

# NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA GEN P53 VỚI MÔ BỆNH HỌC UNG THƯ BIỂU MÔ DẠ DÀY

TRẦN MINH ĐẠO

## TÓM TẮT:

Nghiên cứu về hoá mô miễn dịch ở 112 bệnh nhân bị ung thư biểu mô tuyến dạ dày được phẫu thuật và làm xét nghiệm hoá mô miễn dịch xác định mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53, rút ra nhận xét:

- Có 55,36% số bệnh nhân âm tính và 44,64% dương tính.

- Biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 tăng cao ở những bệnh nhân có tổn thương mô bệnh học là ung thư không biệt hoá và các dạng khác (75%), ung thư biệt hoá kém (55,12%).

Từ khóa: ung thư biểu mô tuyến dạ dày, gen ức chế ung thư p53

## ĐẶT VẤN ĐỀ.

Ung thư dạ dày (UTDD) là loại ung thư hay gặp nhất trong các loại ung thư của đường tiêu hoá. Phương pháp điều trị UTDD duy nhất có hiệu quả là phẫu thuật. Kết quả sau mổ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó yếu tố chẩn đoán sớm là quan trọng nhất.

Hoá mô miễn dịch là một trong những kỹ thuật được dùng không chỉ nhằm xác định một mô có hoặc không có kháng nguyên đặc hiệu, mà còn để xác định tình trạng kháng nguyên của những tế bào đặc hiệu trong mô và vị trí của kháng nguyên trong tế bào. Nhờ đó có thể xác định dòng tế bào, tính chất sinh học của quần thể tế bào trong cùng một dòng và chức năng khác nhau của các loại tế bào. Nghiên cứu y văn thế giới thấy đã có rất nhiều công trình nghiên cứu hoá mô miễn dịch về gen p53, nhằm đánh giá khách quan khả năng phát triển và tiên lượng của UTDD. Ở nước ta, việc ứng dụng kỹ thuật hoá mô miễn dịch để chẩn đoán mô bệnh học và tiên lượng bệnh UTDD đã được tiến hành ở một số cơ sở điều trị lớn.

Những năm gần đây, Bệnh viện 19-8 (Bộ Công an) đã kết hợp với một số cơ sở khác nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật hoá mô miễn dịch, nghiên cứu mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 trong ung thư biểu mô dạ dày, nhằm mục đích: Xác định mối liên hệ giữa mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 với mô bệnh học trong ung thư biểu mô dạ dày.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.:

### 1. Đối tượng nghiên cứu:

112 bệnh nhân (BN) được điều trị phẫu thuật UTDD tại khoa Ngoại Bệnh viện 19-8 (Bộ Công an), từ tháng 1/2005 – 6/2007

### 2. Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu theo phương pháp tiến cứu có chủ định và không so sánh.

#### 2.1 Tiêu chuẩn chọn BN nghiên cứu:

Chỉ chọn các BN có các tiêu chuẩn sau đưa vào diện nghiên cứu:

- Được chẩn đoán trước mổ là UTDD, sau mổ được kiểm chứng bằng kết quả giải phẫu bệnh.

- Được mổ theo quy trình kỹ thuật mổ UTDD tại Bệnh viện 19-8.

- Tất cả các hạch limpho đều được đánh số theo quy định của Hội ung thư Nhật Bản.

#### 2.2 Tiêu chuẩn loại trừ:

Loại khỏi diện nghiên cứu những BN sau:

- Được chẩn đoán là UTDD, nhưng kết quả giải phẫu bệnh âm tính.

- Tuy là UTDD, nhưng khi mổ không cắt đoạn dạ dày được.

- Hồ sơ và kết quả xét nghiệm bị thất lạc.

### 3. Nghiên cứu giải phẫu bệnh:

- Nghiên cứu giải phẫu bệnh dựa vào kết quả đọc tiêu bản tại khoa Giải phẫu bệnh Bệnh viện 19-8 và Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh Bệnh viện K Hà Nội. Các kết quả đọc tại Bệnh viện 19-8 đều được kiểm chứng lại ở Bệnh viện K Hà Nội.

- Phân loại mô bệnh học theo bảng phân loại của Tổ chức Y tế thế giới (2000). Khi phân nhóm để khảo sát mối liên quan với mức độ biểu hiện của p53 với mô bệnh học, chia nhóm như sau:

- Nhóm I (type ruột) gồm có: biệt hoá cao, biệt hoá vừa, biệt hoá thấp.

- Nhóm II (type lan toả) gồm có: cácтип còn lại theo bảng phân loại về mô bệnh học của Tổ chức Y tế thế giới (2000).

