

- adenocarcinoma. *Respirology*. 2013;18(4):734–735. doi:10.1111/resp.12083
3. Lee SM, Bae SK, Jung SJ, Kim CK. FDG uptake in non-small cell lung cancer is not an independent predictor of EGFR or KRAS mutation status: a retrospective analysis of 206 patients. *Clin Nucl Med*. 2015;40(12):950–958.
  4. Na II, Byun BH, Kim KM, et al. 18F-FDG uptake and EGFR mutations in patients with non-small cell lung cancer: a single-institution retrospective analysis. *Lung Cancer*. 2010;67(1):76–80.
  5. Guan J, Xiao NJ, Chen M, et al. 18F-FDG uptake for prediction EGFR mutation status in non-small cell lung cancer. *Medicine*. 2016;95(30):e4421.
  6. Cho A, Hur J, Moon YW, et al. Correlation between EGFR gene mutation, cytologic tumor markers, 18F-FDG uptake in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2016;16:224.
  7. Takamochi K, Mogushi K, Kawaji H, et al. Correlation of EGFR or KRAS mutation status with 18F-FDG uptake on PET-CT scan in lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175622.
  8. Lv Z, Fan J, Xu J, et al. Value of (18)F-FDG PET/CT for predicting EGFR mutations and positive ALK expression in patients with non-small cell lung cancer: a retrospective analysis of 849 Chinese patients. *Eur J Nucl Med Mol I*. 2018;45(5):735–750. doi:10.1007/s00259-017-3885
  9. Ko KH, Hsu HH, Huang TW, et al. Value of (1)(8)F-FDG uptake on PET/CT and CEA level to predict epidermal growth factor receptor mutations in pulmonary adenocarcinoma. *Eur J Nucl Med Mol I*. 2014;41(10):1889–1897. doi:10.1007/s00259-014-2802
  10. Kanmaz ZD, Aras G, Tuncay E, et al. Contribution of (1)(8) Fluorodeoxyglucose positron emission tomography uptake and TTF-1 expression in the evaluation of the EGFR mutation in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Biomark*. 2016;16(3):489–498. doi:10.3233/CBM-160588

## TÌM HIỂU TỶ LỆ, LOẠI ĐỘT BIẾN GEN EGFR VÀ TỶ LỆ BỘC LỘ DẤU ẤN P53, KI67 Ở NGƯỜI BỆNH UNG THƯ BIỂU MÔ VẢY MŨI XOANG

Nguyễn Thế Đạt\*, Lê Trung Thọ\*\*, Nguyễn Đình Phúc\*\*

### TÓM TẮT

Tìm hiểu tỷ lệ, loại đột biến gen EGFR và tỷ lệ bộc lộ dấu ấn P53, Ki67 ở người bệnh ung thư biểu mô vảy mũi xoang nhằm mục tiêu: Xác định tỷ lệ, loại đột biến gen EGFR và sự bộc lộ các dấu ấn P53 và Ki67 ở người bệnh ung thư biểu mô vảy mũi xoang. Đối tượng nghiên cứu gồm 48 trường hợp ung thư biểu mô vảy mũi xoang có chẩn đoán mô bệnh học, có kết quả xét nghiệm đột biến gen EGFR trên máy Colbas 4800 và kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch dấu ấn P53 và Ki67 trên máy nhuộm tự động Venatana (tất cả đều có chứng âm và dương, nhận định kết quả theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất). Kết quả: Tỷ lệ đột biến chung toàn bộ 4 exon là 56,3%. Đột biến điểm L861Q (exon 21) chiếm nhiều nhất (25,1%) và đột biến exon 20 (T79M) chiếm ít nhất (8,3%). Có 95% các trường hợp nghiên cứu bộc lộ dấu ấn P53, trong đó mức độ bộc lộ vừa và mạnh (++ và +++) nhiều nhất và bằng nhau (39,6%). 100% các trường hợp bộc lộ dấu ấn Ki67, trong đó bộc lộ mức độ vừa (++) chiếm nhiều nhất (58,4%), mức độ bộc lộ yếu chỉ có 10,4%. Ung thư biểu mô vảy không sừng hóa có tỷ lệ đột biến gen EGFR cao hơn nhóm sừng hóa nhưng tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn P53 và ki67 không liên quan đến typ ung thư sừng hóa hay không sừng hóa. Các kết quả nghiên cứu đã được so sánh và bàn luận.

