

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

ĐINH THỊ HIỀN

**NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA VITAMIN C LÊN SỰ
TĂNG TRƯỞNG, CHU KỲ TẾ BÀO VÀ APOPTOSIS
CỦA TẾ BÀO UNG THƯ DẠ DÀY**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN - 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐINH THỊ HIỀN

**NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA VITAMIN C LÊN SỰ
TĂNG TRƯỞNG, CHU KỲ TẾ BÀO VÀ APOPTOSIS
CỦA TẾ BÀO UNG THƯ DẠ DÀY**

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học

Mã số: 8 42 02 01

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Người hướng dẫn khoa học: TS. Trương Phúc Hưng

THÁI NGUYÊN - 2019

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình học tập và thực hiện đề tài luận văn tại khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên, em đã nhận được sự giúp đỡ nhiệt tình của các Thầy, Cô giáo, các anh chị kỹ thuật viên và cán bộ trong khoa và trường.

Đầu tiên, em xin trân trọng cảm ơn TS. Trương Phúc Hưng đã hướng dẫn em hoàn thành luận văn này.

Để có được kết quả học tập như ngày hôm nay, em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Thầy giáo - TS. Nguyễn Phú Hùng – Trưởng khoa Công nghệ sinh học, Thầy luôn dành thời gian để hướng dẫn, chỉ bảo em trong quá trình thực hiện luận văn này.

Xin trân trọng cảm ơn ThS. Ngô Thu Hà đã giúp đỡ em trong các nghiên cứu thực nghiệm tại phòng Thí nghiệm của Khoa. Xin chân thành cảm ơn các thầy cô bộ phận Sau đại học của Nhà trường đã tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình em học tập tại trường.

Em cũng xin cảm ơn Ban lãnh đạo và quý đồng nghiệp khoa Cận lâm sàng – Trung tâm Y tế huyện Đầm Hà, tới người thân trong gia đình và những người bạn đã luôn gắn bó với em, là nguồn động lực cho em tiếp tục phấn đấu trong học tập, rất mong được nhận sự đóng góp quý báu của các thầy cô giáo, các nhà khoa học cùng các bạn bè đồng nghiệp.

Thái Nguyên, ngày 22 tháng 11 năm 2019

Học viên

Đinh Thị Hiền

LỜI CAM ĐOAN

Mọi kết quả thu được trong luận văn không chỉnh sửa, sao hoặc chép từ các nghiên cứu khác. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc. Tất cả các số liệu trong luận văn này chưa được công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Nếu có điều gì sai trái tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Thái Nguyên, ngày 22 tháng 11 năm 2019

Người viết cam đoan

Đinh Thị Hiền

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

5-hmC	: 5- hydroxymethycytosine
AA	: Axit Ascoricic
CA	: Carbohydrate antigen
CEA	: Carcinoembryonic antigen
DHA	: Dehydroascorbic acid
GLUT	: Vận chuyển hexose
GSH	: Glutathione
H. pylori	: Helicobacter pylori
MNNG	: <i>N</i> -methyl- <i>N</i> '-nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidine
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NOC	: Hợp chất N-nitroso gây ung thư
RBC	: Số lượng hồng cầu trong máu
ROS	: Loại oxy phản ứng
SVCT	: Vận chuyển natri – vitamin C
UTBM	: Ung thư biểu mô
UTDD	: Ung thư dạ dày
CSC	: Tế bào gốc ung thư