### 4. Nghiên cứu hoá mô miễn dịch:

Nghiên cứu về hoá mô miễn dịch tại labo của Bệnh viện K Hà Nội theo một quy trình riêng biệt. Đánh giá mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 theo tiêu chuẩn của Bộ môn Giải phẫu bệnh - Đại học Y Hà Nội.

- Âm tính: không phản ứng hay nhuộm dưới 5% tế bào u.

- Dương tính: nhuộm trên 5% tế bào u và chia ra các mức sau: dương tính (+): 5-20%, dương tính (++) : 21-40%, dương tính (+++) : > 40%.

Các kết quả được tính thành số trung bình quan sát hay tỷ lệ %, so sánh các kết quả theo thuật toán thống kê y học. Xử lý số liệu trên chương trình SPSS.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ NHẬN XÉT.

### 1. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của BN:

#### 1.1 Giới:

Giới	Số lượng BN	Tỷ lệ %
Nam	75	67,0
Nữ	37	33,0
Cộng	112	100

Tỷ lệ BN nam bị UTDD nhiều hơn nữ (67% và 33%), tỷ lệ nam/nữ là 2,03/1.

**1.2 Tuổi :**

Nhóm tuổi	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
<40 tuổi	8	7,15
40- 59 tuổi	60	53,57
≥ 60 tuổi	44	39,28
Tổng số	112	100

BN thấp tuổi nhất là 27 tuổi. Nhóm tuổi thường gặp nhất là từ 40-60 tuổi (53,57%).

**1.3 Nhóm máu:**

Nhóm máu	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
A	29	25,90
B	37	33,03
AB	6	5,36
O	40	35,71
Tổng số	112	100

BN có nhóm máu O chiếm tỷ lệ cao nhất (35,71%). BN có nhóm máu AB chỉ chiếm 5,36%.

**1.4 Hình thái tổn thương đại thể :**

Hình thái tổn thương	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
Thể u	29	25,98
Thể loét	77	68,75
Thể thâm nhiễm	6	5,36
Tổng số	112	100

Tổn thương thể loét chiếm tỷ lệ cao nhất với 68,75% số BN.

**1.5 Kích thước tổn thương:**

Kích thước tổn thương	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
< 4cm	35	31,25
≥ 4cm	77	68,75
Tổng số	112	100

Tổn thương có kích thước trên 4 cm chiếm tỷ lệ cao nhất (68,75 %).

**1.6 Kết quả mô bệnh học :**

Phân loại theo mô bệnh học	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
Ung thư biểu mô tuyến nhú	2	1,79
Ung thư biểu mô tuyến:		
. Biệt hoá cao	17	15,17
. Biệt hoá thấp	34	30,35
Ung thư biểu mô tuyến nhầy	5	4,46
Ung thư biểu mô tế bào nhẵn	7	6,25
Ung thư biểu mô tuyến – vảy	0	0
Ung thư biểu mô tế bào vảy	0	0
Ung thư biểu mô tế bào nhỏ	0	0
Ung thư biểu mô không biệt hoá	2	1,79
Ung thư biểu mô các dạng khác:		
. Ung thư biểu mô tế bào sáng	0	0
. Ung thư biểu mô tuỷ...	0	0
Tổng số	112	100

**1.7 Xét nghiệm hoá mô miễn dịch:**

Xét nghiệm hoá mô miễn dịch	Số lượng BN	Tỷ lệ (%)
≤ 20%	3	2,68
21-40 %	6	5,36
> 40%	41	36,60
Âm tính	62	55,36
Tổng số	112	100

Xét nghiệm hoá mô miễn dịch dương tính chiếm

tỷ lệ 44,64%.

**1.8 Liên quan giữa mức độ biệt hoá tế bào với mức độ biểu hiện gen p53:**

Độ BH	Biệt hoá kém		Biệt hoá vừa		Biệt hoá cao		Không biệt hoá & khác	
	SL	Tỷ lệ %	SL	Tỷ lệ %	SL	Tỷ lệ %	SL	Tỷ lệ %
Gen p53								
≤ 20%	0	0	1	2,94	1	5,80	1	6,25
21-40%	3	6,67	1	2,94	1	5,80	1	6,25
> 40%	20	44,45	10	29,40	1	5,80	10	62,5
Âm tính	22	44,88	22	64,7	14	82,35	4	25
Cộng	45	100	34	100	17	100	16	100

Biểu hiện gen ức chế ung thư p53 tăng cao ở những BN có typ tế bào ung thư không biệt hoá và các dạng khác (75%) và typ tế bào ung thư kém biệt hoá chiếm 51,12%; âm tính ở những bệnh nhân có typ tế bào ung thư biệt hoá cao chiếm 82,35%. Sự khác nhau này có ý nghĩa với p < 0,01.