**Từ khóa:** Ung thư biểu mô vảy mũi xoang, đột biến EGFR, dấu ấn P53, Ki67.

### SUMMARY

#### STUDYING THE RATE AND TYPE OF EGFR GENE MUTATIONS AND THE EXPRESSION RATE OF P53 AND KI67 MARKERS IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Studying the rate and type of EGFR gene mutations and the expression rate of P53 and Ki67 markers in patients with squamous cell carcinoma. **Objectives:** Determine the rate and type of EGFR mutations and the expression of P53 markers and Ki67 in patients with squamous cell carcinoma of the sinonasal. The study subjects included 48 cases of squamous cell carcinoma with histopathological diagnosis, EGFR mutation test results on Colbas 4800 and immunohistochemical staining results of P53 and Ki67 markers on the machine Venatana automatic dyeing. **Results:** The overall mutation rate of all 4 exons was 56.3%. Point mutation L861Q (exon 21) accounted for the most (25.1%) and mutation exon 20 (T79M) accounted for the least (8.3%). There are 95% of research cases that reveal the P53 marker, in which the moderate and strong expression levels (++ and +++) are the most and equal (39.6%). 100% of the cases revealed Ki67 imprint, in which moderate expression (++) accounted for the most (58.4%), weak expression level was only 10.4%. Non-keratinizing squamous cell carcinoma has a higher rate of EGFR mutation than the keratinized group, but the rate of expression of markers P53 and ki67 is not related to the type of keratinized or non-keratinized cancer. The study results were compared and discussed. **Keywords:** Nasal squamous cell carcinoma, EGFR mutation, P53 marker, Ki67 marker.

\*Bệnh viện Đa khoa Tỉnh Phú Thọ

\*\*Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thế Đạt

Email: nguyenthedattmh@gmail.com

Ngày nhận bài: 14.9.2021

Ngày phản biên khoa học: 3.11.2021

Ngày duyệt bài: 16.11.2021

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư biểu mô vảy đầu cổ (trong đó có ung thư biểu mô vảy của mũi xoang- UTBMVMX) là bệnh ung thư thường gặp thứ sáu trên toàn thế giới<sup>1</sup>. Hầu hết các UTBMVMX gặp ở các xoang hàm, khoảng 20 - 30% trong khoang mũi và khoảng 10 - 15% trong các xoang sàng, xoang trán hoặc bướm rất hiếm (5%)<sup>1</sup>. Ung thư mũi xoang có nhiều typ mô học khác nhau, tuy nhiên typ ung thư biểu mô vảy (UTBMV) thường gặp nhất, khoảng 60-80%<sup>2</sup>. Điều trị UTBMVMX đòi hỏi một cách tiếp cận đa ngành liên quan đến phẫu thuật, xạ trị, có hay không có hóa trị hoặc điều trị nhắm trúng đích. Đích phân tử được quan tâm chính là EGFR. EGFR là một thành viên thụ thể bề mặt tế bào thuộc họ ErbB. Kích hoạt EGFR dẫn đến phosphoryl hóa qua trung gian tyrosine kinase hoạt động xuôi dòng thông qua các con đường PI3K, PTEN/ AKT, MAPK, ERK, và Jak / STAT và thúc đẩy sự tăng sinh, xâm lấn, tăng sinh mạch máu. Đột biến miền TK chủ yếu xảy ra giữa exon 18 và 21. Những đột biến này có liên quan chặt với tiên lượng bệnh, khả năng sử dụng phương pháp điều trị nhắm đích phân tử<sup>3</sup>. Bên cạnh các nghiên cứu về gen EGFR, những nghiên cứu về các dấu ấn tăng sinh u hoặc ức chế u như Ki67, P53, P21, P27... cũng cho thấy đây là những chỉ điểm u quan trọng giúp đánh giá tiên lượng bệnh chính xác hơn. Các nghiên cứu về đột biến gen EGFR bằng phương pháp PCR cũng như tìm hiểu sự bộc lộ một số dấu ấn miễn dịch Ki67, P53 của ung thư biểu mô vảy mũi xoang không nhiều. Vì những lý do trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Xác định tỷ lệ, loại đột biến gen EGFR và sự bộc lộ các dấu ấn P53 và Ki67 ở người bệnh ung thư biểu mô vảy mũi xoang.*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** Gồm 48 bệnh nhân được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học là UTBMVMX, có kết quả xét nghiệm đột biến gen EGFR và kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch dấu ấn P53 và Ki67 tại Bệnh viện Tai Mũi Họng TƯ, khoa GPB – bệnh viện Phổi TƯ và trung tâm Gen Protein Trường Đại học Y Hà Nội từ 09/2014- 5/2020, không phân biệt tuổi, giới.

