, Axin1, PI-3-kinase, K-ras) và bất hoạt các yếu tố ức chế u (p53, Rb1, CDKN2A, IGF2R, PTEN). CTNNB1 và TP53 là các gen đột biến phổ biến nhất trong UTBMTBG. Đột biến CTNNB1 đã được chứng minh liên quan đến UTBMTBG do rượu, trong khi TP53 đột biến có khả năng liên quan đến nhiễm HBV [12].

Phân tích các con đường tín hiệu đã chứng minh thêm vai trò tiềm năng của chúng ảnh hưởng đến nhiều khía cạnh của bộ máy tế bào người như sửa chữa và kiểm soát acid deoxyribonucleic (DNA) (TP53, CDKN2A và RB1), tín hiệu Wnt/ β -catenin (CTNNB1 và AXIN1), ARID1B và ARID2, tín hiệu protein kinase hoạt hóa phân bào (MAPK) gây ung thư (RPS6KA3), stress oxy hóa (NFE2L2 và KEAP1), và sửa chữa histone (MLL, MLL3 và MLL4). Người ta đã phát hiện piR-Hep1, một loại RNA không mã hóa (ncRNA) mới có từ 26 - 32 nucleotide, gây gia tăng mức độ nhạy cảm của tế bào u trong gần một nửa UTBMTBG được sàng lọc [13].

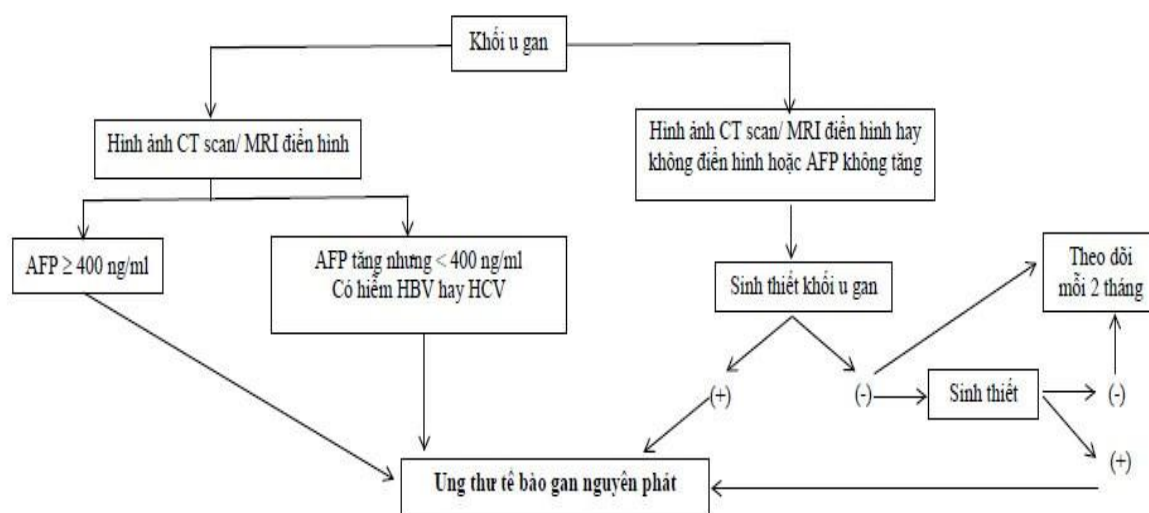
Nhiễm HBV mạn tính cho phép DNA của vi rút tích hợp vào bộ gen vật chủ, dẫn đến sự biến đổi gây UT. Một NC giải trình tự gen thế hệ mới gần đây đã phát hiện việc tích hợp HBV đã được tìm thấy trong hơn 80% UTBMTBG dương tính với HBV và lan rộng hơn trong mô u so với mô không u xung quanh. Đặc biệt, ba gen liên quan đến UT: Telomerase sao chép ngược (TERT), bệnh bạch cầu hỗn hợp các dòng – 4 (MLL4) và cyclin E1 đã được phát hiện tại các vị trí thường xảy ra tích hợp trong các u dương tính với HBV. Như vậy, có mối liên quan đáng kể giữa tích hợp HBV và sinh bệnh học UTBMTBG. Hơn nữa, đột biến yếu tố khởi động TERT ở hơn 50% mô UTBMTBG [14], [15]. Mặc dù hiện chưa hiểu rõ cơ chế TERT được hoạt hóa trong ung thư, một NC gần đây đã tìm ra yếu tố phiên mã protein gắn với GA (GABP), một thành viên của họ yếu tố phiên mã E-hai mươi sáu (ETS), được tuyển chọn một cách có chọn lọc gây đột biến yếu tố khởi động TERT và kích hoạt bộ lộ TERT [16].

Việc tích hợp thành phần vi rút HCV vào bộ gen vật chủ dẫn đến chuyển dạng ác tính trực tiếp cho tế bào gan. Protein lõi HCV hoạt hóa STAT3 thông qua con đường tự tiết (autocrine) IL-6 và gia tăng hoạt động của telomerase [17], có thể gây ra những thay đổi chuyển dạng ác tính ở tế bào gan. Ngoài ra, NS3/4A thúc đẩy tăng sinh tế bào bằng cách kích hoạt hiện tượng phosphoryl hóa các kinase được điều hòa bởi tín hiệu ngoại bào (ERKs), ức chế apoptosis qua trung gian p53 và hoạt hóa yếu tố khởi động p21 [18]. Ngoài ra, nhiễm HCV mạn tính gây chuyển dạng ung thư theo một số con đường khác như viêm liên tục và mạn theo đường NF- κ B; stress oxy hóa gây đột biến DNA; biến đổi gen ức chế u [19]; rối loạn đường tín hiệu Wnt/-catenin do NS5A; ngăn cản tín hiệu TGF- β thông qua tương tác giữa thụ thể TGF- β I (T β R-I) và NS5A [20],[21],[22].

1.2. Chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan

1.2.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán UTBM TBG của Bộ Y tế Việt Nam

Hiện nay, ở Việt Nam, chiến lược phát hiện khối u gan được cụ thể hoá như sơ đồ: Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị UTBM gan nguyên phát (*Ban hành kèm theo quyết định số 5250/QĐ – BYT, ngày 28/12/2012 của Bộ trưởng Bộ Y Tế*)



Chẩn đoán xác định: có một trong ba tiêu chuẩn sau:

- Có bằng chứng GPB là ung thư biểu mô tế bào gan nguyên phát
- Hình ảnh điển hình trên chụp cắt lớp vi tính (CLVT) ổ bụng có cản quang hoặc cộng hưởng từ (CHT) ổ bụng có cản từ, AFP >400ng/ml
- Hình ảnh điển hình trên CLVT ổ bụng có cản quang hoặc CHT ổ bụng có cản từ, AFP tăng cao hơn bình thường (nhưng chưa đến 400 ng/ml), có nhiễm virus viêm gan B hoặc C. Các trường hợp không đủ các tiêu chuẩn nói trên đều phải làm sinh thiết gan để chẩn đoán xác định.

1.2.2. Dấu ấn sinh học chẩn đoán

Alpha Fetoprotein (AFP) là dấu ấn sinh học được sử dụng phổ biến nhất hiện nay - một glycoprotein bào thai xuất hiện với nồng độ cao ở BN xơ gan và ung thư gan. Hơn 70% các trường hợp UTBMTBG có nồng độ AFP cao do tế bào u sản xuất [23]. AFP có độ nhạy từ 39 - 45%, độ đặc hiệu từ 76 - 94%, giá trị dự báo dương tính 9 - 50% [24]. Khuyến cáo của Hội Gan mật Châu Á Thái Bình Dương (Asian Pacific Association for the Study of Liver - APASL) năm 2010 là không nên sử dụng đơn thuần AFP để chẩn đoán UTBMTBG và nếu sử dụng thì nên phối hợp cùng hai dấu ấn sinh học khác, trong đó, ngưỡng chẩn đoán của AFP là 200 ng/ml [25].

AFP-L3 là một đồng đẳng của AFP, được sử dụng nhiều và cho thấy, khi AFP-L3 tăng hơn 10% (chỉ số bình thường: 0,5 – 9,9%) có thể chỉ ra tình trạng UTBMTBG sớm, đôi khi sớm hơn khi phát hiện bằng CDHA (3-21 tháng trước khi phát hiện bằng CDHA, tăng gấp 7 lần nguy cơ thành UTBMTBG trong vòng 21 tháng). Độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán thay đổi từ 36-66% và 77-95%. Do AFP-L3 được tạo ra từ các tế bào ác tính, nên việc định lượng AFP-L3 có thể giúp chẩn đoán phân biệt u gan lành hay ác tính. Khi AFP-L3 tăng, thường có khuynh hướng u phát triển nhanh, xâm lấn, di căn sớm trong gan, do đó AFP-L3 là chất chỉ thị tiên lượng xấu của bệnh.

DCP (Des- γ -Carboxy Prothrombin hoặc PIVKA II) là một tiền chất không có chức năng của Prothrombin, là protein được tạo ra bởi sự thiếu Vitamin K. DCP hiện diện trong 91% UTBMTBG. Chỉ số bình thường: 0-7,5ng/ml. DCP tăng thường phản ánh tình trạng xấu của bệnh như: tăng kích thước khối u, hình thành huyết khối và tăng xâm lấn tĩnh mạch cửa. Thời gian bán hủy của DCP ngắn (40-72 giờ), AFP dài hơn (5-7 ngày), nên có thể sử dụng DCP để theo dõi điều trị (sự tăng trở lại sau điều trị thể hiện bệnh tái phát hoặc thất bại của điều trị). Khi phối hợp cả 3 dấu ấn AFP, DCP, AFP-L3 làm cho độ nhạy trong chẩn đoán UTBMTBG sớm tăng lên.

1.2.3. Chẩn đoán hình ảnh

Trước năm 2000, việc chẩn đoán UTBMTBG dựa chủ yếu vào sinh thiết. Tuy nhiên kỹ thuật này có một số hạn chế như không thực hiện được khi khối u ở vị trí khó và có nguy cơ biến chứng như chảy máu và di căn theo vết kim. Bên cạnh đó, việc chẩn đoán phân biệt giữa các NLS và UT sớm là vấn đề còn nhiều khó khăn. Năm 2001, Hội Gan mật Châu Âu (European Association for the Study of the Liver – EASL) lần đầu tiên áp dụng các tiêu chuẩn chẩn đoán không xâm nhập bao gồm các phương pháp chẩn đoán hình ảnh kết hợp với xét nghiệm dấu ấn sinh học. Những khuyến cáo gần nhất của Hội gan mật Hoa Kỳ (American Association for the Study of Liver Diseases – AASLD), APASL năm 2010 và EASL năm 2012 đều đưa ra phác đồ chẩn đoán UTBMTBG dựa trên hình ảnh điển hình của UTBMTBG trên các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác nhau (siêu âm sử dụng chất cản quang, chụp cắt lớp vi tính, chụp cộng hưởng từ (CHT) [25], [26], [27].

Độ chính xác của các phương pháp CDHA cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của chụp cắt lớp vi tính (CLVT) xoắn ốc trong chẩn đoán UTBMTBG lần lượt là 67,5% và 92,5% [28]. Theo các khuyến cáo hiện nay, chụp CLVT xoắn ốc ba pha là phương pháp được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán và theo dõi hiệu quả điều trị UTBMTBG.

Độ nhạy và độ đặc hiệu của CHT đối với chẩn đoán UTBMTBG lần lượt là 80,6% và 84,8% [28]. Hầu hết các khối UTBMTBG do đặc điểm tăng sinh mạch nên ở pha động mạch sẽ thể hiện là khối đồng nhất, tăng tín hiệu so với nhu mô gan xung quanh và ở pha tĩnh mạch cửa và pha muộn là khối giảm tín hiệu. Với các khối UT lớn có thể thấy hình ảnh cấu trúc như thể khảm hoặc ngấm thuốc ở ngoại vi.

1.2.4. Chẩn đoán giai đoạn lâm sàng

Đối với UTBMTBG, chẩn đoán giai đoạn rất quan trọng, giúp lựa chọn phương pháp điều trị thích hợp cũng như đưa ra tiên lượng phù hợp. Hiện nay, có một số bảng phân loại phổ biến giúp đánh giá giai đoạn bệnh của UTBMTBG gồm các bảng phân loại TNM, Barcelona, Okuda, Hội Gan mật Nhật Bản (Japan Society of Hepatology- JIS)... Trong đó, phân loại Barcelona ra đời dựa trên các dữ liệu từ nhiều NC thuần tập về UTBMTBG. Ưu điểm của các NC này là theo dõi được số lượng lớn các BN bao gồm cả những BN ung thư giai đoạn sớm, sau phẫu thuật và những tiến triển tiếp theo ở những BN không điều trị. Phân loại này được sử dụng phổ biến ở nhiều nước trên thế giới trong đó có Việt Nam. Phân loại Barcelona được chia ra 5 giai đoạn bệnh: 0, A, B, C, D phụ thuộc vào các biến số liên quan đến thể trạng chung của BN, phân loại Child Pugh (tình trạng chức năng gan), các yếu tố của khối u: kích thước, số lượng khối và xâm lấn mạch máu. Phân loại có giá trị, cho phép đánh giá với mỗi giai đoạn bệnh sẽ có chỉ định điều trị thích hợp, tiên lượng thời gian sống thêm chính xác hơn so với các bảng phân loại trước đây [29].

Phân loại TNM cho UTBMTBG

Ủy ban liên kết về UT của Mỹ (AJCC) đã quy định các giai đoạn TNM cho UT gan như sau:

Khối u nguyên phát (T)

TX: Không thể đánh giá khối u nguyên phát

T0: Không có bằng chứng về khối u nguyên phát

T1: Khối u đơn độc ≤ 2 cm hoặc > 2 cm mà không xâm lấn mạch máu

T1a: Khối u đơn độc ≤ 2 cm (có hoặc không có sự xâm lấn mạch máu)

T1b: Khối u đơn độc > 2 cm mà không xâm lấn mạch máu

T2: Khối u đơn độc > 2 cm với sự xâm lấn mạch máu hoặc nhiều khối u, không có > 5 cm

T3: Nhiều khối u, ít nhất một trong số đó > 5 cm

T4: Khối u liên quan đến một nhánh chính của tĩnh mạch cửa hoặc tĩnh mạch gan hoặc khối u xâm lấn trực tiếp các cơ quan lân cận khác ngoài túi mật hoặc khối u làm thủng phúc mạc nội tạng

Hạch bạch huyết vùng (khu vực) (N)

NX: Hạch vùng không thể đánh giá được.

N0: Không có di căn vào hạch vùng.

N1: Có di căn vào hạch vùng

Di căn xa (M)

M0: không có di căn xa

M1: Di căn xa

Giai đoạn IA: T1a, N0, M0

Giai đoạn IB: T1b, N0, M0

Giai đoạn II: T2, N0, M0

Giai đoạn IIIA: T3, N0, M0

Giai đoạn IIIB: T4, N0, M0

Giai đoạn IVA: bất kỳ T, N1, M0

Giai đoạn IVB: bất kỳ T, bất kỳ N, M1

1.2.5. Sinh thiết và tế bào học chẩn đoán

Các kỹ thuật thăm dò xâm lấn được sử dụng để chẩn đoán hình thái của UTBMTBG là chọc hút bằng kim nhỏ và sinh thiết bằng kim lõi dưới hướng dẫn của siêu âm. Hiệu suất của các kỹ thuật này có phần tương tự nhau trong chẩn đoán hình thái của UTBMTBG.

1.2.5.1. Chẩn đoán tế bào học (TBH)

Độ nhạy của phương pháp TBH thay đổi 69-95% trong các NC khác nhau (luôn thấp hơn ở UTBMTBG biệt hóa cao), trong khi độ đặc hiệu thay đổi 70-100% [30], [31], [32]. Độ chính xác khi chẩn đoán các tổn thương <3cm (50-83%), thấp hơn khi chẩn đoán ở các tổn thương lớn (85-95%) [33], [34]. Kỹ thuật TBH phết bằng phương pháp Papanicolaou sẽ làm giảm độ nhạy và độ đặc hiệu. Kỹ thuật TBH dòng chảy và HMMD vô cùng hữu ích trong việc mô tả đặc điểm của tế bào tân sản.

Hiện nay, ở nước ta, chẩn đoán TBH dưới hướng dẫn của siêu âm đang được sử dụng rộng rãi, phương pháp này áp dụng từ những năm 80 và 90 của thế kỷ XX tại một số bệnh viện lớn ở Hà Nội, Huế, Đà Nẵng, Thành phố Hồ Chí Minh và một số cơ sở khác. Phương pháp có độ nhạy đạt 90-95%, độ đặc hiệu 91-93% [35], [36].

Trên phiên đồ, tế bào u đứng phân tách nhau hoặc tập trung thành từng đám với cấu trúc bè. Trong các đám tế bào u, một số tế bào có dạng đa diện khá rõ, có thể thấy các hạt sắc tố mật trong bào tương Kondo và cs (năm 1989) đã chia mức độ biệt hoá tế bào u thành 3 loại:

- Biệt hoá cao: tế bào u gần giống tế bào gan bình thường hoặc tế bào tái tạo trong gan xơ. Tế bào u hình đa diện, ranh giới rõ, bào tương kiềm tính, tỷ lệ nhân/bào tương tăng vừa, hạt nhân hơi to.

- Biệt hoá vừa: tế bào u ít nhiều vẫn có dạng đa diện gợi hình ảnh tế bào gan nhưng kích thước không đều, tỷ lệ nhân/bào tương tăng rõ, nhân không đều, màng nhân dày lõi lõm, lưới màu thô phân bố không đều, có 1- 2 hạt nhân tương đối lớn.

- Biệt hoá thấp (kém): tế bào u đa hình thái, to nhỏ không đều, khác biệt rõ rệt với tế bào gan bình thường. Nhân lớn đa dạng, tỷ lệ nhân/bào tương tăng rõ rệt. Màng nhân dày có góc cạnh, chất màu thô, vón cục, hạt nhân to, nổi rõ có tế bào nhân quá, nhân chia, nhân không lồ như hợp bào [37].

1.2.5.2. Sinh thiết trong chẩn đoán

Năm 1938, kim sinh thiết Vim-Silverman lần đầu tiên được giới thiệu và tại thời điểm này, MBH có ảnh hưởng lớn hơn trong y học và đã có những đóng góp lớn trong NC bệnh lý và sinh lý bệnh của gan. Năm 1958, kỹ thuật sinh thiết gan được tiếp tục nâng cao nhờ sử dụng thêm một số kim sinh thiết khác. Kim Menghini được áp dụng rộng rãi hơn do tính an toàn và dễ sử dụng hơn so với kim Vim-Silverman; nhờ đó, người ta có thể lấy được một lượng mô đủ cần thiết cho NC mô học, hóa mô, siêu cấu trúc và HMMD. Dụng cụ kim sinh thiết lõi được áp dụng gần đây như kim sinh thiết Tru-cut và súng sinh thiết, do vậy, kỹ thuật sinh thiết gan ngày càng được hoàn thiện và an toàn hơn trước đây [38].



Hình 1.2: Súng sinh thiết Magnum – Bard sử dụng nhiều lần kim sử dụng một lần [39].

Độ nhạy của sinh thiết kim lõi để chẩn đoán UTBMTBG là 86-96%, được tăng lên ở những trường hợp chọc nhiều lần, độ đặc hiệu dao động 95-100% độ chính xác 85% đến 91% [32], [34], [40]. Tuy nhiên, sinh thiết kim cũng có những biến chứng như chảy máu và gieo rắc tế bào ung thư qua đường kim. Tỷ lệ gieo rắc khác nhau trong các tài liệu từ 0% đến 7,69%, trung bình là 3,16% và 2,66%; giá trị này thấp hơn (1,43%) khi nghiên cứu so sánh tỷ lệ biến chứng. Một phân tích tổng hợp được công bố vào năm 2007 đã xác định, tỷ lệ trung bình của việc gieo rắc tế bào khối u là 2,7% [41]. Rõ

ràng, đường kính kim càng lớn và số lần chọc, hoặc mức độ biệt hóa của khối u càng thấp thì nguy cơ gieo rắc càng cao. Tuy nhiên, không có NC để xác nhận giả định này. Việc gieo rắc có thể xảy ra ở thành bụng ngực hoặc trong phúc mạc, đôi khi thấy ở vài năm sau khi sinh thiết và thậm chí sau khi thực hiện ghép gan. Việc điều trị tai biến gieo rắc bằng kim chủ yếu bằng phương pháp phẫu thuật, sau phẫu thuật, hầu hết BN không thấy tái phát. Sự xuất hiện của gieo rắc tế bào u không làm thay đổi tỷ lệ sống toàn bộ, mà chỉ phụ thuộc vào sự tiến triển của khối u nguyên phát hoặc xơ gan [42]. Tỷ lệ tử vong sau sinh thiết cao hơn khi sử dụng kim lớn (0,15-0,19%) so với kim nhỏ (0,008%) [41], [43], [44].

Đối với hầu hết các bệnh lý ở gan, sinh thiết gan qua da có thể lấy được mẫu bệnh phẩm đạt yêu cầu. Nhìn chung, kích thước tối thiểu của mảnh sinh thiết mô gan để đánh giá MBH phải có chiều dài khoảng 1,5 – 2,0 cm và chiều rộng khoảng 0,4 - 0,5 cm. Nội soi sinh thiết gan là phương pháp lấy mẫu lý tưởng khi mà phương pháp sinh thiết gan qua da không dễ dàng thực hiện được. Trên các mảnh sinh thiết kim, ta có thể chẩn đoán xác định, địnhтип MBH, độ mô học và bệnh phẩm có thể nhuộm các phương pháp đặc biệt. Tuy nhiên sự xâm lấn vi mạch máu rất khó xác định bằng sinh thiết gan và nguy cơ của nó chỉ có thể được ước tính. Ví dụ, đối với một khối u biệt hóa kém, kích thước $u > 4\text{cm}$, nguy cơ xâm lấn vi mạch máu là 61%. Đối với các khối u biệt hóa cao, kích thước và mức độ xâm lấn mạch máu dường như không ảnh hưởng đến tiên lượng [45].

1.3. Tổn thương tiền ung thư gan.

Cho đến khoảng những năm 1970, hầu hết các UTBMTBG được phát hiện trên lâm sàng đã ở giai đoạn cuối và thời gian sống trung bình sau khi chẩn đoán chỉ là 3 đến 6 tháng. Tuy nhiên, trong những thập kỷ gần đây, những tiến bộ đáng chú ý trong các kỹ thuật CDHA khác nhau, cũng như

việc thiết lập một hệ thống theo dõi chặt chẽ cho những BN có nguy cơ cao UTBMTBG đã giúp cho việc chẩn đoán UTBMTBG ở giai đoạn sớm hơn.

Nhiều thập kỷ trước, các tổn thương tiền ung thư của UTBMTBG trước đây chỉ là vấn đề được quan tâm ở Nhật Bản, không được chú ý nhiều ở các nước châu Âu và Hoa Kỳ vì UTBMTBG không có nhiều ở các quốc gia đó. Tuy nhiên, kể từ khi ghép gan đã trở thành liệu pháp tối ưu cho UTBMTBG và xơ gan tiến triển ở các nước châu Âu và Hoa Kỳ, các nhà NC bệnh học ở những nước này thường gặp phải khó khăn khi tiếp cận với các tổn thương nốt không rõ ràng ở gan [46], [47], [48].

Hiện tại, tổn thương tiền ung thư gan được biết dưới dạng khu trú xuất hiện trong gan xơ với hai hình thái dựa trên những thay đổi về mô học: ổ loạn sản và nốt loạn sản. Các ổ loạn sản tế bào gan được phân thành 2 típ mô học: ổ biến đổi tế bào lớn (BĐTBL (large cell change) và ổ biến đổi tế bào nhỏ (BĐTBN (small cell change), trong đó, tần suất xuất hiện biến đổi tế bào nhỏ thường cao hơn. Đặc biệt, trong các NC mới về sinh học phân tử đã cho thấy BDTBN là giai đoạn trung gian giữa tế bào gan lành và tế bào gan ác tính. Các nốt loạn sản (dysplasia nodule) được chia thành NLS độ thấp (low grade dysplasia nodule) và NLS độ cao (high grade dysplasia nodule) dựa trên mức độ không điển hình của tế bào, trong đó, NLS độ cao dễ có nguy cơ chuyển dạng ác tính hơn.

Những tiến bộ gần đây trong bệnh học, sinh học phân tử, di truyền học, và CDHA đã làm tăng đáng kể sự hiểu biết của chúng ta về tổn thương tiền ung thư ở gan. Dựa trên đánh giá rộng rãi của các tài liệu y văn liên quan cho thấy NLS độ cao có nhiều khả năng biến thành UTBMTBG hơn so với NLS độ thấp [49].

1.3.1 Biến đổi tế bào gan

1.3.1.1. Biến đổi tế bào gan

Biến đổi tế bào gan liên quan chủ yếu với sự hình thành UT ở bệnh gan

mạn tính, gồm BĐTBN, BĐTBL và ổ ứ đọng sắt tự do. Ban đầu, BĐTBN được mô tả như là “loạn sản tế bào nhỏ” và được định nghĩa là các tế bào gan có các đặc điểm giảm thể tích, tăng tỷ lệ nhân/bào tương, nhân đa hình thái nhẹ và tăng sắc, bào tương ưa bazơ tạo nên hình ảnh giàu tế bào, nổi bật hơn các vùng khác là do tăng số lượng của nhân. Tổn thương BĐTBN được đặc trưng bởi mật độ tế bào gan cao hơn mô gan xung quanh, đồng thời, biến đổi tế bào nhỏ có sự tương đồng về hình thái với UTBMTBG sớm và về cấu trúc mô học với UTBMTBG tiến triển. Những dữ liệu này ủng hộ cho bản chất tiền ung thư của biến đổi tế bào nhỏ. Ngoài ra, biến đổi tế bào nhỏ còn có sự rút ngắn của chuỗi telomere và bất hoạt của điểm kiểm soát nhánh ngắn NST 21 [49].

❖ *Biến đổi tế bào lớn.*

Biến đổi này ban đầu được gọi là "loạn sản tế bào gan" và được định nghĩa là các tế bào gan tăng lên về kích thước của cả nhân và bào tương tế bào (do đó, tỷ lệ nhân/bào tương không thay đổi). BĐTBL có thể có nhân đa hình thái, hạt nhân thường tăng sắc và có tế bào đa nhân. Do tính không đồng nhất về hình thái của BĐTBL, người ta cho đó thực sự là một thực thể bệnh độc lập. Sự biến đổi này liên quan đến hiện tượng lão hóa và ứ mật của tế bào gan. Tuy nhiên, BĐTBL trong bệnh viêm gan B mạn tính dường như là một tổn thương liên quan đến UT. Trên thực tế, hiện diện của BĐTBL trong xơ gan liên quan với viêm gan B hoặc C mạn tính đã được báo cáo là một yếu tố nguy cơ độc lập quan trọng đối với việc phát triển tiếp theo của UTBMTBG. Như vậy, có sự đồng thuận cho rằng, trong một số trường hợp tổn thương gan mạn tính, BĐTBL ít nhất phải là một tổn thương có trước UTG [50].

Hiện tại, BĐTBL đang được cho là sự biến đổi thoái hoá sớm do tổn thương gan mạn tính, nhưng nó cũng có thể được coi là dấu hiệu dự đoán liên quan đến UTBMTBG hơn là tổn thương tiền ung thư thật sự [51], [52]. Ngược lại, BĐTBN có thể thực sự là một yếu tố nguy cơ quan trọng đối với sự hình thành UTBMTBG dựa trên những phát hiện sau:

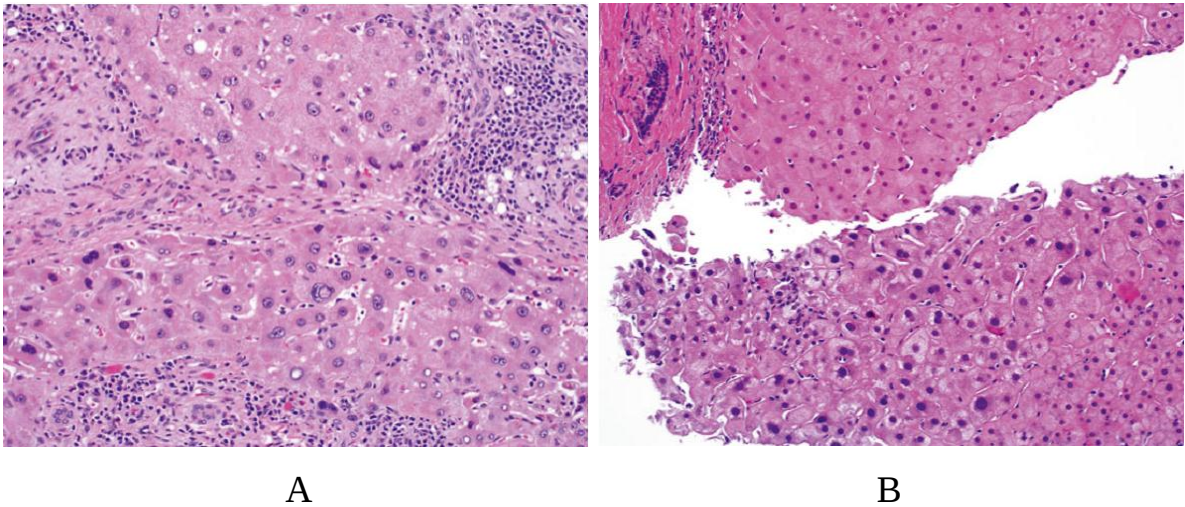
(1) Những bệnh nhân mắc viêm gan B mạn tính kèm biểu hiện BĐTBL có khả năng phát triển UTBMTBG nhiều hơn những bệnh nhân mắc viêm gan B mà không kèm theo BĐTBL [53].

(2) Trong hầu hết các trường hợp bệnh viêm gan B mạn tính/xơ gan, tế bào gan có biểu hiện BĐTBL đều tăng chỉ số tăng sinh kháng nguyên nhân tế bào. Những trường hợp có BĐTBL, chỉ số này tăng lên ở mức độ cao hơn so với các tế bào không có BĐTBL. Trong khi chỉ số tế bào chết theo chương trình ở các trường hợp BĐTBL lại ở mức độ thấp hơn so với các tế bào không có BĐTBL. Điều đó cho thấy, HBV có liên quan với BĐTBL và tham gia tích cực vào quá trình tạo UTBMTBG [54].

(3) Lượng DNA lệch bội (aneuploidy) thường có mặt trong BĐTBL nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa so với kết quả phân tích DNA ở BDTBN [55].

(4) Biến đổi tế bào lớn và các thay đổi phân tử liên quan đã được xác định trong một quần thể nhỏ những BN bị nhiễm HBV và đó là đặc điểm gợi ý trực tiếp một tổn thương tiền ác tính [55].

Biến đổi tế bào lớn thường được phát hiện trong các trường hợp viêm gan vi rút B mạn tính với giai đoạn mô học tiến triển, đặc biệt là những người có UTBMTBG [115]. Tổng hợp các điểm nêu trên cho thấy BĐTBL không chỉ là tổn thương tiền UT mà còn có thể tạo UTBMTBG liên quan đến HBV.



Ảnh 1.1: Biến đổi tế bào lớn.

A. Biến đổi tế bào lớn thấy nhân và bào tương tế bào tăng kích thước nhưng vẫn duy trì được tỷ lệ nhân/bào tương. Nhân tế bào biến đổi có thể đa hình thái, nhân khía, nhân có thể vùi, đa nhân...(H.E x 200) B. Bên cạnh vùng mô gan lành là mô gan biến đổi tế bào lớn, tế bào có kích thước lớn, kiềm tính nhưng vẫn giữ được tỷ lệ nhân/bào tương (H.E x 200) [56].

❖ *Biến đổi tế bào nhỏ.*

Biến đổi tế bào nhỏ từ lâu đã được cho là một đặc điểm của tổn thương tiền UT của UTBMTBG dựa trên những phát hiện sau:

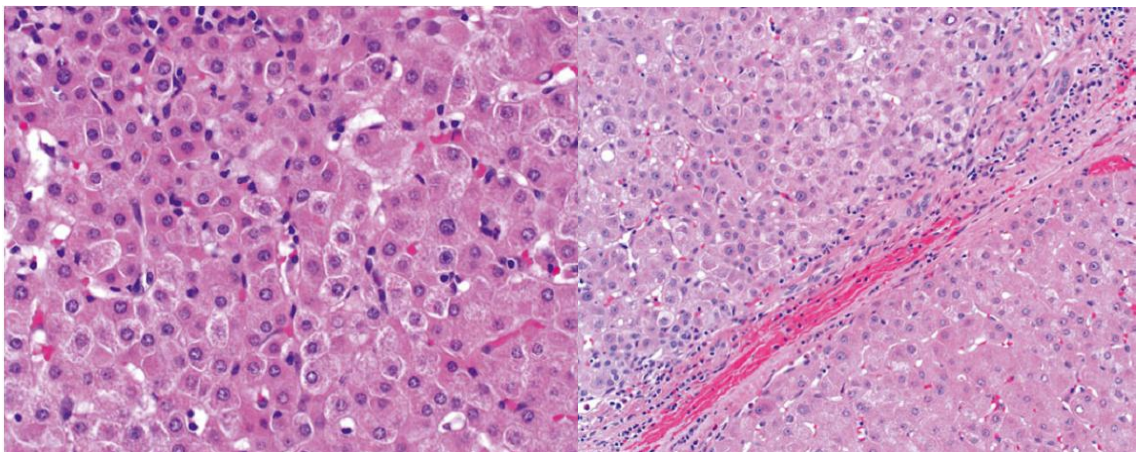
(1) Biến đổi tế bào nhỏ thường thấy trong các NLS độ cao và UTBMTBG biệt hóa cao. Cụ thể là, UTBMTBG biệt hóa cao có kích thước nhân lớn hơn NLS độ cao. Tỷ lệ nhân/bào tương ở NLS độ cao và UTBMTBG biệt hóa cao thường lớn hơn so với các tổn thương dạng nốt khác. Hơn nữa, chất nhuộm sắc trong nhân của UTBMTBG biệt hóa cao tăng rõ rệt hơn so với chất nhuộm sắc trong nhân tế bào của các tổn thương dạng nốt khác [57].

(2) Mất sự bất hoạt nhiễm sắc thể X ở thể khảm gập trong các nốt tế bào gan bị biến đổi dưới dạng BDTBN. Phân tích lai hệ gen và so sánh đã phát hiện một số bất thường trên nhiễm sắc thể của nốt tế bào gan bị biến đổi dưới dạng BDTBN thấy trùng hợp với những bất thường trong UTBMTBG

[58]. Điều đó gợi ý nốt tế bào gan bị biến đổi dưới dạng BĐTBN có thể là tiền thân của UTBMTBG.

(3) Biến đổi tế bào nhỏ có nhiều nhân chia. Xác suất hình thành UTBMTBG không khác nhau giữa trường hợp có BĐTBN và trường hợp không có BĐTBN, do đó, không nên coi BĐTBN trong viêm gan B mạn tính là một yếu tố nguy cơ phát triển UTBMTBG [59],[60].

Dựa trên các NC hiện tại, BĐTBN có thể là một tổn thương tiền ung thư tiên triển hơn so với BDTBL, trong khi BDTBL có thể là một tổn thương tiền ung thư rất sớm của UTBMTBG có liên quan đến VGB. Theo đó, việc xác định BĐTBN và BDTBL trong sinh thiết gan có thể liên quan đến nguy cơ cao UTBMTBG theo thời gian và các tổn thương như vậy cần được thể hiện trong kết quả vi thể [61].



A

B

Ảnh 1.2: Biến đổi tế bào nhỏ.

A. Biến đổi tế bào nhỏ thấy nhân tăng kích thước nhẹ, bào tương giảm kích thước dẫn đến tỷ lệ nhân/bào tương tăng, kèm theo nhân và bào tương tăng kiềm tính (H.E x 200). B. Vùng biến đổi tế bào nhỏ (trên trái) tỷ lệ nhân/ bào tương cao và kiềm tính hơn nốt gan xơ bên cạnh (dưới phải) (H.E x 100) [56].

1.3.2. Ổ loạn sản (*Dysplastic foci*)

Thuật ngữ "ổ loạn sản" đã được giới thiệu bởi sự đồng thuận quốc tế và được công bố trong một bài báo xuất bản năm 1995, sau đó đã được sử dụng để mô tả các nhóm tế bào gan có các đặc điểm gợi ý biến đổi tiền ung thư được phát hiện tình cờ khi kiểm tra mô học [62]. Theo định nghĩa ban đầu, ổ loạn sản có đường kính <1 mm. Ổ loạn sản là các tổn thương chỉ được phát hiện trên kính hiển vi với đường kính nhỏ hơn 1 mm, thường xuất hiện trên nền một gan xơ hoặc viêm gan mạn tính và có thể có nhiều ổ. Ổ loạn sản thường có hình ảnh của BDTBL hoặc BDTBN [63].

1.3.3. Nốt loạn sản (*NLS*) (*Dysplastic nodule*)

Các nốt loạn sản thường gặp ở trong xơ gan, tuy nhiên có thể gặp ở bệnh gan mạn tính không phát triển xơ gan. Các NLS có thể đơn độc hoặc nhiều nốt, có ranh giới rõ hoặc không rõ trên đại thể. Kích thước nốt có thể thay đổi từ vài mm đến vài cm, nhưng hầu hết tổn thương chủ yếu có đường kính khoảng 1-1,5 cm và được phân loại thành NLS độ thấp và NLS độ cao dựa vào đặc tính không điển hình về tế bào học và cấu trúc. Về phương diện MBH, UTBMTBG phát triển theo nhiều bước (nhiều giai đoạn): từ NLS độ thấp đến NLS độ cao, tiếp đến là UTBMTBG sớm, UTBMTBG biệt hóa cao, UTBMTBG nốt trong nốt và cuối cùng là UTBMTBG tiến triển. Gần đây, những tiến bộ về bệnh lý học, di truyền học và phân tử, cũng như theo dõi lâm sàng, đã khẳng định NLS là những tổn thương tiền UT của UTBMTBG. Đặc biệt, những tiến bộ trong kỹ thuật CDHA đã cung cấp kiến thức trực quan hơn về đặc tính của NLS và đã phát hiện được những nốt tổn thương nhỏ như vậy. Từ nhiều năm nay, NLS độ cao đã được cho là có liên quan chặt chẽ đến UTBMTBG hơn so với NLS độ thấp dựa trên đặc điểm MBH và các NC theo dõi trên lâm sàng và cũng đã chấp nhận các NLS độ cao nhiều khả năng là tiền thân của UTBMTBG hơn so với NLS độ thấp [5],[6],[7].

Bảng 1.1. Bảng tóm tắt đặc điểm tế bào học và mô bệnh học của NLS và UTBM gan sớm [49].

		NLS độ thấp	NLS độ cao	UTBMTBG sớm hoặc biệt hóa cao
Đặc điểm tế bào	BĐTBN	-	+	+
	BĐTBL	±	±	-
Đặc điểm cấu trúc	Tỷ lệ nhân/bào tương cao	±	+	+
	Mật độ tế bào so với vùng xung quanh	-	1,3 đến 2 lần	> 2 lần
	Giả tuyến – nang	-	±	+
	Động mạch không cặp đôi	±	±	+
	Khoảng cửa	-	+	+
	Nhân tăng sắc, không điển hình	-	+	+

1.3.4. U tuyến tế bào gan

Trong số các tổn thương dạng u và u lành tính của gan, UTBTBG tuy không thường gặp bằng u mạch hoặc quá sản nốt khu trú (QSNKT) nhưng theo những NC về phân tử và các đặc tính di truyền thì u tuyến có một tỷ lệ thấp chuyển dạng ác tính nên nó có thể được coi là tổn thương tiền ung thư. U tuyến tế bào gan có thể đơn độc hoặc nhiều khối, thường gặp nhất ở những phụ nữ trẻ, những người đang sử dụng thuốc tránh thai theo đường uống, hiếm gặp ở trẻ em, nam giới, và người cao tuổi. U tuyến tế bào gan cũng có thể xảy ra ở những người mắc bệnh chuyển hóa (glycogenosis, tyrosinemia, hoặc galactose) nhưng hiếm khi kết hợp với hội chứng buồng trứng đa nang

hoặc bệnh gan nhiễm mỡ giai đoạn tiến triển. Ở nam giới, hầu hết UTTBG phát triển ở những người đã sử dụng steroid đồng hóa, BN dùng nội tiết tố Androgen điều trị chứng thiếu máu Fanconi hoặc thiếu máu bất sản. Dịch tễ học của UTTBG đã thay đổi trong những năm gần đây vì người ta nhận thấy thuốc tránh thai liều thấp ít gây ra UTTBG hơn những loại thuốc sử dụng trong quá khứ. Tuy nhiên, những BN nam mắc chứng béo phì và hội chứng rối loạn chuyển hóa dễ mắc UTTBG, đặc biệt là típ UTTBG viêm. Một số trường hợp UTTBG với kích thước nhỏ có thể thoái triển ngay sau khi ngừng sử dụng thuốc tránh thai hoặc sau khi mãn kinh. Tuy nhiên, thường là kích thước khối u luôn duy trì hoặc tăng. Trên lâm sàng, dấu hiệu xuất huyết gặp ở 20-25% các trường hợp. Đặc biệt, sự chuyển dạng ác tính từ UTTBG thành UTBMTBG là một đặc tính rất cần được quan tâm mặc dù hiện tượng này hiếm gặp (khoảng 7%) [58], [64], [65].