**BÀN LUẬN.**

**1. Về gen p53 và khả năng biểu hiện gen ức chế ung thư p53:**

Nghiên cứu y văn thấy có nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh gen p53 là một gen ức chế khối u nằm trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 17. Đột biến gen p53 là một trong những bất thường di truyền, thường gặp ở người. Thông qua sản phẩm protein của nó, p53 đóng vai trò của một liên kết AND và điều hoà sao mã, tác động tới các gen kiểm soát quá trình đi vào pha S trong chu kỳ tế bào. Đột biến gen p53 hoặc bất hoạt chức năng với các gen p53 nguyên vẹn phổ biến ở nhiều ung thư của người và ở một số tình trạng tiền ung thư, phản ánh sự mất điều hoà của quá trình phát triển bình thường. Để đánh giá sự đột biến gen p53, phải tiến hành kỹ thuật xác định trật tự AND, là phương pháp đánh giá chính xác nhất. Tuy nhiên, kỹ thuật này cần phải có thời gian và trang thiết bị, kỹ thuật phức tạp.

Protein p53 bị đột biến là một protein có tính ổn định về mặt sinh học và có thời gian bán huỷ dài hơn so với protein p53 không bị đột biến. Đặc tính này của protein p53 cho phép phát hiện protein p53 bị đột biến bằng phương pháp hoá mô miễn dịch, sử dụng kháng thể đơn dòng. Protein p53 có tác dụng như một chất ức chế khối u.

Trong những năm gần đây, các nhà khoa học đang tập trung nghiên cứu về vai trò của p53 trong lâm sàng, để điều trị UTDD và nghiên cứu mối tương quan giữa mức độ biểu hiện của p53 và sự phát triển của khối u, sự tiến triển, hậu quả và việc vạch ra một chiến lược điều trị đặc biệt, nhằm phục hồi chức năng bình thường của p53. Chris và Efeyan (2007) đã sử dụng chuột làm mô hình thí nghiệm, trong đó hoạt động của phân tử p53 có thể được "tắt" hoặc "mở" để xác định xem đáp ứng với AND bị tổn thương thông qua các phân tử p53 cấp có thể bảo vệ tế bào không bị ung thư hoá không? Kết quả là đã chứng minh được vai trò trung tâm của phân tử p53 trong ức chế khối u, là nhằm điều chỉnh đáp ứng với phân tử AND bị tổn thương. Nếu thiếu phân tử p53, khi bị tổn thương thì bản thân tế bào không phải trải qua quá trình ngừng hoạt động hay bị chết do mất chức năng điều

chính của phân tử p53. Chính vì vậy, sau khi bị tổn thương các tế bào bị thiếu p53 này sẽ chấp nhận đột biến ở các gen ung thư hay các gen ức chế khối u, sau đó các tế bào này sẽ gia tăng sự phát triển không ngừng và tạo nên khối u.

Theo Richard J (1990), và Rutz HP (1994), hoạt động của protein p53 được điều hoà do nhiều yếu tố, trong đó chủ yếu do Mdm2 (murine double minute 2). Trong tế bào bình thường protein p53 tăng, dẫn tới tăng lượng protein Mdm2 và tích tụ Mdm2 trong nhân, protein Mdm2 gắn vào p53 tạo thành phức hợp p53-Mdm2, dẫn xuất p53 ra bào tương, p53 bị phân huỷ trong nhân và bào tương. Sự phân huỷ này làm mất chức năng của protein p53. Lượng Mdm2 tự nó cũng bị giảm, protein p53 và Mdm2 tương tác với nhau hình thành vòng phản hồi tự điều hoà.

## 2. Về biểu hiện gen ức chế ung thư p53 với UTDD:

Từ kết quả nghiên cứu, Kim JP và CS (1994) cho rằng tần số đột biến gen p53 tăng dần theo các bước của quá trình ung thư biểu mô tuyến dạ dày: từ di sản ruột (10-38%), tổn thương u tuyến (27-30%), loạn sản nặng (64%) và ung thư dạ dày tiến triển (60-74%) (4). Tuy nhiên vẫn còn nhiều tranh cãi về thời điểm và vai trò của đột biến gen p53 trong quá trình chuyển dạng ung thư, cũng như cách thức biểu hiện của p53.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, biểu hiện gen ức chế ung thư p53 dương tính trong ung thư biểu mô tuyến dạ dày chiếm tỷ lệ 44,60%, với các mức độ biểu hiện như sau:  $\leq 20\%$  là 2,68%; 21-40% là 5,36%;  $> 40\%$  là 36,60%. Trong khi đó, một nghiên cứu của Nguyễn Văn Chủ [2007] thấy tỷ lệ biểu hiện gen ức chế ung thư p53 là 44,90%. Vì ở nước ta chưa có nhiều nghiên cứu về biểu hiện gen ức chế p53 trong UTDD, nên chúng tôi có quá ít số liệu để so sánh. Nghiên cứu của Lee KE [2003] với 841 trường hợp ung thư dạ dày được nghiên cứu về biểu hiện gen ức chế ung thư p53, tỷ lệ dương tính chiếm 43%. Nghiên cứu của Jang WI [1993] cho kết quả dương tính chỉ ở mức 34%, của Bani-Hani KE [2005] là 45%. Một số tác giả khác cũng có những nhận xét tương tự.