- **Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Bệnh nhân có ung thư biểu mô vảy nguyên phát tại vùng mũi xoang, có kết quả xét nghiệm đột biến gen EGFR và kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch dấu ấn p53 và Ki67.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** Không thỏa mãn bất kỳ một tiêu chuẩn chọn mẫu nào nêu trên.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Cỡ mẫu và chọn mẫu:** Chọn mẫu có chủ đích trong khoảng thời gian nghiên cứu.

- **Các biến số:**

+ **Typ mô bệnh học:** Các thứ typ, biến thể và độ mô học của UTBMV theo phân loại mô học của TCYTTG năm 2017 [4], bao gồm: UTBMV sừng hóa/UTBMV không sừng hóa/UTBMV tế bào hình thoi.

+ **Tỷ lệ và mức độ bộc lộ các dấu ấn p53 và Ki67**

+ **Đột biến:** Phát hiện các đột biến của gen EGFR từ exon 18-21

- **Các bước tiến hành**

+ **Thu thập các thông tin:** Tuổi, giới, vị trí u theo hồ sơ bệnh án.

+ **Thực hiện xét nghiệm mô bệnh học theo quy trình thường quy và nhuộm hóa mô miễn dịch dấu ấn p53, ki67 tại Khoa Giải phẫu bệnh- Bệnh viện Phổi Trung ương.**

+ **Nhuộm hóa mô miễn dịch bằng máy nhuộm tự động Ventana, kit P53 và Ki67 của cùng hãng và nhuộm theo quy trình tự động. Đánh giá kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch của p53 và Ki67: Bắt màu ở nhân tế bào**

+ **Âm tính:** Nhân tế bào u không bắt màu nâu.

+ **Dương tính (+):** Khi có nhiều hơn 10% - 30% tế bào u có nhân bắt màu nâu.

+ **Dương tính (++):** Khi có > 30% tế bào u có nhân bắt màu nâu.

+ **Dương tính (+++):** Khi có nhiều hơn 30% tế bào u bắt màu nâu đậm.

+ **Xét nghiệm gen**

\***Phân lập DNA bộ gen:** DNA bộ gen được phân lập bằng cách sử dụng bộ mô QPEamp DNA FFPE (Qiagen, Manchester, UK) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

\***Định lượng DNA:** Nồng độ của DNA chiết xuất được xác định bằng cách sử dụng máy đo quang phổ Nanodrop (Thermo Fisher Khoa học, Waltham, MA, Hoa Kỳ). Số lượng DNA trung bình quan sát được là 95,1ng/PhaL và độ tinh khiết là 2,1.

\***Xét nghiệm kiểm soát:** Theo bộ công cụ phản ứng chuỗi polymerase Therascreen® EGFR -Rotor-Gene Q (RGQ) (Qiagen, Hilden, Đức), tổng DNA có thể khuếch đại cho mỗi mẫu được đánh giá trên PCR thời gian thực của RGQ (Qiagen) kiểm soát hỗn hợp phản ứng. Bộ PCR PCR Therascreen EGFR (Qiagen) phát hiện tổng cộng 29 đột biến soma cụ thể của exon 18 - 21 của gen EGFR sử dụng cả công nghệ ARMS và Scorpion.