Các NC gần đây cho thấy, UTTBG là một nhóm các khối u không đồng nhất về mặt di truyền và được phân loại thành bốn típ theo những đặc tính di truyền với kiểu hình như sau:

- Típ UTTBG có đột biến bất hoạt HNF1 α (kháng thể kháng kháng L-FABP âm tính) gọi tắt là H-HCA (Hepatocyte nuclear factor 1 α -mutated HCA).

- Típ UTTBG có đột biến kích hoạt β -catenin (kháng thể kháng β -catenin và glutamine synthetase (GS) dương tính) được viết tắt là B-HCA (β -catenin-mutated HCA)

- Típ UTTBG viêm (ngoài đặc điểm mô học đặc trưng còn thêm phản ứng dương tính với dấu ấn SAA), viết tắt là I-HCA (Inflammatory HCA)

- Típ UTTBG không xếp loại (không có đặc điểm của 3 loại UTTBG đã nêu) gọi tắt là U-HCA (Unclassified HCA) [66], [67].

Chẩn đoán xác định UTTBG trên các mảnh sinh thiết là vô cùng khó khăn, cần phải phân biệt với các tổn thương loạn sản, ung thư gan sớm hoặc phân biệt với một tổn thương lành tính khác thường gặp là QSNKT. Vì vậy, khi chẩn đoán cần phối hợp chặt chẽ các đặc điểm lâm sàng, phương pháp như CDHA và đánh giá tinh tế trên MBH thường quy kèm bắt buộc phải nhuộm HMMD với các kháng thể: L-FABP, SAA, GS, β -catenin. Theo ý kiến của nhiều tác giả trên thế giới, nên kết hợp đặc điểm mô học và HMMD để có được phân loại thỏa đáng do tổn thương này có hiện tượng chồng chéo về kiểu hình hoặc kiểu gen. Không nên chỉ đơn thuần dựa vào đặc điểm mô học hoặc HMMD để phân thứ cấp của UTTBG và cần vận dụng một cách linh hoạt.

Theo y văn, 35 – 40% UTTBG thuộc típ đột biến bất hoạt gen HNF1 α (H-HCA). Đặc điểm mô học đặc trưng của típ này là dấu hiệu nhiễm mỡ nhưng không xâm nhập tế bào viêm trong mô u và không có tế bào không điển hình.

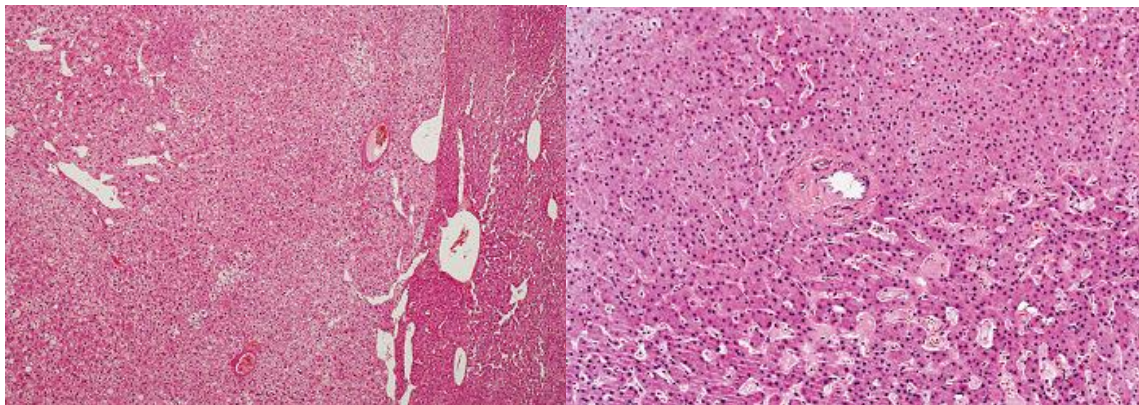
Thứ típ UTTBG có đột biến kích hoạt β -catenin (B-HCA), là thứ típ gặp ít nhất, chiếm khoảng 10-15% trong số các loại UTTBG. Típ này thường gặp ở nam giới và có đặc điểm tế bào u không điển hình cùng với mẫu dạng tuyến nang nhưng không có dấu hiệu tế bào u nhiễm mỡ. Việc bộc lộ quá mức dấu ấn β -catenin và Glutamine synthetase (GS) có thể thấy khi nhuộm HMMD. Trong thứ típ β -catenin, tình trạng chuyển dạng bất thường của tế bào u thường có tần suất cao. Phản ứng HMMD dương tính với dấu ấn GS được cho là gián tiếp phản ánh đột biến gen β -catenin, đồng thời, dấu ấn miễn dịch GS dương tính có tỷ lệ tương thích cao so với đặc điểm bất thường của tế bào u trên mô học, hơn hẳn so với dấu ấn β -catenin [68],[69].

Trước đây, UTTBG viêm (I-HCA) được biết đến như tổn thương “Quá sản nốt khu trú giãn mao mạch” nhưng gần đây với quan điểm mới thì hơn

50% các trường hợp UTTBG được xếp vào thứ típ UTTBG viêm với đặc điểm nổi bật là tình trạng thâm nhiễm các tế bào viêm trong mô u, cùng với đó là các xoang mạch giãn rộng hoặc sung huyết đi kèm vách mạch dày. Thứ típ UTTBG viêm thường gặp ở người uống nhiều rượu và người có chỉ số khối cơ thể (BMI) cao. Hai dấu ấn liên quan đến viêm là amyloid A huyết thanh (Serum Amyloid A) và protein phản ứng C (PRC), được sử dụng để phát hiện các thứ típ này.

Trường hợp UTTBG không thể phân loại có phản ứng dương tính với dấu ấn L-FABP nhưng hoàn toàn âm tính với các dấu ấn còn lại. Đây là loại UTTBG cũng ít phổ biến, chiếm 5-10% các UTTBG và chúng không biểu lộ những đột biến trong gen HNF1 α , β -catenin hoặc biểu hiện các protein viêm khác [68].

Đặc điểm MBH và sự bộc lộ của các dấu ấn L-FABP, GS, β -catenin và SAA có thể cho phép phân định thứ típ của UTTBG theo phân loại của TGYTTG năm 2010.



A

B

Ảnh 1.3: U tuyến tế bào gan

A. UTTBG, giới hạn của u rõ ràng với mô gan lành (bên phải) nhưng u tuyến không có vỏ bao quanh (H.E x 40). B. UTTBG có động mạch đơn độc không đi kèm với ống mật và tĩnh mạch (H.E x 40) [56].

Tóm tắt đặc điểm mô bệnh học của u tuyến tế bào gan [56]

Típ UTTBG	H-HCA	I-HCA	B-HCA	U-HCA
Bất thường di truyền	Ức chế kích hoạt HNF1 α	Đột biến truyền tín hiệu IL-6	Kích hoạt β -catenin	Không rõ đột biến
Biến đổi mỡ	+/-	+/-	-/+	-/+
Khoảng cửa giả	-	+	-	-
Viêm trong tổn thương	-	+	-	-
Giãn mao mạch	-/+	+	-/+	-/+
Tế bào không điển hình	-	-/+	+/-	-
L- FABP	Mất (âm tính)	+	+	+
β -catenin dương tính nhân	-	-/+	+/-	-
GS dương tính lan tỏa, mạnh	-	-/+	+	-
CRP/SAA	-	+	-	-

1.4. Ung thư biểu mô tế bào gan

1.4.1. Ung thư biểu mô tế bào gan sớm

Ung thư biểu mô tế bào gan sớm được mô tả theo đặc điểm bệnh học cùng đặc điểm lâm sàng của chúng. Theo cách tiếp cận bệnh học, thuật ngữ “sớm” ngụ ý tổn thương thuộc giai đoạn sớm của UT và tiên lượng vẫn còn tốt. Theo cách tiếp cận lâm sàng, thuật ngữ “sớm” được sử dụng để chẩn đoán UTBMTBG trong giai đoạn ban đầu khác với giai đoạn tiến triển. Cách tiếp cận lâm sàng để chẩn đoán UTBMTBG sớm được ưu tiên sử dụng ở Hoa Kỳ

và Châu Âu. Nói chung, khái niệm UTBMTBG sớm đề cập đến các khối u gan có kích thước $\leq 3\text{cm}$, thuộc giai đoạn A (giai đoạn đầu) theo phân loại Barcelona (mặc dù đôi khi có thể có trường hợp khối u đơn độc với kích thước tối đa 5cm). Ở cả hai giai đoạn rất sớm và sớm, kích thước u tương đối nhỏ nhưng cả hai đều có tăng tín hiệu ở pha động mạch và được coi là UTBMTBG kinh điển. Như vậy, theo cách tiếp cận bệnh học đầy đủ nhất, UTBMTBG sớm là u ác tính thuộc giai đoạn sớm của ung thư (kích thước $\leq 2\text{cm}$), thường giảm tín hiệu mạch kèm ranh giới không đều trên CDHA [70]. Theo nhóm nghiên cứu UTG của Nhật Bản [71], UTBMTBG sớm được biểu hiện bằng những ổ bất thường về cấu trúc như cấu trúc tuyến nang hoặc cấu trúc giả tuyến, cấu trúc bè bị đứt gãy mất tính chất bình thường và/hoặc có xâm nhập rõ ràng vào mô đệm. Mức độ không điển hình của tế bào u thường không đáng kể, tỷ lệ nhân/bào tương tăng, bào tương của tế bào u có thể ưa toan hoặc kiềm tính, hẹp. Mật độ tế bào u có thể cao hơn gấp đôi so với mô gan không u xung quanh. Ngoài ra, tổn thương thường có biến đổi mỡ hoặc biến đổi tế bào sáng. Do các tế bào UT trong UTBMTBG sớm không phát triển mở rộng mà bằng cách thay thế dần các tế bào trong bè gan lành kề cận, dẫn đến ranh giới u không rõ ràng. Những tiêu chuẩn xác định UTBMTBG sớm đã đạt được sự đồng thuận quốc tế [72] và được cập nhật trong ấn bản năm 2010 của TCYTTG về các u của hệ thống tiêu hóa [73]. Đồng thời, một số dấu ấn HMMD hữu ích giúp chẩn đoán UTBMTBG sớm cũng đạt được sự chấp thuận dùng trong chẩn đoán, gồm Protein sốc nhiệt 70 (HSP-70), Glypican-3 (GPC-3), Glutamine Synthetase (GS). Sử dụng kết hợp HSP-70, GPC-3 và GS trong chẩn đoán UTBMTBG sớm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao tới 72 và 100% [74].

1.4.2. Ung thư biểu mô tế bào gan tiến triển

1.4.2.1. Phân loại mô bệnh học

Phân loại mô học về u gan của TCYTTG năm 2010 đã cập nhật nhiều kiến thức mới so với các phân loại trước đây (vào các năm 1978, 1994, 2000) về tiêu chuẩn mô học, di truyền phân tử, đặc biệt là tổn thương tiền ung thư và ung thư sớm của tế bào gan [73].

Ung thư biểu mô tế bào gan: 8170/3

<i>Các mẫu cấu trúc</i>	<i>Các biến thể tế bào</i>	<i>Các típ đặc biệt</i>
+ Mẫu bè + Mẫu giả tuyến – nang + Mẫu đặc	+ Tế bào đa hình thái + Tế bào sáng + Tế bào hình thoi + Thoái hóa mỡ + Chế tiết mật + Thể Hyalin + Thể nhạt màu + Thể vùi kính mờ	+ Thể xơ lát + Thể xơ cứng + Không biệt hóa + UTBM dạng lympho biểu mô + UTBMTBG dạng sarcoma

1.4.2.2. Phân độ mô học.

Độ mô học của UTBMTBG được chia thành các độ biệt hoá cao, vừa, kém và không biệt hoá.

- **Biệt hoá cao:** Loại biệt hoá cao rất thường gặp trong các u kích thước nhỏ $\leq 2\text{cm}$, giai đoạn sớm, hiếm khi gặp ở các u giai đoạn muộn. Mô u và tế bào u gần giống với mô gan và tế bào gan bình thường. Tăng nhẹ số lượng các tế bào không điển hình ở mức tối thiểu; tỷ lệ nhân/bào tương tăng nhẹ, bề tế bào mỏng, thường có cấu trúc giả tuyến hoặc tuyến nang và thường có tế bào u thoái hóa mỡ (nhiễm mỡ). Ở hầu hết các u có đường kính $> 3\text{cm}$ độ biệt hoá rõ chỉ nằm vùng ngoại vi các u.

- **Biệt hoá vừa:** Thường gặp ở những u có đường kính $> 3\text{cm}$. Mô u và tế bào u có sự khác biệt tương đối rõ rệt so với mô và tế bào gan bình thường. Các tế bào u sắp xếp thành bè thường có 3 hàng tế bào hoặc hơn. Tế bào u có bào tương rộng ưa toan, nhân tròn và hạt nhân rõ. Tỷ lệ nhân/bào tương tương đương như tế bào gan bình thường hoặc lớn hơn vừa phải. Mô u có thể có mấu giả tuyến và có thể chứa mật hoặc dịch protein.

- **Biệt hoá kém:** Mô u và tế bào u có sự khác biệt rõ rệt so với bình thường. Mật độ tế bào cao nên khó có thể phân biệt được các mạch máu dạng xoang mà chỉ thấy các mạch dạng khe trong các ổ u lớn. Tỷ lệ nhân/bào tương tăng rõ, đa hình thái tế bào và có cả các tế bào khổng lồ kỳ quái. Loại biệt hoá kém vô cùng hiếm gặp trong các u ở giai đoạn sớm.

- **Không biệt hoá:** Các tế bào u không biệt hoá có bào tương hẹp, nhân tròn hoặc hình thoi ngắn; mô u đặc với mật độ cao tế bào u.

Nhìn chung, hình thái UTBMTBG rất thay đổi về mặt mô học ngay cả trong một nốt đơn độc. Hầu hết các nốt u có đường $< 2\text{cm}$ thường có độ biệt hoá cao. Ngược lại, khoảng 40% u có đường kính 2 - 3 cm thường có hơn 2 mấu độ mô học. Mô u ít biệt hoá thường nằm phía trong nốt và bao phía ngoài là mô gan u biệt hoá cao

1.5. Hóa mô miễn dịch liên quan đến chẩn đoán UTBMTBG và tiền ung thư gan

1.5.1. *Hepatocyte Paraffin-1 (HepPar-1)*

HepPar-1 là một kháng thể đơn dòng được sử dụng cho mẫu bệnh phẩm cố định trong formalin 10% được phát triển từ các mô gan ghép thất bại. Dấu ấn này nhận ra các kháng nguyên tế bào gan đặc hiệu, hiện nay được biết là carbamoyl phosphate synthetase I, một enzym của chu trình urea. HepPar-1 là một dấu ấn hữu ích trong chẩn đoán UTBMTBG với độ nhạy và độ đặc hiệu lên đến 80%. HepPar-1 dương tính khi bộc lộ dạng hạt lan tỏa trong bào

tương. Hầu hết các UTBM tuyến (gồm mật tụy, đại trực tràng, vú, đường niệu, tiền liệt tuyến) âm tính hoặc chỉ dương tính ỏ, yếu. Giống vậy, các khối u có hình thái mô học giống UTBMTBG như u thần kinh nội tiết (TKNT), UTBM tế bào thận, UTBM vỏ thượng thận, u hắc tố và u cơ mỡ mạch dạng biểu mô âm tính hoặc dương tính ỏ với HepPar-1. Tuy nhiên, HepPar-1 không thể phân biệt các tổn thương tân sản tế bào gan với các tổn thương nhu mô gan lành. HepPar-1 có độ nhạy thấp với UTBMTBG kém biệt hóa (50-60%) và UTBMTBG típ xơ cứng (20-30%). Trong khi hầu hết các UTBM tuyến âm tính với HepPar-1, HepPar-1 dương tính mạnh có thể thấy trong một số dưới típ của UTBM tuyến (gồm dạ dày, thực quản và phổi) và ít gặp hơn là trong UTBM đường mật trong gan và UTBM tuyến của tụy. UTBM dạng gan luôn dương tính với HepPar-1 [75],[76],[77].

1.5.2. Arginase-1 (Arg-1)

Arg-1 là một enzym gắn kim loại mangan, thủy phân Arginine thành Ornithine và Urea, là một thành phần của chu trình Ure, và nó chỉ được tìm thấy trong tế bào gan. Arg-1 là dấu ấn HMMD nhạy nhất (> 90%) cho chẩn đoán UTBMTBG gồm UTBMTBG kém biệt hóa và UTBMTBG trên gan xơ. Arg-1 dễ dàng nhận thấy trên mảnh sinh thiết nhỏ vì dương tính lan tỏa trong bào tương với phản ứng nhân thay đổi. Arg-1 cũng là dấu ấn đặc hiệu nhất (> 90%) cho UTBMTBG, vì hầu hết các u khác âm tính. Tuy nhiên, dương tính ỏ hoặc yếu có thể thấy trong một số hiếm trường hợp UTBM tuyến của tụy, đại trực tràng, vú, tiền liệt tuyến và đường mật. Phần lớn các UTBM dạng gan dương tính với Arg-1 [78],[79].

1.5.3. Glypican-3 (GPC-3)

GPC-3 là heparan sulfate proteoglycan gắn màng thường biểu hiện trong gan thai nhưng không thấy ở gan người lớn [80]. Vì GPC-3 là kháng thể bào thai sinh ung thư, nó có thể bộc lộ trong nhiều khối u, gồm u hắc tố

nguyên phát, các u tế bào mầm không phải seminoma như (yolk sac và choriocarcinoma), các UTBM tuyến (gồm dạ dày, đường mật trong gan) và các UTBMTB vảy (phổi, thanh quản và cổ tử cung) [81]. Mặc dù GPC-3 không đặc hiệu với tế bào gan nhưng GPC-3 kết hợp với Arg-1 rất hữu ích trong chẩn đoán UTBMTBG kém biệt hóa và UTBMTBG típ xơ cứng vì có độ nhạy cao (cả 2 đều > 80%). GPC-3 bắt màu lan tỏa ở bào tương, màng và bộ Golgi nhưng không bộc lộ trong tế bào gan bình thường hoặc các tổn thương gan lành như UTTBG và QSNKT. Độ nhạy cho UTBMTBG biệt hóa cao thường thấp chỉ từ 50 - 60%. GPC-3 có một số trường hợp bắt màu trong nốt xơ gan và vùng viêm phản ứng trong gan không u gây ra nhầm lẫn trong chẩn đoán UTBMTBG trên sinh thiết nhỏ [82],[83].

1.5.4. Glutamine Synthetase (GS)

Glutamin Synthetase là một enzym với 2 chức năng: thủy phân sản phẩm của glutamine và 4-aminobutanoate (gamma-aminobutyric acid); đồng thời, GS là gen đích của con đường Wnt/ β -catenin và hiện tượng bộc lộ quá mức của nó liên quan đến đột biến β -catenin hoặc liên quan đến việc hoạt hóa con đường này. Ở gan bình thường, GS dương tính với các tế bào gan nằm quanh tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy, trong khi, ở quá sản nốt khu trú, GS phản ứng dương tính được phân bố theo mẫu bản đồ ở hầu hết các trường hợp. Khi β -catenin bị đột biến, con đường Wnt ngay lập tức được hoạt hóa và GS sẽ được điều hòa. Ở UTBMTBG, gần 80% trường hợp UTBMTBG nhuộm thấy dương tính lan tỏa. Hơn nữa, trong những trường hợp UTTBG có hiện tượng hoạt hóa con đường Wnt/ β -catenin, GS sẽ dương tính lan tỏa trong bào tương của các tế bào gan. Hoạt tính miễn dịch của GS tăng dần theo diễn tiến của ung thư gan, tức là tăng dần từ các tổn thương tiền ung thư đến UTBMTBG sớm và cao nhất ở tổn thương UTBMTBG. GS được cho là có vai trò thúc đẩy tiềm năng di căn trong tạo UTBMTBG.

Hiện tượng gia tăng phản ứng lan tỏa với cường độ mạnh của GS là mẫu phản ứng đặc trưng dự báo đặc điểm ác tính của tổn thương tế bào gan. Mẫu phản ứng này đã được báo cáo ở 14% loạn sản nốt độ cao, 59% UTBMTBG biệt hóa cao, 86% UTBMTBG biệt hóa vừa và kém. Phản ứng lan tỏa của GS cũng được báo cáo ở dưới nhóm của u tuyến kích hoạt β -catenin. Mặc dù UTTBG hiếm khi có biến đổi thành UTBMTBG nhưng gần đây, một dướiтип của UTTBG đã được xác định có nguy cơ gia tăng biến đổi thành ác tính và được đặc trưng bằng cách kích hoạt những đột biến trong gen mã hóa β -catenin [74],[83].

1.5.5. Polyclonal Carcinoembryonic Antigen (pCEA)

CEA là glycoprotein tìm thấy trên glycocalyx của các tế bào biểu mô thai và một số lượng nhỏ trong các tế bào của người lớn. Hầu hết các UTBM tuyến dương tính bào tương, màng và/hoặc lòng ống lan tỏa. Kháng thể đa dòng phản ứng chéo với glycoprotein đường mật và cách bắt màu các ống nhỏ riêng biệt được cho là đặc hiệu cho UTBMTBG. Giống HepPar-1, độ nhạy của pCEA cao đối với UTBMTBG biệt hóa cao và trung bình (> 80%). Tuy nhiên, sự bắt màu có thể khó quan sát trong một số trường hợp và có thể bị nhầm lẫn với sự bắt màu ở màng hoặc lòng ống của UTBM tuyến. Bắt màu bào tương lan tỏa cùng với ống nhỏ có thể quan sát thấy trong gần một nửa các UTBMTBG, làm cho việc đánh giá càng khó khăn hơn. Giống HepPar-1, độ nhạy của pCEA thấp trong UTBMTBG kém biệt hóa (54%) và UTBMTBG típ xơ cứng (37%). Kháng thể đơn dòng CEA (mCEA) không phản ứng với UTBMTBG, và độ nhạy của chúng đối với UTBM tuyến thấp (60%) [82],[84].

1.5.6. Protein sốc nhiệt 70 (Heat Shock Protein - 70)

HSP-70 là một loại protein chống quá trình chết theo chương trình, được biểu hiện quá mức trong 80% số UTBMTBG sớm trong bệnh phẩm

phẫu thuật và trong khoảng 50% bệnh phẩm sinh thiết. Mặt khác, sự bắt màu dương tính được thấy trong 5-10% các NLSĐC. Việc sử dụng kết hợp HSP-70, glutamine synthetase (GS) và GPC-3 đã được ủng hộ để phân biệt UTBMTBG biệt hóa cao với UTTBG và NLS độ cao. Mặc dù HSP-70 có thể hữu ích trong một số ít trường hợp, nhưng nó có độ nhạy tổng thể thấp và việc sử dụng thường xuyên là không cần thiết [85],[86].

1.5.7. Dấu ấn CD34

Các mao mạch ở gan, bình thường không bộc lộ dương tính khi nhuộm với CD34, ngoại trừ bắt màu từng chỗ ở vùng quanh khoảng cửa. Sự chuyển từ máu tĩnh mạch sang thành máu động mạch để cung cấp máu trong các tổn thương lành tính (UTTBG và QSNKT) cũng như UTBMTBG dẫn đến các mao mạch nan hoa của gan dương tính với CD34, hiện tượng này được gọi là mao mạch hóa của xoang mạch gan. Hiện tượng này có thể rất hữu ích trong việc phân biệt mô tế bào gan bị tổn thương với nhu mô gan không tổn thương trong các mẫu sinh thiết nhỏ. Tuy nhiên, CD34 có hạn chế trong việc phân biệt UTBMTBG với các tổn thương tế bào gan lành tính hoặc các khối u không phải tế bào gan [84],[87].

1.5.8. Các dấu ấn khác

Alpha-fetoprotein (AFP): AFP là một protein sinh u bào thai được sản xuất bởi gan và nội bì túi noãn hoàng. Mặc dù nó là một dấu ấn của sự biệt hóa tế bào gan, các u tế bào mầm (như u túi noãn hoàng dạng gan) có thể biểu hiện protein này. AFP có độ nhạy thấp 30-50% đối với UTBMTBG và sự bắt màu của nó có xu hướng loang lổ với nhuộm nền cao. Do đó, thường không khuyến nghị nhuộm dấu ấn AFP trong chẩn đoán UTBMTBG [88].

CD10 và Villin: Cho thấy một mẫu bắt màu ống nhỏ riêng biệt. Một cách bắt màu tương tự được nhìn thấy với protein muối mật, một chất vận chuyển gắn ATP chỉ bộc lộ riêng trên màng ống nhỏ tế bào gan. Do độ nhạy thấp và có sẵn các lựa chọn thay thế tốt hơn, việc sử dụng các kháng thể này không được chỉ định trong hầu hết các cơ sở lâm sàng [76].

Cytokeratins (CK7, CK19, CK20)

Phần lớn UTBMTBG âm tính với CK7 và CK19, nhưng một hoặc cả hai dấu ấn có thể dương tính trong 10-20% trường hợp, đặc biệt là ở UTBMTBG kém biệt hóa. Khi u bọc lộ với CK19 là yếu tố tiên lượng xấu. Ngược lại, phần lớn UTBM đường mật (UTBMĐM) biểu hiện dương tính với CK7 (97%) và CK19 (77%). Tương tự, có tới 15% số UTBMTBG có thể bọc lộ một cách bất thường CK20, có thể là một cạm bẫy tiềm ẩn trong chẩn đoán trên các mảnh bệnh phẩm sinh thiết gan, đặc biệt khi CDHA không điển hình của UTBMTBG [89].

MOC-31

Kháng thể này nhận ra phân tử kết dính tế bào biểu mô (EpCAM) và bắt màu ở màng tế bào, lan tỏa trong hơn 90% UTBMĐM và UTBM tuyến di căn (bao gồm cả dạ dày, tụy, đại trực tràng, phổi, vú và buồng trứng) cũng như phần lớn UTBM đường niệu, UTKNT và UTBMTB thận. Mặc dù phần lớn UTBMTBG âm tính, MOC-31 dương tính được quan sát thấy ở 10-20% số UTBMTBG [76].

1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước và quốc tế

1.6.1. Trong nước

Tại Việt Nam, các tác giả chủ yếu NC về ung thư gan, chưa có nghiên cứu về các tổn thương tiền ung thư gan, đặc biệt các NC về giải phẫu bệnh của các tổn thương này còn khá ít.

Ở các tỉnh phía Bắc, NC của Trần Anh Đức và Trần Ngọc Minh (2013) “Nghiên cứu một số đặc điểm mô bệnh học và một số dấu ấn HMMD thường gặp trong chẩn đoán UTBMTBG” thu được các số liệu về MBH cho thấy, thể bè chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các thể mô học (59,4%), tế bào u thường có biểu hiện thoái hóa mỡ (34,4%), chế tiết mật (18,8%) và có đặc điểm hỗn hợp (31,2%). Độ biệt hóa chủ yếu gặp biệt hóa vừa (53,1%) và kém biệt hóa

(43,8%). Xâm nhập mạch là một biểu hiện thường gặp của UTBMTBG chiếm 37,5% các trường hợp. UTBMTBG có độ biệt hóa càng thấp thì khả năng xâm nhập mạch càng cao. NC còn cho thấy xơ gan là 1 trạng thái tiền ung thư, trong đó 75% các trường hợp UTBMTBG có xơ gan kèm theo và xơ gan độ 4 chiếm tỷ lệ cao hơn cả với tỷ lệ 25%. Về nhuộm HMMD, các tác giả chỉ NC và đánh giá sơ bộ một số trường hợp nhuộm HMMD để phân biệt một số những trường hợp khó chẩn đoán nguồn gốc ung thư, và định típ mô bệnh học [90].

Kết quả NC của Trịnh Xuân Hùng (2019) “Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, MBH và HMMD UTBMTBG có huyết khối tĩnh mạch cửa” cho thấy: có mối liên quan giữa vị trí u gan và vị trí huyết khối tĩnh mạch cửa. Phân loại mức độ huyết khối: huyết khối thân chiếm 56,4%, huyết khối nhánh chiếm 43,6%. Mức độ huyết khối có liên quan có ý nghĩa với kích thước khối u. Tất cả huyết khối tĩnh mạch cửa ở BN UTBMTBG đều là huyết khối ung thư, với độ biệt hóa vừa 58,4%, kém biệt hóa 32,7%, biệt hóa cao 8,9%. Tăng sinh mạch trong huyết khối sau nhuộm HMMD: mức độ ít 5%, mức độ vừa 46,5% và mức độ nhiều 48,5%. Tình trạng tăng sinh mạch và độ biệt hóa tế bào ung thư trong huyết khối có liên quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Về thời gian sống thêm: thời gian sống thêm toàn bộ trung bình là $8,6 \pm 7,8$ tháng. NC cũng cho kết quả độ biệt hóa tế bào, phân mức độ huyết khối, giai đoạn bệnh theo Okuda, được điều trị can thiệp có liên quan đến thời gian sống thêm với $p < 0,05$ [91].

Tác giả Lương Khắc Hiến, Trần Văn Hợp (2008): “Nghiên cứu giải phẫu bệnh UTBMTBG nguyên phát được phẫu thuật tại bệnh viện Việt Đức, báo cáo UTBMTBG nguyên phát được phẫu thuật chủ yếu là thể khối (50,6%) và thể nốt (75,9%), ranh giới u rõ, thường có màu vàng ngà và trắng xám. U có kích thước nhỏ chiếm tỷ lệ thấp 11,43%, $u > 5\text{cm}$ chiếm tỷ lệ cao

(52,30%). U có hoại tử thường là những khối u lớn. Về các típ vi thể: hầu hết UTBMTBG (80,72%), trong đó thể bè hay gập nhất (35,8%). UTBMĐM trong gan và thể hỗn hợp tế bào gan- tế bào đường mật chiếm tỷ lệ thấp (16,8% và 2,42%). NC về độ mô học thấy trên 70% UTBMTB có mức độ biệt hóa vừa. Có mối liên quan mật thiết giữa kích thước u và độ mô học, kích thước u với hoại tử u, giữa độ mô học và xâm nhập mạch. 87,9 % UTBMTBG có xơ gan kèm theo trong đó xơ gan độ 2 và 3 chiếm trên 60% [92].

Các tác giả ở các tỉnh phía nam cũng NC khá nhiều về UTBMTBG. Lê Minh Huy (2012) NC Giải phẫu bệnh và HMMD các yếu tố tiên lượng của UTBMTBG thu được một số kết quả về đại thể, mô bệnh học và một số mối liên quan giữa các đặc điểm đại thể, mô học với một số yếu tố tiên lượng như tỷ lệ nhân chia, phần trăm hoại tử u cùng sự bộc lộ dấu ấn P53, Ki-67. Nghiên cứu cho thấy có mối tương quan thuận giữa biểu hiện của p53 trong khối u với độ biệt hóa, tình trạng xâm nhập mạch máu, hoại tử u, mức độ phân bào. Biểu hiện Ki-67 trong chủ mô gan có loạn sản cao hơn nhiều so với biểu hiện Ki-67 trong chủ mô gan không loạn sản. Biểu hiện của Ki-67 trong khối u tương quan thuận với mức độ phân bào và tương quan nghịch với độ biệt hóa. Biểu hiện Ki-67 có mối tương quan thuận với biểu hiện của p53 [93].

Ngoài ra có khá nhiều các nhóm tác giả tham gia NC về UTBMTBG như: Nguyễn Sào Trung, Hứa Thị Ngọc Hà, Lê Văn Xuân, Nguyễn Đình Tuấn, La Chí Hải, Trần Minh Thông, Trần Mậu Kim (1998). Ung thư gan nguyên phát và viêm gan siêu vi B khảo sát bệnh học và HMMD. Nguyễn Sào Trung, Nguyễn Quang Tuấn, Nguyễn Văn Thắng, Trần Minh Thông (2004). “Ung thư gan nguyên phát: Đặc điểm giải phẫu bệnh-lâm sàng”...

Bên cạnh đó, một số tác giả trong nước trước đó cũng đã có các đề tài NC về vấn đề chẩn đoán có liên quan đến giải phẫu bệnh, tế bào học UTBMTBG như: Đào Văn Long, Trần Văn Hợp (1993) NC về Giá trị của

chọc hút kim nhỏ dưới hướng dẫn của siêu âm trong chẩn đoán ung thư gan [36]. Nguyễn Đại Bình và cs. (2006), “Sinh thiết kim Hepafix chẩn đoán ung thư gan tại bệnh viện K”....

Tuy nhiên, các NC này chỉ tập trung vào UTBMTBG, hầu hết chưa có tác giả nào NC về tổn thương tiền ung thu đặc biệt là NLSĐC và UTTBG nên đây còn là một khoảng trống vô cùng lớn và cần NC sâu và chi tiết hơn nữa về vấn đề này trong tương lai.

1.6.2. Quốc tế

Nghiên cứu UTG: Các tác giả nước ngoài NC rất nhiều về UTBMTBG, đặc biệt là Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc, Ai cập... các NC này rất rộng và nhiều ý nghĩa từ dịch tễ, chẩn đoán, điều trị cũng như đánh giá thời gian sống thêm, các mối liên quan đến UTBMTBG. Đặc biệt là Trung Quốc có rất nhiều NC về UTG do số lượng BN mắc và tử vong vì bệnh này hàng năm ở Trung Quốc chiếm tới một nửa tổng số các ca mắc và tử vong trên toàn thế giới...

Nghiên cứu tiền UTG: Nhật Bản là nơi đầu tiên chú ý và nghiên cứu đến những tổn thương này do tình trạng mắc UTBMTBG ở Nhật Bản rất cao trong một vài thập kỷ trước đây. Tuy nhiên, tổn thương đầu tiên được chú ý coi như một tổn thương tiền ung thư có ở UTBMTBG ở người là loạn sản tế bào gan, báo cáo của Anthony và cs (1973) [94]. Tổn thương này được gọi là “loạn sản tế bào lớn”. Sau đó, năm 1983, Watanabe và cộng sự [95] đã đề xuất khái niệm về chứng “loạn sản tế bào nhỏ”. Peters đã báo cáo, những biến đổi “tái tạo dạng u tuyến” được tìm thấy trong gan xơ có thể là một tổn thương ác tính. Tuy nhiên, trong nhiều thập kỷ qua, các tổn thương thu hút được sự chú ý và quan tâm nhất là các tổn thương tiền ung thư, là các tổn thương dạng nốt, thấy ở gan xơ, các tế bào tăng lên với các mức độ khác nhau nên được gọi là “u tuyến tăng sản” hoặc “nốt loạn sản” [96].

Trong NC hình thái học về UTBMTBG trên nền gan xơ ở Uganda, Althony và cs đã định nghĩa loạn sản tế bào lớn là sự tăng kích thước tế bào gan, nhân đa hình thái và nhiều hạt nhân, xảy ra trong các nhóm hoặc chiếm toàn bộ kích thước của nốt xơ gan. Tác giả coi như đó là tổn thương tiền ung thư vì tỷ lệ gặp cao ở mô gan không ung thư trong các trường hợp ung thư gan trên gan xơ và đặc biệt ở những BN có nhiễm viêm gan B. Họ đã thông báo rằng NLS độ cao được tìm thấy chỉ 2/200 (1%) trường hợp BN có gan bình thường, trong 3/43 (6,9%) trường hợp trên nền gan bình thường của bệnh nhân UTG, ở 35/175 (20%) BN có xơ gan và ở 80/124 (64.5%) BN có xơ gan và UTG [96].

Tại Nhật Bản, loạn sản tế bào lớn cũng được tìm thấy với tần suất cao trong các trường hợp gan xơ có UTBMTBG, 22,2% theo Sakurai [97] và 31,2% theo Masamichi [96]. Mặt khác, tần số loạn sản tế bào lớn trong xơ gan không có UTBMTBG ở mức thấp 3% và 4% [98],[99]. Những BN có loạn sản tế bào lớn ở Nhật Bản cũng có dương tính kháng nguyên HBs cao khoảng 40- 67%. Sau bài báo của Anthony và cs, ý nghĩa của tổn thương loạn sản tế bào lớn đã được thảo luận rộng rãi và cho rằng: loạn sản tế bào lớn như một tổn thương tiền ung thư và nó được giải thích theo hai cách: (i) loạn sản tế bào lớn là một tổn thương tiền ung thư và (ii) loạn sản tế bào lớn là hiện tượng thứ phát sau UTBMTBG [94]. Hiện nay, phần lớn các nhà NC đều ủng hộ ý kiến cho rằng loạn sản tế bào lớn chỉ là hiện tượng thứ phát còn loạn sản tế bào nhỏ mới được coi là tổn thương tiền ung thư trực tiếp.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tổng số 252 BN được chẩn đoán xác định trên mô bệnh học qua mẫu bệnh phẩm sinh thiết kim lõi và bệnh phẩm sau phẫu thuật thuộc hai nhóm tổn thương: Ung thư biểu mô tế bào gan và tiền ung thư gan: (NLS độ thấp, NLS độ cao, U tuyến tế bào gan).

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Đối tượng NC cần có đủ các tiêu chuẩn sau:

- Hồ sơ bệnh án có đủ các thông tin, gồm: họ tên, tuổi, giới, vị trí khối u và kích thước khối u (được xác định bằng siêu âm và/hoặc chụp cắt lớp vi tính và/hoặc chụp cộng hưởng từ), kết quả xét nghiệm HBsAg, anti HCV, AFP.
- Khối u gan nguyên phát, phát sinh từ biểu mô tế bào gan.
- Các trường hợp UTBMTBG, UTTBG, NLS độ thấp, NLS độ cao đã có kết quả chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học theo tiêu chuẩn của International Working Party Classification năm 1995 [100] và TCYTTG 2010 [73] kết hợp với đánh giá xâm nhập trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua đánh giá tỷ lệ % phản ứng ồng khi nhuộm CK7/CK19.
- Với trường hợp sinh thiết kim lõi, mảnh sinh thiết cần đạt được chiều dài từ 1,0–1,5cm, đánh giá được đầy đủ các tiêu chí cho chẩn đoán xác định là UTBMTBG, UTTBG hay NLS (như trên).
- Các khối nền bệnh phẩm còn đủ để cắt nhuộm HMMD.

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Hồ sơ bệnh án không đủ các thông tin, gồm: họ tên, tuổi, giới, vị trí khối u và kích thước khối u (được xác định bằng siêu âm và/hoặc chụp cắt lớp vi tính và/hoặc chụp cộng hưởng từ), kết quả xét nghiệm HBsAg, antiHCV, AFP
- Các trường hợp ung thư thứ phát của gan.

- Các trường hợp tấp hỗn hợp UTBM Tế bào gan - tế bào đường mật
- Mô ung thư bị hoại tử > 90%
- Các trường hợp bệnh phẩm không còn đủ để nhuộm HMMD

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

- NC mô tả cắt ngang, tiến cứu.

2.2.2. Cách chọn mẫu nghiên cứu

- Với trường hợp UTTBG và nốt loạn sản: chọn mẫu có chủ đích: 22 trường hợp UTTBG và 40 trường hợp NLS.
- Với trường hợp UTBM tế bào gan, cỡ mẫu NC được tính theo công thức dành cho NC mô tả cắt ngang:

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)}{d^2}$$

Trong đó:

n: cỡ mẫu

P: tỷ lệ mắc ung thư gan

d: độ chính xác mong muốn ($d = 0,05$).

α : mức ý nghĩa thống kê, lấy $\alpha = 0,05$, độ tin cậy 95%; $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$

Tỷ lệ mắc ung thư gan khoảng 15,4% theo Globocan 2018 [1]. Vì UTBMTBG chiếm 90% nên chúng tôi chọn $p = 13,86\% = (0,1386)$.

- Sau khi các trị số được đưa vào công thức trên, cỡ mẫu được ước tính là 183 trường hợp. Cỡ mẫu thực tế NC là 190 trường hợp.

2.2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm NC: thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Trung tâm Giải phẫu bệnh – Tế bào bệnh học - Bệnh viện Bạch

Mai, Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức và Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Ung bướu Hà Nội.

- Thời gian NC: 12/2012 – 8/2019.

2.2.4. Biến số nghiên cứu

2.2.4.1. Một số biến số chung

- + Tuổi: tính độ tuổi trung bình, lớn nhất, nhỏ nhất.
- + Giới: Nam, nữ; tỷ lệ nam/nữ.
- + Số lượng tổn thương: 01 ổ hoặc nhiều ổ.
- + Kích thước tổn thương: < 1cm, 1-2cm, 2,1-5cm, > 5cm. Tính theo đường kính lớn nhất trên phim chụp cắt lớp vi tính hoặc cộng hưởng từ (theo giai đoạn TNM).
- + Nồng độ AFP: < 20ng/ml, $\geq$ 20ng/ml (đánh giá theo hiệp hội Châu Á thái Bình Dương về nghiên cứu bệnh lý gan 2017 (APASL2017).
- + Vi rút viêm gan: VR viêm gan B, VR viêm gan C, VR đồng nhiễm và không nhiễm.