MỤC LỤC

<u>LỜI CẢM ƠN</u>	i
<u>LỜI CAM ĐOAN</u>	ii
<u>DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT</u>	iii
<u>MỤC LỤC</u>	iv
<u>DANH MỤC BẢNG</u>	vi
<u>DANH MỤC HÌNH</u>	vii
<u>MỞ ĐẦU</u>	1
<u>1. Đặt vấn đề</u>	1
<u>2. Mục tiêu nghiên cứu</u>	2
<u>3. Nội dung nghiên cứu</u>	2
<u>1.1. Dịch tễ học ung thư da dày</u>	3
<u>1.1.1. Tình hình ung thư da dày trên thế giới và trong nước</u>	3
<u>1.1.2. Yếu tố nguy cơ của bệnh lý và nguyên nhân phát sinh ung thư da dày</u>	4
<u>1.1.3. Phân loại học của ung thư da dày</u>	6
<u>1.2. Vitamin C</u>	10
<u>1.2.1. Cấu trúc của vitamin C</u>	10
<u>1.2.2. Hấp thu và chuyển hóa vitamin C ở đường ruột</u>	11
<u>1.2.3. Chức năng sinh lý của vitamin C trong cơ thể</u>	13
<u>1.2.4. Vitamin C trong điều trị ung thư</u>	14
<u>1.2.5. Các nghiên cứu về vai trò của vitamin C trong ung thư da dày</u>	16
<u>1.3. Chu kỳ tế bào</u>	18
<u>1.3.1 Khái niệm chu kỳ tế bào</u>	18
<u>1.3.2 Các giai đoạn trong chu kỳ tế bào</u>	18
<u>1.3.3 Vai trò của chu kỳ tế bào trong việc hình thành khối u</u>	21
<u>1.4 Apoptosis</u>	22
<u>1.4.1 Khái niệm apoptosis</u>	22
<u>1.4.2 Vai trò của apoptosis trong ung thư</u>	23
<u>CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</u>	25
<u>2.1. Vật liệu nghiên cứu</u>	25

<u>2.2. Địa điểm và thời gian</u>	28
<u>2.3. Phương pháp nghiên cứu</u>	28
<u>2.3.1. Nuôi cấy tế bào ung thư 2D và xử lý với Vitamin C</u>	28
<u>2.3.3. Phân tích chu kỳ tế bào và apoptosis bằng Flow cytometry</u>	30
<u>2.3.4. Phân tích khả năng di cư của tế bào</u>	30
<u>2.3.5. Nuôi cấy tumorsphere</u>	30
<u>2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu</u>	31
<u>3.1. Tác động của vitamin C lên sự tăng sinh tế bào</u>	32
<u>3.2. Tác động của vitamin C lên kiểu hình tế bào</u>	34
<u>3.3. Ảnh hưởng của vitamin C lên chu kỳ tế bào</u>	35
<u>3.4. Ảnh hưởng của vitamin C lên apoptosis của tế bào</u>	36
<u>3.5. Ảnh hưởng của vitamin C lên sự di trú của tế bào</u>	38
<u>3.6. Ảnh hưởng của vitamin C lên sự hình thành tumorsphere của tế bào</u>	40
<u>TÀI LIỆU THAM KHẢO</u>	43

DANH MỤC BẢNG

<u>Bảng 1.1. Bảng phân loại các dạng Ung thư biểu mô</u>	8
<u>Bảng 1.2. Đặc điểm của ung thư tế bào biểu mô da dày ở các giai đoạn khác nhau</u>	10