- Thông kê, phân tích: Các kết quả được phân loại là dương tính hoặc âm tính đối với sự bộc lộ các dấu ấn miễn dịch P53 và Ki67, tỷ lệ đột biến

gen EGFR tại mỗi exon. Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê thông thường với phần mềm SPSS 20.0.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Tỷ lệ các thứ typ và biến thể của UTBMVMX

**Bảng 3.1. Tỷ lệ các thứ typ mô học và độ mô học**

	Thứ typ		Độ mô học		
	Sùng hóa	Không sùng hóa	I	II	III
Số lượng	29	19	13	28	7
Tỷ lệ %	60,4	39,6	27,1	58,4	14,5

**Nhận xét:** +Typ ung thư biểu mô vảy sùng hóa chiếm nhiều nhất (60,4%)

+ Độ mô học II chiếm nhiều nhất (58,4%), độ mô học III là ít nhất (chỉ 14,5%).

#### 3.2. Tỷ lệ đột biến gen EGFR

**Bảng 3.2. Tỷ lệ đột biến gen EGFR**

	Đột biến chung		Tỷ lệ đột biến tại các exon			
	Có	Không	18	19	20 (T790M)	21 (L861Q)
Số lượng	27	21	5	7	4	11
Tỷ lệ %	56,2	43,8	10,4	14,6	8,3	22,9

**Nhận xét:** + Tỷ lệ đột biến chung toàn bộ 4 exon là 56,3%.

+ Đột biến điểm L861Q (exon 21) chiếm nhiều nhất (25,1%)

+ Đột biến exon 20 (T79M) chiếm ít nhất (8,3%).

#### 3.3. Tỷ lệ bộc lộ dấu ấn P53 và Ki67

**Bảng 3.3. Tỷ lệ bộc lộ dấu ấn P53 và Ki67**

	P53				Ki67			
	Âm tính	+	++	+++	Âm tính	+	++	+++
Số lượng	5	5	19	19	0	5	28	15
Tỷ lệ %	10,4	10,4	39,6	39,6	0,0	10,4	58,4	31,2

**Nhận xét:** - Có 95% các trường hợp nghiên cứu bộc lộ dấu ấn P53, trong đó mức độ bộc lộ vừa và mạnh (++ và +++) nhiều nhất và bằng nhau (39,6%); 100% các trường hợp bộc lộ dấu ấn Ki67, trong đó bộc lộ mức độ vừa (++) chiếm nhiều nhất (58,4%), mức độ bộc lộ yếu chỉ có 10,4%.

#### 3.4. Tỷ lệ bộ đột biến gen EGFR theo typ mô bệnh học

**Bảng 3.4. Tỷ lệ đột biến EGFR theo typ mô bệnh học**

Typ MBH	Đột biến		Không đột biến		P-value
	n	%	n	%	
Ung thư biểu mô vảy sùng hóa	13	44,8	16	55,2	0,056
Ung thư biểu mô vảy không sùng hóa	14	73,7	05	26,3	0,0043

**Nhận xét:** Trong số 29 trường hợp ung thư vảy sùng hóa có 55,2% không có đột biến gen EGFR, chỉ có 44,8% các trường hợp có đột biến và tỷ lệ đột biến và không đột biến không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,056$ ). Trong số 19 trường hợp ung thư vảy không sùng hóa, có 73,7% trường hợp có đột biến và có sự khác biệt có ý nghĩa với nhóm không đột biến ( $p=0,0043$ ).

#### Bảng 3.5. Tỷ lệ bộc lộ dấu ấn p53 theo typ mô bệnh học

Typ MBH	Có bộc lộ		Không bộc lộ		P-value
	n	%	n	%	
Ung thư biểu mô vảy sùng hóa	24	82,7	5	17,3	0,0516
Ung thư biểu mô vảy không sùng hóa	19	100,0			

**Nhận xét:** Trong số 29 trường hợp ung thư vảy sùng hóa có 82,7% các trường hợp bộc lộ dấu ấn p53 và 100% các trường hợp ung thư vảy không sùng hóa bộc lộ dấu ấn này. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ bộc lộ dấu ấn p53 ở hai typ ung thư vảy sùng hóa và không sùng hóa.