2.2.4.2. Các biến số thuộc mục tiêu thứ nhất

- Đặc điểm mô bệnh học tổn thương tiền ung thư gan (NLS, UTTBG).
 - + Đặc điểm phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của NLS
 - + Đặc điểm phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của các típ UTTBG
- Đặc điểm mô bệnh học UTBMTBG
 - + Đặc điểm phân bố tổn thương theo típ MBH của UTBMTBG
 - + Đặc điểm hình thái tế bào của UTBMTBG
 - + Đặc điểm độ mô học của UTBMTBG
- Đặc điểm xâm nhập mạch của UTBMTBG
- Đặc điểm xơ gan trong UTBMTBG

2.2.4.3. Các biến số thuộc mục tiêu thứ hai

- Đối chiếu típ mô bệnh học với độ mô học trong UTBMTBG.
- Đối chiếu kích thước u với độ mô học trong UTBMTBG
- Đối chiếu nồng độ AFP huyết thanh với độ mô học trong UTBMTBG.
- Đối chiếu tình trạng xâm nhập mạch với độ mô học trong UTBMTBG .
- Độ nhạy và độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, giá trị dự báo âm tính của dấu ấn GPC3, HSP-70, GS trong chẩn đoán UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao

	Bệnh	Không bệnh
Dương tính	A	B
Âm tính	C	D

+ Độ nhạy (sensitivity) hay tỷ lệ dương tính thật là thương số của a với (a+c): Số trường hợp có bệnh và có kết quả test dương tính trên tổng số trường hợp có bệnh. $(a/a+c)$, (nghĩa là: số trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao có dương tính khi nhuộm/ tổng số trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao).

+ Độ đặc hiệu (Specificity) hay tỷ lệ âm tính thật là thương số của d với (b+d): Số trường hợp không có bệnh và kết quả test âm tính trên tổng số trường hợp không bệnh. $(d/b+d)$, (nghĩa là: số trường hợp NLS độ cao âm tính khi nhuộm/ tổng số trường hợp NLS độ cao).

+ Giá trị dự báo dương tính (positive predictive value, PPV) là thương số của a với (a+b): Số trường hợp có bệnh và có kết quả test dương tính trên tổng số trường hợp có kết quả test dương tính $(a/a+b)$, (nghĩa là: số trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao có dương tính khi nhuộm/ tổng số trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao có kết quả dương tính khi nhuộm và số trường hợp NLS độ cao dương tính khi nhuộm)

+ Giá trị dự báo âm tính (negative predictive value, NPV) là thương số của d với (c+d): Số trường hợp không có bệnh và kết quả test âm tính trên tổng số trường hợp có kết quả âm tính. $(d/c+d)$, (nghĩa là: số trường hợp NLS

độ cao âm tính khi nhuộm/ tổng số trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao âm tính khi nhuộm)

+ Độ chính xác: Độ chính xác = (số dương tính thật + số âm tính thật)/(số dương tính thật + số dương tính giả + số âm tính thật + số âm tính giả) hoặc Độ chính xác = số chẩn đoán chính xác/tổng số chẩn đoán (a+d/a+b+c+d), (nghĩa là: số UTBMTBG biệt hóa cao có kết quả dương tính và số NLS độ cao có kết quả âm tính/ tổng số tất cả các trường hợp)

- Bộ lọc 8 dấu ấn HMMD trong chẩn đoán nốt loạn sản và UTBMTBG: Arginase-1, GPC-3, HSP-70, HepPar-1, GS, CD34, CK19 và CK7.

- Bộ lọc 4 dấu ấn HMMD xác định UTBMTBG: GS, Beta-catenine, SAA, LFABP.

- Giá trị của các dấu ấn GPC3, HSP70, GS khi nhuộm đơn độc và phối hợp trong chẩn đoán phân biệt UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao

2.2.5. Phương tiện và kỹ thuật được sử dụng trong nghiên cứu

- Kỹ thuật nhuộm Hematoxylin và Eosin (HE): được tiến hành như thường quy (thực hiện tại Bệnh viện Bạch Mai, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức, Bệnh viện Ung bướu Hà Nội).

- Kỹ thuật HMMD được thực hiện bằng máy nhuộm tự động Ventana BenMatch XT (tại BVĐHY Hà Nội).

- Hóa chất được sử dụng (11 dấu ấn HMMD): Arg-1, GPC-3, HSP-70, HepPar-1, GS, CD34, CK19 và CK7, Beta- catenine, SAA, LFABP.

- Phương pháp nhuộm HMMD: Sử dụng phương pháp ABC

Vật liệu kháng nguyên có mặt trong một mô phản ứng đặc hiệu với một kháng thể chống lại nó. Phản ứng miễn dịch này gây một lắng đọng của một kháng thể đặc hiệu trên vùng mô có kháng nguyên, kháng thể này được gắn với peroxylase. Trong nghiên cứu của chúng tôi, chất chỉ thị màu là diaminobenzidin (DAB) của hãng Roche.

Bảng 2.1: Bảng thông tin kháng thể nhuộm trong nghiên cứu

STT	Kháng thể	Nồng độ	Tên thương mại	Hãng SX
1	Arginase-1	737 µg/ml	Anti-Arginases-1 (SP156) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	Cell Marque
2	Glypican-3	1,7 µg/ml	(GC33) Mouse Monoclonal Antibody	Cell Marque
3	HepPar-1	0,55 µg/ml	Hepatocyte Specific Antigen (OCH1E5) Mouse Monoclonal Antibody	Cell Marque
4	GS-6	0,12 µg/ml	<i>Glutamine Synthetase 6</i> mouse monoclonal antibody	Cell Marque
5	CD34	0,8 µg/ml	Anti-CD34(QBEnd/10) mouse monoclonal antibody	Ventana
6	CK19	0,22 µg/ml	Anti-Cytokeratin 19 (A53- B/A2,26) mouse monoclonal antibody	Ventana
7	CK7	0,536 µg/ml	Anti-Cytokeratin 7 (SP52) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	Ventana
8	Beta- Catenine	1,58 µg/ml	Beta-Catenin (14) Mouse Monoclonal Antibody	Cell Marque
9	L-FABP	0,1 µg/ml	Anti-liver FABP antibody	Abcam
10	SAA	1 µg/ml	Serum Amyloid A (EP335) Rabbit Monoclonal Primary Antibody	Epitomic
11	HSP-70	1 µg/ml	Rabbit polyclonal to Hsp70	Abcam

- Đọc kết quả nhuộm HMMD bằng kính hiển vi quang học Olympus BX63 ở các vật kính độ phóng đại khác nhau (10, 20 và 40 lần). Phản ứng dương tính giữa kháng nguyên với kháng thể được bộc lộ bằng màu nâu ở các vị trí tế bào tương ứng với kháng thể. Khi đọc kết quả mảnh mô nghiên cứu luôn đối chiếu với mô chứng dương và mô chứng âm cũng như đối chiếu với mô học thường quy trên nhuộm H.E để biết vùng cần đọc kết quả, biết rõ vị trí kháng nguyên cần xác định ở nhân, bào tương hay màng tế bào.

2.2.6. Quy trình nghiên cứu

Do phương pháp NC thuộc mô tả, tiến cứu nên các mẫu bệnh phẩm được thu thập đều thuộc tiến cứu với 2 loại mẫu: sinh thiết lõi kim và mẫu sau phẫu thuật.

- Với mẫu bệnh phẩm sinh thiết kim lõi (184 trường hợp):

Bệnh phẩm được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể bằng dung dịch formol trung tính 10% có thể tích gấp khoảng 20 lần thể tích bệnh phẩm và được để trong lọ kín có ghi đầy đủ phần thông tin hành chính bên ngoài, an toàn và chuyển ngay tới khoa Giải phẫu bệnh của BV Đại học Y Hà Nội, BV Việt Đức, BV Ung bướu Hà Nội; TTGPB-TBH BV Bạch Mai.

+ Thu thập một số dữ liệu qua tra cứu bệnh án: thông tin chung, số lượng u, kích thước u (được CDHA xác định),...dựa theo mẫu phiếu NC đã thiết kế sẵn.

- Với mẫu bệnh sau phẫu thuật (68 trường hợp):

+ Tra cứu phiếu yêu cầu xét nghiệm để lấy thông tin chung theo mẫu phiếu NC đã thiết kế sẵn.

+ Bệnh phẩm được pha đại thể: nhận định vị trí, đo kích thước bằng cm (đường kính lớn nhất); cắt lọc và pha lấy ít nhất 3 mảnh mô theo kích thước thường quy để xét nghiệm vi thể (tránh vùng u hoại tử, ít nhất 01 mảnh có kèm ít mô gan lành).

+ Bệnh phẩm được cố định trong dung dịch formol 10% với thể tích gấp 20–30 lần thể tích bệnh phẩm.

Sau đó, cả 2 loại mẫu bệnh phẩm gan đều được xử lý theo kỹ thuật vi thể thường quy. Nhuộm theo kỹ thuật vi thể HE thường quy và nhuộm HMMD 22 trường hợp UTTBG với 4 dấu ấn miễn dịch: GS, β -catenine, SAA, L-FABP. Với 190 trường hợp UTBMTBG và 40 trường hợp nốt loạn sản, sử dụng 8 dấu ấn HMMD: Arg-1, GPC-3, HSP-70, HepPar-1, GS, CD34, CK19 và CK7.

+ Nhận xét vi thể trên kính hiển vi quang học Olympus BX43 với độ phóng đại khác nhau từ 40 - 400 lần, phân loại típ mô học theo TCYTTG năm 2010 và xác định mức độ cùng tỷ lệ bậc lộ dương tính với kháng thể (xem mô tả cụ thể ở các trang sau). Kết quả vi thể được thầy hướng dẫn kiểm tra.

2.2.7. Tiêu chuẩn xác định, đánh giá biến số nghiên cứu.

2.2.7.1. Đặc điểm mô bệnh học của UTBMTBG.

Típ mô bệnh học thông thường của UTBMTBG [73]

+ Típ bè: các tế bào u sắp xếp thành dãy, thành bè, có độ dày khác nhau từ hai tới nhiều hàng tế bào. Các bè được tách biệt bởi các xoang mạch phủ bởi tế bào nội mô thấp dẹt. Các tế bào Kuffer không có hoặc có với số lượng ít. Các sợi collagen tăng sinh trong các khoảng Disse bao quanh các xoang và màng đáy và chúng trở thành mao mạch hoá bè nhỏ, bè lớn.

+ Típ giả tuyến và tuyến nang: các tế bào u sắp xếp tạo thành cấu trúc giả tuyến, thường gồm một lớp tế bào, có thể pha trộn với cấu trúc mẫu bè. Một số tuyến hoặc cấu trúc nang được tạo thành do giãn các kênh mật giữa các tế bào u. Các tuyến giả thường chứa chất dịch protein có mảnh vụn tế bào, đại thực bào, dương tính với nhuộm PAS nhưng không bắt màu với

mucicarmin và xanh alcian. Đôi khi các tuyến giả giãn thành nang. Các tuyến bị giãn này ngoài do ứ mật còn có thể được tạo nên do sự thoái hoá của các bè tế bào u mà thành.

+ Típ đặc: khoảng trống mạch máu dạng xoang không thấy rõ, các xoang hẹp lại tạo thành dạng khe do bị chèn ép nên khó nhận biết nên tạo cho mô u có hình ảnh đặc.

Đặc điểm tế bào u của UTBMTBG [73]

+ Tế bào đa hình thái: tế bào u thay đổi đáng kể về kích thước, hình dạng, hạt nhân, và màu sắc. Tế bào khổng lồ đơn nhân hoặc tế bào đa nhân kì quái, và các tế bào khổng lồ giống tế bào hủy xương. Các tế bào đa hình thái thiếu sự gắn kết.

+ Tế bào sáng: bào tương hầu hết là do chứa lượng lớn glycogen, nhuộm PAS dương tính, nhưng có thể do nước và mỡ.

+ Tế bào thoi: tế bào có hình ảnh dạng sarcom, đặc trưng bởi tăng sinh tế bào hình thoi và các tế bào khổng lồ kì quái. Khi u chỉ toàn thành phần tế bào dạng sarcom sẽ khó phân biệt với sarcom thật như sarcom xơ, sarcom cơ.

+ Thay đổi mỡ (thoái hóa mỡ): trong tế bào u có thể thấy những hạt nhỏ hoặc dưới dạng hình cầu kích thước khác nhau.

+ Chế tiết mật: mật có thể ở dưới dạng những giọt mật trong bào tương của tế bào, nhưng hay gặp hơn cả là trong các tiểu quản mật, đôi khi có cả ở trong lòng tuyến giả.

+ Thể hyaline: thể Mallory-Denk (các thể lưới chất kính) ở trong bào tương, bất thường về hình dạng, ái toan và nhuộm PAS âm tính. Một số có hình cầu và được gọi là các thể thoái hóa kính hình cầu. Tuy nhiên, một dạng khác của thoái hóa kính hình cầu có kích thước nhỏ, tròn, đồng nhất, ưa toan rõ khi nhuộm PAS, bắt màu từ cam tới đỏ khi nhuộm Masson. Nhuộm HMMD dương tính với α -1-antitrypsin.

+ **Thể nhạt màu:** ở trong bào tương tế bào, hình tròn hay bầu dục, không bắt màu hay ưa toan nhẹ, hình thành do sự tích tụ của các chất vô định hình trong lưới nội bào bị giãn rộng, nhuộm dương tính với anti - fibrinogen.

+ **Thể vùi kính mờ:** giống như những thể gặp ở BN HBs Ag dương tính. Ít khi thấy trong các tế bào ung thư gan phát sinh ở những BN có HbsAg dương tính. Thể này bắt màu với Orcein, xanh Victoria hay aldehyde fuchsin và HMMD dương tính với kháng thể kháng HBsAg.

Các típ đặc biệt của UTBMTBG [73]

+ **Típ xơ lát (Fibrolamellar):** các tế bào tạo thành đám hoặc bè nhỏ được tách biệt bởi các bè sợi collagen bị hyalin hoặc với một thể lát đặc trưng. Tế bào u tương đối đều, đa diện, kích thước lớn, bào tương rộng có các hạt ưa acid mạnh (oncocytic), có nhân hốc hoá và hạt nhân rõ, tỷ lệ nhân chia thấp.

+ **Típ xơ cứng:** thấy một mẫu tăng trưởng xơ đặc trưng bởi hiện tượng xơ hóa đáng kể dọc theo các mao mạch dạng xoang cùng với hiện tượng teo của các bè khối u với các mức độ khác nhau

+ **Típ không biệt hóa:** chẩn đoán ung thư thể này rất khó khăn nếu chỉ dựa vào hình thái mô học, cần sử dụng hoá mô miễn dịch để chẩn đoán xác định. Đây là thể hiếm gặp, tỷ lệ < 2% các UTBMTBG.

+ **Típ dạng lympho biểu mô (Lymphoepithelioma-like):** các tế bào u đa hình thái trộn lẫn với nhiều tế bào lympho. Các tế bào ung thư có xu hướng nhỏ với những ổ phát triển dạng hợp bào.

+ **Típ dạng sarcoma (Sarcomatoid):** hình thái tế bào học giống sarcoma, đặc trưng bởi các tế bào u có hình thoi hoặc tế bào khổng lồ với nhân quái.

Độ biệt hóa [73] chia thành 4 mức độ:

+ **Biệt hoá cao:** mô u và tế bào u gần giống với tế bào gan bình thường. Tăng nhẹ các tế bào không điển hình tối thiểu, tỷ lệ nhân/bào tương tăng nhẹ, bè tế bào mỏng, thường có cấu trúc giả tuyến hay tuyến nang và thường có thay đổi mỡ (nhiễm mỡ).

+ Biệt hoá vừa: mô u và tế bào u có sự khác biệt tương đối rõ rệt so với mô và tế bào gan bình thường. Các tế bào u sắp xếp thành bè thường có 03 hàng tế bào hoặc hơn. Tế bào u có bào tương rộng ưa toan, nhân tròn và hạt nhân rõ. Tỷ lệ nhân/bào tương tương đương như tế bào gan bình thường hoặc lớn hơn vừa phải. Mô u có thể thấy kiểu giả tuyến và các tuyến này thường chứa mật hay dịch protein.

+ Biệt hoá kém: mô u và tế bào u có sự khác biệt rõ rệt so với bình thường. Tế bào u phát triển dày đặc không thể phân biệt được các mạch máu dạng xoang và chỉ thấy các mạch dạng khe trong các ổ u lớn. Các tế bào u có tỷ lệ nhân/bào tương tăng rõ, đa hình thái tế bào và có cả các tế bào khổng lồ kỳ quái. Loại biệt hoá kém cực kỳ hiếm trong các u ở giai đoạn sớm.

+ Không biệt hoá: các tế bào u không biệt hoá có bào tương ít, nhân tròn hoặc hình thoi ngắn, tăng sinh trong vùng đặc hoặc vùng tuỷ.

2.2.7.2. Các tổn thương tiền ung thư:

+ **Nốt loạn sản:** dựa vào các tiêu chuẩn động mạch đơn độc; cấu trúc giả tuyến - nang; không có khoảng cửa trong nốt; độ dày bè tế bào gan >2 hàng tế bào; tế bào gan nhiễm mỡ; nhân không điển hình (tỷ lệ nhân/ bào tương không điển hình), không có xâm nhập mô đệm hay mạch máu, có phản ứng ống mức độ vừa hoặc cao, dương tính lan tỏa khi nhuộm CD34 [100], [73].

Đặc điểm mô học chẩn đoán phân biệt tổn thương NLS độ thấp, NLS độ cao và UTBMTBG biệt hóa cao [73], [100], [101].

Bảng 2.2: Bảng đặc điểm mô bệnh học phân loại các tổn thương

Đặc điểm	NLS độ thấp	NLS độ cao	UTBMTBG sớm hoặc biệt hóa cao
Nhân không điển hình	không	Có	Có
Độ dày số lớp trong bè tế bào	2 tế bào	2/3 tế bào	>3 tế bào
Mật độ tế bào so với xung quanh	<1,5 lần	1,3 - 2 lần	> 2 lần
Giả tuyến – nang	Không	Khu trú	Nhiều ổ, đa dạng
Động mạch đơn độc	Có thể có	Có	Có
Tồn tại cấu trúc khoảng cửa	Có	Có	Có
Xâm nhập mô đệm	Không	Không	Có thể có
Biến đổi mỡ	Có thể có hoặc không	Hiếm	Có (khoảng 40%)
CD34 dương tính mạch máu	Không hoàn toàn	Không hoàn toàn	Hoàn toàn
Tồn tại lưới sợi reticulin	Có	Có	Có thể bị giảm

+ **Phân típ phân tử của UTTBG:** [73] gồm: H-HCA, B-HCA, I-HCA và U-HCA.

UTTBG dựa vào các đặc điểm: độ dày bè tế bào gan >2 hàng tế bào; động mạch đơn độc; có hoặc không có cấu trúc giả tuyến - nang; không có khoảng cửa trong nốt; tế bào gan nhiễm mỡ hoặc không, xâm nhập viêm hoặc không; nhân không điển hình (kích thước lớn, tỉ lệ nhân/ bào tương không điển hình), nhuộm dấu ấn CD34 dương tính một phần.

+ H-HCA: Ưc chế kích hoạt HNF1 α , thường biến đổi mỡ, không có giả khoảng cửa, không xâm nhập viêm trong mô u, có thể giãn mao mạch, không có tế bào không điển hình, âm tính khi nhuộm L- FABP, β -catenin, GS, SAA/CRP.

+ I-HCA: Đột biến truyền tín hiệu IL-6, có thể có biến đổi mỡ, có hình ảnh giả khoảng cửa, xâm nhập viêm trong mô u và trong khoảng cửa, giãn mao mạch, có thể có tế bào không điển hình, dương tính khi nhuộm SAA/CRP và L-FABP, có thể dương tính hoặc âm tính với β -catenin, GS.

+ B-HCA: Kích hoạt β -catenin, ít khi có biến đổi mỡ, không có hình ảnh giả khoảng cửa hay xâm nhập viêm trong mô u, có thể có giãn mao mạch, thường có tế bào không điển hình, dương tính khi nhuộm L-FABP, β -catenin, GS, âm tính khi nhuộm SAA/CRP.

+ U-HCA: không rõ đột biến, ít khi có biến đổi mỡ, không có hình ảnh giả khoảng cửa hay xâm nhập viêm trong mô u, có thể có giãn mao mạch, không có tế bào không điển hình, dương tính khi nhuộm L-FABP, âm tính với toàn bộ các dấu ấn β -catenin, GS, CRP/SAA

2.2.7.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán xâm nhập mạch

Không hoặc có xâm nhập (áp dụng đối với các trường hợp mẫu bệnh phẩm gan ung thư sau phẫu thuật). Tiêu chuẩn xâm nhập mạch khi thấy các tế bào u trong lòng mạch máu với điều kiện các tế bào ung thư dính thành mạch.

2.2.7.4. Tiêu chuẩn chẩn đoán xâm nhập mô đệm [102]

Thông qua đánh giá bán định lượng phản ứng ống mật bằng CK7 hoặc CK19:

Phản ứng ống trong nốt (intranodular): là phản ứng ống ở mặt phân giới vùng biểu mô và mô đệm trong tổn thương:

0: không; 1: <10%; 2: 10-25%; 3: 26-50%; 4: >50%

Phản ứng ống ngoại vi nốt (peripheral): là phản ứng ống giữa nốt tổn thương và mô gan xung quanh:

0: không; 1: <10%; 2: 10-25%; 3: 26-50%; 4: >50%

Mức độ xâm nhập:

+ 0(+), 1(+): Xâm nhập quá mức (âm tính lan tỏa)

+ 2(+), 3(+): Xâm nhập tối thiểu (âm tính từng ổ)

+ 3(+), 4(+): không xâm nhập

2.2.7.5. *Tình trạng xơ hóa gan*: Phân độ giai đoạn xơ hóa của gan theo Metavir chia thành các mức độ xơ hóa: 0, 1, 2, 3, 4. Trong đó:

F là chỉ số giai đoạn xơ gan (Fibroscore) [168]

- F = 0 Không xơ hóa
- F = 1 Xơ hóa lan rộng khoảng cửa (Độ 1)
- F = 2 Xơ hóa quanh cửa hoặc vách xơ cửa – cửa mà không có biến đổi cấu trúc (Độ 2)
- F = 3 Xơ hóa cầu nối kèm biến đổi cấu trúc nhưng chưa rõ xơ gan (Độ 3)
- F = 4 Xơ gan (mức độ xơ hóa rõ) (Độ 4)

2.2.7.6. *Tiêu chuẩn đánh giá về HMMD*.

Có 11 dấu ấn HMMD được sử dụng trong NC: Arg-1, GPC-3, HSP-70, HepPar-1, GS, CD34, CK19, CK7, β -catenine, SAA, L-FABP.

Tiến hành nhuộm bằng máy nhuộm tự động Ventana BenMatch XT (thực hiện tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội). Nhuộm mô chứng âm bằng cách bỏ qua bước kháng thể thứ nhất (kháng thể 1). Chứng nội hoặc ngoại dương được mô tả kèm theo từng dấu ấn miễn dịch dưới đây:

- Dấu ấn bộc lộ ở bào tương tế bào: HepPar-1(chứng nội, mô gan lành), GS (chứng nội, tế bào gan quanh tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy), GPC-3 (chứng ngoại, UTBMTBG), Arg-1 (chứng nội, mô gan lành), CK7 và CK19 (chứng nội, ống mật lành); L-FABP (chứng nội, nhu mô gan lành); SAA (chứng nội gan lành khi âm tính hoặc cường độ yếu)

- Dấu ấn bộc lộ ở màng tế bào: CD34 (chứng nội, mạch máu trong mô gan).

- Dấu ấn bộc lộ ở cả nhân và bào tương tế bào: HSP-70 (chứng nội, các ống mật, chứng ngoại, mô da lành) β -Catenin (chứng nội, màng bào tương nhu mô gan lành).

Thang điểm đánh giá phản ứng HMMD được xác định bằng cách phối hợp tỷ lệ phần trăm tế bào u dương tính với cường độ bắt màu của chúng theo Xu J và cs (2016) [103]:

+ Tỷ lệ tế bào u bắt màu: 0 (phản ứng âm tính); 1+ ổ (1 – 10%); 2+ loang lổ (> 10 – 50%); 3+ lan tỏa (> 50%).

+ Cường độ bắt màu: 0 (không nhuộm màu); 1+ (nhuộm màu yếu); 2+ (nhuộm màu mạnh).

Tổng điểm từ 0 – 6 điểm, được tính bằng cách: % tế bào u dương tính X cường độ phản ứng. Trong đó, điểm 0 (âm tính); 1-2 điểm (bộc lộ yếu); 3-6 điểm (bộc lộ mạnh).

- Hai nhà Giải phẫu bệnh đánh giá kết quả nhuộm HMMD: học viên đánh giá lần 1 và thầy kiểm chứng.

Cách đánh giá cụ thể các dấu ấn HMMD:

- HepPar-1: Dương tính ở bào tương tế bào.

- Arg-1: Dương tính ở bào tương kèm theo có hoặc không dương tính ở nhân tế bào.

- CD34: Dương tính khi bắt màu vàng nâu ở vùng mô u với các tế bào nội mô của vi mạch [87]

+ Dương tính toàn bộ: khi dương tính lan tỏa các tế bào nội mô mạch máu trong toàn bộ khối tổn thương.

+ Dương tính không toàn bộ: là một phần tế bào nội mô mạch máu dương tính, bao gồm dương tính cả các tế bào nội mô mạch máu của xoang mạch liền kề trong khoảng cửa.

+ Âm tính: khi chỉ dương tính ở nội mô mạch máu các khoảng cửa và không bộc lộ ở các tế bào nội mô xoang mạch gan vùng gan lân cận.

- GS trong UTBMTBG: [74]

+ Dương tính lan tỏa, bộc lộ mạnh và đồng đều (>10% tế bào dương tính chủ yếu đứng thành nhóm, cường độ bộc lộ từ trung bình đến mạnh).

+ Âm tính: khi chỉ dương tính ở một vài tế bào gan đơn lẻ (<10% tế bào hoặc ở các nhóm tế bào gan dương tính yếu hoặc không rõ ràng.

- HSP-70: [74] Dương tính ở nhân và bào tương tế bào u.

+ Dương tính khi bộc lộ rải rác hoặc lan tỏa

- GPC-3: Dương tính: khi bào tương và/hoặc màng bào tương dương tính và đánh giá bán định lượng theo tỷ lệ tế bào phản ứng dương tính [74].

+ Dương tính khi $\geq 5\%$ tế bào u dương tính

Bộc lộ thấp (1+): 5-10% tế bào u dương tính

Bộc lộ vừa (2+): 11-50% tế bào u dương tính

Bộc lộ cao (3+): >50% tế bào u dương tính.

+ Âm tính: khi toàn bộ tế bào u âm tính hoặc dương tính < dưới 5% tế bào.

- CK7: Dương tính với màng và bào tương của tế bào lan tỏa hoặc một phần mô u.

- CK19: Dương tính với màng và bào tương của tế bào lan tỏa hoặc một phần mô u.

- L-FABP: Âm tính: khi Protein bộc lộ ở tế bào u (bắt màu giống như tế bào gan bình thường), ngay cả khi một số tế bào trong mô u dương tính cũng đều coi như là phản ứng âm tính. Dương tính khi các tế bào u không bắt màu [68].

- SAA: Dương tính khi nhuộm thấy bắt màu dạng hạt, lan tỏa trong bào tương, có hoặc không lên màu với màng là kết quả phản ứng dương tính khi nhuộm SAA. Dương tính ồ hoặc dương tính với cường độ yếu được coi là phản ứng âm tính [68].

- β -Catenin: Dương tính khi nhuộm bắt màu với nhân của tế bào u hoặc nhân và bào tương của tế bào u. Nhuộm màu lên với màng bào tương của nhu mô gan bình thường làm chứng nội dương cho β -catenin [68].

- GS trong UTTBG: Dương tính khi nhuộm lên màu với bào tương lan tỏa và cường độ mạnh >50% tế bào u, không dương tính dạng bản đồ hay quanh tĩnh mạch trung tâm hoặc tế bào gan quanh khoảng cửa [68].

2.3. Xử lý số liệu và hạn chế sai số

- Tiêu bản được đánh giá hai lần độc lập bởi nghiên cứu sinh (NCS). Khi đánh giá lại các tiêu bản, NCS không được biết kết quả của chẩn đoán cũ và kết luận của lần đánh giá thứ nhất. Các trường hợp khó hoặc không thống nhất giữa hai lần chẩn đoán được hội chẩn với Thầy hướng dẫn.

- Số liệu thu thập được sẽ được kiểm tra cẩn thận trước khi nhập, sau đó sẽ được xử lý nghiêm túc, chính xác bằng phần mềm STATA 14.

- Các biến số độc lập và phụ thuộc được phân tích và trình bày dưới dạng tỷ lệ phần trăm. Mọi tương quan giữa các biến số được xem xét theo thuyết kiểm định giả thuyết χ^2 hoặc Fisher's Exact. Giá trị p được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các biến số, khi $p < 0,05$ là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

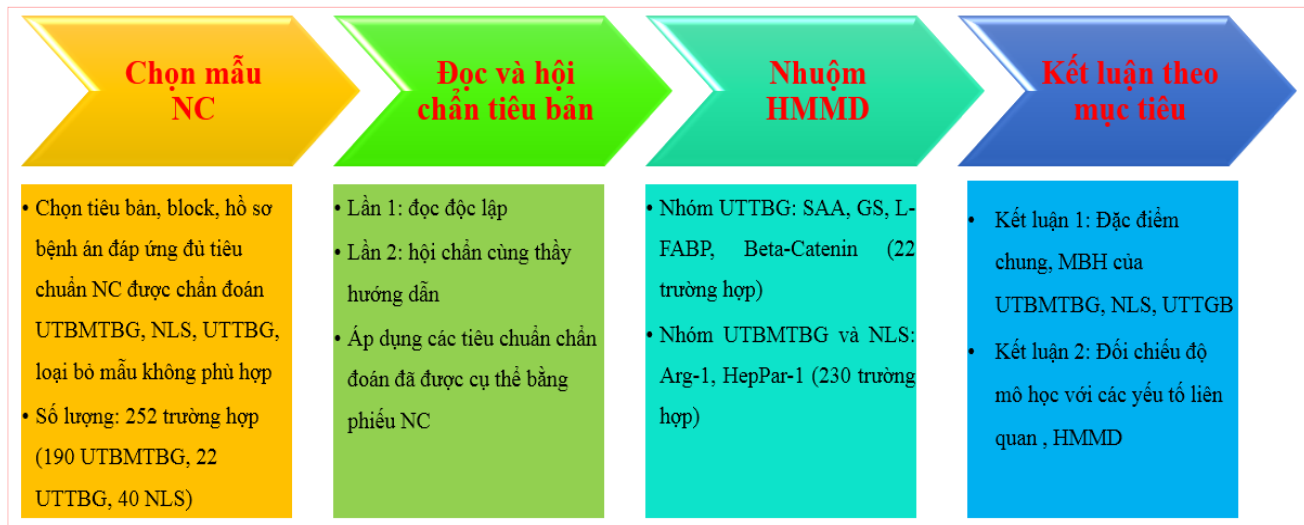
- Mục tiêu NC đã được thông quan bởi Hội đồng chấm đề cương và sự đồng ý của Trường Đại học Y Hà Nội, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Bệnh viện Bạch Mai, Bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức và Bệnh viện Ung bướu Hà Nội.

- Đây là NC hoàn toàn nhằm mục đích góp phần nâng cao chất lượng của việc chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh, phục vụ công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng và nâng cao chất lượng cuộc sống cho BN.

- Các thông tin về đối tượng NC được bảo mật tuyệt đối.

- Những trường hợp từ chối tham gia NC không bị phân biệt đối xử trong chẩn đoán, điều trị bệnh.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



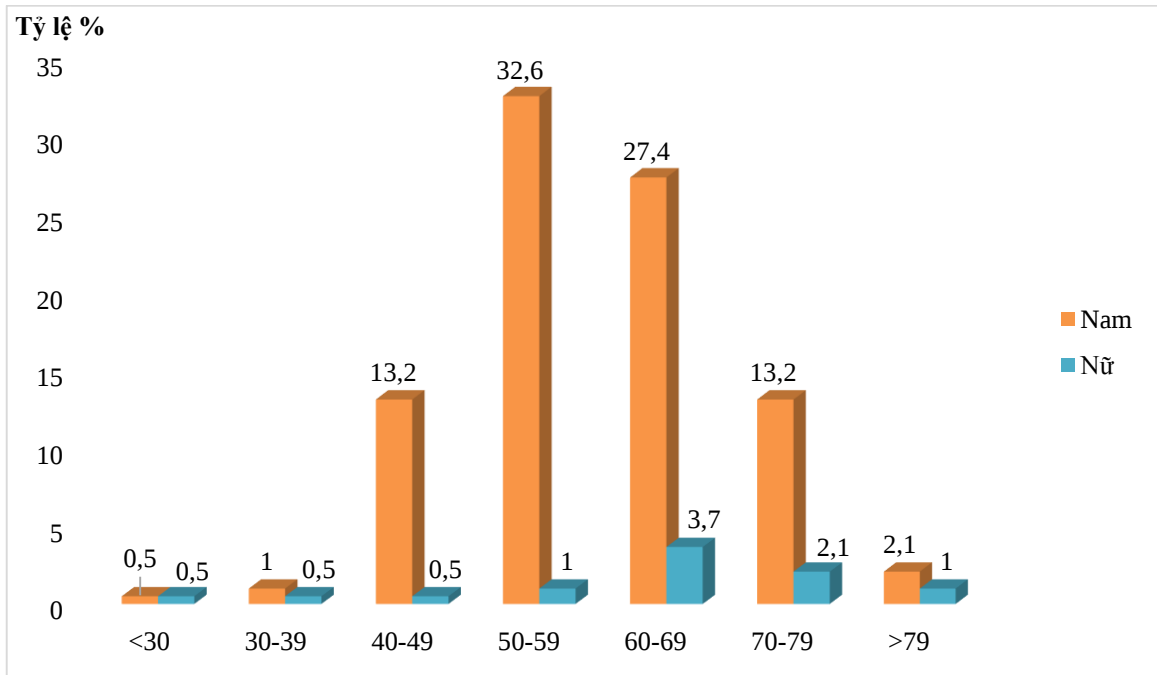
Hình 2.1: Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm chung

3.1.1. Đặc điểm phân bố về tuổi, giới của bệnh nhân UTBMTBG



Biểu đồ 3.1. Phân bố theo giới và nhóm tuổi của bệnh nhân UTBMTBG

Nam giới gặp 172 BN (90,52%), nhiều hơn nữ giới 18 BN (9,47%). Tỷ lệ nam/nữ là 9,5: 1.

Nhóm tuổi thường gặp của UTBMTBG từ 50 – 59. Riêng nữ giới, nhóm tuổi gặp nhiều nhất là 60-69. Có sự khác biệt về tỷ lệ gặp giữa nam và nữ ở lứa tuổi ≥ 60 và < 60 , tỷ lệ nữ < 60 là 27,8% (5/18), > 60 tuổi là 72,2% (13/18); tỷ lệ nam < 60 là 52,3% (90/172), > 60 là 47,7% (82/190) (Biểu đồ 3.2). Tuổi trung bình nữ 62,61 ($62,61 \pm 14,28$) mắc bệnh cao hơn nam 59,40 ($59,40 \pm 10,04$). Không có sự khác biệt về tuổi trung bình giữa nam và nữ có ý nghĩa thống kê với phép kiểm t, $p = 0,108$ ($p > 0,05$).

3.1.2. Đặc điểm phân bố về tuổi, giới của bệnh nhân UTTBG

Bảng 3.1. Phân bố giữa tuổi và giới của UTTBG

Tuổi \ Giới		Nam		Nữ		Tổng	
		n	%	n	%	n	%
Tuổi	< 40	6	27,27	6	27,27	12	54,54
	40-49	3	13,63	2	9,09	5	22,72
	50-59	2	9,09	0	0	2	9,09
	≥ 60	2	9,09	1	4,54	3	13,63
Tổng		13	59,1	9	40,9	22	100

Nhận xét:

Có 13/22 (59,09%) trường hợp nam giới và 9/22 (40,91%) trường hợp nữ giới; tỷ lệ nam/nữ là 1,44, không có sự khác biệt về tỷ lệ giữa hai giới.

Nhóm tuổi < 40, chiếm hơn một nửa số trường hợp 12/22 (54,54%), trong đó, tỷ lệ nam/nữ là 1:1; Nhóm tuổi từ 40-49, có 5/22 trường hợp (22,72%), trong đó tỷ lệ nam/nữ là 3/2. Các nhóm tuổi 40-49; 50-59 và ≥ 60 đều ít gặp.

3.1.3. Đặc điểm phân bố về số lượng u của bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3.2. Phân bố về số lượng u

Số lượng u	n	%
Một u	133	70,0
Nhiều u	57	30
Tổng	190	100

Nhận xét:

Đa số các trường hợp 133/190 (70%) UTBMTBG chỉ có một u đơn độc, phổ biến hơn so với các trường hợp có nhiều u 57/190 (30%).

3.1.4. Đặc điểm phân bố về kích thước u của bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3.3. Phân bố về kích thước u

Kích thước	n	%
<2cm	14	7,37
2-5cm	106	55,79
>5cm	70	36,84
Tổng	190	100

Nhận xét:

U có kích thước < 2cm ít nhất, chỉ với 14/190 trường hợp (7,37%); trong khi đa phần các u có kích thước $\geq$ 2cm chiếm 92,63% (u kích thước 2–5cm chiếm tỉ lệ cao nhất với 106/190 trường hợp (55,79%), >5cm chiếm 36,84%).

3.1.5. Đặc điểm phân bố về nồng độ AFP huyết thanh của bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3.4. Phân bố về nồng độ AFP huyết thanh

AFP huyết thanh	n	%
< 20ng/mL	122	64,21
$\geq$ 20 ng/mL	68	35,79
Tổng	190	100

Nhận xét:

Theo nhiều nghiên cứu khác nhau, AFP có thể chia thành nhiều mức độ khác nhau. Trong nghiên cứu này, số trường hợp có nồng độ ở ngưỡng bình thường $< 20\text{ng/mL}$ có 122 (64,21%) trường hợp; trong khi ngưỡng $\geq 20\text{ng/mL}$ chỉ có 68 trường hợp 35,79%

3.1.6. Đặc điểm phân bố về tình trạng nhiễm vi rút viêm gan B, C của bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3.5. Phân bố tình trạng nhiễm vi rút viêm gan

Viêm gan vi rút	n	%
B	151	79,47
C	5	2,63
Phối hợp B-C	0	0
Không	34	17,89
Tổng	190	100

Nhận xét:

Tình trạng nhiễm vi rút viêm gan khá phổ biến ở UTBMTBG. Trong số 156/190 (82,11%) trường hợp nhiễm vi rút viêm gan, tỷ lệ nhiễm HBV ở BN UTBMTBG là 79,47% (151/190 trường hợp). Tỷ lệ nhiễm HCV chỉ chiếm 2,63% (5/190 trường hợp). Không có trường hợp đồng nhiễm HBV và HCV.

3.2. Đặc điểm tổn thương tiền ung thư gan và UTBMTBG

3.2.1. Tổn thương tiền ung thư gan

3.2.2.1. Số lượng và đặc điểm MBH của tổn thương loạn sản

Bảng 3.6. Phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của NLS

NLS MBH		NLS độ thấp		NLS độ cao		Tổng	
		n	%	n	%	n	%
Động mạch đơn độc	Có	9	81,82	28	96,55	37	92,5
	Không	2	18,18	1	3,45	3	7,5
Giả tuyến, nang	Có	0	0	0	0	0	0
	Không	11	100	29	100	40	100
Khoảng cửa trong nốt	Có	1	9,09	2	6,9	3	7,5
	Không	10	90,91	27	93,1	37	92,5
Xâm nhập mô đệm	Có	0	0	0	0	0	0
	Không	11	100	29	100	40	100
Độ dày >2 hàng tế bào	Có	11	100	29	100	40	100
	Không	0	0	0	0	0	0
Nhiễm mỡ	Có	1	9,09	13	44,83	14	35
	Không	10	90,91	16	55,17	26	65
Nhân không điển hình	Có	0	0	2	6,9	2	5
	Không	11	100	27	93,1	38	95
Tổng		11	22,5	29	77,5	40	100

Nhận xét:

- 29 trường hợp NLS độ cao, hầu hết đều có các đặc điểm động mạch đơn độc 28 (96,55%), độ dày bề gan > 2 hàng tế bào là 29 (100%). Hiếm gặp những đặc điểm khác như nhân không điển hình, đặc điểm cấu trúc giả tuyến nang và xâm nhập mô đệm.

- 11 trường hợp NLS độ thấp, toàn bộ các trường hợp đều có độ dày bề gan > 2 hàng tế bào là 11/11 (100%), động mạch đơn độc 9/11 (81,82%). Không gặp các đặc điểm mô học như cấu trúc giả tuyến, xâm nhập mô đệm, nhân tế bào u không điển hình.

3.2.1.2. Số lượng và đặc điểm MBH của UTTBG

Bảng 3.7. Phân bố về số lượng và đặc điểm MBH của các típ UTTBG

Đặc điểm MBH của UTTBG		H-HCA		B-HCA		I-HCA		U-HCA		Tổng	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Thoái hóa mỡ	Có	3	75	2	50	5	50	1	25	11	50
	không	1	25	2	50	5	50	3	75	11	50
Xoang mạch giãn	Có	4	100	1	25	8	80	3	75	16	72,72
	không	0	0	3	75	2	20	1	25	6	27,28
Xâm nhập viêm	Có	1	25	0	0	9	90	2	50	12	54,54
	không	3	75	4	100	1	10	2	50	10	45,46
TB không điển hình	Có	0	0	4	100	2	20	0	0	6	27,27
	không	4	100	0	0	8	80	4	100	16	72,73
Cấu trúc tuyến nang	Có	0	0	1	25	0	0	0	0	1	4,55
	không	4	100	3	75	10	100	4	100	21	95,45
Thành mạch dày, đơn độc	Có	1	25	2	50	8	80	3	75	14	63,64
	không	3	75	2	50	2	20	1	25	8	36,36
Xoang máu	Có	0	0	0	0	3	30	0	0	3	13,64
	không	4	100		100	7	70	4	100	19	86,36

Nhận xét:

Đặc điểm MBH của UTTBG có thể có hoặc không đầy đủ ở mỗi típ khác nhau. Típ H-HCA, đa phần có các đặc điểm gặp thoái hóa mỡ 3/4 (75%) trường hợp và giãn các xoang mạch 4/4 (100%) trường hợp. Các trường hợp của típ B-HCA đều có biến đổi tế bào gan không điển hình (chiếm 100%). Típ I-HCA có 10 trường hợp, đặc điểm nổi bật là xâm nhập viêm (90%), xoang mạch giãn và thành mạch dày đơn độc (80%). Típ U-HCA, có đầy đủ các đặc điểm, tuy nhiên duy nhất không có đặc điểm tế bào không điển hình và cấu trúc tuyến – nang.