DANH MỤC HÌNH

<u>Hình 1.1. Ung thư biểu mô tuyến biệt hóa trung bình và kém ở mô da dày [51]</u>	7
<u>Hình 1.2. Ung thư tế bào dạng nhẵn ở mô da dày</u>	8
<u>Hình 1.3. Acid L – ascorbic, acid ascorbate (C₆H₈O₆)</u>	11
<u>Hình 1.4. Chuyển hoá vitamin C [13]</u>	12
<u>Hình 1.5. Trao đổi chất của vitamin C [24]</u>	14
<u>Hình 1.6. Tổng quan về chu kỳ tế bào</u>	19
<u>Hình 1.7. Tế bào bình thường (trên) và tế bào đang chết rụng (dưới)</u>	23
<u>Hình 2.1. Hệ thống kính hiển vi soi ngược</u>	26
<u>Hình 2.2. Tủ ẩm CO₂ Memmert – Đức + hệ thống cấp CO₂</u>	26
<u>Hình 2.3. Hệ thống phân tích dòng chảy tế bào</u>	27
<u>Hình 2.4. Buồng thao tác an toàn sinh học cấp II Thermo Fisher Scientific - Mỹ</u>	27
<u>Hình 3.1. Ảnh hưởng của vitamin C lên sự tăng sinh tế bào (n = 3, *p <0,05 so với đối chứng)</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Hình 3.2 Ảnh hưởng của vitamin C lên hình thái tế bào</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Hình 3.3. Ảnh hưởng của vitamin C lên chu kỳ tế bào (n = 3,*p <0,05. A) sự thay đổi về chu kỳ tế bào (tỷ lệ %) khi xử lý tế bào với vitamin C ở nồng độ khác nhau. B) hình ảnh minh họa ảnh hưởng của vitamin C lên chu kỳ tế bào</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Hình 3.4. Ảnh hưởng của vitamin C lên apoptosis của tế bào [60]</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Hình 3.5. Ảnh hưởng của vitamin C lên sự di trú của tế bào. Thang đo 50µm</u>	Error! Bookmark not defined.
<u>Hình 3.6 Ảnh hưởng của vitamin C lên sự hình thành tumorsphere của tế bào ung thư da dày MKN45 sau 48h nuôi cấy. Thang đo 50µm.</u>	Error! Bookmark not defined.

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Ung thư dạ dày là một loại là dạng ung thư phổ biến thứ 5 và là nguyên nhân gây tử vong thứ 3 trong nhóm ung thư. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư dạ dày gây ra 783.000 cái chết trên toàn thế giới vào năm 2018. Tỷ lệ mắc ung thư dạ dày ở nam giới thường gấp 1,5 -2 lần so với nữ giới.

Việt Nam thuộc nhóm 20 quốc gia có tỷ lệ mắc ung thư dạ dày cao nhất thế giới, với tỷ lệ mắc mới khoảng 16,1 trường hợp trên 100 nghìn dân [15]. Khoảng trên 70% trường hợp ung thư dạ dày được phát hiện ở giai đoạn muộn đã dẫn tới tỷ lệ tử vong cao. Bệnh thường không có những triệu chứng rõ ràng ở giai đoạn đầu và khi xuất hiện những triệu chứng cụ thể thì thường đã có dấu hiệu di căn đến các bộ phận khác của cơ thể.

Trong điều trị ung thư nói chung và ung thư dạ dày nói riêng thì 3 phương pháp phổ biến nhất đang được sử dụng gồm: Phẫu thuật, hóa trị liệu và xạ trị liệu. Hóa trị liệu là sử dụng thuốc chống ung thư có độc tính cao, nhắm vào các tế bào phân chia. Các thuốc được sử dụng trong hóa trị liệu truyền thống hiện nay gây chết không chọn lọc cho các tế bào và do thường có nhiều tác dụng phụ cho cơ thể, ảnh hưởng đến chức năng của hệ thống miễn dịch, hệ thống tiêu hóa, gan, thận...làm suy giảm nhanh chóng sức khỏe của người bệnh sau các chu kỳ điều trị. Mặt khác, điều trị bằng phương pháp hóa trị phổ biến như hiện nay thường dẫn tới tỷ lệ tái phát khối u sau điều trị là rất cao do một số tế bào có khả năng kháng thuốc.

Một trong những cách tiếp cận hiện đại trong nghiên cứu liệu pháp điều trị ung thư là hướng tới các hợp chất, các thuốc có trong tự nhiên ít gây độc cho cơ thể và có tác dụng điều trị chọn lọc, ít nguy cơ tạo ra kháng thuốc. Vitamin là nhóm các phân tử hữu cơ rất cần thiết cho cơ thể sinh vật dù với lượng rất nhỏ. Vitamin C tham gia vào nhiều phản ứng trong cơ thể, hoạt động như một