#### Bảng 3.5. Tỷ lệ bộc lộ dấu ấn Ki67 theo typ mô bệnh học

Typ MBH	Bộc lộ +		Bộc lộ ++		Bộc lộ +++	
	n	%	n	%	n	%
Ung thư biểu mô vảy sùng hóa	3	10,3	21	72,5	5	17,2
Ung thư biểu mô vảy không sùng hóa	2	10,5	7	36,8	10	52,7
<b>P-value</b>		0,098		0,0039		0,00312

**Nhận xét:** Trong số 29 trường hợp ung thư vảy sừng hóa có mức độ bộc lộ vừa (++) là cao nhất (72,5%), ở 19 trường hợp ung thư biểu mô vảy không sừng hóa thì mức độ bộc lộ mạnh (+++) lại là cao nhất (52,7%). Có sự khác biệt có ý nghĩa về mức độ bộc lộ dấu ấn ki67 vừa và mạnh giữa typ sừng hóa và không sừng hóa ( $p < 0,05$ ).

#### IV. BÀN LUẬN

**4.1. Về tỷ lệ đột biến gen EGFR và sự bộc lộ các dấu ấn p53, Ki67 của ung thư biểu mô vảy mũi xoang:** EGFR được biểu hiện quá mức trong hầu hết các khối u ác tính biểu mô, bao gồm cả ung thư biểu mô vảy đầu cổ. Trong nghiên cứu 48 trường hợp UTBMVMX và được chia thành hai thứ typ; sừng hóa (60,4%) và không sừng hóa (39,6%) và độ mô học II chiếm nhiều nhất với 58,4%. Tất cả các trường hợp nghiên cứu được xét nghiệm đột biến gen và nhuộm hóa mô miễn dịch với hai dấu ấn: P53 và Ki67. Kết quả đột biến gen EGFR thu được: Tỷ lệ đột biến gen chung là 56,2%, trong đó tỷ lệ đột biến tại các exon lần lượt là 21 (22,9%), 19 (14,6%), 18 (10,4%) và ít nhất là exon 20 (8,3%). Theo Chittibabu Vatte<sup>3</sup> và CS, tần số đột biến của EGFR khác nhau tùy thuộc các nhóm dân tộc, từ 7% dân số Nhật Bản, 7,3% dân số châu Á, 15,7% dân số Hàn Quốc và 15,8% dân số Hy Lạp. Tần số đột biến cao nhất là 81,39% ở miền nam Ấn Độ và 57% đột biến EGFR trong dân số Saudi<sup>3</sup>. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả trên thế giới. Theo Eiichi Sasaki<sup>5</sup> và CS (2018) thì tỷ lệ đột biến EGFR của UTBMVMX là 30%<sup>5</sup>. Tuy nhiên theo Eiichi Sasaki<sup>6</sup> và Cs thì tỷ lệ đột biến gen EGFR lên đến 77%. Tuy nhiên, tần suất các đột biến tại 4 exon của nghiên cứu này khác với kết quả của chúng tôi. Các tác giả này cho biết phần lớn các đột biến EGFR xảy ra ở exon 20. Điều này trái ngược với nghiên cứu của chúng tôi (đột biến ở exon 21 là nhiều nhất, đột biến tại exon 20 là ít nhất). Điểm khác biệt này có thể liên quan đến tình trạng có hay không có nhiễm HPV. Một nghiên cứu khác của Christos Perisandis<sup>7</sup> (2017) cho biết tỷ lệ đột biến EGFR là 73%, tần suất giảm dần từ các exon 19-20-21 và 18. Trong nghiên cứu của Fernando López<sup>8</sup> và Cs, các tác giả cho biết sự gia tăng số lượng bản sao gen EGFR gặp ở 44% các trường hợp giải trình tự và 39% các trường hợp có biểu hiện quá mức của protein EGFR. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy tăng hoặc khuếch đại số lượng bản sao EGFR không tương quan với bất kỳ dữ liệu