3.2.2. Các đặc điểm của UTBMTBG

3.2.2.1. Đặc điểm mô bệnh học của UTBMTBG

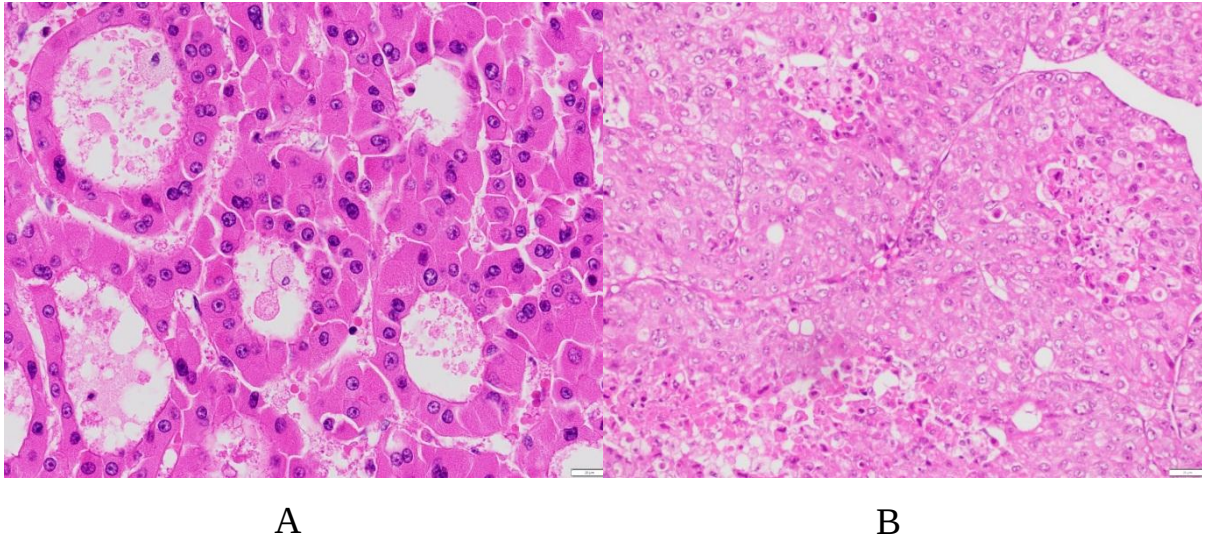
Bảng 3.8. Phân bố tổn thương theo tí MBH của UTBMTBG

Mô bệnh học		n	(%)
Các tí MBH thông thường n=182	Bè	101	53,15
	Tuyến nang	0	0
	Đặc	7	3,68
	Bè – tuyến nang	46	24,21
	Bè – đặc	24	12,63
	Tuyến nang – đặc	0	0
	Hỗn hợp	4	2,1
Các biến thể MBH đặc biệt n=8	Xơ lát	5	2,63
	Xơ cứng	2	1,05
	Dạng lympho biểu mô	1	0,53
	Dạng Sarcoma	0	0
	Không biệt hóa	0	0
Tổng		190	100

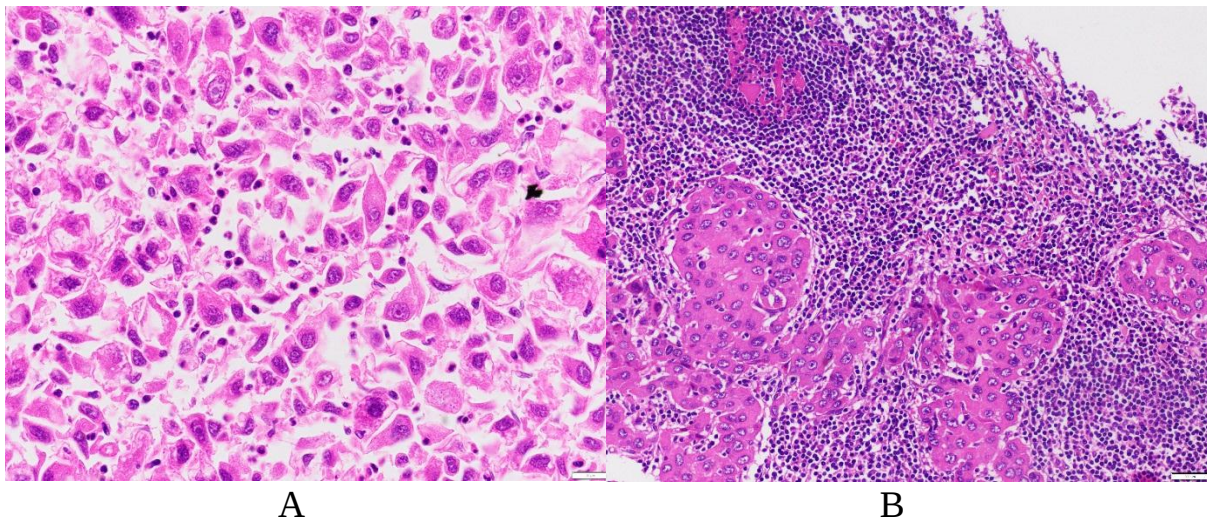
Nhận xét:

- Típ thông thường chiếm tỷ lệ cao nhất 182/190 (95,79%) trường hợp, thường gặp nhất là cấu trúc bè đơn độc 101/182 (55,49%). Không có trường hợp chỉ có cấu trúc tuyến nang đơn độc và tuyến nang phối hợp đặc.

- Các biến thể đặc biệt của UTBMTBG thường ít gặp, biến thể xơ cứng là 2/190 (1,05%) trường hợp, xơ lát 5/190 (2,63%) trường hợp và 1/190 trường hợp dạng lympho biểu mô.



Ảnh 3.1. (A) UTBMTBG thể giả tuyến với các tế bào u sắp xếp dạng giả tuyến hoặc nang (HE x 200, mã số: 3837-18). (B) UTBMTBG thể đặc với các tế bào u đứng thành mảng đặc, không rõ xoang mạch (HE x 100, mã số: 688)



Ảnh 3.2. UTBMTBG đa hình thái, không biệt hóa (A) (HE x 200, mã số: 4257-18), UTBMTBG tấp giàu lympho bào (B) (HE x 200 mã số: A87578)

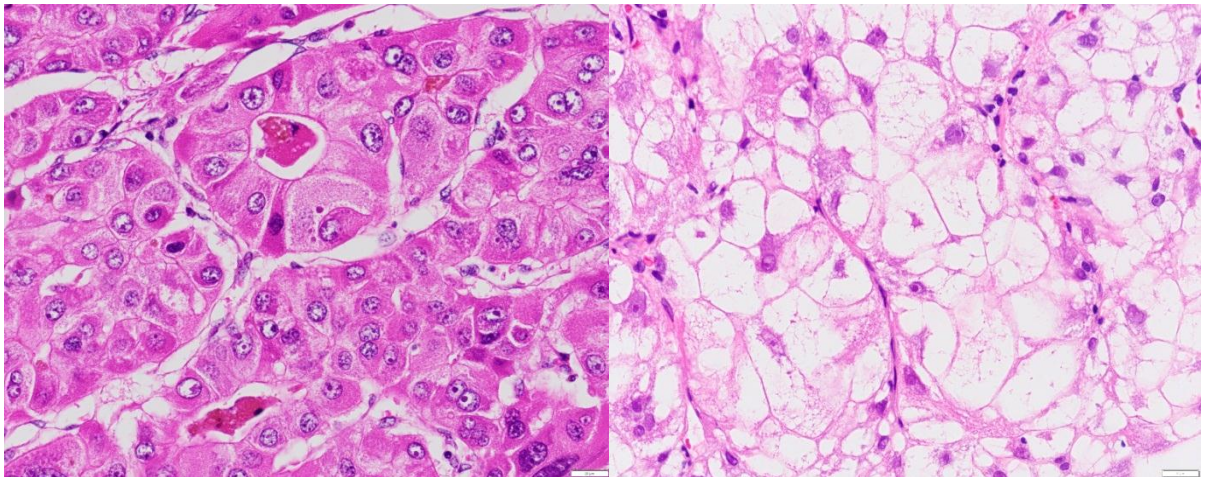
3.2.2.2: Đặc điểm hình thái tế bào của UTBMTBG

Bảng 3.9. Phân bố tổn thương theo hình thái tế bào học của UTBMTBG

Hình thái tế bào học	n	%
Tế bào điển hình	62	32,63
Tiết mật	92	48,42
Thoái hoá mỡ	55	28,94
Đa hình thái	14	7,36
Tế bào sáng	75	39,47
Tế bào hình thoi	0	0
Thể hyaline	74	38,94
Thể nhạt màu	14	7,36
Thể vùi kính mờ	8	4,21
Tổng	190	100

Nhận xét:

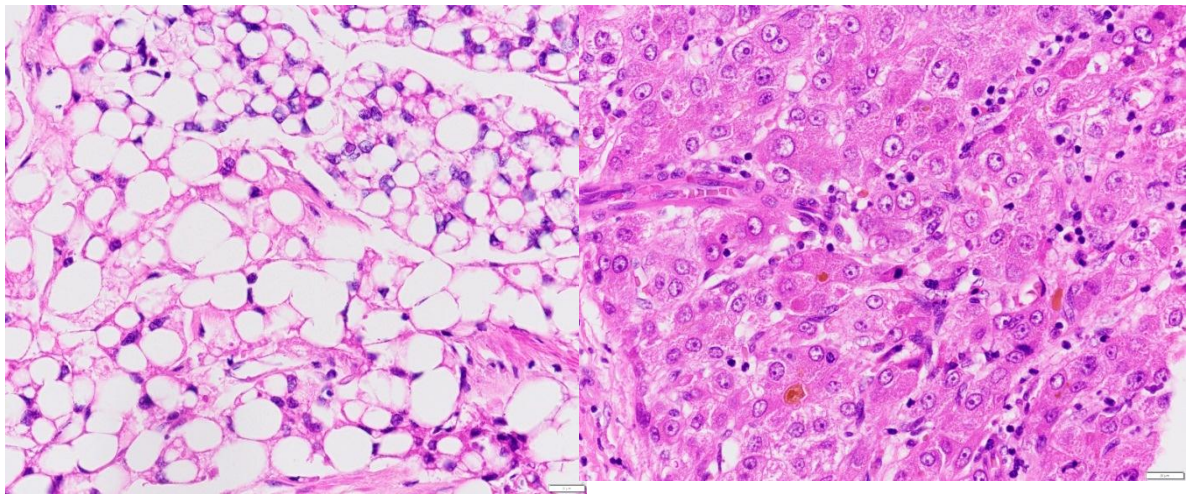
Mẫu tế bào điển hình chiếm tỷ lệ khá cao với 62 (32,63%) trường hợp, tiết mật 92 (48,42%), thể hyalin 74 (38,94%); trong khi mẫu đa hình thái chỉ có 14 (7,36%) trường hợp và không gặp trường hợp nào là mẫu tế bào thoi.



A

B

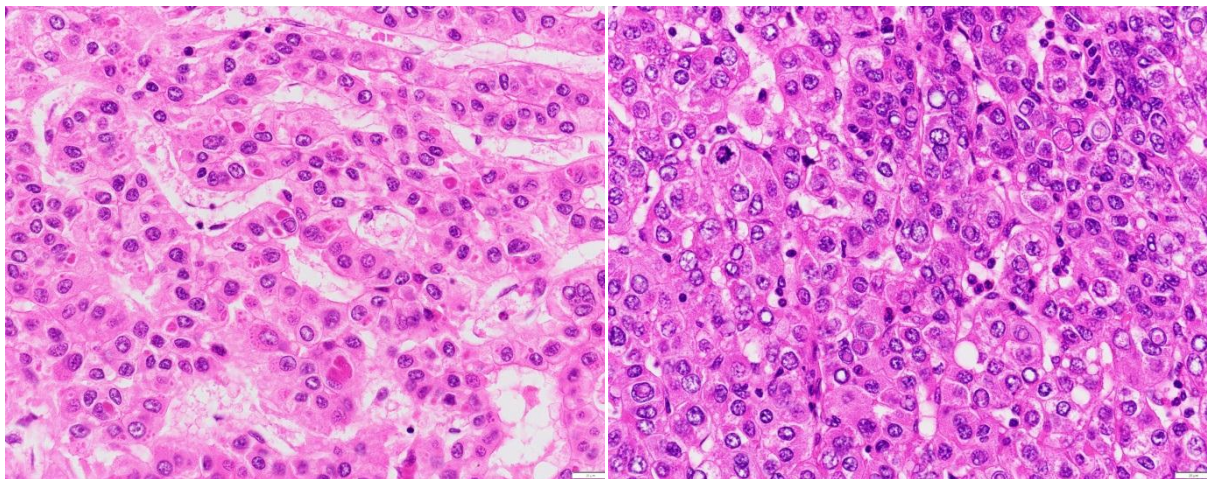
Ảnh 3.3. UTBMTBG thể điển hình với các tế bào hình đa diện, bào tương dạng hạt, ưa toan, trong lòng chứa mật (A) (HE x 400, mã số: 241-19), UTBMTBG thể tế bào sáng với các tế bào u có bào tương rộng, sáng màu (B) (HE x 400, mã số: 5685)



A

B

Ảnh 3.4. UTBMTBG thể thoái hóa mỡ với các giọt mỡ hình cầu nằm trong bào tương tế bào u (A) (HE x 100, mã số: 1122-19), UTBMTBG thể chế tiết mật với các giọt mật (màu nâu đỏ) hoặc trong các vi quản mật (B) (HE x 200, mã số: 654)



A

B

Ảnh 3.5. UTBMTBG có thể Mallory (các thể hình cầu), ưa toan trong bào tương (A) (HE x 200, mã số: 4259-18), UTBMTBG với thể vùi kính mờ nằm trong nhân tế bào u (B) (HE x 200, mã số 701)

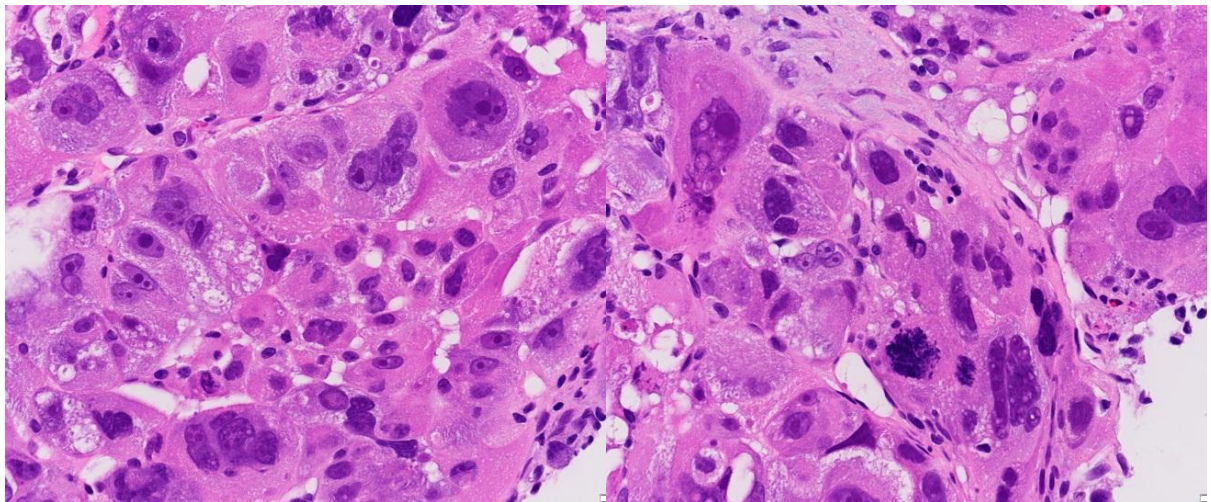
3.2.2.3: Đặc điểm độ mô học của UTBMTBG

Bảng 3.10. Phân bố tổn thương theo độ mô học của UTBMTBG

Độ mô học	n	%
Biệt hóa cao	26	13,68
Biệt hóa vừa	108	56,84
Biệt hóa kém	55	28,95
Không biệt hóa	1	0,53
Tổng	190	100

Nhận xét:

Biệt hóa vừa chiếm ưu thế 108 (56,84%) trường hợp, biệt hóa kém 55 (28,95%), nhóm biệt hóa cao ít gặp hơn 26 (13,76%) và không biệt hóa chỉ có 1 (0,53%) trường hợp.



A

B

Ảnh 3.6. UTBMTBG thể đa hình với các tế bào u đa dạng về kích thước, có cả tế bào khổng lồ, nhân quái (A, B) (HE x 400, mã số:1107)

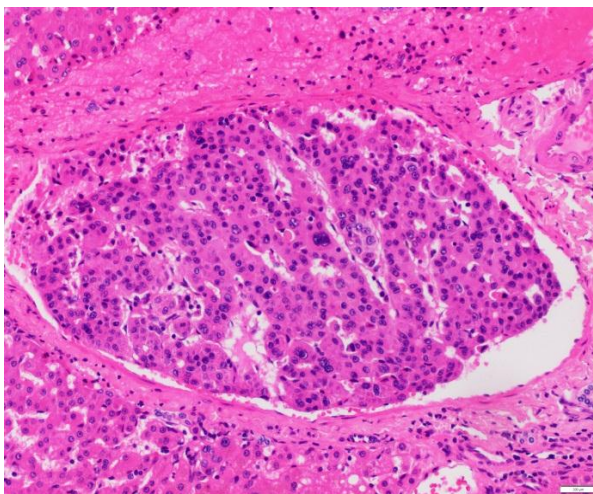
3.2.2.4. Đặc điểm xâm nhập mạch của UTBMTBG

Bảng 3.11: Tình trạng xâm nhập mạch trong UTBMTBG

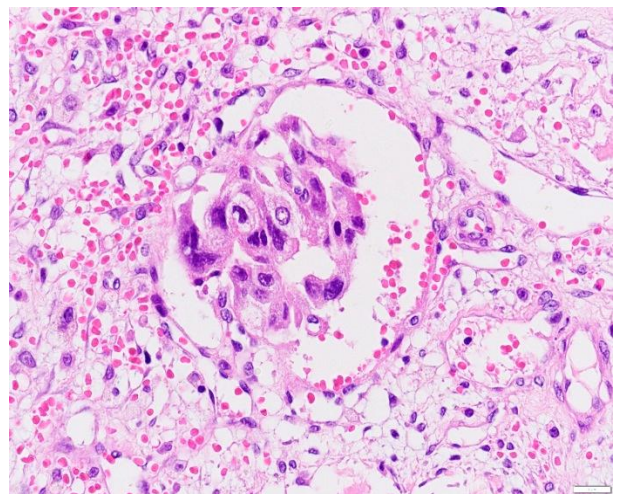
Xâm nhập mạch máu	n	%
Có	40	58,82
Không	28	41,18
Tổng	68	100

Nhận xét:

Chúng tôi chỉ NC xâm nhập mạch ở những mẫu mô sau phẫu thuật (68 trường hợp), trong khi mẫu sinh thiết kim khó xác định do mẫu mô quá nhỏ. Tình trạng xâm nhập mạch được phát hiện ở 40 trường hợp (58,82%), không xác định được xâm nhập mạch là 28 trường hợp (41,18%).



A



B

Ảnh 3.7. UTBMTBG xâm nhập mạch (A) (HE x 100, mã số: 1073-18); (B) (HE x 200, mã số: SU 9608).

3.2.2.5. Đặc điểm xơ hóa gan trong UTBMTBG

Bảng 3.12: Phân bố tình trạng xơ hóa gan trong UTBMTBG

Tình trạng xơ hóa		n	%
Không xơ hóa	Độ xơ hóa F0	25	36,76
Có xơ hóa	Độ xơ hóa F1	0	0
	Độ xơ hóa F2	0	0
	Độ xơ hóa F3	17	25
	Độ xơ hóa F4	26	38,24
Tổng		68	100

Nhận xét:

Do các mảnh sinh thiết nhỏ đã phân chỉ lấy được vào mô u, nên chúng tôi chỉ đánh giá tình trạng xơ hóa gan phối hợp quanh u trên các mảnh bệnh phẩm mổ (68 trường hợp). Có 43/68 (63,24%) UTBMTBG có xơ hóa gan kèm theo, trong đó chủ yếu mức độ xơ hóa F4 với 26/68 (38,24%) và 17/68 (25%) xơ hóa mức độ F3. Không gặp độ xơ hóa F1 và F2.

3.3. Đối chiếu và tìm mối liên quan của một số yếu tố khác và mô học.

3.3.1. Đối chiếu giữa kích thước u với độ mô học trong UTBMTBG

Bảng 3.13. Đối chiếu giữa kích thước u với độ mô học

Kích thước u Độ mô học	< 2cm		≥ 2cm		p
	n	%	n	%	
Biệt hóa cao (n = 26)	4	28,57	22	12,50	0,105
Biệt hóa vừa (n = 108)	8	57,14	100	56,82	1
Biệt hóa kém/ không (n = 56)	2	14,29	54	30,68	0,24
Tổng	14		176		

Nhận xét:

Đánh giá, đối chiếu kích thước UTBMTBG phân theo mức (UTBMTBG nhỏ <2cm và không nhỏ ≥ 2 cm) với độ mô học. Tuy nhiên, NC này không thấy có mối liên quan giữa các nhóm kích thước $u < 2$ cm và ≥ 2 cm khi đối chiếu với 3 nhóm biệt hóa cao, biệt hóa vừa và biệt hóa kém/không với $p > 0,05$.

3.3.2.Đối chiếu giữa nồng độ AFP huyết thanh với độ mô học trong UTBMTBG

Bảng 3.14. Liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với độ mô học

Độ mô học \ AFP	$\geq 20\text{ng/mL}$		$< 20\text{ng/mL}$		p
	n	%	n	%	
Biệt hóa cao (n = 26)	4	5,88	22	18,03	0,026
Biệt hóa vừa (n = 108)	37	54,41	71	58,19	0,648
Biệt hóa kém/ không (n= 56)	27	39,7	29	23,77	0,03
Tổng	68		122		

Nhận xét:

Nhóm nồng độ AFP $\geq 20\text{ng/mL}$ có tỷ lệ 35,79% (68 trường hợp) thấp hơn so với nhóm AFP $< 20\text{ng/mL}$ 64,21% (122 trường hợp).

Độ biệt hóa càng cao thì nồng độ AFP càng thấp với $p = 0,026$; độ biệt hóa càng kém/không thì nồng độ AFP càng cao với $p = 0,03$.

3.3.3. Đối chiếu giữa típ MBH với độ mô học trong UTBMTBG

Bảng 3.15. Liên quan giữa típ MBH với ĐMH của UTBMTBG

ĐMH Típ mô học		Biệt hóa cao		Biệt hóa vừa		Biệt hóa kém/không		Tổng
		n	%	n	%	n	%	
Bè	Có	26	14,86	102	58,29	47	26,86	175 (96,2)
	không	0	0	1	14,29	6	85,71	7 (3,8)
p		0,59		0,022		0,002		
Tuyến nang	Có	5	10	29	58	16	32	50 (27,5)
	không	21	15,91	74	56,06	37	28,03	132 (72,5)
p		0,35		0,87		0,59		
Đặc	Có	1	2,86	9	25,71	25	71,43	35 (19,2)
	không	25	17	94	63,95	28	19,05	147 (80,8)
p		0,33		0,0001		0,0001		
Tổng		26		103		53		182

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa típ bè với độ biệt hóa vừa và biệt hóa kém/không với p lần lượt là 0,02 và 0,002.

Típ tuyến nang ở nhóm biệt hóa cao (10%), ít hơn so với nhóm biệt hóa vừa 58% và biệt hóa kém/ không 32%. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với giá trị p lần lượt là 0,35; 0,87 và 0,59.

Có mối liên quan giữa típ đặc với hai nhóm biệt hóa vừa và biệt hóa kém/không với giá trị p= 0,00001.

3.3.4. Đối chiếu giữa xâm nhập mạch với độ mô học trong UTBMTBG

Bảng 3.16: Đối chiếu tình trạng xâm nhập mạch với độ mô học

Tình trạng xâm nhập Độ mô học	Có xâm nhập		Không xâm nhập		p
	n	%	n	%	
Biệt hóa cao (n = 2)	0	0	2	7,14	0,166
Biệt hóa vừa (n = 41)	24	60	17	60,72	1
Biệt hóa kém/ không (n = 25)	16	40	9	32,14	0,455
Tổng	40		28		

Nhận xét:

Nhóm u có xâm nhập mạch chiếm tỷ lệ 58,82% (40 trường hợp) cao hơn so với nhóm không xâm nhập mạch 41,18% (28 trường hợp).

Tỉ lệ các mức độ biệt hóa vừa, kém/ không ở cả hai nhóm xâm nhập mạch và không xâm nhập mạch không có sự khác biệt với $p > 0,05$.

Ở độ mô học cao, 2/2 (100%) trường hợp không có biểu hiện xâm nhập mạch.

3.4. Đặc điểm HMMD trong tổn thương tiền ung thư và UTBMTBG

3.4.1. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTTGB

Bảng 3.17: Tình trạng bộc lộ dấu ấn HMMD trong các típ UTTBG

Biểu thể		L-FABP		SAA		B- Catenin		GS	
		+	-	+	-	+	-	+	-
H-HCA	n	0	4	0	4	0	4	0	4
	%	0	100	0	100	0	100	0	100
B-HCA	n	4	0	0	4	3	1	3	1
	%	100	0	0	100	75	25	75	25
I-HCA	n	9	1	10	0	1	9	5	5
	%	90	10	100	0	10	90	50	50
U-HCA	n	4	0	0	4	0	4	4	0
	%	100	0	0	100	0	100	100	0

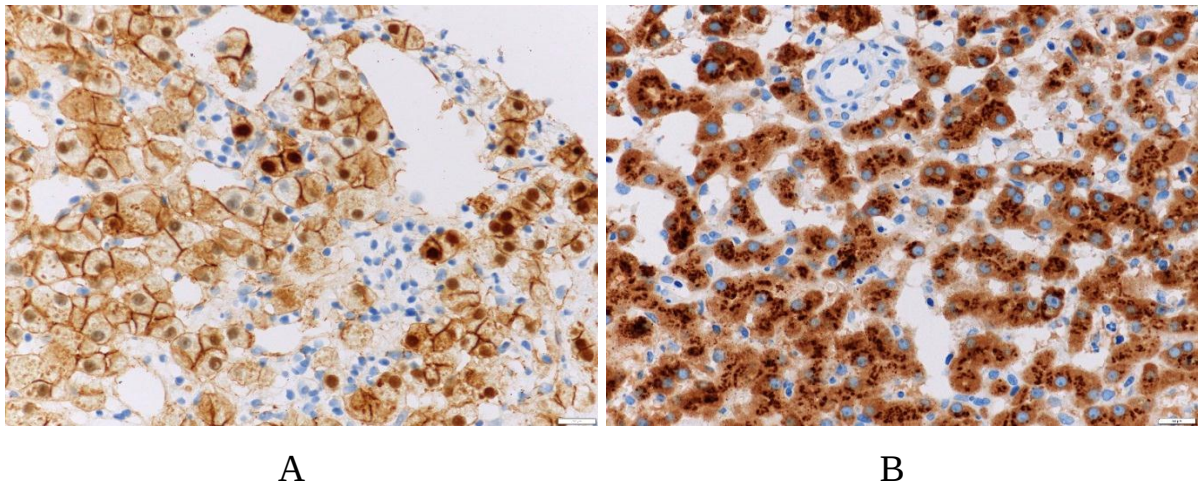
Nhận xét:

Nhóm H-HCA, cả 4 trường hợp đều âm tính với L-FABP; SAA và GS (do 2 trường hợp GS chỉ thấy dương tính màng bào tương).

Nhóm B-HCA: tất cả dương tính với L-FABP, duy nhất có 3/4 dương tính với beta catenin và GS. Tất cả âm tính với SAA.

Nhóm I-HCA: 9/10 trường hợp dương tính với L-FABP, 10/10 trường hợp dương tính với SAA, trong khi có 1/10 trường hợp dương tính với Beta-catenin và 5/10 trường hợp dương tính với GS.

Nhóm U-HCA, cả 4/4 trường hợp đều âm tính với SAA, Beta-catenin và GS, nhưng cả 4/4 trường hợp dương tính với L-FABP.



Ảnh 3.8: Mô u tuyến dương tính với dấu ấn β -catenin (A) ($\times 100$, mã số: SS7433) và dấu ấn SAA (B) ($\times 100$, mã số: SL1662)

3.4.2. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong NLS

Bảng 3.18. Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn HMMD trong nốt loạn sản

Dấu ấn bộc lộ		NLS độ thấp		NLS độ cao		Tổng	
		n	%	n	%	n	%
HepPar-1	+	11	100	27	93,1	38	95
	-	0	0	2	6,9	2	5
Arg-1	+	10	90,9	28	96,55	38	95
	-	1	9,1	1	3,45	2	5
CD34	+	3	27,27	14	48,27	17	42,5
	-	8	72,73	15	51,73	23	57,5
CK7	+	0	0	0	0	0	0
	-	11	100	29	100	40	100
CK19	+	0	0	0	0	0	0
	-	11	100	29	100	40	100
GPC-3	+	0	0	1	3,44	1	2,5
	-	11	100	28	96,56	39	97,5
HSP-70	+	0	0	5	17,24	5	12,5
	-	11	100	24	82,76	35	87,5
GS	+	1	9,09	5	17,24	6	15
	-	10	90,91	24	82,76	34	85

Nhận xét:

Dấu ấn HepPar1 và Arg-1 dương tính với hầu hết các trường hợp NLS độ thấp và NLS độ cao với tỷ lệ hơn 95%.

Dấu ấn CD34 dương tính lan tỏa 27,27% ở NLS độ thấp, 48,27% NLS độ cao.

Các dấu ấn GPC-3, HSP-70 và GS hiếm khi dương tính với các NLS, đặc biệt ở NLS độ thấp, dương tính thấp ở NLS độ cao 3,44%, 17,24% và 17,24%.

3.4.3. Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTBMTBG**Bảng 3.19. Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn HMMD trong UTBMTBG**

Dấu ấn bộc lộ		Ung thư <2cm		Ung thư ≥2cm		Tổng	
		n	%	n	%	n	%
HepPar-1	+	13	92,86	155	88,07	168	88,42
	-	1	7,14	21	11,93	22	11,58
Arg-1	+	14	100	165	93,75	179	94,21
	-	0	0	11	6,25	11	5,79
CD34	+	14	100	168	95,45	182	95,79
	-	0	0	8	4,55	8	4,21
CK7	+	2	14,29	24	3,64	26	13,68
	-	12	85,71	152	96,36	164	86,32
CK19	+	0	0	19	10,8	19	10
	-	14	100	157	89,2	171	90
GPC-3	+	12	85,71	128	72,73	140	73,68
	-	2	14,29	48	27,27	50	26,32
HSP-70	+	14	100	166	94,32	180	94,74
	-	0	0	10	5,68	10	5,26
GS	+	14	100	165	93,75	179	94,21
	-	0	0	11	6,25	11	5,79

Nhận xét:

Tỷ lệ dương tính của Arg-1 cao hơn HepPar1 (94,21% so với 88,42%), tương tự ở nhóm UTBMTBG nhỏ (< 2cm) và nhóm UTBMTBG không nhỏ (≥ 2 cm) có tỷ lệ tương ứng (100%; 92,86%) so với (93,75%; 88,07%).

Các dấu ấn GPC-3, HSP-70 và GS dương tính tương ứng 73,68%, 94,74%; 94,21% ở UTBMTBG, trong khi các nhóm UTBMTBG nhỏ (< 2cm) dương tính tương ứng 85,71%; 100%; 100%. Nhóm UTBMTBG có kích thước (≥ 2 cm) dương tính 72,73%; 94,32; 93,75%.

Dấu ấn CD34 dương tính cao 95,79% trong đó nhóm UTBMTBG nhỏ (< 2cm) dương tính 100%; nhóm UTBMTBG có kích thước (≥ 2 cm) dương tính 95,45%

Dấu ấn CK7 và CK19 bộc lộ rất ít trong UTBMTBG 10% và 13,36%; đa phần dương tính ở nhóm UTBMTBG không nhỏ (≥ 2 cm).

3.4.4. Đặc điểm bộc lộ khi nhuộm 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GPC-3, GS) trong UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao.

Bảng 3.20. Tỷ lệ bộc lộ khi phối hợp 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GS, GPC-3) trong UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao

Cách phối hợp các dấu ấn	UTBMTBG biệt hóa cao (n = 26)		NLS độ cao (n =29)	
	n	%	n	%
Cả 3 dấu ấn dương	11	42,31	0	0
Ít nhất 2 dương	20	76,92	0	0
Ít nhất 1 dương	25	96,15	10	34,48
HSP-70+/GS+	20	76,92	0	0
HSP-70+/GPC-3+	11	42,31	0	0
GPC-3+/GS+	11	42,31	0	0
HSP-70+	14	53,85	5	17,24
GPC-3+	11	42,31	1	3,45
GS+	22	84,62	5	17,24

Nhận xét:

Nhóm có cả 3/3 và 2/3 dấu ấn dương tính chỉ gặp ở UTBMTBG biệt hóa cao với tỷ lệ 42,31% và 76,92%, không thấy dương tính trong nhóm NLS độ cao.

Nhóm có ít nhất một dấu ấn dương tính gặp chủ yếu ở UTBMTBG 96,15%, còn lại NLS độ cao chỉ dương tính 34,48%.

Nhóm duy nhất chỉ một dấu ấn dương tính thấy HSP-70 và GS gặp 17,24%, trong khi GPC-3 chỉ gặp 3,45%.

3.4.5. Giá trị khi khi nhuộm phối hợp 3 dấu ấn (HSP-70, GPC-3, GS) trong chẩn đoán phân biệt UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao

Bảng 3.21. Tỷ lệ bậc lộ khi nhuộm phối hợp 3 dấu ấn HMMD (HSP-70, GS, GPC-3) trong chẩn đoán UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao

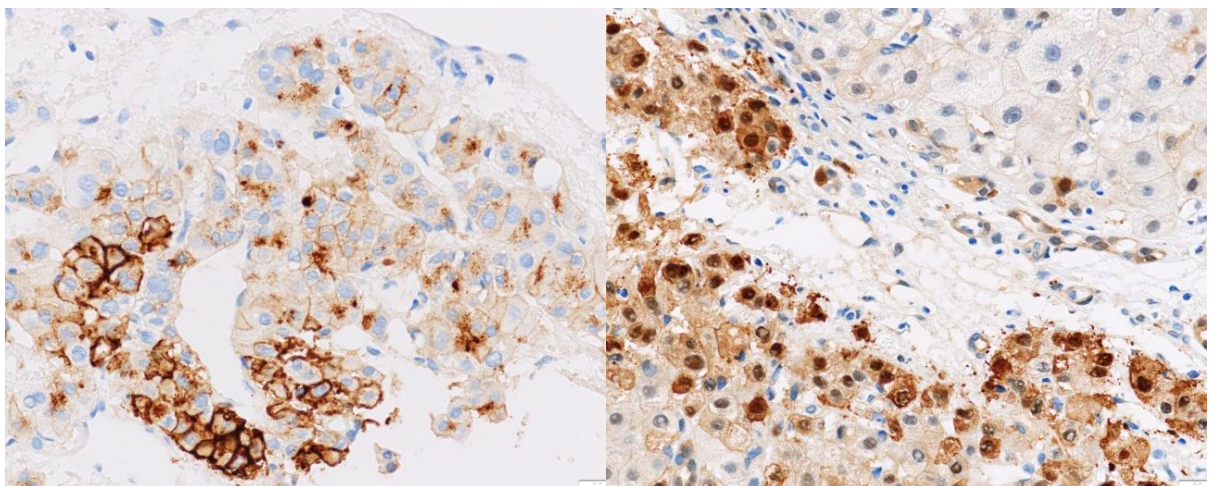
Cách phối hợp các dấu ấn	UTBM TBG biệt hóa cao (n = 26)	NLS độ cao (n =29)	Độ nhảy %	Độ đặc hiệu %	Dự báo dương tính %	Dự báo âm tính %	Độ chính xác %
Cả 3 dấu ấn dương tính	11	0	42,31	100	100	65,91	72,72
Ít nhất 2 dương	20	0	76,92	100	100	82,86	89,1
Ít nhất 1 dương	25	10	96,15	65,52	71,43	95	80
HSP-70+/GS+	20	0	76,92	100	100	82,86	89,1
HSP-70+/GPC3+	11	0	42,31	100	100	65,91	72,72
GPC-3+/GS+	11	0	42,31	100	100	65,91	72,72
HSP-70+	14	5	53,85	82,76	76,68	66,67	69,1
GPC-3+	11	1	42,31	96,55	91,67	65,12	70,1
GS+	22	5	84,62	86,21	84,62	86,21	83,64

Nhận xét:

Panel đồng thời cả 3 dấu ấn dương tính chỉ thấy ở nhóm UTBMTBG biệt hóa cao, không có trong NLS độ cao. Panel này có độ nhạy thấp 42,31%, độ đặc hiệu cao tới 100%, giá trị dự báo dương tính 100%, giá trị dự báo âm tính 65,91%, độ chính xác 72,72%.

Khi có ít nhất 2/3 dấu ấn dương tính trong bộ 3 HSP-70, GS, GPC-3 cũng chỉ thấy ở các trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao, độ nhạy 76,92%, độ đặc hiệu 100%, độ chính xác 89,1%.

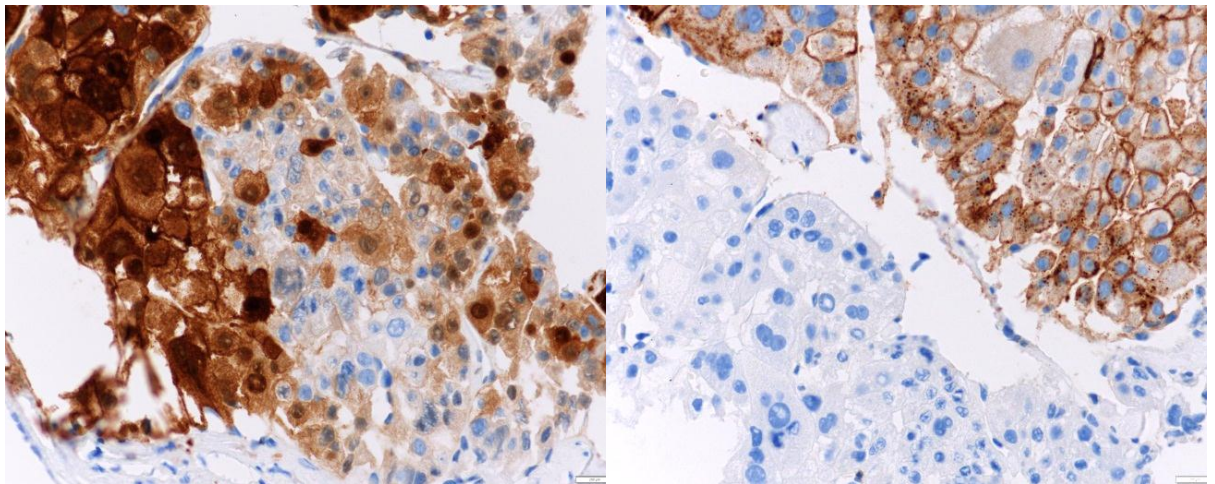
Khi có ít nhất 1/3 dấu ấn dương tính trong bộ 3 HSP-70, GS, GPC-3 có thể gặp ở cả hai nhóm UTBMTBG biệt hóa cao 96,15% và NLS độ cao 34,48%, với độ nhạy đạt 96,15% nhưng độ đặc hiệu chỉ còn 65,52%, độ chính xác 80%.



A

B

Ảnh 3.9: Mô ung thư dương tính với dấu ấn GPC-3 (A) và dấu ấn HSP-70 (B) (x 100, mã số: BV10041-19)



A

B

Ảnh 3.10: Mô ung thư dương tính với dấu ấn Arginase -1 (A) và dấu ấn GPC-3 (B) (x 100, mã số: BV10041-19)

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Một số đặc điểm chung

4.1.1. Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm bệnh nhân UTBMTBG

4.1.1.1. Đặc điểm về tuổi.

Tuổi mắc UTBMTBG thay đổi tùy theo từng khu vực, phụ thuộc vào tỷ lệ mắc, phân bố giới và cả nguyên nhân gây bệnh [60]. Chúng tôi NC thấy, tuổi trung bình của BN là $59,7 \pm 10,50$, trong đó BN có tuổi trẻ nhất là 26, lớn tuổi nhất là 85. Nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là khoảng 50-59 (Biểu đồ 3.1). Kết quả này tương tự như các NC về UTBMTBG ở Việt Nam nhưng có sự khác biệt so với các NC trên thế giới.