So sánh kết quả biểu hiện p53 với một số tác giả:

Tác giả	Kết quả p53 (%)
Liu XP (Nhật Bản)	42,10
Okuyama T (Nhật Bản)	37,90
Shiota G (Nhật Bản)	32,00
Tamura G (Nhật Bản)	64,00
Jang WI (Hàn Quốc)	34,00
Baldus SE (CHLB Đức)	45,00
Lee KE (Hàn Quốc)	43,00
Palka I (Hungary)	48,30
Nguyễn Văn Chủ (Đại học Y- Hà Nội)	44,90
Trần Minh Đạo (Bệnh viện 19-8)	44,64

Như vậy, kết quả của chúng tôi so với kết quả của các tác giả trong và ngoài nước có giá trị tương đương.

## 3. Về mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của gen p53 với mô học:

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Chủ (2007), Bani-Hani KE (2005) và một số tác giả khác đều có chung nhận xét: mức độ biểu hiện p53 dương tính cao ở những bệnh nhân ung thư biểu mô không biệt hoá, kém biệt hoá, ở những type khác nhau ít gặp của tế bào và tổn thương ung thư giai đoạn muộn. Trong khi đó, Song HS. [2005] đã khảo sát riêng về các tỳ ống (tubular type) và tỳ tế bào nhẫn (signet ring cell type) cho kết quả như sau: p53 (+) ở tỳ tế bào hình ống là 44,2%, còn ở tỳ tế bào hình nhẫn p53 chỉ (+) ở 26,0%.

Kết quả của chúng tôi cho thấy, có 12/16 BN tỳ không biệt hoá và các dạng khác và 23/45 BN ung thư biểu mô biệt hoá kém có kết quả hoá mô miễn dịch p53 (+) chiếm tỷ lệ lần lượt là 75% và 55,12%, ung thư biểu mô biệt hoá vừa và cao có tỷ lệ p53 (+) theo thứ tự là: 35,30% và 17,45%. Như vậy, mức độ biểu hiện của p53 trong UTDD có sự liên quan tỷ lệ nghịch với các độ biệt hoá tế bào, tức là độ biệt hoá càng cao thì mức độ biểu hiện p53 càng thấp và có tiên lượng xấu khi mức độ biểu hiện của p53 (+) cao. So sánh sự khác nhau giữa các nhóm có ý nghĩa so sánh với  $p < 0,01$

Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước và trên thế giới như Nguyễn Văn Chủ [2007]; Golusinski W. [1994] và Sundblad A [1994]...

## KẾT LUẬN.

Qua nghiên cứu 112 BN ung thư biểu mô tuyến dạ dày được phẫu thuật và làm xét nghiệm hoá mô miễn dịch, để xác định mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

- Mức độ biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 đối với ung thư biểu mô tuyến dạ dày là: âm tính: 55,36% và dương tính: 44,64%
- Biểu hiện của gen ức chế ung thư p53 tăng cao ở những bệnh nhân có tổn thương mô bệnh học là: ung thư không biệt hoá + các dạng khác và biệt hoá kém, với tỷ lệ 75% và 55,12%. Mức độ biểu hiện của gen p53 âm tính gặp ở những bệnh nhân có tổn thương mô học là ung thư biệt hoá cao.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Chủ và CS: Nghiên cứu sự bộc lộ CK7, CK20, K1-67, p53 và giai đoạn lâm sàng của ung thư dạ dày – Y học thành phố Hồ Chí Minh, 11,3, 61- 67, 2007.
- Hứa Thị Ngọc Hà và CS: ứng dụng kỹ thuật hoá mô miễn dịch trong chẩn đoán giải phẫu bệnh.
- Jang W L, Yang VI, Lee CI: Immunohistochemical detection of p53 protein C- Erb-2 protein, epidermal growth factor receptor protein and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinomaq.
- Richard 91990): Gen p53.
- Rutz HP (1994): Cancer therapy meets p53.