bệnh học lâm sàng nào. Sự biểu hiện quá mức của EGFR thường xuyên hơn đáng kể ở những bệnh nhân có di căn hạch tại thời điểm chẩn đoán so với những bệnh nhân không có di căn hạch<sup>8</sup>. Kết quả nghiên cứu của Franchi và CS (2009) cho biết EGFR và HER2 được thể hiện quá mức trong khoảng 30% trường hợp. Nhìn chung, tỷ lệ bộc lộ quá mức gen EGFR là khác nhau trong các nghiên cứu đã công bố. Điều này có thể liên quan đến chủng tộc, giới, địa lý, vị trí u và tình trạng nhiễm HPV.

- Ki-67 là một kháng nguyên nhân được thể hiện trong tất cả các giai đoạn của chu kỳ tế bào trừ G0. Do đó, cấp độ Ki-67 phản ánh hoạt động phân chia tế bào, nó đã được chứng minh là hữu ích để đánh giá hoạt động tăng sinh của các loại tổn thương quá sản và ung thư, trong một số trường hợp đây còn có ý nghĩa của chẩn đoán phân biệt. P53 là một gen ức chế khối u nằm trên cánh tay ngắn của nhiễm sắc thể 17 ở vị trí 17p13.1. Thông thường, một thừa protein p53 ở cuối pha G1 của tế bào chu trình sẽ chặn sự tiến triển đến pha S, một trong những điểm kiểm tra tại đó chu trình tế bào có thể chậm lại để cho phép sửa chữa DNA bị hỏng hoặc dừng lại để gây ra apoptosis. Theo cách này, p53 ngăn chặn sự sinh sản và tăng sinh của các tế bào ung thư bất thường. Protein p53 bình thường và bất thường có thể được phát hiện bằng hóa mô miễn dịch. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 95% các trường hợp bộc lộ dấu ấn P53, trong đó mức độ bộc lộ vừa và mạnh (++ và +++) là nhiều nhất và bằng nhau (39,6%), 100% các trường hợp bộc lộ dấu ấn Ki67, trong đó bộc lộ mức độ vừa (++) chiếm nhiều nhất (58,4%), mức độ bộc lộ yếu chỉ có 10,4%. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự nhiều nghiên cứu khác. Theo Xiaowei Wang và CS (2017)<sup>9</sup> biểu hiện p53 được chứng minh là cao hơn đáng kể ở UTBMVMX so với u nhú lành tính và niêm mạc xoang bình thường. Phân tích phân nhóm dân tộc cho thấy biểu hiện p53 có mối liên quan đáng kể với UTBMVMX ở dân số châu Á và da trắng. Biểu hiện của p53 cao hơn đáng kể ở UTBMVMX ở các độ biệt hóa vừa và kém so với biệt hóa tốt. Reetta Holmila và CS (2010) đã phân tích đột biến gen TP53 trong 358 trường hợp ung thư mũi xoang có hoặc không có phơi nhiễm với bụi gỗ. Các tác giả thấy có mối liên quan đáng kể giữa phơi nhiễm bụi gỗ và typ ung thư biểu mô tuyến. Đột biến TP53 xảy ra trong tất cả các typ mô học, với tần suất tổng thể là 77%. Tình trạng dương tính đột biến TP53 là phổ biến nhất trong ung thư biểu mô tuyến, cao