Tại Việt Nam, NC trong 10 năm từ 1990 đến 1999 của Trần Văn Hợp và cs trên 562 bệnh nhân UTBMTBG, ghi nhận nhóm tuổi từ 41-50 chiếm 25,8%, từ 51-60 chiếm 26,5% [105]. Tổng kết tại Bệnh viện Trung ương Huế, giai đoạn 2001-2009, tỷ lệ mắc UTG đạt đỉnh cao ở độ tuổi từ 60-64 đối với nam và từ 65-69 đối với nữ [106]. Kết quả NC của Đào Việt Hằng (2016) tuổi trung bình của BN trong NC là $57,5 \pm 10,2$ trong đó BN trẻ nhất 30 tuổi, lớn tuổi nhất 81 tuổi. Nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là từ 51-70 tuổi (68,4%) [107].

Ở các nước phương Tây, tuổi mắc UTG thường cao hơn (≥ 75), ở Anh, tỷ lệ mắc UTBMTBG cao nhất ở nhóm tuổi 70-80 tuổi [108]. Sự khác biệt về tuổi mắc bệnh dường như có liên quan với nguyên nhân thường gặp trong cộng đồng gây nên UTG như: típ của vi rút viêm gan, tuổi nhiễm vi rút hoặc tác động của các yếu tố nguy cơ khác. Vi rút viêm gan C thường lây nhiễm ở người trưởng thành, trong khi hầu hết những người mang vi rút viêm gan B lại bị nhiễm từ lúc còn nhỏ. Tại Nhật Bản, tuổi mắc UTBMTBG trung bình do vi rút viêm gan C đạt đỉnh ở tuổi 65, trong khi ở Hàn Quốc, nước có tỷ lệ mắc UTG chủ yếu do vi rút viêm gan B, độ tuổi trung bình mắc bệnh là 55

[109]. Một NC tại Đài Loan ghi nhận, tuổi mắc UTBMTBG trung bình do vi rút viêm gan B là 49, trong khi tuổi ở nhóm do vi rút viêm gan C là 61 [110].

4.1.1.2. Đặc điểm về giới.

Trên Biểu đồ 3.1 cho thấy, tỷ lệ mắc ở nam giới chiếm ưu thế với 172/190 chiếm 90,52% trong khi giới nữ chỉ chiếm 18/190 (9,48%); tỷ lệ nam: nữ là 9,5:1. Kết quả này cũng tương tự kết quả NC của các tác giả trong và ngoài nước. Đơn cử, ở hầu hết các khu vực trên thế giới, nam giới được ghi nhận có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn nữ giới với tỷ lệ nam: nữ dao động từ 3-4:1 [111],[112]. Trong NC của Trần Văn Hợp từ 1990-1999, tỷ lệ nam: nữ bằng 5,17 [105]. Lê Trần Ngoan và cs (2007) đã thống kê tại 638/671 quận huyện ở 64 tỉnh thành cả nước trong hai năm 2005 – 2006, trong đó, tỷ lệ nam: nữ là 2,8:1 [113]. Trong khi NC của Thái Doãn Kỳ (2015), ở BN UTBMTBG được nút mạch bằng hạt vi cầu ở Viện 108, tỷ lệ nam giới rất cao, chiếm tới 95,2% [114]. Lý do nam giới mắc UTG cao hơn so với nữ giới có lẽ do nam giới trực tiếp phơi nhiễm với nhiều yếu tố nguy cơ, như rượu, thuốc lá, nhiễm vi rút viêm gan B và C, chỉ số khối cơ thể (BMI) cao hơn và mức dự trữ sắt nhiều hơn so với nữ giới. Giả thuyết về mối liên quan giữa hormone sinh dục với việc tiến triển UTG cũng đã được đề cập trong một số NC. Các tác giả đã đưa ra giả thuyết estrogen có tác dụng ức chế quá trình viêm thông qua interleukin 6, do đó làm giảm tổn thương của tế bào gan, trong khi testosterone làm tăng dẫn truyền thông qua thụ thể androgen, từ đó thúc đẩy sự phát triển của tế bào gan u. Tuy nhiên, cần thêm nhiều dữ liệu để khẳng định các giả thuyết này [115],[116].

4.1.2. Đặc điểm về tuổi, giới của nhóm bệnh nhân UTTBG.

Trong số 22 trường hợp UTTBG được phân tích tại Bảng 3.1, tuổi mắc bệnh trung bình là 40 tuổi với khoảng tuổi mắc từ 23 đến 65. Hơn một nửa số trường hợp 12/22 (54,54%) có tuổi < 40, trong đó tỷ lệ nam/nữ bằng nhau

(mỗi giới có 6 trường hợp). Nhóm tuổi từ 40 trở lên đều thấy tỷ lệ gặp ở nam giới cao hơn nữ giới với tỷ lệ 7/3. Tóm lại trong NC thấy, tỷ lệ nam cao hơn so với nữ 59,09% so với 40,9 %.

Khi so sánh với các báo cáo của các nước phương tây [117], [68], [118], UTTBG chủ yếu gặp ở giới nữ (hơn 90%), tuổi mắc trung bình trẻ (29 tuổi) (dẫn theo Lin) [119]. Trong khi, kết quả NC của một số quốc gia Châu Á khác như Hyunchul Kim (Hàn Quốc 2013) [120] và Motoko Sasaki (Nhật Bản 2011) [121] cho thấy tỷ lệ nam/nữ tương tự nhau là 1:1. Tuy nhiên, tuổi mắc trung bình trong NC tại Hàn Quốc chỉ là 28 còn tuổi mắc trung bình theo NC tại Nhật Bản là 41. Đặc biệt trong NC của Lin và cs (Trung Quốc 2011) lại thấy tỷ lệ gặp ở nữ ít nam (nam: nữ là 1,65) và tuổi mắc trung bình là 39,3 [119]. Sự khác biệt về tuổi mắc trung bình và giới tại các vùng trên thế giới có thể là do thói quen sử dụng thuốc tránh thai bằng đường uống. Ở những nước khu vực Châu Á, đặc biệt là vùng Đông Á và Đông Nam Á không thường xuyên như ở các nước phương Tây. Đây cũng là lý do có thể lý giải tỷ lệ mắc trội lên ở nam so với nữ giới ở các quốc gia này và dường như có sự liên quan đến tỷ lệ thấp của tip H-HCA trong các báo cáo tại các nước Châu Á. Một NC khác của Konishi (Nhật Bản 1995) [122] cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân nam mắc UTTBG cao hơn do có liên quan tới các yếu tố ảnh hưởng chính như bệnh dự trữ glycogen và sử dụng hormone đồng hóa trong điều trị thiếu máu bất sản. Nhiều NC gần đây đã đưa ra gợi ý, ngoài thuốc tránh thai nguồn gốc nội tiết, bệnh béo phì và hội chứng rối loạn chuyển hóa thường gặp hơn ở nam giới cũng là một trong các nguyên nhân gây nên UTTBG.

4.1.3. Sự phân bố về số lượng u của nhóm bệnh nhân UTBMTBG

Trong NC của chúng tôi tại Bảng 3.2, số trường hợp UTBMTBG có nhiều u chiếm 57/190 (30%), thấp hơn so với các trường hợp có 01 khối u là 133/190 (70%). Kết quả này tương tự với Nguyễn Sào Trung khi NC 114 trường hợp, thấy tỷ lệ có 01 u chiếm đa số (73,7%) [123]. Các NC lâm sàng

trong nước cũng thấy, nhóm BN được điều trị có 01 khối u chiếm chủ yếu, số BN có 2-3 khối u thường ít gặp như: NC của Đào Văn Long có tới 88,9% số BN chỉ có 01 khối u, Lê Thị My có 83% có 01 khối u, 15% số BN có 2 khối u và duy nhất 1 BN có 3 khối u [124], [125]. Theo Văn Tần và cs, những trường hợp UTBMTBG đa ổ cũng chỉ chiếm tỷ lệ thấp hơn nhiều so với các trường hợp chỉ có 1 khối u (15,1%) [126]. Tuy nhiên, kết quả lại có sự khác biệt so với một số NC ở Châu Âu, Lauwers và cs là 37%, Cillo và cs là 43% [127], [128]. Các số liệu trên cho thấy có sự khác biệt về đặc điểm phân bố số lượng u của UTBMTBG ở các nghiên cứu trong nước so với các nghiên cứu của nước ngoài, sự khác biệt này có thể do quần thể NC khác nhau. Đánh giá tình trạng số lượng u cũng như kích thước u có giá trị rất quan trọng trong phân loại về giai đoạn giúp cho nhà lâm sàng đưa ra phương thức điều trị phù hợp. Theo kinh nghiệm của một số tác giả với các khối u đơn lẻ, kích thước nhỏ hơn 5 cm, khả năng sống thêm đạt 84%, 74% và 74% trong năm thứ 1, 2 và thứ 5 sau ghép gan, với tỷ lệ tái phát chỉ 3,5%. Do đó, ứng cử viên lý tưởng cho ghép gan là BN có một u đơn lẻ, kích thước nhỏ hơn 5cm hoặc có tới 3 nốt nhưng không có nốt nào lớn hơn 3cm, không có dấu hiệu xâm lấn khoảng cửa hoặc di căn xa [129]

4.1.4. Sự phân bố về kích thước u của nhóm bệnh nhân UTBMTBG.

Trong Bảng 3.3 thể hiện, nhóm u có kích thước 2-5cm gặp nhiều nhất 106/190 TH (55,79%). Nhóm u có kích thước >5cm có 70/190 trường hợp (36,84%). Nhóm u kích thước < 2cm gặp ít nhất với 14/190 TH (7,37%).

Kích thước khối u có giá trị quan trọng về tiên lượng bệnh và liên quan đến các đặc điểm thay đổi về di truyền và đặc điểm bệnh lý của UTBMTBG [130],[131]. Kích thước khối u lớn có liên quan đến tình trạng xâm lấn vỏ, tạo huyết khối và các nốt vệ tinh. Hơn nữa, kích thước khối u lớn thường dẫn đến nguy cơ xâm nhập mạch cao hơn. Do đó, tình trạng tái phát và di căn của u có

thể gặp phổ biến hơn ở những BN có kích thước u lớn hơn [132]. Nhiều kết quả của NC mới đây đã ủng hộ quan điểm, kích thước khối u là yếu tố tiên lượng độc lập với tỷ lệ sống thêm toàn bộ trong UTBMTBG với bất kể độ biệt hóa, giai đoạn bệnh hay kết quả của sự áp dụng bất kì phương pháp điều trị nào.

Wu và cs (2018) [133] đã thực hiện một NC với cỡ mẫu lớn, các khối u được phân chia theo nhóm có kích thước là 0,1-2cm; 2,1-5cm; 5,1-10cm; 10,1-20cm. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống sau 5 năm ở những BN UTBMTBG không phẫu thuật theo thứ tự tương ứng là 21,9%, 14,3%; 9,2% và 7,7%; trong khi đối với những BN được phẫu thuật là 31,2%; 23,6%; 20,3% và 15,5%. Kết quả của NC khẳng định, kích thước khối u là yếu tố nguy cơ độc lập cho sự sống còn của BN UTBMTBG. Bên cạnh đó, kích thước u còn liên quan đến sự biệt hóa, giai đoạn bệnh và lựa chọn phương án điều trị. Kích thước u càng lớn, độ biệt hóa càng kém, giai đoạn càng tiến triển và tỷ lệ sống thấp hơn so với u có kích thước nhỏ.

Theo phân loại của TNM của AJCC (2010) và UICC (1995) [134],[135] cũng như hệ thống phân loại của nhóm nghiên cứu UTG Nhật Bản [136] và hệ thống phân loại Hồng Kông [29], khi đồng quan điểm cho rằng, kích thước khối u là một trong các yếu tố tiên lượng quan trọng của UTBMTBG. Trong các NC với cỡ mẫu lớn của Zhang (2014) và Varotti (2005) đã báo cáo, kích thước khối u với các yếu tố tiên lượng bất lợi quan trọng khác như xâm nhập mạch máu, độ biệt hóa kém và nhiều tổn thương khác có mối tương quan nghịch [137],[138]. Tuy vậy, trong NC của Hwang và Huang cho thấy vai trò tiên lượng của kích thước khối u gan vẫn còn gây tranh cãi [139],[140]. Một số NC khác sau đó đã đánh giá thấp tầm quan trọng của kích thước khối u trong chẩn đoán do họ đã chứng minh vai trò của kích thước trong vấn đề tiên lượng UTBMTBG lại thiếu sức thuyết phục [141],[142]. Vì vậy, vẫn cần có thêm các NC lâm sàng để làm rõ vai trò tiên lượng của kích thước khối u gan.

4.1.5. Nồng độ AFP của nhóm bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3.4 cho thấy, nồng độ AFP được so sánh ở giá trị ngưỡng là 20ng/mL (nồng độ được coi là dương tính với giá trị $\geq 20\text{ng/mL}$ và âm tính với giá trị $< 20\text{ng/mL}$). Số trường hợp có AFP được coi là âm tính 122/190 (64,21%) nhiều hơn số trường hợp có AFP được coi là dương tính là 68/190 (35,79%).

Vũ Văn Khiên nghiên cứu 360 BN UTBMTBG và bệnh gan mạn tính thấy, mức AFP $> 20\mu\text{g/L}$ chiếm 85,55%, $> 500 \mu\text{g/L}$ chiếm 50% và $> 1000 \mu\text{g/L}$ chiếm 25% và xác định mức AFP $> 500 \text{ ng/mL}$ được coi là mốc chẩn đoán, thì độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính và tỷ lệ âm tính giả theo thứ tự tương ứng là: 50%; 100%; 100%; 50%. Như vậy, chọn mốc chẩn đoán của AFP huyết thanh đối với UTBMTBG có liên quan đến độ nhạy và độ đặc hiệu của nồng độ AFP huyết thanh. Việc chọn giá trị ngưỡng/mốc cao của AFP sẽ làm cho độ nhạy giảm, nhưng lại tăng độ đặc hiệu của chẩn đoán [143].

Nồng độ AFP huyết thanh có thể được coi là dấu ấn hữu ích giúp chẩn đoán UTBMTBG, tuy nhiên, vẫn có một tỷ lệ UTBMTBG không tăng nồng độ AFP (AFP $< 20\text{ng/mL}$) và trong giai đoạn đầu (khi khối u gan còn nhỏ) thì nồng độ AFP huyết thanh còn thấp hoặc không tăng. Đặc điểm này đã làm hạn chế khả năng chẩn đoán, giảm độ nhạy cũng như độ đặc hiệu trong chẩn đoán UTBMTBG. Theo khuyến cáo của AASLD từ năm 2010, việc sử dụng nồng độ AFP như một test để chẩn đoán UTBMTBG có độ đặc hiệu thấp hơn mong đợi do nồng độ AFP cũng tăng trong trường hợp UT đường mật trong gan hoặc trong một số trường hợp di căn từ UT đại tràng [27]. Khuyến cáo của APASL năm 2010 là không nên sử dụng đơn thuần nồng độ AFP huyết thanh để chẩn đoán UTBMTBG. Trong trường hợp muốn sử dụng thì cần phối hợp với hai dấu ấn sinh học khác và ngưỡng AFP huyết thanh là 200 ng/mL [25].

Tuy nhiên, một số NC còn cho thấy, với bệnh gan không u, nồng độ AFP huyết thanh ở bệnh gan mạn tính (viêm gan mạn và xơ gan) và một số bệnh lý khác cũng có thể tăng ở những mức độ khác nhau nhưng thường thấp hơn so với các trường hợp UTBMTBG. Kết quả NC của Bloomer [144] cho thấy, tỷ lệ BN viêm gan cấp, viêm gan mạn và xơ gan có AFP > 20 ng/mL theo thứ tự tương ứng là: 31%; 15% và 11%. Tuy nhiên, theo Sugimoto cá biệt có trường hợp nồng độ AFP huyết thanh có thể đạt tới 1000 – 3000 ng/mL và thậm chí lên tới 7190 ng/mL, nhưng không tìm thấy u gan ở những BN này [145].

Ở những BN có mức AFP > 20 ng/mL nhưng không phát hiện được u gan với bất kỳ phương pháp chẩn đoán nào thì AFP trong trường hợp này được coi là dương tính giả. Tuy nhiên, những bệnh gan mạn tính có nồng độ AFP huyết thanh cao cần phải được theo dõi và quản lý chặt chẽ, vì đây là những trường hợp có nguy cơ cao với UTG.

4.1.6. Tình trạng nhiễm vi rút viêm gan ở nhóm bệnh nhân UTBMTBG

Theo Bảng 3.5, tình trạng nhiễm vi rút viêm gan chiếm đa số, có đến 82,11% (156/190) trường hợp nhiễm ít nhất một loại vi rút viêm gan. Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B là 151/190 (79, 47%); nhiễm vi rút viêm gan C thấp hơn, chiếm 2,63% (5/190). Không gặp tỷ lệ đồng nhiễm vi rút viêm gan B và vi rút viêm gan C trong NC này.

Vi rút viêm gan B, C đóng vai trò quan trọng trong cơ chế sinh bệnh UTBMTBG. Tần suất nhiễm vi rút viêm gan thay đổi theo từng vùng dịch tễ khác nhau. Các NC của Trung Quốc, Hồng Kông cho thấy tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan C cao hơn khoảng 10% [146],[147]. Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan C trong NC của chúng tôi thấp hơn so với kết quả NC của Nguyễn Sào Trung (2004) với tỷ lệ (10,5%) [123]. Mặc dù tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan C ở Việt Nam báo cáo tăng lên trong thời gian gần đây, tuy nhiên, cơ chế bệnh sinh gây UTG của vi rút viêm gan C và vi rút viêm gan B là khác nhau và không

thường gặp ở những BN trẻ tuổi. Chúng tôi dự đoán rằng cùng với sự phát triển và xu hướng chung của thời đại, tỷ lệ BN UTBMTBG do nhiễm vi rút viêm gan B sẽ giảm xuống đáng kể ở những thập kỷ tiếp theo do tỷ lệ trẻ em và người trẻ tuổi ở Việt Nam đã được tiêm vắc xin phòng chống vi rút viêm gan B đầy đủ.

Ngoài ra, chúng tôi còn thấy, tuổi trung bình của bệnh nhân UTBMTBG có nhiễm vi rút viêm gan B và vi rút viêm gan C không có sự khác biệt (tương ứng 58,26 và 58,20). Số liệu này không giống với các tác giả khác đã NC vì số bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan C trong NC của chúng tôi quá thấp chỉ có 5/190 trường hợp, tương đồng với tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan C thấp tại Việt Nam. Sự khác biệt về tuổi trung bình của BN UTBMTBG nhiễm vi rút viêm gan B và C cũng được nhiều tác giả khác và Tanaka K ghi nhận, bệnh nhân UTBMTBG nhiễm vi rút viêm gan B có tuổi trung bình là 50,6; trẻ hơn BN nhiễm vi rút viêm gan C (64,3) [148], [149]. Sự khác biệt này có thể giải thích do vi rút viêm gan B thường lây nhiễm theo đường từ mẹ sang con, đa số xảy ra trong thời kỳ chu sinh hoặc những tháng đầu sau sinh, trong khi vi rút viêm gan C thường lây nhiễm từ người này sang người khác qua quan hệ tình dục, truyền máu, dùng chung kim tiêm, xảy ra trong suốt quá trình sống [148]. Nghiên cứu của Nanis S Holah trong 88 trường hợp UTBMTBG, 95,7% nhiễm vi rút viêm gan (vi rút viêm gan C hoặc B), trong đó có tới 91,4% liên quan đến nhiễm vi rút viêm gan C [150]. Số liệu này có sự tương đồng với kết quả NC của Goldman và cs tại Ai Cập [151] với 90% trường hợp UTBMTBG liên quan với nhiễm vi rút viêm gan C. Điều đó cho thấy ở các vùng địa lý khác nhau, nguyên nhân chính gây UTBMTBG do vi rút là khác nhau.

4.2. Đặc điểm mô bệnh học của tổn thương tiền ung thư.

4.2.1. Nốt loạn sản tế bào gan.

Nghiên cứu của chúng tôi có 40 trường hợp NLS, bao gồm 11/40 (27,

50%) NLS độ thấp và 29/40 (72,50%) NLS độ cao (Bảng 3.6). Theo Y văn mô tả, NLS thường gặp trong gan xơ, tuy nhiên cũng có thể gặp ở bệnh gan mạn tính mà không có phát triển xơ gan. Số lượng NLS có thể đơn độc hoặc nhiều nốt, có ranh giới rõ hoặc không. Kích thước có thể thay đổi từ vài mm đến vài cm và được phân loại thành NLS độ thấp hoặc NLS độ cao dựa vào đặc điểm không điển hình của tế bào học và cấu trúc mô. Hiện tại, các ý kiến đều đồng thuận cho rằng, loạn sản tế bào nhỏ còn gọi là loạn sản độ cao, có mối liên quan đến tổn thương ác tính và là tổn thương tiền UT, có khả năng trực tiếp tiến triển thành UTBMTBG. Dựa trên đặc điểm MBH và các NC theo dõi lâm sàng, các NLS độ cao được cho là có liên quan chặt chẽ đến UTBMTBG hơn so với NLS độ thấp [9],[10].

Bên cạnh đó, NLS độ cao có hầu hết các đặc điểm: động mạch đơn độc 28/29 (96,55%), mao mạch hóa 20/29 (68,97%), độ dày > 2 hàng của bè tế bào gan 29/29 (100%), bào tương tế bào nhiễm mỡ 13/29 (44,83%), trong khi các đặc điểm khác như hình thái và cấu trúc nhân không điển hình chỉ có 2/29 trường hợp (6,89%); không có đặc điểm cấu trúc giả tuyến nang và xâm nhập mô đệm. Trong khi NLS độ thấp có thể không có đầy đủ các đặc điểm trên, tuy nhiên các nốt này đều có thể được chẩn đoán vì những nốt nghi ngờ trên CDHA khi xuất hiện cùng trên nền gan xơ. Đặc điểm đầu tiên hướng đến chẩn đoán NLS là sự tăng sinh nhiều hơn về mật độ và số hàng tế bào so với bè gan bình thường, tiếp theo là đặc điểm tăng sinh động mạch đơn độc, mao mạch hóa (mặc dù tình trạng mao mạch hóa này không lan tỏa như trong UTBMTBG mà chỉ khu trú từng ổ).

Kết quả NC khi theo dõi lâm sàng của Park (2011) [152] và Kobayashi (2006) [153] cho thấy, NLS độ thấp được xem là tổn thương tiền UT có nguy cơ chuyển dạng ác tính, trong khi các NLS độ cao được xem là tiến triển tiền

thân của UTBMTBG và có nguy cơ rất cao chuyển dạng ác tính. Hơn nữa, UTBMTBG đã được chứng minh là thường chuyển dạng từ những NLS độ cao hơn từ NLS độ thấp. Các NC theo dõi lâm sàng khác của Di Tomaso cũng chỉ ra NLS độ cao là những tổn thương tiến triển tiên thân gần nhất tiến tới UTBMTBG, với nguy cơ biến đổi ác tính khoảng 30-40% trong 24 tháng [154]. Trong một NC khác với tổng cộng 147 BN có khối u gan không ác tính, được theo dõi trong thời gian trung bình là 29 tháng, những BN có NLS độ cao có tỷ lệ phát triển thành UTBMTBG cao hơn so với BN có NLS độ thấp [155].

Kobayashi NC về quá trình diễn tiến tự nhiên của các nốt tổn thương gan thấy, các nốt tái tạo được cho là có tiềm năng ác tính không cao hơn so với các nốt xơ gan lân cận, trong khi đó NLS lại có nguy cơ biến đổi thành ác tính cao. Trong số 154 BN xơ gan được theo dõi, tỷ lệ phát triển của các NLS độ cao thành UTBMTBG tương ứng ở năm thứ 1, năm thứ 3 và năm thứ 5 là 46,2%, 61,5% và 80,8%, trong khi sự phát triển của các NLS độ thấp là 2,6%; 30,2% và 36,6%, còn những trường hợp những nốt tái tạo chỉ là 3,3%; 9,7% và 12,4% [153]. Borzoi [156] và Takayama [148] cũng coi NLS độ cao là một tổn thương tiền UT khi các nốt này xuất hiện.

Các tổn thương nốt ở gan cần được quản lý, theo dõi tình trạng kích thước bằng CDHA. Với những NLS độ thấp thường theo dõi trong 6 tháng để đánh giá nốt tổn thương có thể biến mất hoặc tăng kích thước. Nếu kích thước của nốt tăng lên, nên sinh thiết để xác định xem là tổn thương đã tiến triển thành UT hay chưa. Đối với NLS độ cao, các tác giả cũng đưa ra một số phương pháp điều trị khác nhau, có thể điều trị bằng phương pháp đốt nhiệt bằng sóng cao tần [157].

4.2.2. U tuyến tế bào gan.

Bảng 4.1: So sánh tỷ lệ các típ của UTTBG với một số NC khác

Nơi NC (Năm)	Biến thể				
	H-HCA (%)	I-HCA (%)	B-HCA (%)	U-HCA (%)	I- HCA kèm đột biến Betacatenin (%)
Nhật (2011)	15,4	38,6	15,4	30,6	
Nhật (2012)	15,5	38	15	32	
Mỹ (2014)	29	32	0	36	36
Mỹ (2016)	34,6	42,3	15,4	7,7	0
Mỹ (2017)	0	34,8	8,7	15,2	41,3
Pháp (2017)	33	39	19	0	
Úc (2018)	7	50	14	28	
Iran (2019)	50	20	10	20	
T.N.Minh (2019)	18,2	45,4	18,2	18,2	

Theo số liệu ở Bảng 3.7, tỷ lệ các típ H-HCA, B-HCA và U-HCA đều có 4/22 trường hợp (18%), trong khi típ I-HCA gặp nhiều nhất với 10/22 trường hợp (45,5%).

Các trường hợp típ H-HCA, không có trường hợp nào có đặc điểm nhân không điển hình, 3/4 trường hợp (75%) có tình trạng nhiễm mỡ trong bào tương tế bào gan, 4/4 trường hợp (100%) giãn xoang mạch, 1/4 trường hợp (25%) xâm nhập tế bào viêm trong mô u.

Típ B-HCA, cả 04/4 (100%) trường hợp đều có tế bào không điển hình với đặc điểm kích thước tăng, trong đó có 1/4 trường hợp (25%) có cả đặc điểm tế bào không điển hình kèm một vùng nhỏ mô u có cấu trúc gọi dạng tuyến nang (đây là một trong những dấu hiệu quan trọng thể hiện sự chuyển dạng theo hướng ác tính). Hiện tượng thoái hóa mỡ tế bào gan cũng có thể thấy xuất hiện rải rác trong mô u với 50% số trường hợp.

Típ I-HCA chiếm số lượng nhiều nhất với 10 trường hợp. Trong típ này, mô u có nhiều đặc điểm mô học bị xáo trộn nhưng không có cấu trúc dạng tuyến nang hoặc tế bào không điển hình. Điểm nổi bật là hiện tượng xâm nhập nhiều tế bào viêm trong mô u chiếm tới 9/10 trường hợp chiếm 90%, trong khi 5/10 trường hợp (50%) có thoái hóa mỡ trong tế bào u cùng 8/10 (80%) trường hợp có giãn các xoang mạch. Dấu hiệu dày vách mạch gặp ở 8/10 trường hợp (80%), trong khi dấu hiệu hình thành các xoang máu chỉ ở 3/10 trường hợp (30%).

Trong khi đó, típ U-HCA lại có khá đầy đủ các đặc điểm của một u tuyến điển hình, tuy nhiên típ này không có đặc điểm tế bào không điển hình và cấu trúc tuyến – nang.

Số liệu NC tại một số nước cho thấy các típ của UTTBG có các đặc điểm và tỷ lệ tại các vùng địa lý cũng như tôn giáo khác nhau. Theo Brent K. Larson và cs cho thấy, tỷ lệ các đặc điểm hình thái học trong các típ cũng không giống nhau khi phân loại các biến thể trên chẩn đoán hình thái học với phân loại sau khi nhuộm HMMD [158]. Trong 46 trường hợp UTTBG, dấu hiệu giãn mạch chiếm 69,5% trường hợp H-HCA, 14,3% trường hợp I-HCA kèm đột biến Beta-catenin, 50% trường hợp B-HCA, 26,3% trường hợp U-HCA, trong khi đặc điểm giả khoảng cửa tương ứng 81,3%; 28,6%; 50%; 21,1% ở các biến thể. Tương tự, đặc điểm phản ứng ống là 25%; 28,6%; 0%; 0%. Đặc điểm xâm nhập viêm là 81,3%; 57,1%; 50%, 15,8%. Dấu hiệu nhiễm mỡ trong bào tương tế bào cũng gặp ở tất cả các biến thể với tỷ lệ: 43,8%; 57,1%; 25%; 63,2%. Trong khi dấu hiệu không điển hình về mặt tế bào và đặc điểm giả tuyến nang lại không có ở một số típ giống như NC của chúng tôi và Margolskee nhưng điều đặc biệt là tác giả không thấy đặc điểm tế bào không điển hình hoặc đặc điểm giả tuyến nang mặc dù típ đó được kết luận là B-HCA [159]. Điều đó cho thấy một số đặc điểm hình thái học cụ thể có liên

quan với các típ của UTTBG khác nhau nhưng không phải tất cả các đặc điểm đều có mối liên quan có ý nghĩa giữa hình thái mô học và các dưới típ như vậy. Cho nên, khi chẩn đoán UTTBG không thể chỉ sử dụng các đặc điểm hình thái học trên nhuộm HE đơn thuần mà cần phải nhuộm HMMD một cách thường quy để vừa chẩn đoán xác định típ của UTTBG vừa có khả năng chẩn đoán phân biệt với một số tổn thương lành hoặc ác tính có hình ảnh mô học tương tự.

4.3. Các đặc điểm mô bệnh học của UTBMTBG

4.3.1. Đặc điểm các típ mô bệnh học

Kết quả của bảng 3.8 cho thấy nhóm típ MBH thông thường có 182 trường hợp (95,79%) và nhóm típ MBH đặc biệt có 8 trường hợp (4,21%).

4.3.1.1. Nhóm típ MBH thông thường.

Các típ MBH thông thường của UTBMTBG khá đa dạng. Típ bè là loại mô học chiếm tỷ lệ cao nhất với 183/190 (96,31%) trường hợp, trong đó chỉ có mẫu bè đơn độc là 106 trường hợp (55,78%), mẫu bè phối hợp với tuyến nang 47 trường hợp (24,73%), phối hợp đặc 26 trường hợp (13,68%) và bè phối hợp trong típ hỗn hợp có 4 trường hợp. Không có trường hợp nào có mẫu tuyến nang đơn độc mà thường có sự phối hợp các mẫu khác nhau: mẫu bè phối hợp với tuyến nang 47 trường hợp, mẫu tuyến nang trong nhóm hỗn hợp có 4 trường hợp. Có 7 trường hợp chỉ có mẫu đặc, 26 trường hợp đặc phối hợp với bè và 4 trường hợp mẫu đặc nằm trong nhóm hỗn hợp.

Theo phân loại của TCYTTG 2010, các tế bào u thường giống như các tế bào gan, mô đệm được tạo bởi các mạch máu dạng xoang thành của các mạch này được lót bởi một lớp tế bào nội mô. Không giống như các tế bào nội mô của mao mạch nan hoa trong mô gan bình thường, các xoang mạch trong UTBMTBG có sự biến đổi mao mạch hóa (capillarization), nghĩa là giống các mao mạch bình thường, bộc lộ dương tính khi nhuộm HMMD với

CD34 và yếu tố VIII, thành phần laminin và collagen típ IV ở phía dưới tế bào nội mô. Dưới kính hiển vi điện tử ta có thể quan sát thấy một chất cấu trúc dạng màng nằm ở giữa tế bào nội mô và bề tế bào u. Các nguồn cung cấp máu cho mô UTBMTBG là nguồn động mạch mới được thành lập, đó là những mạch "lẻ" hoặc "không thành cặp đôi" vì chúng không phải là một thành phần của khoảng cửa. Trong mô UTBMTBG không có khoảng cửa, ở ngoại vi của khối u, có thể thấy hình ảnh giả khoảng cửa trong trường hợp các tế bào UT xâm lấn mô đệm của khoảng cửa. UTBMTBG thường đa dạng về cấu trúc, hình thái tế bào và có thể gặp nhiều biến thể tế bào khác nhau trên cùng một lát cắt mô u [73].

Kết quả của chúng tôi có sự khác biệt so với một số NC trước đây về phân bố các típ MBH. Trong NC này, không thấy có trường hợp nào có mẫu tuyến nang đơn độc mà đa phần các mẫu có sự phối hợp với nhau. Theo NC của Nguyễn Sào Trung và cs (2004), 03 típ mô bệnh học hay gặp nhất lần lượt là: típ bề (58,8%), típ giả tuyến (16,7%), típ đặc (15,8%) [123]. Theo NC của Lauwer GY và cs. (2002), típ bề (48,5%), típ giả tuyến (15,5%) và típ đặc (36%) [127].

Phân bố típ hỗn hợp, NC của chúng tôi có 4/182 (2,1%) trường hợp, ít hơn kết quả NC của Lê Minh Huy (2012) là 8,9% [93] và của Ishak K (2001) là 11,5% [160]. Do mẫu NC của chúng tôi bao gồm cả trên các mảnh sinh thiết kim và bệnh phẩm phẫu thuật, nên ở các mảnh sinh thiết kim chỉ lấy được một vùng đại diện của mô u. Ngoài ra, sự khác biệt về phân bố típ mô bệnh học của các NC phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có yếu tố địa lý – nơi thu thập đối tượng NC và kích cỡ mẫu. Tuy vậy, các kết quả NC đều có điểm giống nhau là những típ thường gặp, gồm típ bề, típ đặc, típ giả tuyến, típ hỗn hợp. Trong đó, típ bề có tỷ lệ cao nhất, sau đó là típ đặc, típ giả tuyến.

4.3.1.2. Các típ đặc biệt.

Bên cạnh các típ thông thường, chúng tôi còn thấy 8 trường hợp có thể xếp vào típ đặc biệt: 5/190 (2,63%) trường hợp UTBMTBG xơ lát, số liệu này

phù hợp với báo cáo của TCYTTG khi tít này chỉ chiếm 0,5-9% UTG nguyên phát [73]. UTBMTBG xơ lát có tần số tương đương nhau ở cả hai giới, độ tuổi từ 5 đến 58, tuổi trung bình 25-34 (80% các trường hợp BN có độ tuổi trẻ hơn 35). Trong NC của chúng tôi, tuổi trung bình là 53,4; khá tương đồng với nhóm tuổi chuẩn được mô tả trong y văn. Đặc điểm MBH của tít này được đặc trưng bởi mô đệm xơ dạng lát mỏng, kích thước tế bào lớn, bào tương rộng dạng hạt ưa acid và hạt nhân rõ ưa toan. Tế bào u tít này thường dương tính với các dấu ấn biệt hóa tế bào gan như Arg-1, HepPar-1 và pCEA, trong khi GPC-3 dương tính ở khoảng 2/3 các trường hợp. Dấu ấn CK7 và CD68 (là dấu ấn của mô bào) dương tính trong hầu hết các trường hợp, tuy nhiên sự bộc lộ ở dấu ấn CD68 thường loang lổ và cũng có thể thấy trong 25% các trường hợp UTBMTBG kinh điển nhưng lại âm tính với UTBM đường mật. Do CK7 và CD68 thấy dương tính trong hầu hết các trường hợp UTBMTBG xơ lát, nên khi chẩn đoán cần thận trọng nếu trường hợp nghi ngờ UTBMTBG xơ lát nhưng âm tính với các dấu ấn này. Gần đây, sự hợp nhất gen đặc hiệu đã được mô tả trong UTBMTBG xơ lát chính là kết quả của việc mất ~ 400 kilobase trên nhiễm sắc thể 19, tạo ra sự kết hợp trong khung của promoter và exon đầu tiên của DNAJB1, protein sốc nhiệt và PRKACA, miền xúc tác của protein kinase A. Bản sao của phức hợp DNAJB1-PRKACA và sự sắp xếp lại của locus PRKACA có thể được xác định bằng phản ứng chuỗi polymerase phiên mã ngược (RT-PCR) hoặc phương pháp lai tại chỗ huỳnh quang (FISH). Sự bất thường này được thấy trong hơn 80% các trường hợp UTBMTBG xơ lát và chưa được mô tả trong UTBMTBG kinh điển, u nguyên bào gan hoặc UTBM đường mật trong gan. Xét nghiệm FISH có thể được sử dụng cho các trường hợp có đặc điểm mang tính gợi ý nhưng không chẩn đoán UTBMTBG xơ lát [157].

Bên cạnh đó, NC còn thấy 2/190 trường hợp UTBMTBG tít xơ cứng, chiếm 1,05%. Tít này có tiên lượng tốt nhưng khá hiếm gặp trên thực tế lâm

sàng. Có khá nhiều định nghĩa đã được sử dụng cho típ này nhưng không có cơ sở nào chắc chắn để chọn ra một định nghĩa nghĩa phù hợp nhất. Tuy nhiên, định nghĩa hợp lý và thường được sử dụng nhất là sự xơ hóa trong u được thấy trong khoảng 50% các trường hợp và sự xơ hóa chiếm ít nhất 25% diện tích bề mặt trong các vùng xơ hóa trong u. Típ UTBMTBG xơ cứng có thể gặp từ 2-6%, có thể xuất hiện trên một gan xơ hoặc không. Các dữ liệu cho thấy, típ này có nhiều khả năng phát sinh trên gan không xơ hơn so với típ UTBMTBG điển hình. UTBMTBG xơ cứng thường bị CDHA chẩn đoán nhầm thành UTBM đường mật. Tiên lượng tương tự hoặc tốt hơn so với UTBMTBG điển hình. Số lượng u có thể một hoặc nhiều ổ, trong trường hợp khối u nhiều ổ, không phải tất cả các ổ nhất thiết sẽ có hình thái xơ cứng. Tương tự như y văn mô tả, típ xơ cứng chỉ chiếm từ 1–5% trong số các BN mắc UTBMTBG ở Mỹ và hiếm gặp ở những vùng có tần suất mắc UTBMTBG cao [157].

Đặc biệt trong NC này, chúng tôi còn thấy 01/190 trường hợp UTBMTBG típ giàu lympho bào, chiếm 0,52%. UTBMTBG giàu lympho bào được đặc trưng bởi sự có mặt rất nhiều các tế bào lympho trong vùng mô u. Biến thể này cũng đã được gọi là UTBMTBG với mô đệm giàu lympho hoặc UTBMTBG viêm. Sự tăng sinh tế bào lympho thật sự nổi bật và phải có số lượng tế bào lympho tương đương hoặc nhiều hơn tế bào u. Típ giàu lympho bào là biến thể hiếm gặp của UTBMTBG, thường dưới 1%. Có NC cho thấy tỷ lệ gặp có thể gần 4% và UTBMTBG giàu lympho bào có thể xuất hiện trong cả gan xơ và gan không xơ. Có quá ít số trường hợp đã được báo cáo trước đó để hiểu đầy đủ mọi yếu tố nguy cơ hoặc để làm rõ các mối tương quan với lâm sàng, tuy nhiên biến thể này dường như có tiên lượng tốt hơn so với các UTBMTBG điển hình. Các tế bào UT thường biệt hóa từ cao đến vừa, các vùng kém biệt hóa thường không có hoặc chỉ khu trú. Ngược lại, hầu hết

các khối u có đặc điểm tế bào học kém biệt hóa nổi bật và là dấu hiệu chính để chẩn đoán típ này. Các thể nhạt màu xuất hiện khu trú trong bào tương của nhiều trường hợp. Trong các tổn thương viêm có đặc điểm tương tự là sự có mặt chủ yếu của lympho bào, tương bào cũng có thể xuất hiện, tâm mầm cũng có thể được tìm thấy. Trong mọi trường hợp, các tế bào lympho này chủ yếu là những tế bào T phản ứng, với các tế bào B chủ yếu giới hạn ở các tâm mầm. UTBMTBG giàu lympho bào giống u lympho biểu mô vì tế bào biểu mô là kém biệt hóa với các đám, mảng hợp bào của các tế bào dạng biểu mô. Một số sinh thiết thậm chí có thể không lấy được những cấu trúc gợi ý đến biệt hóa tế bào gan. Ngược lại, hầu hết các UTBMTBG giàu lympho bào có độ biệt hóa cao và vừa. UTBMTBG giống u lympho biểu mô là các khối u biệt hóa độ kém, cần cắt nhiều lát để xác định các vùng biệt hóa tế bào gan. Các vùng u kém biệt hóa có cấu trúc mô học rất giống với UTBM đường mật giống u lympho biểu mô hoặc UT di căn. Để xác định biệt hóa tế bào gan cần nhuộm HMMD; gồm Glypican-3, HepPar1, và Arg-1. Các tế bào lympho phản ứng chủ yếu là các tế bào T. Một điều đáng chú ý khác là thành phần biểu mô trong UTBM đường mật giống u lympho biểu mô thường dương tính với EBV, trong khi các thành phần biểu mô trong cả UTBM giống u lympho biểu mô đường mật và UTBMTBG giàu lympho bào đều âm tính với EBV. Trong một số trường hợp, các mô đậm quá giàu lympho bào có thể gợi ý là một u lymphoma. Tuy nhiên, chẩn đoán xác định được đưa ra khi xác định các tế bào này có sự không điển hình trong tế bào gan, kết hợp với nhận diện bản chất phản ứng lành tính của lympho thâm nhiễm [157].

4.3.2. Đặc điểm tế bào u

Trong UTBMTBG, đa phần các trường hợp trong cùng 1 khối u có thể có hỗn hợp nhiều loại hình thái tế bào khác nhau. Bảng 3.9 cho thấy, các đặc điểm thường gặp của tế bào u trong UTBMTBG như tiết mật 92/190

(48,42%), tế bào sáng 75/190 (39,47%), thể hyalin 74/190 (38,94%), tế bào điển hình 62/190 (32,63%), thoái hóa mỡ 55/190 (28,95%), thể nhạt màu và đa hình thái có tỷ lệ bằng nhau là 14/190 (7,36%), thể vùi kính mờ 8/190 (4,21%). Trong đó, tiết mật là đặc điểm có tính chất đặc trưng về sự biệt hóa nguồn gốc của tế bào gan. Đặc điểm này có thể thấy trong các trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao hoặc vừa. Sắc tố mật có thể thấy trong bào tương tế bào gan hoặc trong lòng các cấu trúc tuyến nang. Thoái hóa mỡ cũng là đặc điểm có tỷ lệ gặp khá cao với 32,63% các trường hợp. Số liệu này tương tự như kết quả NC của Lương Khắc Hiến (2008) với hình thái tế bào thoái hóa mỡ chiếm 28,4% trường hợp [92]. Loại hình thái này thấy trong bào tương của tế bào u xuất hiện những hốc sáng hình cầu có kích thước to, nhỏ khác nhau, thường gặp trong các khối UT kích thước nhỏ và thường ở giai đoạn sớm, có thể do rối loạn chuyển hóa tế bào và thiếu máu gây ra.

Hình thái tế bào u của UTBMTBG thường khá đa dạng, Y văn đã mô tả và ghi nhận có nhiều loại hình thái tế bào u khác nhau: loại điển hình, loại tế bào sáng, loại hình thoi, loại tiết mật và loại tế bào khổng lồ... Trong NC này, chúng tôi cũng thấy thấy kết quả tương tự NC của Nguyễn Sào Trung và cs (2004), thấy loại tế bào điển hình cũng chiếm đa số với 73,7%; tế bào sáng chiếm 12,3%; tế bào thoi 4,4%; tế bào khổng lồ 6,1%; phòng bào 3,5% [123]. Cho đến nay, các NC trên thế giới vẫn chưa có ý kiến thống nhất về ý nghĩa tiên lượng sống còn của BN thuộc các típ tế bào u này. Một số NC cho thấy, UTBMTBG tế bào thoi và tế bào khổng lồ có tiên lượng xấu hơn típ thông thường trong khi típ tế bào sáng có tiên lượng tốt hơn típ thông thường. Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ sống còn, tái phát giữa các típ tế bào lại không có ý nghĩa thống kê (dẫn theo [93]).

4.3.3. Độ mô học.

Độ biệt hóa được xem là một yếu tố tiên lượng độc lập của UTBMTBG. Trong NC của chúng tôi, phân độ mô học của UTBMTBG áp

dụng theo tiêu chuẩn của TCYTTG năm 2010. Do đó, UTBMTBG được chia thành 4 độ biệt hóa: biệt hóa cao, biệt hóa vừa, kém biệt hóa và không biệt hóa thay cho phân loại theo 4 độ (từ độ I đến độ IV) của Edmonson trước đây dựa trên đặc điểm không điển hình của nhân và tế bào. Tuy nhiên tiêu chí tỷ lệ nhân/bào tương và/hoặc chỉ số tăng sinh lại không được sử dụng nhiều và rộng rãi trong thực hành chẩn đoán vì UTBMTBG thường có nhiều độ mô học khác nhau mặc dù trong một nốt tổn thương [73]. Cách phân loại của TCYTTG vừa đơn giản, vừa dễ thực hiện, đồng thời cũng giải quyết được một thực tế là trên cùng một khối u có thể gặp nhiều vùng với nhiều mức độ biệt hóa khác nhau và trong trường hợp đó, độ biệt hóa kém nhất được lấy làm độ mô học đại diện cho u.

Theo số liệu Bảng 3.10, các trường hợp khối u có độ biệt hóa vừa chiếm ưu thế với 107 trường hợp (56,61%), biệt hóa kém 55 trường hợp (29,10%), trong khi nhóm biệt hóa cao 26 trường hợp (13,76%) và không biệt hóa chỉ có duy nhất 1 trường hợp (0,53%). Kết quả NC này tương tự các kết quả của nhiều NC khác với độ biệt hóa vừa và biệt hóa kém thường chiếm tỷ lệ cao hơn các độ biệt hóa khác [73].

Tỷ lệ mức độ biệt hóa của UTBMTBG không hoàn toàn giống nhau trong nhiều NC giữa các quốc gia và vùng lãnh thổ. Tuy nhiên, độ biệt hóa vừa và biệt hóa kém vẫn luôn chiếm tỷ lệ cao nhất trong tất cả các NC. Theo các NC của Trần Văn Hợp (2000) với 549 BN, độ biệt hóa cao chiếm 15,1%; biệt hóa vừa chiếm 46,3%; biệt hóa kém là 38,6% [105]. Theo NC của Đào Thành Chương (2002) với 261 BN thì có 79,2% trường hợp được xếp độ mô học Grade II – tương đương độ biệt hóa vừa, Grade III tương đương độ biệt hóa kém chiếm 13,9%; còn Grade I chỉ chiếm 6,9% [161]. Nghiên cứu của Lương Khắc Hiến (2008) cũng cho thấy độ biệt hóa vừa chiếm tỷ lệ cao nhất 70,15%; biệt hóa kém 19,40% và biệt hóa cao 10,45% [92].

Tại các tỉnh thành phía Nam, theo NC của Lê Minh Huy (2012) cho thấy kết quả tương tự với tỷ lệ biệt hóa vừa là 67,1%; biệt hóa kém là 15,7%; biệt hóa cao chiếm 12,8% [93]. Kết quả này cũng được ghi nhận trong các NC của các tác giả khác [162],[163].

4.3.4. Tình trạng xâm nhập mạch trong UTBMTBG

Để tiến hành nghiên cứu, chúng tôi thu thập 2 loại mẫu bệnh phẩm: sinh thiết kim lõi và bệnh phẩm sau phẫu thuật. Với mẫu sinh thiết kim lõi, do kích thước mẫu mô nhỏ, không lấy được toàn diện mô u và mô gan lành nên chúng tôi chỉ đánh giá tình trạng u xâm nhập mạch và xơ hóa trên những mẫu bệnh phẩm sau phẫu thuật.

Theo số liệu của Bảng 3.11, tình trạng XNM khá phổ biến với tỷ lệ gặp 58,82% (40/68 trường hợp), không có xâm nhập mạch chiếm 41,18% (28/68 trường hợp). Xác định XNM trên vi thể là yếu tố quan trọng, cần được đánh giá hơn cả trong chẩn đoán mô bệnh học. Khi so sánh kết quả đánh giá XNM qua siêu âm gan với đánh giá trên tiêu bản mô học thấy tỷ lệ XNM trong gan ở hai phương pháp có sự chênh lệch rất lớn. Nguyễn Đình Duyên (2001) khi NC 91 BN thấy UTG chủ yếu xâm nhập tĩnh mạch cửa nhưng tỷ lệ chỉ là 5,5% [164]. Sự khác biệt này có thể là do: đánh giá sự XNM trên tiêu bản vi thể khi thấy được tế bào UT trong lòng mạch, khi mà cấu trúc mạch chưa thay đổi nhiều, trong khi đó muốn phát hiện được trên siêu âm thì u đã ở giai đoạn muộn. Điều này cho thấy ưu thế của MBH trong việc phát hiện XNM của UTBMTBG. Tuy vậy, tỷ lệ UTBMTBG có XNM trên vi thể vẫn có sự khác biệt đáng kể ở các NC khác nhau, tỷ lệ có thể thay đổi từ 28,3% đến 70,9% tùy theo cỡ mẫu, vùng dịch tễ và thời điểm tiến hành NC [165].

Xâm nhập mạch là một yếu tố tiên lượng cho nhiều loại UT khác nhau, bao gồm cả UTBMTBG [166]. Một số NC trước đây cho thấy, kích thước, số lượng u và XNM là các yếu tố tiên lượng độc lập của UTBMTBG [167]. Xâm

nhập mạch là một cách di căn theo đường mạch máu của UTBMTBG và đã được xác nhận có liên quan đến tỷ lệ tái phát và tỷ lệ sống toàn bộ. Xâm nhập mạch được chia thành xâm nhập mạch máu lớn và xâm nhập mạch máu nhỏ [168]. Xâm nhập mạch máu lớn, là khối tế bào UTBMTBG được tìm thấy trong tĩnh mạch cửa và các nhánh tĩnh mạch gan hoặc các vi mạch khác, được bao quanh bởi các tế bào nội mô. Tỷ lệ tái phát của những khối u có XNM gấp 4,4 - 15 lần so với những khối u không XNM [169]. Vì vậy, việc xác định sớm XNM là khá quan trọng, làm giảm tỷ lệ tái phát và di căn, cải thiện tỷ lệ sống và chất lượng cuộc sống của BN. Do đó, việc đánh giá XNM trước phẫu thuật là công việc luôn cần phải xác định [170].

Ngoài ra, XNM thường liên quan đến giai đoạn khối u tiến triển và tình trạng tiến triển bệnh. Bệnh nhân UTBMTBG có xâm nhập mạch lớn thường mất cơ hội tiến hành phẫu thuật cắt bỏ gan hoặc ghép gan và ngay cả khi các phương pháp điều trị này được đưa ra, chắc chắn họ sẽ không có kết quả sống lâu dài. Vì vậy, XNM có vai trò quan trọng trong việc sử dụng các mô hình dự đoán trước phẫu thuật quyết định điều trị cho BN UTBMTBG [171].

Tỷ lệ XNM cũng bị ảnh hưởng bởi sự khác biệt về tiêu chuẩn chẩn đoán cũng như bởi các quy trình lấy mẫu cẩn thận và phù hợp đã được thực hiện trên các mẫu phẫu thuật được cắt bỏ. Một số NC cho thấy XNM có thể xâm nhập vỏ khối u và xâm lấn vào các mạch máu cách xa vỏ u $\geq 1\text{cm}$ và XNM không được phân bố đều trong các mạch máu xung quanh nhu mô gan lân cận [172].

4.3.5. Tình trạng xơ hóa gan ở mô quanh UTBMTBG

Theo NC của Nzeako và cs trên 804 bệnh nhân UTG tại các nước Bắc Mỹ thấy, tỷ lệ xơ gan là 57,5% và không xơ gan 42,5%. Típ bề của UTBMTBG thường gặp nhất ở cả gan có hoặc không có xơ gan kèm theo. Bệnh nhân UTBMTBG có xơ gan thường có tuổi, độ mô học và tỷ lệ xâm nhập tĩnh

mạch cửa cao hơn một cách có ý nghĩa so với UTBMTBG không kèm xơ gan. Mô u có vỏ bọc thường gặp ở BN không kèm xơ gan ($p < 0,0001$). Kết quả NC của nhiều tác giả về tỷ lệ xơ gan được phát hiện trên UTBMTBG ở các chủng tộc và vị trí địa lý khác nhau trên thế giới, giao động trong khoảng 46 – 91% (dẫn theo Nzeako) [173]. Bên cạnh đó, xơ gan, tuổi cao, vi rút viêm gan B, C và giới tính nam đều đã được xác định là yếu tố nguy cơ đối với UTBMTBG. Tỷ lệ mắc mới UTBMTBG ở những BN xơ gan khoảng 5-10%. Ở Bắc Mỹ, UTBMTBG đi kèm xơ gan thường có xu hướng ít biệt hóa hơn so với UTGBMTBG không bị xơ gan.

Kết quả NC của chúng tôi theo Bảng 3.12, tỷ lệ xơ hóa gan ở UTBMTBG chiếm 43/68 (63, 24%), nhiều hơn tỷ lệ không xơ hóa gan 25/68 (36,76%). Kết quả của NC này không có sự khác biệt so với nhiều NC tại các nước có vùng dịch tễ viêm gan vi rút tương tự tỷ lệ xơ gan là 50% [174] hoặc 76% [175]. Theo Y văn ghi nhận, có nhiều yếu tố làm tăng tỷ lệ xơ gan như: giới tính, uống rượu, tuổi lúc nhiễm trùng, đồng nhiễm cùng lúc nhiều loại vi rút gây viêm gan, đồng nhiễm HIV, nồng độ siêu vi và genotype...[176].

Những kết quả này dường như phản ánh xu hướng tỷ lệ thấp hơn so với các tài liệu đã được công bố gần đây. Thật vậy, khối u xảy ra ở gan không xơ có liên quan đến việc sử dụng steroid ngoại sinh cũng như các yếu tố di truyền. Tuy nhiên, trong một số trường hợp không xác định được tác nhân gây bệnh, điều gợi ý vẫn còn có những tác nhân sinh UT khác có thể dẫn đến hình thành UTBMTBG mà không gây xơ gan. Aflatoxin, nitrosamine và các chất hóa học gây UT khác liên quan đến UTBMTBG không gây xơ gan. Có thể một số chất sinh UT khác chưa được phát hiện cũng đóng vai trò trong sinh bệnh học UTBMTBG (dẫn theo Nzeako, [173]).

4.4. Đối chiếu một số đặc điểm mô học với độ mô học.

4.4.1. Đối chiếu kích thước u với độ mô học.

Số liệu Bảng 3.13 cho thấy, cả 3 nhóm biệt hóa cao, biệt hóa vừa và biệt hóa kém/ không có tỷ lệ tập trung đều ở nhóm kích thước u lớn ($\geq 2\text{cm}$).

Ở nhóm u có kích thước $\geq 2\text{cm}$, biệt hóa cao có 22/176 (12,5%) trường hợp, nhóm u có kích thước $< 2\text{cm}$, biệt hóa cao có 4/14 (28,57%) trường hợp cho thấy không có mối liên quan giữa độ biệt hóa cao với kích thước u khi $p = 0,105$.

Tương tự với ở các trường hợp u biệt hóa vừa, có 100/176 (56,81%) trường hợp có u $\geq 2\text{cm}$, trong khi 8/14 (57,14%) trường hợp có kích thước u $< 2\text{cm}$. Mối liên quan giữa nhóm có độ biệt hóa vừa với kích thước u không có ý nghĩa thống kê khi $p = 1$.

Đối với nhóm u có độ biệt hóa kém/ không cũng giống như hai nhóm trên khi có 54/176 (30,68%) trường hợp u $\geq 2\text{cm}$, so với chỉ 2/14 trường hợp u $< 2\text{cm}$ chiếm 14,29%, cũng cho thấy mối liên quan không có ý nghĩa thống kê khi $p = 0,24$.

Mối liên quan giữa kích thước u và độ biệt hóa của u trong NC của chúng tôi ở cả 3 nhóm biệt hóa cao, biệt hóa vừa và biệt hóa thấp/không đều không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này có sự khác biệt với một số NC của các tác giả khác.

Theo NC của Wu G và cs về mối liên quan giữa kích thước u với mức độ biệt hóa tế bào u trong UTBMTBG đã nhận thấy, những u có kích thước lớn thường có mức độ biệt hóa kém hơn so với các khối u kích thước nhỏ. Tỷ lệ các khối u không biệt hóa ở nhóm u kích thước lớn cao hơn đáng kể so với nhóm u kích thước nhỏ (13% ở nhóm 0,1–2cm so với 18% ở nhóm 2,1–5cm, 26% ở nhóm 5,1–10cm, 32% ở nhóm 10,1–20cm, với $p < 0,001$). Hơn nữa, kết quả NC đã phát hiện 60,79% u kém biệt hóa và không biệt hóa thường có

kích thước lớn ($> 5\text{cm}$), trong khi 45,08% u biệt hóa cao hoặc vừa có kích thước $< 5\text{cm}$, với $p < 0,001$). Kích thước khối u là một yếu tố dự báo độc lập về mức độ biệt hóa của UTBMTBG [133].

Sự khác nhau trong NC của chúng tôi và các NC của các tác giả trên có lẽ do khác nhau trong cách phân chia mức độ về khối lượng khi đưa ra so sánh và đối chiếu mối liên quan giữa độ mô học và kích thước u.

4.4.2. Đối chiếu nồng độ AFP huyết thanh và với độ mô học

Theo số liệu tại Bảng 3.14, thể hiện mối liên quan giữa độ mô học và nồng độ AFP huyết thanh. Khi đối chiếu hai nhóm có nồng độ AFP dương tính $\geq 20\text{ng/mL}$ và nhóm $< 20\text{ng/mL}$ thấy, nhóm có độ mô học biệt hóa cao, số có 4/68 trường hợp (5,88%) so với 22/122 (18,03%), nhóm biệt hóa vừa 37/68 (54,41%) so với 71/122 (58,19%); trong khi ở nhóm biệt hóa kém/không có 27/68 trường hợp (39,7%) so với 29/122 (23,77%) với p tương ứng là 0,026; 0,648 và 0,03. Trong ba nhóm trên, thấy hai nhóm, u có độ biệt hóa cao và u có độ biệt hóa kém/ không có mối liên quan nghịch, khi độ biệt hóa càng cao thì nồng độ AFP càng thấp và biệt hóa càng kém thì nồng độ AFP càng cao, mối liên quan này có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Kết quả này tương tự kết quả NC của Dou – Sheng Bai và cs (2017) trên 78.743 trường hợp UTBMTBG. Cụ thể, ở nhóm AFP âm tính, các u có độ biệt hóa kém chiếm tỷ lệ cao hơn so với nhóm AFP dương tính (22,8% so với 10,5%, với $p < 0,001$). Hơn nữa, trong nhóm kém biệt hóa, 83% u có AFP dương tính, trong khi ở nhóm biệt hóa cao, 66% u có AFP dương tính ($p < 0,001$). Nhiều tác giả khác cũng nhận định nồng độ AFP là một yếu tố nguy cơ độc lập với độ mô học, giai đoạn bệnh theo TNM và thời gian sống thêm của BN. Ở nhóm AFP dương tính, thường khối u kém biệt hóa hơn, giai đoạn bệnh muộn hơn, kích thước lớn hơn và khả năng sống thêm cũng kém hơn so với BN thuộc nhóm AFP âm tính [177].

Tuy nhiên, NC của Lalisang và cs trên 32 BN UTBMTBG, trong nhóm AFP dương tính ($\text{AFP} > 20 \text{ ng/mL}$), không có trường hợp nào biệt hóa cao nhưng có 57,9% biệt hóa kém. Ở nhóm AFP âm tính ($\text{AFP} < 20 \text{ ng/mL}$), cũng có tới 42,1% trường hợp biệt hóa kém. Nghiên cứu này cho thấy, khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,203$ hay nồng độ AFP huyết thanh trước mổ không liên quan đến sự biệt hóa của UTBMTBG. Từ những NC như này, các tác giả đặt ra câu hỏi: liệu có còn yếu tố nào khác ảnh hưởng đến mức độ biệt hóa của tế bào gan UT không? hoặc liệu có phải do các tế bào u bị phá hủy nên đã ảnh hưởng đến việc sản xuất AFP? [178]. Các tác giả chuyên nghiên cứu về AFP và mối liên quan của AFP trên tất cả các phương diện của UTBMTBG cho thấy nồng độ AFP huyết thanh ở bệnh gan mạn tính (viêm gan mạn và xơ gan) và một số bệnh lý khác có thể tăng ở những mức độ khác nhau nhưng thường thấp hơn so với trường hợp UTBMTBG [144], [145].

4.4.3. Đối chiếu giữa típmô bệnh học với độ mô học

Kết quả của NC về mối liên quan giữa típmô bệnh học và độ biệt hóa của u tại Bảng 3.15 thấy, mẫu cấu trúc mô học dạng bè, dạng giả tuyến, thường chiếm ưu thế trong các trường hợp UTBMTBG biệt hóa rõ, biệt hóa vừa. Ngược lại, các mẫu cấu trúc mô học khác như dạng đặc, dạng xơ hóa, dạng hỗn hợp thường thấy ở các trường hợp UTBMTBG biệt hóa kém.

Cấu trúc mô học thường gặp là dạng giả tuyến nang và lòng của các cấu trúc này thường chứa dịch mật hay dịch protein. Nhóm UTBMTBG có độ biệt hóa kém/không thường có cấu trúc mô học dạng đặc, không thấy rõ các cấu trúc dạng xoang mạch, chỉ thấy các cấu trúc dạng khe mạch nhỏ trong các ổ tế bào u lớn. Các tế bào u thường có tỷ lệ nhân/bào tương tăng và đặc điểm đa hình thái mức độ vừa hoặc nhiều. Rất hiếm thấy độ biệt hóa này ở các u có kích thước nhỏ và ở giai đoạn sớm.

Đối với típ bè: Có 175/190 (92,1%) các trường hợp típ bè thường tập trung nhiều ở nhóm biệt hóa vừa với 102/175 (58,29%), cho thấy típ bè thường có độ biệt hóa vừa có ý nghĩa thống kê với $p = 0,022$. Trong khi ở nhóm kém/không biệt hóa chiếm tỷ lệ 47/175 (26,86%), có ý nghĩa thống kê với $p = 0,002$. Toàn bộ 100% các trường hợp u biệt hóa cao đều có đặc điểm típ bè (26/26), chiếm 14,86% tổng số típ bè, tuy nhiên không có mối liên quan giữa típ bè với độ mô học với $p = 0,59$.

Đối với đặc điểm típ tuyến nang: Có 50/190 (26,32%) trường hợp có đặc điểm típ tuyến nang. Các trường hợp có đặc điểm típ này cũng tập trung nhiều ở nhóm biệt hóa vừa với 29/175 (58%), tương ứng với tỷ lệ cao của nhóm biệt hóa vừa. Nhóm kém/không biệt hóa và nhóm biệt hóa cao chiếm tỷ lệ lần lượt là 16/50 (32%) và 5/50 (10%). Cả 3 nhóm biệt hóa đều không có ý nghĩa thống kê khi tìm mối liên quan với đặc điểm típ tuyến nang với $p > 0,05$.

Nhóm các trường hợp típ đặc chiếm tỷ lệ ít nhất, chiếm 35/190 (18,42%). Khác với 2 đặc điểm típ mô bệnh học ở trên, nhóm này tập trung phần lớn ở UTBMTBG kém/không biệt hóa, chiếm tỷ lệ 25/35 (71, 43%). Tiếp đó là 9/35 (25,71%) các trường hợp có đặc điểm típ đặc thuộc nhóm độ biệt hóa vừa. Thống kê ở 2 nhóm độ biệt hóa này đều có ý nghĩa thống kê với p lần lượt là 0,0001 và 0,001. Chỉ có 1 trường hợp duy nhất có đặc điểm típ đặc thuộc nhóm biệt hóa cao, chiếm 2,86% và không có ý nghĩa thống kê.

4.4.4. Đối chiếu tình trạng xâm nhập mạch với độ mô học

Bảng 3.16 thể hiện mối liên quan giữa trình trạng XNM và độ mô học trong UTBMTB. Tỷ lệ xâm nhập mạch là khá cao với 40/68 (58,82%) các trường hợp có xâm nhập mạch, rơi hoàn toàn vào 2 nhóm biệt hóa vừa và kém/ không biệt hóa.

Nhóm u có độ biệt hóa cao, tỷ lệ có xâm nhập mạch là 0%, trong khi tỷ lệ không có xâm nhập mạch là 100%, $p = 0,166$, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Nhóm u có độ biệt hóa kém/không, ghi nhận 16 (64%) trường hợp xâm nhập mạch so với nhóm không có xâm nhập mạch là 9 (36%) trường hợp với $p = 0,455$ và nhóm u có độ biệt hóa vừa có xâm nhập mạch 24 (58,54%) so với nhóm không có xâm nhập mạch là 17 (41,46%) trường hợp với $p = 1$ đều cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả NC của chúng tôi có sự khác biệt so với các giả khác bởi các biến trong NC này là các u có kích thước với biên độ từ $< 2\text{cm}$, và $\geq 2\text{cm}$. Trong khi, các tác giả lựa chọn đánh giá mối liên quan giữa tình trạng xâm nhập mạch và độ biệt hóa trên các trường hợp u có kích thước $> 4\text{cm}$. Kết quả NC của chúng tôi tương tự kết quả của Chandarana, kích thước khối u không có tác dụng dự đoán đối với tình trạng xâm nhập mạch khi đường kính trung bình của khối u là $2,1\text{cm}$ [179].

Trong khi đó, một số khác tác giả lại mô tả có sự liên quan giữa tình trạng XNM và độ biệt hóa. Tình trạng XNM và độ biệt hóa có mối liên quan mật thiết với nhau: “Khi độ biệt hóa càng kém thì XNM càng nhiều và ngược lại”, mối liên quan này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04$. Y văn cũng đã ghi nhận có sự liên quan giữa tình trạng XNM vi thể và độ biệt hóa. Esnaola và cs (2002) cũng nhận thấy các trường hợp UTBMTBG có kích thước u lớn hơn 4cm và độ biệt hóa là 2 yếu tố dự đoán khá chắc chắn tình trạng XNM vi thể trên các BN UTBMTBG điều trị bằng ghép gan theo tiêu chuẩn Milan [180].

4.5. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán các tổn thương gan.

Việc chẩn đoán UTBMTBG đôi khi không phức tạp, chỉ cần kỹ thuật nhuộm HE thường quy. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, cần phải nhận định chính xác và đánh giá cẩn thận các đặc điểm mô học, lưới sợi reticulin và hiện tượng tân tạo mạch, thậm chí cả HMMD. Khi đối mặt với mảnh sinh thiết nhỏ bằng kim được lấy từ nốt tổn thương của gan, hai tình huống sau cần được đánh giá một cách cẩn thận:

Với tổn thương lành tính, hai loại tổn thương gan lành tính rất dễ nhầm với UTBMTBG là “UTTBG trong trường hợp gan không xơ” và “Nốt loạn sản trong trường hợp gan xơ” [160].

Với tổn thương ác tính, vấn đề thường gặp nhất là phân biệt UTBMTBG kém biệt hóa với các khối u ác tính khác, trong đó có các UT di căn gan và UTBM đường mật kém biệt hóa. Một trong các bằng chứng về biệt hóa tế bào gan là chất mật cũng như các tiểu quản mật, tùy theo mức độ biệt hóa của tế bào gan UT mà các bằng chứng này được phát hiện đơn giản bằng kỹ thuật nhuộm HE thường quy hoặc các phương pháp nhuộm hóa mô, đặc biệt là HMMD (nếu là UTBMTBG sớm hoặc là tít kém biệt hóa). Đặc điểm khác về sự biệt hóa tế bào gan là khi mô u có cấu trúc dạng bè hoặc nhuộm dương tính với Arg-1 hoặc với HepPar-1 (dạng mẫu hạt trong bào tương). Tuy nhiên, cần thận trọng trong các trường hợp UTBM tuyến thuộc ống tiêu hóa có cấu trúc dạng gan (hepatoid) di căn tới gan mặc dù là rất hiếm gặp [181]. Một khối u giàu mô đệm thường là UTBM tuyến, ngoại trừ tít xơ lát và tít xơ của UTBMTBG [182],[183]. Một số khối u ác tính khác di căn gan cũng có thể bị nhầm lẫn với UTBMTBG, nhất là khi tế bào u có kích thước lớn, bào tương rộng, như u hắc tố ác tính (đặc biệt là tít không có hắc tố), u carcinoid, một số u thần kinh nội tiết kém biệt hóa và UTBM tế bào thận. Vì vậy, tất cả những trường hợp đó chúng ta đều cần phải có các phương tiện khác nhằm hỗ trợ cho chẩn đoán bằng H.E.

4.5.1. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán UTTBG

Những trường hợp UTTBG điển hình được phẫu thuật, chỉ cần nhận định trên tiêu bản nhuộm HE, tuy nhiên, với mảnh sinh thiết gan bằng kim có kích thước rất nhỏ thì không phải khi nào cũng dễ dàng chẩn đoán. Theo kết quả nhuộm HMMD Bảng 3.17, cả 04 trường hợp H-HCA đều âm tính với dấu

ấn L-FABP (ngay cả khi L-FABP phản ứng mờ nhạt trong tế bào u cũng bị coi là âm tính do cường độ bắt màu yếu tương tự vùng gan không tổn thương), dấu ấn SAA, GS (phản ứng được coi là dương tính với dấu ấn GS khi có hiện tượng tăng về cường độ bộc lộ và sự lan tỏa trong bào tương tế bào u) và β -catenin (với dấu ấn β -catenin, nhân và bào tương tế bào u bắt màu rõ sẽ được xem là phản ứng dương tính). Dựa trên sự bộc lộ của HMMD thấy, cả 04 trường hợp phù hợp khi được chẩn đoán là típ H-HCA. Tuy nhiên, 01 trường hợp có một đặc điểm mô học không phù hợp với H-HCA là xâm nhập nhiều tế bào viêm trong mô u. Theo ý kiến của các tác giả nước ngoài, khi chẩn đoán xác định típ của UTTBG, ta nên kết hợp cả các đặc điểm mô học và sự bộc lộ dấu ấn HMMD (âm tính với cả 02 dấu ấn SAA và L-FABP) để có được phân loại thỏa đáng. Do đó, chúng tôi xếp trường hợp đó vào nhóm H-HCA. Tình trạng chông chéo về kiểu hình hoặc kiểu gen cũng gặp khá nhiều ở các NC trên thế giới[120].

Theo Y văn, khoảng 35–40 % UTTBG có đột biến bất hoạt gen HNF1 α (H-HCA). Đặc điểm mô học điển hình của típ này là dấu hiệu nhiễm mỡ, không có xâm nhập viêm trong mô u và không có tế bào không điển hình, có thể chẩn đoán xác định khi kết quả nhuộm âm tính với kháng thể kháng protein liên kết axit béo gan (L-FABP). Do típ H-HCA liên quan với đột biến bất hoạt của gen HNF1 α (HNF1 α thuộc gen ức chế u ở người liên quan đến u gan) nên có thể gián tiếp phát hiện gen HNF1 α trong tế bào gan u thông qua sản phẩm protein của gen bằng phản ứng HMMD. Bình thường trong mô gan, gen HNF1 α được bộc lộ gián tiếp khi phản ứng với kháng thể kháng L-FABP. Ngược lại, trong biến thể H-HCA, phản ứng âm tính với L-FABP (nghĩa là gen HNF1 α bị đột biến bất hoạt). Như vậy, các đặc điểm mô học như nhiễm mỡ trong tế bào u, không có tế bào không điển hình, không xâm nhập viêm trong típ H-HCA có liên quan với hiện tượng đột biến bất hoạt gen

HNF1 α . Tuy nhiên, một vài trường hợp cho thấy, mặc dù dấu ấn L-FABP âm tính nhưng tế bào u không có dấu hiệu nhiễm mỡ [184],[185],[186]. Theo Zucman-Rossi và cs, gần 7% UTTBG đột biến bất hoạt HNF1 α không có hoặc có ít (< 10%) tế bào u bị nhiễm mỡ và < 2% trường hợp không điển hình về tế bào học [69].

Tất cả các trường hợp UTTBG típ B-HCA (04 trường hợp) khi nhuộm đều dương tính với dấu ấn L-FABP, đặc biệt các tế bào u dương tính mạnh, lan tỏa với dấu ấn GS nhưng âm tính với β -catenin, dương tính không đều, yếu với SAA. Trong đó, một trường hợp âm tính khi nhuộm với dấu ấn GS nhưng lại dương tính với nhân khi nhuộm β -catenin và âm tính với SAA. Theo y văn, típ có đột biến kích hoạt β -catenin, ít gặp nhất, chiếm khoảng 10-15% trong số các loại UTTBG, chủ yếu gặp ở nam giới, có đặc điểm tế bào u không điển hình cùng với mẫu dạng tuyến nang nhưng không có dấu hiệu nhiễm mỡ, nhuộm HMMD dương tính mạnh ở nhân với β -catenin và dương tính ở bào tương khi nhuộm GS (típ này, tế bào u thường có tình trạng chuyển dạng bất thường với tần suất cao). Khi nhuộm HMMD, khối u dương tính với dấu ấn GS được cho là gián tiếp phản ánh đột biến gen β -catenin, điều này được nhóm NC tại Bordeaux đã chứng minh và báo cáo khi nhuộm dấu ấn GS bộc lộ dương tính, có tỷ lệ tương thích cao với đặc điểm bất thường của tế bào u trên mô học, hơn hẳn so với dấu ấn β -catenin [69]. Trong NC tương tự ở Nhật Bản cũng cho thấy, một trường hợp típ B-HCA âm tính với dấu ấn β -catenin trong khi lại dương tính với dấu ấn GS [187]. Nhiều NC cũng cho thấy, UTBMTBG có xu hướng liên quan tới típ B-HCA, đặc biệt ở những BN là nam giới, những người đã được sử dụng hormon nam, hoặc có bệnh rối loạn dự trữ glycogen (glycogenosis) hoặc bệnh polyp gia đình [186].

Trong NC của chúng tôi, kết quả nhuộm HMMD thấy một số dấu ấn dương tính chồng chéo, ít nhiều gây khó khăn cho chẩn đoán. Có trường hợp

dương tính với tất cả các dấu ấn miễn dịch, có trường hợp dấu ấn GS dương tính mạnh, lan tỏa trong bào tương tế bào, kết hợp với sự bộc lộ rất mạnh của dấu ấn SAA. Cũng có trường hợp, dấu ấn SAA bộc lộ dương tính mạnh kết hợp dương tính màng tế bào khi nhuộm dấu ấn β -catenin. Trước đây, UTTBG viêm (I-HCA) được biết đến như tổn thương “Quá sản nốt khu trú giãn mao mạch” nhưng gần đây với tiêu chuẩn mới, hơn 50% các trường hợp UTTBG được xếp vào típ I-HCA với đặc điểm nổi bật là tình trạng thâm nhiễm các tế bào viêm trong mô u, cùng với các xoang mạch giãn rộng hoặc sung huyết, vách mạch dày. Típ I-HCA thường gặp ở người uống nhiều rượu và có chỉ số khối cơ thể (BMI) cao. Hai dấu ấn HMMD liên quan đến viêm là SAA và protein phản ứng C được sử dụng để phát hiện típ này. Val Aalten và cs đã khuyến cáo, việc phân loại các típ UTTBG gan thường không phức tạp và phần lớn (> 90%) các trường hợp chỉ cần áp dụng đặc điểm mô học và HMMD là đủ [188]. Tuy nhiên, các tác giả nhận thấy một số trường hợp có biểu hiện hình thái mô học bất thường như nhiễm mỡ lan tỏa, thâm nhiễm viêm, và xoang máu. Các đặc điểm mô học này thường xuất hiện trong típ I-HCA và cần được phân biệt với típ I-HCA kết hợp típ B-HCA. Nhóm NC của Bordeaux đã cho thấy, típ B-HCA và típ I-HCA thường có một số đặc điểm mô học trùng nhau như thâm nhiễm viêm trong mô u, gan nhiễm mỡ loang lổ, dương tính lan tỏa với GS, và có β -catenin đột biến [69].

Toàn bộ 04 trường hợp UTTBG không phân loại (U-HCA) đều phản ứng dương tính với dấu ấn L-FABP, kèm theo hoàn toàn âm tính với các dấu ấn còn lại. Đây là loại UTTBG ít phổ biến nhất, chiếm 5-10% các loại UTTBG và nó không thể hiện những đột biến trong gen HNF1 α , β -catenin hoặc biểu hiện các protein viêm khác [68].

Dựa trên các kết quả nghiên cứu và tham khảo các nghiên cứu khác, chúng tôi đưa ra một bảng panel đánh giá các dấu ấn HMMD để chẩn đoán phân loại các biến thể UTTBG.

Bảng 4.2: Đặc điểm bộc lộ của các dấu ấn HMMD trong UTTBG

Biến thể UTTBG	Dấu ấn HMMD và đặc điểm bộc lộ			
	Beta- catenin	GS	SAA	LFABP
H-HCA	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
B-HCA	- Dương tính - Âm tính nhưng GS dương tính lan tỏa	Dương tính lan tỏa	Âm tính	Dương tính mạnh, lan tỏa
I-HCA	Âm tính hoặc dương tính nhân khi kết hợp đột biến β -catenin	Âm tính hoặc dương tính bào tương khi kết hợp đột biến β -catenin	Dương tính mạnh, lan tỏa	Dương tính mạnh, lan tỏa
U-HCA	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Dương tính mạnh, lan tỏa

Do sự kích hoạt β -catenin là một đặc điểm gây nguy cơ cao, một số tác giả đã đề xuất không nên xếp các khối u gan có kích hoạt β -catenin (nhuộm β -catenin dương tính nhân tế bào hoặc dương tính lan tỏa) vào nhóm UTTBG, mà nên đưa vào nhóm “tân sản tế bào gan không điển hình” hoặc “tân sản tế bào gan có tiềm năng ác tính không xác định” để nhấn mạnh rằng các khối u này có đặc điểm trung gian giữa UTTBG và UTBMTBG. Chỉ định này cũng có thể được sử dụng cho các khối u có các đặc điểm mô học trung gian nhưng không bộc lộ kích hoạt β -catenin. Nếu có đủ bất thường về cấu trúc tế bào và/hoặc mất sợi reticulin thì nên xếp chúng vào UTBMTBG [189],[190].

Trong UTTBG, dấu ấn GS thường âm tính hoặc chỉ dương tính một số tế bào gan nằm rải rác quanh tĩnh mạch trung tâm hoặc ngoại vi tiểu thùy. Cần lưu ý, các trường hợp típ B-HCA lại bộc lộ mạnh với GS (khác với mẫu dạng bản đồ trong QSNKT). Trong UTTBG, CK7 thường dương tính nhẹ ở

một số nhóm nhỏ tế bào gan hoặc rải rác, các tế bào gan có kích thước trung bình và nhỏ thường bộc lộ CK7 mạnh hơn, trong khi các tế bào gan thành thực có kích thước lớn lại phản ứng yếu hơn. Mặc dù trên mảnh cắt nhuộm HE không có ống mật trong UTTBG nhưng đôi khi lại phát hiện ống mật nhỏ bằng dấu ấn CK7. Ngược lại, CK7 dương tính mạnh ở các ống mật trong QSNKT, trong khi tế bào gan âm tính hoặc dương tính yếu và khu trú. Với tổn thương xâm nhập sớm, tại vùng mô đệm bị xâm nhập, phản ứng ống âm tính khu trú với CK7 [191].

❖ ***Thuật toán chẩn đoán các típ UTTBG***

Sau khi đã chẩn đoán xác định, ta cần xác định rõ típ của UTTBG.

Nhóm I: GS âm tính và/hoặc dương tính giới hạn quanh tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy hoặc vùng nối giữa u và vùng không u → xếp vào nhóm UTTBG không có kích hoạt β -catenin, có thể là típ viêm hoặc không viêm (I-HCA hoặc H-HCA hoặc U-HCA).

- Trường hợp u có đặc điểm mô học nhiễm mỡ lan tỏa, nhuộm dấu ấn LFABP âm tính ở vùng u, dương tính vùng mô gan lành quanh u → xếp vào típ H-HCA.

- Trường hợp u đặc điểm mô học giãn xoang mạch, xâm nhập viêm thành ổ, thành động mạch dày, nhuộm SAA/CRP dương tính lan tỏa, ranh giới rõ với vùng lành của u → xếp vào típ I-HCA.

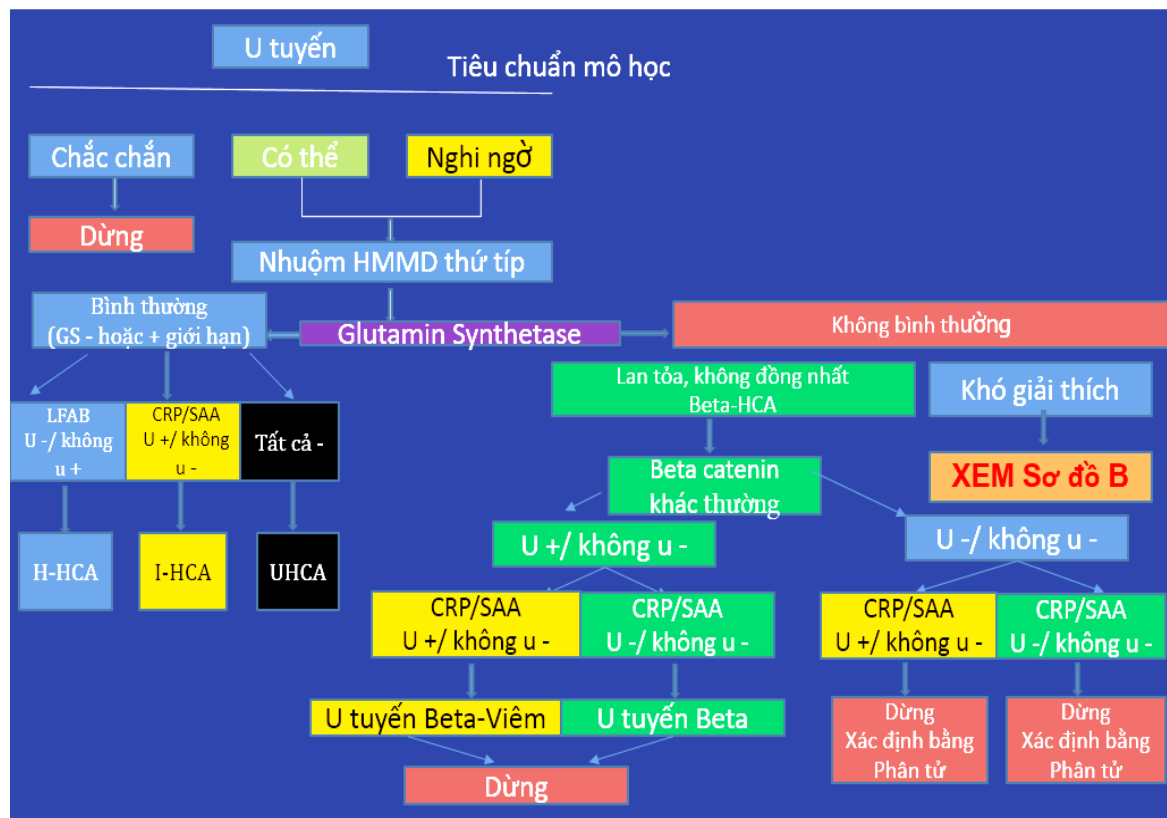
- Nếu các đặc điểm mô học không đặc hiệu và các dấu ấn LFABP và SAA/CRP không đặc hiệu hoặc không điển hình (mô u dương tính với LFABP và âm tính với SAA/CRP) → xếp vào típ U-HCA

Nhóm II: GS dương tính không đồng nhất hoặc lan tỏa, cường độ mạnh hoặc vừa → xếp vào típ B-HCA. Khi nhuộm β -catenin thấy bộc lộ ở bào tương hoặc nhân sẽ là chẩn đoán xác định. Hoặc chỉ có dương tính ở nhân cũng có khả năng chẩn đoán xác định.

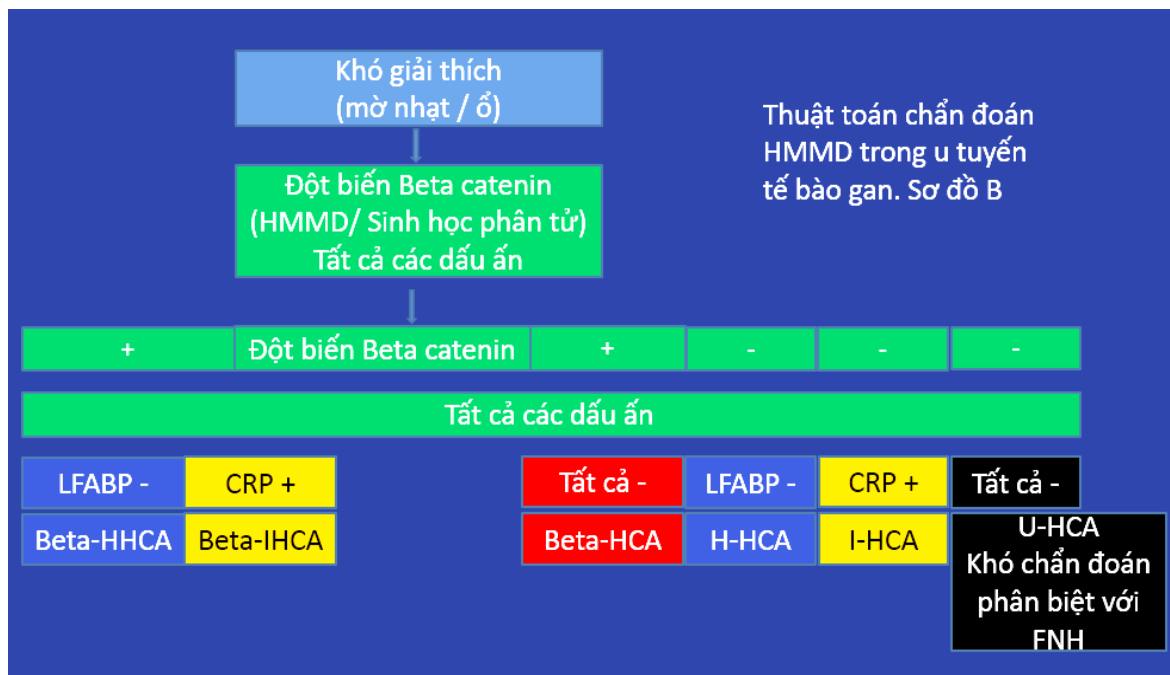
Trong nhóm này, bắt buộc phải nhuộm SAA/CRP để xác định là tít B-HCA hay tít I-HCA kèm kích hoạt β -catenin. Tuy nhiên β -catenin có âm tính trên các mảnh sinh thiết kim cũng không loại trừ là B-HCA (dù viêm hay không) bởi âm tính giả (β -catenin dương tính ở những mảnh bệnh phẩm mô).

Nhóm III: GS bộc lộ khó giải thích vì dương tính ồ hoặc yếu. Trong các trường hợp này phải nhuộm cả 3 dấu ấn LFABP, SAA, β -catenin. Nếu cả 3 dấu ấn này đều âm tính thì không phân biệt được QSNKT và U-HCA.

Khi sự bộc lộ của HMMD diễn hình, ta có thể chẩn đoán và định các tít của UTTBG. Các trường hợp chẩn đoán còn nghi ngờ giữa QSNKT và U-HCA, nên xem xét kỹ lại các tiêu chuẩn trên mô học để chẩn đoán phân biệt.



Hình 4.1. Thuật toán chẩn đoán UTTBG (Sơ đồ A) [192].



Hình 4.2. Thuật toán chẩn đoán UTTBG (Sơ đồ B) [192].

Nguyên tắc sau khi chẩn đoán xác định là UTTBG, bước tiếp theo sẽ chẩn đoán nguy cơ biến chứng **chảy máu** (10-20%) và **chuyển dạng ác tính** thành UTBMTBG (5%). Về kinh điển, UTTBG có chỉ định cắt bỏ khi có nguy cơ chảy máu và biến đổi ác tính. Tuy nhiên, những hiểu biết rõ ràng hơn về bản chất UTTBG cho thấy chảy máu và chuyển dạng ác tính chỉ có nguy cơ cao ở những u có kích thước lớn hơn 5cm. Tỷ lệ biến đổi ác tính có thể cao gấp 10 lần ở nam giới, đặc biệt là những trường hợp có liên quan đến sử dụng steroid. Việc quản lý các khối u gan phải dựa các đặc điểm về kích thước u và giới tính của BN. Những BN nữ khi khối u có kích thước lớn hơn 5cm và tất cả các BN nam với kích thước u bất kì nên có chỉ định phẫu thuật. Phân tích UTTBG gần đây đã cách mạng hóa lĩnh vực chẩn đoán và tiếp tục tinh chỉnh chỉ định cắt bỏ, cá thể hóa trong vấn đề quản lý BN nên việc sử dụng phương pháp sinh thiết để chẩn đoán xác định trước phẫu thuật là điều nên làm. Vì vậy, các nhà phẫu thuật gan cần nắm được ý nghĩa của các tít, hiểu được diễn tiến tự nhiên của UTTBG và các vấn đề tiên lượng bệnh, béo phì là yếu tố

nguy cơ của I-HCA và H-HCA (H-HCA có tiềm năng biến đổi ác tính thấp hoặc không), B-HCA có khả năng biến đổi ác tính cao, dưới 10% các trường hợp UTTBG không điển hình trên CDHA hoặc trên nhuộm HMMD, một số nhóm nhỏ H-HCA có nguy cơ chảy máu cao [10],[159]. Bên cạnh đó, chẩn đoán phân tích còn giúp các phẫu thuật viên đưa ra kế hoạch phẫu thuật và xác định cắt bỏ phù hợp. Với B-HCA có đột biến Exon 3 của CTNNB1 phải cắt bỏ như điều trị khối UT (đánh giá diện cắt rìa gan còn hay hết u). Bởi phân biệt B-HCA và UTBMTBG biệt hóa cao trên sinh thiết, thậm chí bệnh phẩm phẫu thuật là rất khó khăn. Đối với những trường hợp UTTBG không có đột biến hoặc u có kích thước khoảng 4-5cm, các bác sĩ có thể theo dõi BN bằng cách cho ngừng sử dụng thuốc tránh thai (BN đang sử dụng thuốc tránh thai) và theo dõi định kỳ, đánh giá sự giảm kích thước bằng CDHA, hạn chế phẫu thuật cắt bỏ gan không cần thiết và rủi ro liên quan quan phẫu thuật [159].

4.5.2. Vai trò của HMMD trong chẩn đoán các NLS và UTBMTBG

4.5.2.1. Sự bộc lộ của từng dấu ấn miễn dịch đơn độc trong chẩn đoán UTBMTBG và NLS.

❖ Dấu ấn HepPar-1 và Arg-1:

Theo số liệu thống kê tại Bảng 3.18, 3.19, dấu ấn HepPar-1 dương tính 95% ở các NLS (100% NLS độ thấp, 93,1% NLS độ cao), trong khi dương tính 88,42% các trường hợp UTBMTBG (UTBMTBG nhỏ (< 2cm) cao hơn nhóm UTBMTBG không nhỏ (≥ 2 cm) tương ứng 92,86% và 88,07%).

Tương tự, dấu ấn Arg-1, dương tính với NLS cũng là 95% (90,9% NLS độ thấp, 96,55% NLS độ cao), trong khi dương tính 94,21% UTBMTBG (UTBMTBG nhỏ (< 2cm), UTBMTBG không nhỏ (≥ 2 cm) tương ứng 100% và 93,75%).

Vai trò của hai dấu ấn HepPar-1 và Arg-1 cho thấy thực sự có giá trị trong chẩn đoán nguồn gốc dòng tế bào gan nhưng lại không có nhiều giá trị

trong chẩn đoán phân biệt các tổn thương NLS với UTBMTBG. Số liệu NC của được báo cáo trong Y văn và trong rất nhiều nghiên cứu khác cho rằng, Arg-1 là dấu ấn có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất (>90%) về xác định nguồn gốc biệt hóa tế bào gan. Arg-1 là dấu ấn quan trọng dùng để chẩn đoán phân biệt UT nguồn gốc gan với các loại UT có nguồn gốc khác khi thấy dấu ấn này bộc lộ dương tính lan tỏa ở nhân và bào tương tế bào. So với HepPar-1, Arg-1 có độ nhạy và đặc hiệu cao hơn (85% và 85%) so với (64% và 26%) khi chẩn đoán UTBMTBG kém biệt hóa và UTBMTBG xơ hóa. Arg-1 âm tính với hầu hết các loại UT khác, hiếm khi có dương tính ổ và cường độ yếu với các UTBM tuyến nguồn gốc nguyên phát từ đại tràng, vú, tụy, tiền liệt tuyến. Tuy nhiên, sự bộc lộ của Arg-1 có thể dương tính với một số tế bào khác khi thấy enzyme này biểu hiện trong các tủy bào/hậu tủy bào và còn thấy khu trú trong các hạt gelatinase của bạch cầu trung tính ở người (dẫn theo Choi) [193]. HepPar-1 là dấu ấn có cả độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong chẩn đoán UTBMTBG (>80%). Dấu ấn này được cho là dương tính khi thấy bộc lộ lan tỏa ở các hạt trong bào tương tế bào. Hầu hết, các UTBM tuyến và các loại ung thư khác có đặc điểm tương tự như UTBM thần kinh nội tiết, UTBM tế bào thận, UTBM tuyến thượng thận, u hắc tố ác tính và u cơ mỡ mạch dạng biểu mô không dương tính với HepPar-1, tuy nhiên, chúng có thể dương tính từng ổ. HepPar-1 có thể thấy dương tính mạnh với UTBM đường mật trong gan, UTBM tuyến di căn từ phổi, dạ dày, thực quản. Thêm nữa, các loại UTBM dạng gan ở các vị trí khác có thể dương tính với dấu ấn HepPar-1 (dẫn theo Choi) [193].

❖ Dấu ấn CD34

Đa phần (95,79%) bộc lộ dương tính ở UTBMTBG (UTBMTBG nhỏ (< 2cm) 100%, UTBMTBG không nhỏ (≥ 2 cm) 95,45%), trong khi chỉ bộc lộ 42,5% ở NLS (NLS độ cao 48,27%, NLS độ thấp 27,27%). Trong mô gan

bình thường, khả năng dương tính của CD34 bị hạn chế, chủ yếu dương tính ở các vùng quanh khoảng cửa và một số xoang mạch quanh tĩnh mạch trung tâm tiểu thụ (vùng I); trong khi ở UTBMTBG lại có phản ứng lan tỏa và cường độ mạnh. Trên thực tế lâm sàng, nhuộm dấu ấn CD34 là một phương pháp rất nhạy trong chẩn đoán UTBMTBG, vì nó cho thấy rất rõ mẫu tăng trưởng bất thường của UTBMTBG, chủ yếu là các dạng biệt hóa cao hoặc biệt hóa vừa. Tuy nhiên, việc đánh giá sự tăng sinh mạch và bộc lộ của dấu ấn CD34 không đặc hiệu cho UTBMTBG, vì hiện tượng này có thể thấy ở cả các NLS, UTTBG cũng như QSNKT (tuy nhiên sự bộc lộ dương tính lại không toàn bộ (khu trú hoặc một phần). Một số tác giả cho thấy, mẫu dương tính toàn bộ có độ nhạy 93,2% (82,5-100%) ở UTBMTBG nói chung và 89,8% (82,7-100%) UTBMTBG biệt hóa cao, cùng với đó là độ đặc hiệu cao lên tới 96,2% (82,5-100%) [194]. Những tổn thương như nốt xơ gan, nốt tái tạo lớn và NLS độ thấp không bộc lộ dương tính toàn bộ. Đối với UTBMTBG sớm và NLS độ cao thấy mô hình dương tính hoàn toàn tương ứng 69,0% và 2,0%, cho nên đây là một dấu ấn khá có giá trị và được sử dụng như một công cụ để hỗ trợ chẩn đoán. Có bằng chứng cho thấy các tế bào nội mô dương tính với CD34 có thể đóng một vai trò quan trọng trong quá trình tạo UT tế bào gan. Các tế bào này có thể ít nhất là một phần, bắt nguồn từ các tế bào tiền thân lưu hành có khả năng chuyển dạng thành một quần thể tế bào nội mô [195]. Trong NC của Fengmei thấy, tất cả các trường hợp tái tạo nốt lớn đều âm tính với CD34. Nốt loạn sản có 19% dương tính không hoàn toàn, chỉ có 3% dương tính hoàn toàn. Trong số các nốt UTBMTBG, có 86,9% dương tính hoàn toàn, 4,4% dương không hoàn toàn và chỉ có 8,8% là âm tính. Nghiên cứu còn cho thấy, sự bộc lộ của CD34 không liên quan đến độ biệt hóa của mô học [196]

❖ Dấu ấn GPC-3

Dấu ấn GPC-3 dương tính phần lớn ở UTBMTBG (73,16%) (UTBMTBG nhỏ ($<2\text{cm}$) 85,71%, UTBMTBG không nhỏ ($\geq 2\text{cm}$) 72,73%), trong khi chỉ thấy 2,5% dương tính ở NLS (không thấy dương tính ở NLS độ thấp nhưng cũng ít thấy dương tính ở NLS độ cao 3,44%). Trong UTBMTBG, GPC-3 được cho là dương tính khi có $>5\%$ tế bào u bắt màu lan tỏa hoặc cả màng, bào tương tế bào u [74]. GPC-3 thường biểu hiện trong gan thai, không thấy ở gan người lớn, vì vậy, GPC-3 là kháng thể bào thai sinh ung thư, nó có thể bộc lộ trong nhiều khối u, gồm u hắc tố nguyên phát, các u tế bào mầm không phải seminoma (yolk sac và choriocarcinoma), các UTBM tuyến dạ dày, đường mật trong gan và các UTBMTB vảy phổi, thanh quản và cổ tử cung. Mặc dù GPC-3 không đặc hiệu với tế bào gan nhưng GPC-3 kết hợp với Arg-1 rất hữu ích trong chẩn đoán UTBMTBG kém biệt hóa và UTBMTBG tít xơ cứng vì có độ nhạy cao (cả 2 đều $>80\%$). GPC-3 bắt màu lan tỏa ở bào tương, màng và bộ Golgi nhưng không bộc lộ trong tế bào gan bình thường hoặc các tổn thương gan lành như UTTBG và QSNKT. Độ nhạy của GPC3 khi chẩn đoán UTBMTBG biệt hóa cao thường thấp chỉ từ 50-60%. GPC-3 có một số trường hợp bắt màu trong nốt xơ gan và vùng viêm phản ứng trong gan không u, gây ra nhầm lẫn trong chẩn đoán UTBMTBG trên sinh thiết nhỏ [74]. Trong NC của Fengmei cho thấy dấu ấn GPC3 dương tính trong hầu hết các mẫu UTBMTBG 80,3%, âm tính trong các trường hợp NLS độ thấp và nốt tái tạo (ngoại trừ 3% trong số các trường hợp NLS độ cao cho thấy biểu hiện GPC3 mức độ thấp) và cho thấy giá trị của GPC3 trong việc phân biệt giữa các nốt ác tính và NLS độ cao [196]. Ngoài ra, các tác giả còn đánh giá giá trị khi nhuộm phối hợp hai dấu ấn CD34 và GPC3 thấy: khi cả hai dấu ấn GPC3 và CD34 không bộc lộ, kết quả nhuộm được coi là âm tính, trong khi kết quả được coi là dương tính khi một trong hai dấu ấn bộc lộ dương tính.

Kết quả nhuộm phổi hợp thấy UTBMTBG dương tính 93,4%, NLS độ cao chỉ dương tính 26%, trong khi NLS độ thấp và tái tạo nốt lớn đều âm tính. Các tác giả cho so sánh khi nhuộm phổi hợp cả hai dấu ấn sẽ cho kết quả chẩn đoán các nốt gan nhỏ (≤ 3 cm) tốt hơn nhiều so với nhuộm đơn độc [196].

❖ Dấu ấn HSP-70

Sự bộc lộ HSP-70 rải rác hoặc lan tỏa với các tế bào u ở phần lớn (94,74%) các trường hợp UTBMTBG (100% UTBMTBG < 2cm và 94,32% UTBMTBG ≥ 2 cm). Các trường hợp NLS, HSP-70 chỉ bộc lộ ở 5 trường hợp (17,24%) NLS độ cao, trong khi NLS độ thấp lại âm tính toàn bộ. Dấu ấn HSP-70 là một họ protein liên quan đến sự sinh UT, điều hòa chu trình tiến triển và ức chế tế bào chết theo chương trình. Nhiều UTBMTBG phát sinh từ các bệnh gan mới, tổn thương hoại tử viêm mạn tính và xơ hóa tổng hợp ra protein HSP-70. Các NC cũng cho thấy sự tăng lũy tiến của mRNA về mức độ và hiệu hiện mô của HSP-70 tăng dần theo các tổn thương NLS độ thấp, NLS độ cao, UTBMTBG sớm, UTBMTBG tiến triển khi định lượng bằng qRT-PCR và HMMD. Nghiên cứu bằng HMMD gần đây của Anthony và cs (2011) cho thấy, sự bộc lộ của HSP-70 đối với UTBMTBG trung bình 58,7%, UTBMTBG biệt hóa cao 46,7% và UTBMTBG sớm là 22,7%, trong khi tỷ lệ bộc lộ ở NLS độ cao lại ở mức thấp 9,2%, NLS độ thấp và xơ gan là 0%. Tuy nhiên, giá trị của HSP-70 bị hạn chế khi chẩn đoán phân biệt UTBMTBG sớm và NLS độ cao khi độ nhạy thấp 22,7% và giá trị dự báo dương tính thấp 35,7%. Sự bộc lộ của HSP-70 được phát hiện ở phần lớn các trường hợp UTBMTBG bao gồm UTBMTBG sớm và UTBMTBG độ cao [194]. Theo Di Tommaso và cs (2007), sự bộc lộ HSP-70 phát hiện phần lớn ở những trường hợp UTBMTBG chiếm 73,58% (UTBMTBG sớm chiếm 90%). Với các nốt lành tính HSP-70 chỉ bộc lộ 01 trường hợp (4,54%) ở NLS độ cao, trong khi âm tính ở tất cả các NLS độ thấp. Sự bộc lộ của HSP-70 không liên quan với

sự mất biệt hóa của u hay với những đặc điểm bệnh học lâm sàng khác (như tuổi, giới, nguyên nhân xơ gan và kích thước u) [74]. Tuy nhiên, trong loạt nghiên cứu năm 2009 của Di Tommaso [197] lại thấy, UTBMTBG dương tính 47,8%, NLS độ cao dương tính 10% trong khi NLS độ thấp và nốt tái tạo lớn âm tính. Theo NC của Thuy B Nguyen [198], HSP-70 biểu hiện ở 68% UTBMTBG, các NC khác cũng có kết quả tương tự dao động từ 46 đến 72% (dẫn theo [198]). Dấu ấn HSP-70 là một trong những dấu ấn khá hữu ích, có thể giúp chẩn đoán phân biệt UTBMTBG biệt hóa cao với UTTBG có đặc điểm tế bào không điển hình, trong khi UTBMTBG dương tính ở 71% thì UTTBG lại hoàn toàn âm tính.

❖ Dấu ấn GS

Glutamin Synthetase dương tính chủ yếu ở 94,21% các trường hợp UTBMTBG (100% UTBMTBG ($< 2\text{cm}$) và 93,75% UTBMTBG $\geq 2\text{cm}$), trong khi NLS dương tính 12,5% (NLS độ thấp 9,09% và 17,24% NLS độ cao). GS kích hoạt con đường tín hiệu Wnt/ β -catenin dẫn đến sự bộc lộ quá mức và tỷ lệ bộc lộ tăng dần từ tổn thương NLS, UTBMTBG sớm đến UTBMTBG tiến triển. Glutamin Synthetase cho thấy có hai hình thái bộc lộ khi đánh giá kết hợp cả số lượng tế bào dương tính với cường độ bộc lộ: (1) dương tính mạnh và đồng đều, xảy ra ở những nhóm tế bào u thực sự; (2) dương tính yếu và không đều (số lượng tế bào dương tính $< 10\%$) hoặc dương tính yếu và không rõ ràng (số lượng tế bào dương tính $> 10\%$). Các báo cáo cho rằng, chỉ có hình thái 1 mới thực sự thể hiện được sự bộc lộ quá mức của GS nên chỉ đánh giá là dương tính ở những trường hợp có hình thái bộc lộ như vậy. Trong NLS độ cao có thể dương tính với mô hình dạng khu trú, chỉ 50% tế bào u có phản ứng. Trong UTBMTBG, bộc lộ GS ở dạng mô hình lan tỏa và mạnh (hơn 50% tế bào u có phản ứng) [74].

❖ Dấu ấn CK7 và CK19

Trên thực tế NC của chúng tôi, khi nhuộm chẩn đoán UTBMTBG và NLS, tỷ lệ CK7 dương tính 26/190 (13,68%); CK19 dương tính 19/190 (10%) nên cần đặt ra chẩn đoán phân biệt UTBMTBG với UTBM đường mật hay UTBM tuyến di căn và cần phải kết hợp các dấu ấn HMMD khác. Theo Maeda và cs CK7 và CK19 dương tính trong UTBM đường mật có ý nghĩa thống kê hơn UTBMTBG và UTBM tuyến di căn, cần cân nhắc khi sử dụng các dấu ấn này để chẩn đoán phân biệt [199]. Nghiên cứu của Najla Al – Muhannadi, dấu ấn CK7 dương tính 27,3% số trường hợp UTBMTBG, CK19 dương tính 13,6% UTBMTBG [200]. Các tác giả khác cũng cho rằng, một phần của UTBMTBG phản ứng bộc lộ dương tính với CK7 và CK19, có thể liên quan đến quá trình “chuyển biệt hóa” (transdifferentiation), còn được gọi là tái lập trình dòng, là một quá trình trong đó một tế bào sinh dưỡng trưởng thành biến đổi thành một tế bào sinh dưỡng trưởng thành khác mà không trải qua một loại tế bào gốc đa năng cảm ứng trung gian hoặc loại tế bào tiền thân. Sự bộc lộ của CK19 trong UTBMTBG như là một tính năng của tế bào gốc liên quan đến nguy cơ sinh học cao (UTBMTBG của loại tế bào tiền thân). Đa phần, sự bộc lộ của CK19 là một tính năng điển hình cho nhiều UTBM tuyến, đặc biệt là UTBM đường mật, trong khi trước đây nó được cho rằng CK19 không phải là một đặc điểm đặc trưng cho UTBMTBG. Tuy nhiên, sự bộc lộ của CK19 trong UTBMTBG không chỉ đại diện là một kiểu hình đường mật mà còn liên quan đến các đặc điểm của tế bào gốc, là một dưới típ mới của UTBMTBG với tiên lượng bệnh rất ác tính, kích thước khối u tăng, ranh giới khối u không rõ, xâm nhập mạch cao, tiến triển nhanh, khả năng tái phát sau điều trị cao và khả năng sống ngắn hơn [131], [201], [202]. Dấu ấn CK19 dương tính trong UTBMTBG là một yếu tố nguy cơ độc lập đối với sự phát triển di căn hạch bạch huyết [203]

Trong khi CK7 và CK19 gần như không có vai trò trong chẩn đoán NLS độ thấp, chỉ có giá trị giúp chẩn đoán phân biệt các NLS độ cao với UTBMTBG sớm hoặc biệt hóa cao khi xác định tổn thương và tỉ lệ phần trăm hiện tượng phản ứng ống để gián tiếp xác định tình trạng xâm nhập của tế bào ung thư vào mô đệm với các mức độ khác nhau. Nghiên cứu của Di Tommaso và cs (2007) cho thấy hầu hết các NLS độ cao có phản ứng ống mạnh (chiếm tới hơn 50% chu vi của nốt) khi nhuộm CK7/19, mặc dù đặc điểm này có thể trùng lặp với UTBMTBG (khoảng 5–10% trường hợp) [74].

4.5.2.2. Sự kết hợp của HSP-70, GPC-3 và GS trong chẩn đoán phân biệt NLS độ cao và UTBMTBG biệt hóa cao.

Kết quả NC của chúng tôi được trình bày tại Bảng 3.20 cho thấy, các Panel cả 3/3 dấu ấn dương tính, ít nhất 2/3 dấu ấn dương tính và Panel cặp 2 dấu ấn dương tính chỉ gặp ở nhóm UTBMTBG biệt hóa cao, không gặp trong nhóm NLS độ cao. Trong khi Panel có ít nhất một dấu ấn dương tính và chỉ 1 dấu ấn dương tính gặp ở cả hai nhóm, trong đó chủ yếu gặp ở nhóm UTBMTBG, còn lại NLS độ cao ít gặp hơn.

Trong khi Bảng 3.21 cho thấy, Panel cả 3/3 dấu ấn đồng thời dương tính chỉ thấy ở nhóm UTBMTBG biệt hóa cao, không có trong NLS độ cao với độ nhạy 42,31%, độ đặc hiệu cao tới 100% và giá trị dự báo dương tính cũng đạt 100%, giá trị dự báo âm tính 65,91%, độ chính xác 72,72%. Trong khi panel có ít nhất 2/3 dấu ấn dương tính cũng chỉ thấy ở các trường hợp UTBMTBG biệt hóa cao với độ nhạy 76,92%, độ đặc hiệu 100%, giá trị dự báo dương tính 100%, giá trị dự báo âm tính 82,86% và độ chính xác 89,1%, không có trường hợp nào ở nhóm NLS độ cao. Panel có ít nhất 1/3 dấu ấn dương tính có thể gặp ở cả hai nhóm UTBMTBG biệt hóa cao và NLS độ cao với độ nhạy cao 96,15% nhưng độ đặc hiệu chỉ còn 65,52%, độ chính xác 80%. Những trường hợp cặp 2/3 dấu ấn dương tính, chúng tôi thấy chỉ gặp ở nhóm UTBMTBG

biệt hóa cao, không gặp ở nhóm NLS độ cao, cặp HSP-70+/GS+ có độ nhạy cao nhất 76,92%, trong khi cặp HSP-70+/GPC-3+ và cặp GPC-3+/GS+ thì đều có độ nhạy thấp hơn 42,31%, trong khi độ đặc hiệu ở cả 3 cặp đều là 100%. Vì thế độ chính xác của cặp HSP-70+/GS+ đạt 89,1%, hai cặp còn lại có độ chính xác là 72,72%.

Khi có duy nhất 1 dấu ấn dương tính thì GS có độ nhạy cao nhất 84,62%, tiếp theo là HSP-70 với 53,85%, còn GPC-3 có độ nhạy kém nhất với 42,31%. Trong khi đó độ đặc hiệu tương ứng của các dấu ấn là 86,21%, 82,76% và 96,55%.

Bảng 4.3: So sánh độ nhạy, và độ đặc hiệu khi sử dụng 3 dấu ấn HSP-70, GPC-3, GS theo Panel đơn độc và Panel phối hợp cặp 2/3 dương tính

Tác giả và năm nghiên cứu	GS (Độ nhạy và độ đặc hiệu)	HSP-70 (Độ nhạy và độ đặc hiệu)	GPC-3 (Độ nhạy và độ đặc hiệu)	Sự phối hợp hữu ích nhất của 2 dấu ấn
Trần Ngọc Minh (2019)	84,62%; 86,21	53,85%; 82,76%	42,31; 96,55%	HSP-70+GS 76,92%; 100%
Di Tommaso (2007)[74]	59,38%; 86,36%	78.13%; 95,45%	68,75%; 90,91%	HSP-70+GPC-3 59,38%; 100%
Di Tommaso (2009) [197]	57,9%; 96%	40.4%; 90%	61,4%; 92%	GPC-3+GS 40,2%; 100%
Tremosini (2011) [204]	50%; 90%	57,5%; 85,0%	57,5%; 95%	GPC-3+HSP-70 40%; 100%
Preithy Uthamalingam (2018) [205]	100%; 90%	50%; 100%	25% & 100%	HSP-70 + GS 50%; 100%

Bảng so sánh độ nhạy, độ đặc hiệu của các dấu ấn HSP-70, GPC-3 và GS khi sử dụng đơn độc để chẩn đoán phân biệt UTBMTBG và NLS độ cao với các NC của của các tác giả nước ngoài thấy độ nhạy của GS ở mức trung bình trong khoảng 50-100%; HSP-70 40%-78%; GPC-3 25%-68%. Độ đặc hiệu trung bình của GS 86%-96%; HSP-70 82%-100%; GPC-3 90%-100%. Khi sử dụng Panel gồm cặp 2 dấu ấn, thì tất cả các sự kết hợp đều có độ đặc hiệu 100% nhưng chỉ có độ nhạy thường chỉ dưới hoặc bằng 50%. Trong khi NC của chúng tôi lại có độ nhạy khá cao với 76,92%.

Tương tự như 02 NC của Di Tommaso năm 2007 tiến hành trên 2 nhóm UTBMTBG sớm/biệt hóa cao với NLS độ cao và NC năm 2009 trên 2 nhóm lành tính và ác tính cho thấy, độ nhạy và đặc hiệu khi sử dụng các dấu ấn riêng lẻ thấy có sự khác nhau về độ nhạy, tuy nhiên độ đặc hiệu khá tương đồng. Tremosini (2011) NC ở 2 nhóm UTBMTBG sớm với NLS độ cao, Preithy Uthamalingam (2018) NC 2 nhóm tế bào gan tổn thương ác tính và nhóm tổn thương lành tính cũng thấy các dấu ấn này có độ nhạy tuy không cao nhưng độ đặc hiệu rất cao khi sử dụng đơn độc các dấu ấn.

Trong khi bảng so sánh dưới đây sử dụng Panel gồm cả 3 dấu ấn đều dương tính sẽ làm độ nhạy giảm xuống và độ đặc hiệu tăng lên cao tới 100% tương ứng như trong NC của Di Tommaso (2007), 43,75% và 100%; Di Tommaso (2009), 25,0% và 100%, Tremosini (2011), 25,0% và 100%; Preithy Uthamalingam (2018), 16,67% và 100%.

Panel ít nhất 2 dấu ấn dương tính thì độ nhạy phát hiện UTBMTBG sớm, biệt hóa cao tăng lên còn độ đặc hiệu vẫn là 100% tương ứng của các NC là 71,88% và 100%; 58,7% và 100%; 60% và 100%; 58,33%; 100%.

Panel ít nhất 1 dấu ấn dương tính thường sẽ cho độ nhạy cao và đi kèm với độ đặc hiệu khá tốt cho phát hiện UTBMTBG sớm hoặc biệt hóa cao tương ứng của các NC là 90,63% và 70,73%; 93,5% và 85,7%; 80% và 70%; 100% và 90,00% [74], [197], [204], [205] .

Bảng 4.4: So sánh độ nhạy, và độ đặc hiệu khi sử dụng 3 dấu ấn HSP-70, GPC-3, GS theo Panel ít nhất 1/3 hoặc ít nhất 2/3 hoặc cả 3 dấu ấn đồng thời dương tính

Tác giả và năm nghiên cứu	Ít nhất 1 dấu ấn dương (Độ nhạy và độ đặc hiệu)	Ít nhất 2 dấu ấn dương (Độ nhạy và độ đặc hiệu)	Cả 3 dấu ấn cùng dương (Độ nhạy và độ đặc hiệu)
Trần Ngọc Minh (2019)	96,15%; 65,52%	76,92%; 100%	42,31%; 100%
Di Tommaso (2007)[74]	90,63%; 70,73%	71,88%; 100%	43,75%; 100%
Di Tommaso (2009) [197]	93,5%; 85,7%	58,7%; 100%	25,0%; 100%
Tremosini (2011) [204]	80%; 70%	60%; 100%	25,0%; 100%
Preithy Uthamalingam (2018) [205]	100%; 90,00%	58,33%; 100%	16,67%; 100%

Với các tổn thương có kích thước nhỏ ở gan, việc sử dụng các dấu ấn như GPC-3, HSP-70 và GS được cho là có hiệu quả trong chẩn đoán. Kết quả của nhiều NC cho rằng, nếu ít nhất có 2/3 dấu ấn dương tính thì có thể kết luận là UTBM tế bào gan. Tuy nhiên, kết quả âm tính của 2/3 dấu ấn này cũng không thể loại trừ tổn thương không phải là UT [74] [197], [204], [205]. Khi đặc điểm hình thái học không thể khẳng định chắc chắn tổn thương lành tính, ta nên bổ sung thêm các dấu ấn HMMD khác để hỗ trợ xác chẩn. Trong

những trường hợp đó, nếu dương tính với 2/3 dấu ấn nêu trên thì nên cân nhắc lại chẩn đoán lành tính ban đầu. Các dấu ấn GPC-3, HSP-70, GS và cả Arg-1 rất hữu ích trong trường hợp có nốt gan nhỏ nhưng mẫu bệnh phẩm gửi làm MBH lại quá ít hoặc không chạm tới tổn thương. Trong những tình huống này, các tế bào u nằm ở ngoại vi nốt dù có thể không rõ ràng về hình thái trên HE nhưng vẫn có thể được xác định rõ nhờ vào HMMD [197]. Trong panel 03 dấu ấn GPC-3, HSP-70 và GS, việc bộc lộ nhiều hơn một dấu ấn sẽ càng làm tăng độ chính xác của chẩn đoán. Các dấu ấn GPC-3, HSP-70 và GS đã được công nhận có giá trị trong chẩn đoán phân biệt UTBMTBG với các tổn thương ác tính khác, đồng thời, panel này cũng đã được công nhận có tác dụng phân biệt NLS độ cao và UTBMTBG sớm xảy ra trên nền gan xơ.

Thực tế cho thấy, ngày càng cần phải phân biệt rõ giữa các nốt phát triển trên nền xơ gan. Đặc biệt với những tổn thương như NLS độ cao và UTBMTBG sớm, biệt hóa cao là những bước phát triển kế tiếp trong quá trình hình thành UTBMTBG. Vì vậy cần phải có sự đánh giá một cách đầy đủ, thận trọng về hình thái và kiểu hình miễn dịch, đồng thời tham khảo các thông tin về bệnh học lâm sàng một cách thích hợp trong khi chẩn đoán. Mặc dù vậy, vai trò của các dấu ấn HMMD sẵn có hiện nay còn bị hạn chế và việc chẩn đoán chủ yếu vẫn dựa vào các đặc điểm hình thái đã được chấp thuận vào năm 1995 [172]. Điều này là do trong tay của các nhà bệnh học có rất ít các dấu ấn chỉ điểm cho sự ác tính để có thể sử dụng. Các phương pháp tiếp cận khác nhau đã được sử dụng để chọn lựa ra những dấu ấn có độ nhạy và độ đặc hiệu hợp nhất đối với UTBMTBG.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 252 trường hợp tổn thương tiền UT và UTBMTBG trong thời gian từ 2012-2019, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Đặc điểm chung và MBH tiền UT và UTBMTBG.

- NLS độ cao thường gặp hơn NLS độ thấp (72,5% so với 22,5%).
- NLS có các đặc điểm: động mạch đơn độc (96,55%), mao mạch hóa (68,97%), bề u > 2 hàng tế bào (100%); nhiễm mỡ (44,83%), nhân không điển hình (6,90%).

- UTTBG có các đặc điểm: thoái hóa mỡ, xoang mạch giãn, xâm nhập viêm, xoang máu và có thể có tế bào không điển hình. Típ thường gặp nhất I-HCA (45,45 %),

- UTBMTBG có tỷ lệ nam: nữ là 9:1, tuổi thường gặp 50-69. Típ bề 96,31%, típ xơ cứng 1,05%, xơ lát 2,63%, dạng lympho biểu mô 0,52%. Tế bào u tiết mật 48,42%, tế bào sáng 39,47%, thể hyalin 38,94%, tế bào điển hình 32,63%, thể nhạt màu 7,36%, đa hình thái 7,36% và thể vùi kính mờ 4,21%. Biệt hóa vừa 56,84%; biệt hóa kém 28,95%; biệt hóa cao 13,69%. Xâm nhập mạch 58,82%, xơ hóa gan 63,24%.

2. Đối chiếu độ mô học với một số yếu tố. Giá trị một số dấu ấn HMMD trong chẩn đoán tổn thương tiền UT và UTBMTBG biệt hóa cao.

- Nồng độ AFP càng thấp thì độ biệt hóa càng cao $p = 0,026$, nồng độ AFP càng cao thì độ biệt hóa càng kém $p = 0,03$.

- Típ bề và típ đặc thường có độ biệt vừa và kém/không với p tương ứng $p = 0,022$; $0,002$ và $p = 0,0001$; $0,0001$

- Không thấy mối liên quan giữa độ biệt hóa với kích thước, số lượng u và xâm nhập mạch ($p > 0,05$).

- L-FABP âm trong H-HCA; β -catenin và GS dương trong B-HCA; SAA dương trong I-HCA; SAA, β -catenin và GS âm cùng L-FABP dương trong U-HCA.

- Arg-1 và HepPar-1, có độ nhạy cao (94,21%) và (88,42%) khi chẩn đoán UTBMTBG.
- CD34 có độ nhạy cao nhưng khá hạn chế khi chẩn đoán phân biệt UTBMTBG với NLS và UTTBG.
- CK7/CK19 ít có giá trị chẩn đoán UTBMTBG do độ nhạy thấp.
- Cặp HSP-70+/GS+ có độ nhạy (76,92%), độ đặc hiệu (100%) và độ chính xác (89,1%) cao nhất, hơn cặp HSP-70+/GPC-3+ và cặp GPC-3+/GS+ (có cùng độ nhạy (42,31%), độ đặc hiệu (100%) và độ chính xác (72,72%).
- Panel cả 3 dấu ấn dương tính (HSP-70(+)/GPC-3(+)/GS(+)) làm giảm độ nhạy còn 42,31% nhưng lại tăng độ đặc hiệu 100% và giá trị dự báo dương tính 100%, giá trị dự báo âm tính 65,91%.
- Panel ít nhất 2 dấu ấn dương tính làm tăng độ nhạy chẩn đoán UTBMTBG sớm/biệt hóa cao, trong khi độ đặc hiệu vẫn là 100%
- Panel khi có ít nhất 1 trong 3 dấu ấn dương tính (HSP-70 hoặc GPC-3 hoặc GS) có độ nhạy cao 96,15% trong khi độ đặc hiệu khá tốt 65,52%. Tuy nhiên, không dùng để chẩn đoán xác định khi chỉ có 1 dấu ấn dương tính.

KHUYẾN NGHỊ

Qua đề tài này chúng tôi xin khuyến nghị.

1. Nên nhuộm thường quy các dấu ấn GPC-3, HSP-70, GS, CD34, CK7/19 hỗ trợ cho chẩn đoán các tổn thương nốt ở gan khi có đặc điểm tế bào không điển hình khó phân biệt tổn thương tiền ung thư và UTBMTBG.

2. Cần nhuộm các dấu ấn L-FABP, SAA, GS và β -catenin khi chẩn đoán xác định và phân típ UTTBG.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Agency for Research on Cancer (2018). GLOBOCAN, <<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/704-viet-nam-factsheets.pdf>>, 10-11-2019.
2. McGlynn KA, London WT (2005). Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 19:3–23.
3. Wurmbach E, Chen YB, Khitrov G, et al (2007). Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 45:938–947.
4. Choi BI, Takayasu K, Han MC, (1993). Small hepatocellular carcinomas and associated nodular lesions of the liver: pathology, pathogenesis, and imaging findings. *AJR Am J Roentgenol*, 160:1177–1187.
5. Sakamoto M, Hirohashi S, Shimosato Y, (1991). Early stages of multistep hepatocarcinogenesis: adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol*, 22:172–178.
6. Zech CJ, Reiser MF, Herrmann KA, (2009). Imaging of hepatocellular carcinoma by computed tomography and magnetic resonance imaging: state of the art. *Dig Dis*, 27,114–124.
7. Park YN, (2011). Update on precursor and early lesions of hepatocellular carcinomas. *Arch Pathol Lab Med*, 135:704–715.
8. Kojiro M, Roskams T, (2005). Early hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules. *Seminars in liver disease*, 25 (2), 133-142.
9. Matsui O, Kobayashi S, Sanada J, et al (2011). Hepatocellular nodules in liver cirrhosis: hemodynamic evaluation (angiography-assisted CT) with special reference to multi-step hepatocarcinogenesis. *Abdominal imaging*, 36 (3), 264-272.

10. Roncalli M, Terracciano L, Di Tommaso L, et al (2011). Liver precancerous lesions and hepatocellular carcinoma: the histology report. *Digestive and liver disease*, 43, S361-S372.
11. Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault J.-C, et al (2015). Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 149 (5), 1226-1239. e1224.
12. Schulze K, Imbeaud S, Letouzé E, et al (2015). Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nature genetics*, 47 (5), 505-511.
13. Ho D W-H, Lo R C-L, Chan L-K, et al (2016). Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Liver cancer*, 5 (4), 290-302.
14. Nault J. C, Mallet M, Pilati C, et al (2013). High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions. *Nature communications*, 4, 221-228.
15. Yoon S. K, (2018). Molecular mechanism of hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Res*, 1-9.
16. Bell R J, Rube H T, Kreig A, et al (2015). The transcription factor GABP selectively binds and activates the mutant TERT promoter in cancer. *Science*, 348 (6238), 1036-1039.
17. Zhu Z, Wilson A. T, Gopalakrishna K, et al (2010). Hepatitis C virus core protein enhances Telomerase activity in Huh7 cells. *Journal of medical virology*, 82 (2), 239-248.
18. Kwun H J, Jung E Y, Ahn J Y, et al (2001). p53-dependent transcriptional repression of p21waf1 by hepatitis C virus NS3. *Journal of General Virology*, 82 (9), 2235-2241.
19. Korenaga M, Wang T, Li Y, et al (2005). Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *Journal of Biological Chemistry*, 280 (45), 37481-37488.

20. Munakata T, Nakamura M, Liang Y, et al (2005). Down-regulation of the retinoblastoma tumor suppressor by the hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102 (50), 18159-18164.
21. Choi S.-H, Hwang S. B, (2006). Modulation of the transforming growth factor- β signal transduction pathway by hepatitis C virus nonstructural 5A protein. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (11), 7468-7478.
22. Tsai W-C, Hsu S-D, Hsu C-S et al (2012). MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis. *The Journal of clinical investigation*, 122 (8), 2884-2897.
23. Chan J. and Wang Z (2008). Tumor markers. *Hepatocellular carcinoma. Singapore: World Scientific Publishing Co*, 159-182.
24. Al Knawy B, Reddy K. R, Bolondi L (2009). *Hepatocellular Carcinoma: A Practical Approach*, CRC Press,
25. Omata M, Lesmana L. A, Tateishi R et al (2010). Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma. *Hepatology international*, 4 (2), 439-474.
26. Bruix J, Sherman M (2011). Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*, 53 (3), 1020-1022.
27. European Association For The Study Of The Liver (2012). EASL–EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, 56 (4), 908-943.
28. Colli A, Fraquelli M, Casazza G et al (2006). Accuracy of ultrasonography, spiral CT, magnetic resonance, and alpha-fetoprotein in diagnosing hepatocellular carcinoma: a systematic review. *The American journal of gastroenterology*, 101, 513-523.

29. Yau T, Tang V. Y, Yao T.-J et al (2014). Development of Hong Kong Liver Cancer staging system with treatment stratification for patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 146 (7), 1691-1700. e1693.
30. Bru C, Maroto A, Bruix J et al (1989). Diagnostic accuracy of fine-needle aspiration biopsy in patients with hepatocellular carcinoma. *Digestive diseases and sciences*, 34 (11), 1765-1769.
31. Bolondi L, Gaiani S, Benzi G et al (1992). Ultrasonography and guided biopsy in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *The Italian journal of gastroenterology*, 24 (1), 46-49.
32. Caturelli E, Bisceglia M, Fusilli S et al (1996). Cytological vs microhistological diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Digestive diseases and sciences*, 41 (12), 2326-2331.
33. Fornari F, Filice C, Rapaccini G. L et al (1994). Small (≤ 3 cm) hepatic lesions. *Digestive diseases and sciences*, 39 (10), 2267-2275.
34. Borzio M, Borzio F, Macchi R et al (1994). The evaluation of fine-needle procedures for the diagnosis of focal liver lesions in cirrhosis. *Journal of hepatology*, 20 (1), 117-121.
35. Đào Văn Long, Phạm Thị Thu Hồ, Nguyễn Khánh Trạch và cs (1993). Kết quả chẩn đoán tế bào học và mô bệnh học đối với ung thư gan từ các mẫu bệnh phẩm thu được bằng chọc hút kim nhỏ dưới hướng dẫn của siêu âm. *Y học Việt nam*, Chuyên đề bệnh ung thư (177), 77-82.
36. Trần Văn Hợp (1993). Chẩn đoán tế bào học bằng chọc hút kim nhỏ dưới siêu âm. *Y học Việt nam*, 5, 52-55.
37. Kondo F, Wada K, Nagato Y et al (1989). Biopsy diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology*, 9 (5), 751-755.

38. Babb R, Jackman R (1989). Needle biopsy of the liver. A critique of four currently available methods. *Western Journal of Medicine*, 150 (1), 39.
39. <<http://www.bardcare.com/clinicians/products/view-products/prostate-biopsy/magnum-instrument/>>, 18-11-2019.
40. Schlottmann K, Klebl F, Zorger N et al (2004). Contrast-enhanced ultrasound allows for interventions of hepatic lesions which are invisible on convential B-mode. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 42 (04), 303-310.
41. Silva M. A, Hegab B, Hyde C et al (2008). Needle track seeding following biopsy of liver lesions in the diagnosis of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gut*, 57 (11), 1592-1596.
42. Torzilli G, Minagawa M, Takayama T et al (1999). Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine-needle biopsy. *Hepatology*, 30 (4), 889-893.
43. Takamori R, Wong L, Dang C et al (2000). Needle-tract implantation from hepatocellular cancer: is needle biopsy of the liver always necessary? *Liver Transplantation*, 6 (1), 67-72.
44. Saborido B, Díaz J, Galanes S (2005). Does preoperative fine needle aspiration-biopsy produce tumor recurrence in patients following liver transplantation for hepatocellular carcinoma?. *Transplant Proc*, (37), 3874–3877.
45. Ramos Rubio E. and Llado Garriga L (2010). Usefulness of pre-surgical biopsy in selecting patients with hepatocellular carcinoma for liver transplant. *Cir Esp*, 87, 133-138.
46. Earls J. P, Theise N. D, Weinreb J. C et al (1996). Dysplastic nodules and hepatocellular carcinoma: thin-section MR imaging of explanted cirrhotic livers with pathologic correlation. *Radiology*, 201 (1), 207-214.

47. Le Bail B, Belleanne G, Bernard P et al (1995). Adenomatous hyperplasia in cirrhotic livers: histological evaluation, cellular density, and proliferative activity of 35 macronodular lesions in the cirrhotic explants of 10 adult French patients. *Human pathology*, 26 (8), 897-906.
48. Hytioglou P, Theise N. D, Schwartz M et al (1995). Macroregenerative nodules in a series of adult cirrhotic liver explants: issues of classification and nomenclature. *Hepatology*, 21 (3), 703-708.
49. Niu Z-S, Niu X-J, Wang W-H et al (2016). Latest developments in precancerous lesions of hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology*, 22 (12), 3305.
50. Ikeda H, Sasaki M, Sato Y et al (2009). Large cell change of hepatocytes in chronic viral hepatitis represents a senescent-related lesion. *Human pathology*, 40 (12), 1774-1782.
51. Quaas A, Oldopp T, Tharun L et al (2014). Frequency of TERT promoter mutations in primary tumors of the liver. *Virchows Archiv*, 465 (6), 673-677.
52. Pinyol R, Tovar V, Llovet J. M (2014). TERT promoter mutations: gatekeeper and driver of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 61 (3), 685-687.
53. Nault J. C, Calderaro J, Di Tommaso L et al (2014). Telomerase reverse transcriptase promoter mutation is an early somatic genetic alteration in the transformation of premalignant nodules in hepatocellular carcinoma on cirrhosis. *Hepatology*, 60 (6), 1983-1992.
54. Oh B-K, Kim Y-J, Park Y. N et al (2006). Quantitative assessment of hTERT mRNA expression in dysplastic nodules of HBV-related hepatocarcinogenesis. *The American journal of gastroenterology*, 101 (4), 831.

55. Saini N, Srinivasan R, Chawla Y et al (2009). Telomerase activity, telomere length and human telomerase reverse transcriptase expression in hepatocellular carcinoma is independent of hepatitis virus status. *Liver International*, 29 (8), 1162-1170.
56. Mounajjed T, Chandan V. S, Torbenson M. S (2015). Hepatocellular Carcinoma Precursor Lesions. *Surgical Pathology of Liver Tumors*, Springer, Cham, 157-168.
57. Takasaki S (2015). Roles of microRNAs in cancers and development. *RNA Interference*, Springer, 375-413.
58. Velazquez I, Alter B. P (2004). Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-Fanconi's conditions. *American journal of hematology*, 77 (3), 257-267.
59. Otsuka M, Kishikawa T, Yoshikawa T et al (2014). The role of microRNAs in hepatocarcinogenesis: current knowledge and future prospects. *Journal of gastroenterology*, 49 (2), 173-184.
60. Gao P, Wong C. C-L, Tung E. K.-K et al (2011). Deregulation of microRNA expression occurs early and accumulates in early stages of HBV-associated multistep hepatocarcinogenesis. *Journal of hepatology*, 54 (6), 1177-1184.
61. Park H-J, Yu E, Shim Y-H (2006). DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation in human hepatocellular carcinoma. *Cancer letters*, 233 (2), 271-278.
62. Tornillo L, Carafa V, Sauter G et al (2002). Chromosomal alterations in hepatocellular nodules by comparative genomic hybridization: high-grade dysplastic nodules represent early stages of hepatocellular carcinoma. *Laboratory investigation*, 82 (5), 547.

63. Zhao Z, Chen G. Y, Long J et al (2015). Genomic losses at 5q13. 2 and 8p23. 1 in dysplastic hepatocytes are common events in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Oncology letters*, 9 (6), 2839-2846.
64. Bioulac-Sage O (2010). Focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma. *WHO classification of tumours of the digestive system*, 198-204.
65. Bioulac-Sage P, Cubel G. Balabaud C (2011). Pathological diagnosis of hepatocellular adenoma in clinical practice. *Diagnostic histopathology*, 17 (12), 521-529.
66. Bioulac-Sage P, Blanc J. F, Rebouissou S et al (2007). Genotype phenotype classification of hepatocellular adenoma. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13 (19), 2649.
67. Bioulac-Sage P, Balabaud C. Zucman-Rossi J (2010). Subtype classification of hepatocellular adenoma. *Digestive surgery*, 27 (1), 39-45.
68. Bioulac-Sage P, Rebouissou S, Thomas C et al (2007). Hepatocellular adenoma subtype classification using molecular markers and immunohistochemistry. *Hepatology*, 46 (3), 740-748.
69. Zucman-Rossi J, Benhamouche S, Godard C et al (2007). Differential effects of inactivated Axin1 and activated β -catenin mutations in human hepatocellular carcinomas. *Oncogene*, 26 (5), 774.
70. Kudo M (2013). Early hepatocellular carcinoma: definition and diagnosis. *Liver cancer*, 2 (2), 69.
71. Liver Cancer Study Group of Japan (1989). The general rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer. *The Japanese journal of surgery*, 19 (1), 98-129.
72. International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia (2009). Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology*, 49 (2), 658-664.

73. Bosman F. T, Carneiro F. Hruban R. H. et al (2010). *WHO classification of tumours of the digestive system*, World Health Organization,
74. Di Tommaso L, Franchi G, Park Y. N et al (2007). Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology*, 45 (3), 725-734.
75. Fan Z, Van de Rijn M, Montgomery K et al (2003). Hep par 1 antibody stain for the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma: 676 tumors tested using tissue microarrays and conventional tissue sections. *Modern pathology*, 16 (2), 137.
76. Wang L, Vuolo M, Suhrland M. J et al (2006). HepPar1, MOC-31, pCEA, mCEA and CD10 for distinguishing hepatocellular carcinoma vs. metastatic adenocarcinoma in liver fine needle aspirates. *Acta cytologica*, 50 (3), 257-262.
77. Siddiqui M. T, Hossein Saboorian M, Tunc Gokaslan S et al (2002). Diagnostic utility of the HepPar1 antibody to differentiate hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma in fine-needle aspiration samples. *Cancer Cytopathology: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 96 (1), 49-52.
78. Yan B. C, Gong C, Song J et al (2010). Arginase-1: a new immunohistochemical marker of hepatocytes and hepatocellular neoplasms. *The American journal of surgical pathology*, 34 (8), 1147.
79. Timek D. T, Shi J, Liu H et al (2012). Arginase-1, HepPar-1, and Glypican-3 are the most effective panel of markers in distinguishing hepatocellular carcinoma from metastatic tumor on fine-needle aspiration specimens. *American journal of clinical pathology*, 138 (2), 203-210.

80. Filmus J (2001). Glypicans in growth control and cancer. *Glycobiology*, 11 (3), 19R-23R.
81. Cano-Gauci D. F, Song H. H, Yang H et al (1999). Glypican-3–deficient mice exhibit developmental overgrowth and some of the abnormalities typical of Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *The Journal of cell biology*, 146 (1), 255-264.
82. Dabbs D. J (2013). *Diagnostic Immunohistochemistry E-Book: Theranostic and Genomic Applications, Expert Consult: Online and Print*, Elsevier Health Sciences,
83. Libbrecht L, Severi T, Cassiman D et al (2006). Glypican-3 expression distinguishes small hepatocellular carcinomas from cirrhosis, dysplastic nodules, and focal nodular hyperplasia-like nodules. *The American journal of surgical pathology*, 30 (11), 1405-1411.
84. Saad R S, Luckasevic T. M, Noga C. M et al (2004). Diagnostic value of HepPar1, pCEA, CD10, and CD34 expression in separating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma in fine-needle aspiration cytology. *Diagnostic cytopathology*, 30 (1), 1-6.
85. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L et al (2001). Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and biophysical research communications*, 286 (3), 433-442.
86. Chuma M, Sakamoto M, Yamazaki K et al (2003). Expression profiling in multistage hepatocarcinogenesis: identification of HSP70 as a molecular marker of early hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 37 (1), 198-207.
87. Coston W M, Loera S, Lau S. K et al (2008). Distinction of hepatocellular carcinoma from benign hepatic mimickers using Glypican-3 and CD34 immunohistochemistry. *The American journal of surgical pathology*, 32 (3), 433-444.

88. Yamamoto K, Imamura H., Matsuyama Y et al (2010). AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of HCC. *Journal of gastroenterology*, 45 (12), 1272-1282.
89. Uenishi T., Kubo S, Yamamoto T et al (2003). Cytokeratin 19 expression in hepatocellular carcinoma predicts early postoperative recurrence. *Cancer science*, 94 (10), 851-857.
90. Trần Anh Đức và Trần Ngọc Minh (2013). *Nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học và một số dấu ấn miễn dịch thường gặp trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan*, Khóa luận tốt nghiệp Bác sĩ đa khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
91. Trịnh Xuân Hùng (2019). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, mô bệnh học và hóa mô miễn dịch ung thư biểu mô tế bào gan có huyết khối tĩnh mạch cửa*, Luận văn Tiến sĩ y học, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.
92. Lương Khắc Hiến (2008). *Nghiên cứu giải phẫu bệnh ung thư biểu mô tế bào gan nguyên phát được phẫu thuật tại bệnh viện Việt Đức*, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội.
93. Lê Minh Huy (2012). *Nghiên cứu giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch các yếu tố tiên lượng của Carcinoma tế bào gan*, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.
94. Anthony P, Vogel C, Barker L (1973). Liver cell dysplasia: a premalignant condition. *Journal of clinical pathology*, 26 (3), 217-223.
95. Watanabe S, Okita K, Harada T et al (1983). Morphologic studies of the liver cell dysplasia. *Cancer*, 51 (12), 2197-2205.
96. Kojiro M (2000). Premalignant lesions of hepatocellular carcinoma: pathologic viewpoint. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 7 (6), 535-541.

97. Sakurai M (1978). Liver cell dysplasia and hepatitis B surface and core antigens in cirrhosis and hepatocellular carcinoma of autopsy cases. *Pathology International*, 28 (5), 705-719.
98. Cohen C, Berson S. D (1986). Liver cell dysplasia in normal, cirrhotic, and hepatocellular carcinoma patients. *Cancer*, 57 (8), 1535-1538.
99. Cohen C, Berson S, Geddes E (1979). Liver cell dysplasia. Association with hepatocellular carcinoma, cirrhosis and hepatitis B antigen carrier status. *Cancer*, 44 (5), 1671-1676.
100. Terminology of nodular hepatocellular lesions. International Working Party. *Hepatology* 1995; 22: 983-993.
101. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology* 2009; 49: 658- 664.
102. Young Nyun Park et al (2007). Ductular reaction is helpful in defining early stromal invasion, small hepatocellular Carcinoms, and dysplastic nodules. *Cancer*, 109 (5), 915-923.
103. Xu J, Sun Y, Chu C et al (2016). Utility of an immunostaining panel for diagnosis of hepatocellular carcinoma in fine needle-aspiration biopsies of the liver. *Int J Clin Exp Pathol*, 9 (8), 7878-7888.
104. Parkin D, Whelan S, Ferlay J et al (2002). Cancer incidence in five continents Vol. VIII. *IARC scientific publications*, 155,
105. Trần Văn Hợp và Đào Văn Long (2000). Kết quả chẩn đoán tế bào học ung thư biểu mô gan bằng chọc hút kim nhỏ dưới hướng dẫn của siêu âm trong 10 năm (1990 - 1999). *Tạp chí thông tin Y Dược*, 80-88.
106. Tung N. D (2010). Cancer incidence in the population of ThuaThien Hue province, Vietnam, 2001-2009. *J Sci, Hue University*, 27 (61), 511-517.

107. Đào Việt Hằng (2016). *Đánh giá kết quả điều trị ung thư biểu mô tế bào gan bằng đốt nhiệt sóng cao tần với các loại kim lựa chọn theo kích thước khối u*, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
108. Joe W. Guruprasad P (2014). Epidemiology of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *GI Epidemiology Diseases and Clinical Methodology*, 2nd edition, Wiley Blackwell.
109. Bosch F. X, Ribes J., Díaz M et al (2004). Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*, 127 (5), S5-S16.
110. Lee W-C, Jeng L-B, Chen M-F (2000). Hepatectomy for hepatitis B-, hepatitis C-, and dual hepatitis B-and C-related hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 7 (3), 265-269.
111. Sherman, Morris (2005). Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors, and screening. *Seminars in liver disease*, Thieme Medical Publishers, Inc, 333 Seventh Avenue, NewYork, 25, 143-154.
112. El-Serag H. B, Rudolph K. L (2007). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 132 (7), 2557-2576.
113. Le Ngoan T, Lua N. T. and Hang L (2007). Cancer mortality pattern in Viet Nam. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 8 (4), 535-538.
114. Thái Doãn Kỳ (2015). *Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư biểu mô tế bào gan bằng phương pháp tắc mạch hóa dầu sử dụng hạt vi cầu Dc Beads*, Viện nghiên cứu khoa học y dược lâm sàng 108.
115. Yu M-W, Chen C-J (1993). Elevated serum testosterone levels and risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer research*, 53 (4), 790-794.
116. Yu M-W, Yang Y-C, Yang S-Y et al (2001). Hormonal markers and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study among men. *Journal of the National Cancer Institute*, 93 (21), 1644-1651.

117. JB Rooks, HW Ory, KG Ishak et al (1979). Epidemiology of hepatocellular adenoma. The role of oral contraceptive use, *Journal of the American Medical Association*, 242 (7), 644–648.
118. SM Van Aalten, J Verheij, T Terkivatan, RS Dwarkasing, RA De Man, JNM Ijzermans (2011) Validation of a liver adenoma classification system in a tertiary referral centre: implications for clinical practice, *Journal of Hepatology*, 55(1), 120–125.
119. H Lin, J Van Den Esschert, C Liu, TM Van Gulik (2011) Systematic review of hepatocellular adenoma in China and other regions, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26(1), 28–35
120. Kim H, Jang J-J, Kim D-S et al (2013). Clinicopathological analysis of hepatocellular adenoma according to new bordeaux classification: report of eight korean cases. *Korean journal of pathology*, 47 (5), 411.
121. Sasaki M. and Nakanuma Y (2012). Overview of hepatocellular adenoma in Japan. *International journal of hepatology*, 2012,
122. Thung S. N (2013). Changing epidemiology of hepatocellular adenoma in the United States: review of the literature. *International journal of hepatology*, 2013,
123. Nguyễn Sào Trung, Nguyễn Quang Tuấn và Nguyễn Văn Thắng (2004). Ung thư gan nguyên phát: Đặc điểm giải phẫu bệnh-lâm sàng. *Y học Thành phố Hồ Chí Minh, số đặc biệt chuyên đề ung bướu học*, 8 (4), 45-51.
124. Đào Văn Long (2009). Đánh giá kết quả điều trị ung thư gan bằng phương pháp đốt nhiệt sóng cao tần. *Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài cấp bộ*, Bộ Y tế, Hà Nội.
125. Lê Thị My (2014). *Nghiên cứu hiệu quả bước đầu điều trị ung thư biểu mô tế bào gan bằng đốt sóng cao tần tại khoa chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Bạch Mai*, Luận văn Bác sỹ nội trú, Bệnh viện Bạch Mai.

126. Văn Tần, Hoàng Danh Tấn (2000). Đặc điểm chẩn đoán, điều trị và tiên lượng ung thư gan nguyên phát tại Bệnh viện Bình Dân. *Hội thảo các biện pháp mới trong chẩn đoán và điều trị u gan*, TP Hồ Chí Minh tháng 9/2000.
127. Lauwers G. Y, Terris B, Balis U. J et al (2002). Prognostic histologic indicators of curatively resected hepatocellular carcinomas: a multi-institutional analysis of 425 patients with definition of a histologic prognostic index. *The American journal of surgical pathology*, 26 (1), 25-34.
128. Cillo U, Bassanello M, Vitale A et al (2004). The critical issue of hepatocellular carcinoma prognostic classification: which is the best tool available? *Journal of hepatology*, 40 (1), 124-131.
129. França A. V. C, Elias Júnior J, Lima B. L. G. d et al (2004). Diagnosis, staging and treatment of hepatocellular carcinoma. *Brazilian journal of medical and biological research*, 37 (11), 1689-1705
130. Wong N, Lai P, Lee S-W et al (1999). Assessment of genetic changes in hepatocellular carcinoma by comparative genomic hybridization analysis: relationship to disease stage, tumor size, and cirrhosis. *The American journal of pathology*, 154 (1), 37-43.
131. Lu X-Y, Xi T, Lau W-Y et al (2011). Pathobiological features of small hepatocellular carcinoma: correlation between tumor size and biological behavior. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 137 (4), 567-575.
132. Pawlik T. M, Delman K. A, Vauthey J. N et al (2005). Tumor size predicts vascular invasion and histologic grade: implications for selection of surgical treatment for hepatocellular carcinoma. *Liver Transplantation*, 11 (9), 1086-1092.

133. Wu G, Wu J, Wang B et al (2018). Importance of tumor size at diagnosis as a prognostic factor for hepatocellular carcinoma survival: a population-based study. *Cancer Management and Research*, 10, 4401.
134. Edge S. B, Byrd D. R, Carducci M. A et al (2010). *AJCC cancer staging manual*, Springer New York.
135. Vauthey J. N, Klimstra D, Blumgart L (1995). A simplified staging system for hepatocellular carcinomas. *Gastroenterology*, 108 (2), 617-618.
136. Minagawa M, Ikai I, Matsuyama Y et al (2007). Staging of hepatocellular carcinoma: assessment of the Japanese TNM and AJCC/UICC TNM systems in a cohort of 13,772 patients in Japan. *Annals of surgery*, 245 (6), 909.
137. Zhang H, Yuan S-X, Dai S-Y et al (2014). Tumor size does not independently affect long-term survival after curative resection of solitary hepatocellular carcinoma without macroscopic vascular invasion. *World journal of surgery*, 38 (4), 947-957.
138. Varotti G, Ramacciato G, Ercolani G et al (2005). Comparison between the fifth and sixth editions of the AJCC/UICC TNM staging systems for hepatocellular carcinoma: multicentric study on 393 cirrhotic resected patients. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 31 (7), 760-767.
139. Hwang S, Lee Y-J, Kim K-H et al (2015). The impact of tumor size on long-term survival outcomes after resection of solitary hepatocellular carcinoma: single-institution experience with 2558 patients. *Journal of gastrointestinal surgery*, 19 (7), 1281-1290.
140. Huang W.-J, Jeng Y-M, Lai H-S et al (2015). Tumor size is a major determinant of prognosis of resected stage I hepatocellular carcinoma. *Langenbeck's archives of surgery*, 400 (6), 725-734.

141. Yang L-Y, Fang F, Ou D-P et al (2009). Solitary large hepatocellular carcinoma: a specific subtype of hepatocellular carcinoma with good outcome after hepatic resection. *Annals of surgery*, 249 (1), 118-123.
142. Kluger M. D, Salceda J. A, Laurent A et al (2015). Liver resection for hepatocellular carcinoma in 313 Western patients: tumor biology and underlying liver rather than tumor size drive prognosis. *Journal of hepatology*, 62 (5), 1131-1140.
143. Vũ Văn Khiên (2000). *Giá trị chẩn đoán theo dõi và tiên lượng ung thư biểu mô tế bào gan của Alpha-fetoprotein (AFP) và AFP có ái lực với Lectin*, Luận án Tiến sĩ Y học, Học viện Quân Y.
144. Bloomer J. R (1980). Serum alpha-fetoprotein in nonneoplastic liver diseases. *Digestive diseases and sciences*, 25 (4), 241-242.
145. Sugimoto M, Itsukaichi T, Ishii K et al (1987). Marked Increase in Serum α -Fetoprotein Level in Cirrhosis: A Case Report. *American Journal of Gastroenterology*, 82 (1),
146. Gao J, Shao Y, Xu Y et al (2005). Tight association of hepatocellular carcinoma with HBV infection in North China. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT*, 4 (1), 46-49.
147. Leung T. W, Tang A. M, Zee B et al (2002). Construction of the Chinese University Prognostic Index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, and the Cancer of the Liver Italian Program staging system: a study based on 926 patients. *Cancer*, 94 (6), 1760-1769.
148. Takayama T, Kosuge T, Yamazaki S et al (1990). Malignant transformation of adenomatous hyperplasia to hepatocellular carcinoma. *The Lancet*, 336 (8724), 1150-1153.

149. Chen P-J, Chen D-S (1999). Hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: molecular genetics and clinical perspectives. *Seminars in liver disease*, Thieme Medical Publishers, Inc., New York, 19, 253-262.
150. Holah N. S, El-Azab D. S, Aiad H. A et al (2015). Hepatocellular carcinoma in Egypt: epidemiological and histopathological properties. *Menoufia Medical Journal*, 28 (3), 718.
151. Goldman R, Ressom H. W, Abdel-Hamid M et al (2007). Candidate markers for the detection of hepatocellular carcinoma in low-molecular weight fraction of serum. *Carcinogenesis*, 28 (10), 2149-2153.
152. Park Y. N (2011). Update on precursor and early lesions of hepatocellular carcinomas. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 135 (6), 704-715.
153. Kobayashi M, Ikeda K, Hosaka T et al (2006). Dysplastic nodules frequently develop into hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis and cirrhosis. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 106 (3), 636-647.
154. Di Tommaso L, Sangiovanni A, Borzio M et al (2013). Advanced precancerous lesions in the liver. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 27 (2), 269-284.
155. Ng C, Chan S, Lee W et al (2011). Hepatocarcinogenesis of regenerative and dysplastic nodules in Chinese patients. *Hong Kong Med J*, 17 (1), 11-19.
156. Borzio M, Fargion S, Borzio F et al (2003). Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. *Journal of hepatology*, 39 (2), 208-214.

157. Michael T, Yoh Z, Yeh M. M (2018). Tumors of the Liver *AFIP Atlas of Tumor Pathology*, American Registry of Pathology,
158. Brent K. Larson et al (2017). A Limited Immunohistochemical Panel Can Subtype Hepatocellular Adenomas for Routine Practice. *American Journal of Clinical Pathology*, 147 (6), 557–570.
159. Margolskee E, Bao F, de Gonzalez A. K et al (2016). Hepatocellular adenoma classification: a comparative evaluation of immunohistochemistry and targeted mutational analysis. *Diagnostic pathology*, 11 (1), 27.
160. Ishak K. G, Goodman Z. D, Stocker J. T (2001). Hepatocellular Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts, 3th, AFIP, 199-244.
161. Đào Thành Chương (2002). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả sớm của điều trị phẫu thuật ung thư gan nguyên phát*, Trường Đại học Y Hà Nội.
162. Ishak K, Goodman Z, J S (2001). Hepatocellular carcinoma. In *Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts, 3th Edition, AFIP*, 199 - 244.
163. Đỗ Thị Tính (1998). *Nghiên cứu yếu tố nguy cơ Aflatoxin và một số yếu tố nguy cơ khác ở bệnh nhân ung thư gan nguyên phát*, Luận án Tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
164. Nguyễn Đình Duyên (2001). *Nghiên cứu giá trị của siêu âm trong đánh giá tổn thương của u gan ác tính nguyên phát có đối chiếu kết quả phẫu thuật và mô bệnh học*, Luận văn thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
165. Qin L-X, Tang Z-Y, Ma Z-C et al (2002). P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. *World journal of gastroenterology*, 8 (3), 459.

166. Nagano Y, Shimada H, Takeda K et al (2008). Predictive factors of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma larger than 5 cm. *World journal of surgery*, 32 (10), 2218-2222.
167. Higaki T, Yamazaki S, Moriguchi M et al (2017). Indication for surgical resection in patients with hepatocellular carcinoma with major vascular invasion. *Bioscience trends*,
168. Pesi B, Ferrero A, Grazi G. L et al (2015). Liver resection with thrombectomy as a treatment of hepatocellular carcinoma with major vascular invasion: results from a retrospective multicentric study. *The American Journal of Surgery*, 210 (1), 35-44.
169. Li S-H, Guo Z-X, Xiao C-Z et al (2013). Risk factors for early and late intrahepatic recurrence in patients with single hepatocellular carcinoma without macrovascular invasion after curative resection. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14 (8), 4759-4763.
170. Pusceddu C, Melis L, Ballicu N et al (2018). Percutaneous microwave ablation under CT guidance for hepatocellular carcinoma: A single institutional experience. *Journal of gastrointestinal cancer*, 49 (3), 295-301.
171. Rodríguez-Perálvarez M, Luong T, Andreana L et al (2013). A systematic review of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic variability. *Annals of surgical oncology*, 20 (1), 325-339.
172. Sumie S, Kuromatsu R, Okuda K et al (2008). Microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma and its predictable clinicopathological factors. *Annals of surgical oncology*, 15 (5), 1375-1382.
173. Nzeako U. C, Goodman Z. D, Ishak K. G (1996). Hepatocellular carcinoma in cirrhotic and noncirrhotic livers: a clinico-histopathologic study of 804 North American patients. *American journal of clinical pathology*, 105 (1), 65-75.

174. Ng I, Chung L, Tsang S et al (1994). p53 gene mutation spectrum in hepatocellular carcinomas in Hong Kong Chinese. *Oncogene*, 9 (3), 985-990.
175. Wayne J. D, Lauwers G. Y, Ikai I et al (2002). Preoperative predictors of survival after resection of small hepatocellular carcinomas. *Annals of surgery*, 235 (5), 722.
176. Saul S (1999). Masses of the liver. *Diagnostic surgical pathology*, 3rd edition, 2, 1553-1620.
177. 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. *Scientific reports*, 7 (1), 12870.
178. Lalisang A, Jeo W, Moenadjat Y et al (2018). Correlation Between Serum Level of Alpha-Fetoprotein and Histological Differentiation Grade of Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Physics: Conference Series*, 1073 (3), 032056.
179. Chandarana H, Robinson E, Hajdu C. H et al (2011). Microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: is it predictable with pretransplant MRI? *American Journal of Roentgenology*, 196 (5), 1083-1089.
180. Esnaola N. F, Lauwers G. Y, Mirza N. Q et al (2002). Predictors of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma who are candidates for orthotopic liver transplantation. *Journal of gastrointestinal surgery*, 6 (2), 224-232.
181. Porcell AI, De Young BR, DM P et al (2000). Immunohistochemical analysis of hepatocellular and adenocarcinoma in the liver: MOC31 compares favorably with other putative markers. *Modern pathology*, 13 (7), 773.

182. Craig J. R, Peters R. L, Edmondson H. A et al (1980). Fibrolamellar carcinoma of the liver: A tumor of adolescents and young adults with distinctive clinico-pathologic features. *Cancer*, 46 (2), 372-379.
183. Soreide O, Czemiak A, Bradpiece H et al (1986). Characteristics of fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a study of nine cases and a review of the literature. *The American Journal of Surgery*, 151 (4), 518-523.
184. Rebouissou S, Imbeaud S, Balabaud C et al (2007). HNF1 α inactivation promotes lipogenesis in human hepatocellular adenoma independently of SREBP-1 and carbohydrate-response element-binding protein (ChREBP) activation. *Journal of Biological Chemistry*, 282 (19), 14437-14446.
185. Bioulac-Sage P, Laumonier H, Couchy G et al (2009). Hepatocellular adenoma management and phenotypic classification: the Bordeaux experience. *Hepatology*, 50 (2), 481-489.
186. Zucman-Rossi J, Jeannot E, Van Nhieu J. T et al (2006). Genotype–phenotype correlation in hepatocellular adenoma: new classification and relationship with HCC. *Hepatology*, 43 (3), 515-524.
187. Sasaki M, Yoneda N, Kitamura S et al (2011). Characterization of hepatocellular adenoma based on the phenotypic classification: the Kanazawa experience. *Hepatology research*, 41 (10), 982-988.
188. Van Aalten S. M, Verheij J, Terkivatan T et al (2011). Validation of a liver adenoma classification system in a tertiary referral centre: implications for clinical practice. *Journal of hepatology*, 55 (1), 120-125.
189. Evason K. J, Grenert J. P, Ferrell L. D et al (2013). Atypical hepatocellular adenoma–like neoplasms with β -catenin activation show cytogenetic alterations similar to well-differentiated hepatocellular carcinomas. *Human pathology*, 44 (5), 750-758.

190. Micchelli S. T, Vivekanandan P, Boitnott J. K et al (2008). Malignant transformation of hepatic adenomas. *Modern pathology*, 21 (4), 491.
191. Iyer A, Robert M. E, Bifulco C. B et al (2008). Different cytokeratin and neuronal cell adhesion molecule staining patterns in focal nodular hyperplasia and hepatic adenoma and their significance. *Human pathology*, 39 (9), 1370-1377.
192. Balabaud C, Al-Rabih W. R, Chen P.-J et al (2013). Focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma around the world viewed through the scope of the immunopathological classification.
193. Choi W.-T, Ramachandran R, Kakar S (2017). Immunohistochemical approach for the diagnosis of a liver mass on small biopsy specimens. *Human pathology*, 63, 1-13.
194. Anthony W. H. Chan, Alastair D. Burt (2011). Liver cell dysplasia and early hepatocellular carcinoma, *Mini-Symposium Liver Pathology*, 17 (12), 512-520
195. Ohmori S, Shiraki K, Sugimoto K (2001) High expression of CD34-positive sinusoidal endothelial cells is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with HCV-associated chronic liver diseases. *Hum Pathol* 32:1363–1370
196. Fengmei Wang (2012). Differential Diagnostic Value of GPC3-CD34 Combined Staining in Small Liver Nodules With Diameter Less Than 3 cm, *American Journal of Clinical Pathology*, 137(6), 937–945.
197. Di Tommaso L, Destro A, Seok J. Y et al (2009). The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, 50 (4), 746-754.
198. Thuy B Nguyen, Massimo Roncalli, Luca Di Tommaso (2016). Combined use of heat-shock protein 70 and glutamine synthetase is useful in the distinction of typical hepatocellular adenoma from atypical hepatocellular neoplasms and well differentiated hepatocellular carcinoma. *Morden Pathology*, 29, 283-292.

199. Maeda T, Kajiyama K, Adachi E et al (1996). The expression of cytokeratin 7,19 and 20 in primary and metastatic carcinoma of the liver. *Mod Patho*, 9(9), 901-909
200. Najla Al – Muhannadi et al (2011) [Differential diagnosis of malignant epithelial tumours in the liver: an immunohistochemical study on liver biopsy material. *Annals of Hepatology*, 10(4), 508-515
201. Yuan RH, Jeng YM, Hu RH et al (2011). Role of p53 and β -catenin mutations in conjunction with CK19 expression on early tumor recurrence and prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Surg*, 15, 321–329.
202. Kim synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma. *Gut*. 61(10):1481–1487.
205. Uthamalingam P, Das A, Behra A, Kalra N, Chawla Y (2018). Diagnostic Value of Glypican3, Heat Shock Protein 70 and Glutamine Synthetase in Hepatocellular Carcinoma Arising in Cirrhotic and Non-Cirrhotic Livers, *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 8(2): 173–180.

PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN NGHIÊN CỨU

Code: Ngày ST: Loại ST: ST kim ☐ Mổ ☐

Tên bệnh nhân: Tuổi: Giới:

1. Ung thư biểu mô tế bào gan

1.1. Chỉ số AFP huyết thanh:

<20 mg/l ☐ 20-200mg/l ☐ >200-400 mg/l ☐ >400 mg/l ☐

1.2. Viêm gan B: có ☐ không ☐

1.3. Viêm gan C: có ☐ không ☐

1.4. Viêm gan đồng nhiễm: có ☐ không ☐

1.5. Số lượng u: 1 khối ☐ nhiều khối: ☐

1.6. Kích thước u: < 2cm ☐ 2-5cm ☐ > 5cm ☐

1.7. Típ mô bệnh học: Bè ☐ tuyến nang ☐ đặc ☐

1.8. Típ đặc biệt:

UTBMTBG thể xơ lát ☐

UTBMTBG xơ cứng, ☐

UTBM không biệt hóa, ☐

UTBM giống u lympho biểu mô ☐

UTBMTBG dạng sarcom ☐

Khác ☐

1.9. Biến thể tế bào của HCC:

Tế bào điển hình ☐

Đa hình thái ☐

Tế bào sáng ☐

Biến đổi mỡ ☐

Chế tiết mật ☐

Thể hyaline ☐

Thể nhạt màu ☐

Thể vùi kính mờ ☐

1.10. Độ mô học theo TCYTTG 2010: Cao ☐ Vừa ☐

Kém ☐ Không ☐

1.11. Tình trạng xâm nhập mạch: có ☐ không ☐

1.12. Tình trạng gan xơ: Có ☐ không ☐

Mức độ xơ: F1 ☐, F2 ☐, F3 ☐, F4 ☐

1.13. Sự bộc lộ HMMD:

Heppar1: dương ☐ âm ☐

Arginase 1: dương ☐ âm ☐

CD34: dương ☐ âm ☐

GP3: dương ☐ âm ☐

GS: dương ☐ âm ☐

HSP70: dương ☐ âm ☐

CK7: dương ☐ âm ☐

CK19: dương ☐ âm ☐

PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN NGHIÊN CỨU

Code: Ngày ST: Loại ST: ST kim ☐ Mổ ☐

Tên bệnh nhân: Tuổi: Giới:

2. U tuyến:

2.1. Típ HHCA ☐, típ BHCA ☐, típ IHCA ☐, típ UHCA ☐

Giãn xoang mạch: có ☐ không ☐

Viêm: có ☐ không ☐

Phản ứng ống: có ☐ không ☐

Nhiễm mỡ: có ☐ không ☐

Tế bào Không điển hình: có ☐ không ☐

Động mạch đơn độc: có ☐ không ☐

Xoang máu có ☐ không ☐

L-FABP: dương ☐ âm ☐ CRP (SAA): dương ☐ âm ☐

GS: dương ☐ âm ☐ Beta Catenin: ☐ âm ☐

3. Nốt loạn sản:

Độ thấp: ☐

Độ cao: ☐

Nốt trong nốt: có ☐ không ☐

Giả tuyến nang: có ☐ không ☐

Mật độ tế bào: < x1.5 ☐ 1.5-2x ☐

Nhân không điển hình: có ☐ không ☐

Phản ứng ống: có ☐ không ☐

Nhiễm mỡ: có ☐ không ☐

Mao mạch hoá: có ☐ không ☐

Khoảng cửa trong nốt: có ☐ không ☐

Động mạch đơn độc: có ☐ không ☐ Xâm nhập: có ☐ không ☐

Độ dày bề tb: 2 hàng ☐ 2-3 hàng ☐

Heppar1: dương ☐ âm ☐ Arginase 1: dương ☐ âm ☐

CD34: dương ☐ âm ☐ GP3: dương ☐ âm ☐

GS: dương ☐ âm ☐ HSP70: dương ☐ âm ☐

CK7: dương ☐ âm ☐ CK19: dương ☐ âm ☐