hơn so với ung thư vảy. Nguy cơ đột biến TP53 tăng đáng kể liên quan đến thời gian. Hút thuốc không ảnh hưởng đến sự xuất hiện của đột biến TP53, tuy nhiên, nó được liên kết với nhiều đột biến khác ( $p = 0,03$ ). Nghiên cứu của Oncel S và CS (2011) cho biết bằng phương pháp nhuộm HMMD các dấu ấn p53, p63, p21, p27 và dấu ấn tăng sinh tế bào Ki-67 của 22 u nhú đảo ngược và 9 ung thư biểu mô tế bào vảy của mũi xoang, các tác giả thấy nồng độ p53 và p63 tăng đáng kể trong ung thư biểu mô tế bào vảy của mũi xoang so với u nhú đảo ngược. Tỷ lệ % số tế bào u bọc lộ Ki-67 được tìm thấy trong tỷ lệ ung thư biểu mô tế bào vảy cao hơn đáng kể so với u nhú đảo ngược, trong khi không xác định được sự thay đổi của p21 và p27. Với dấu ấn Ki67, các tác giả cũng thấy điểm tương tự như với sự bọc lộ P53 ở u nhú đảo ngược có loạn sản nặng, ung thư tại chỗ, ung thư xâm lấn so với mô mũi xoang bình thường. Ikegawa và CS đánh giá khả năng phản ứng Ki-67 và biểu hiện protein p53 trong khối u xoang cạnh mũi bao gồm polyp mũi, u nhú đảo ngược, u nhú đảo ngược biến đổi ung thư biểu mô vảy hoặc tổn thương loạn sản, các tác giả đã chỉ ra rằng chỉ số p53 và Ki67 của các vùng ung thư biểu mô vảy lớn hơn đáng kể so với các tổn thương khác. Nghiên cứu này đã chứng minh rõ ràng rằng Ki67 có giá trị khác biệt rõ ràng trong ung thư biểu mô vảy và u nhú đảo ngược.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trong số 29 trường hợp ung thư vảy sừng hóa có 82,7% các trường hợp bọc lộ dấu ấn p53 và 100% các trường hợp ung thư vảy không sừng hóa bọc lộ dấu ấn này. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ bọc lộ dấu ấn p53 ở hai typ ung thư vảy sừng hóa và không sừng hóa. Kết quả nghiên cứu này không tương đồng với kết quả nghiên cứu của Xiaowei Wang và CS (2017)<sup>9</sup>. Theo các tác giả thì biểu hiện p53 có mối liên quan đáng kể với UTBMVMX ở dân số châu Á và da trắng. Biểu hiện của p53 cao hơn đáng kể ở UTBMVMX ở các độ biệt hóa vừa và kém so với biệt hóa tốt. Ngược lại, khi nghiên cứu về tỷ lệ bọc lộ dấu ấn Ki67, chúng tôi thấy trong số 29 trường hợp ung thư vảy sừng hóa có mức độ bọc lộ vừa (++) là cao nhất (72,5%), ở 19 trường hợp ung thư biểu mô vảy không sừng hóa thì mức độ bọc lộ mạnh (+++) lại là cao nhất (52,7%). Có sự khác biệt có ý nghĩa về mức độ bọc lộ dấu ấn ki67 vừa và mạnh giữa typ sừng hóa và không sừng hóa. Theo chúng tôi thì đây là điều hợp lý và logic vì các ung thư càng kém biệt hóa thì tốc độ phân bào càng nhiều và do vậy, bọc lộ dấu ấn tăng sinh tế bào của tế

bào u càng nhiều. Tương tự như sự bọc lộ dấu ấn Ki67, trong số 29 trường hợp ung thư vảy sừng hóa có 55,2% không có đột biến gen EGFR, chỉ có 44,8% các trường hợp có đột biến và tỷ lệ đột biến và không đột biến không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,056$ ). Trong số 19 trường hợp ung thư vảy không sừng hóa, có 73,7% trường hợp có đột biến và có sự khác biệt có ý nghĩa với nhóm không đột biến. Nói cách khác, ung thư kém biệt hóa hơn thì tần suất đột biến cao hơn. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với cơ chế sinh bệnh học của ung thư và tương tự với các nghiên cứu của Chittibabu Vatte<sup>3</sup>, Aaron M. Udager<sup>6</sup>.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tỷ lệ đột biến gen EGFR bằng giải trình tự và tỷ lệ bọc lộ dấu ấn miễn dịch P53, Ki67 của 48 trường hợp ung thư biểu mô vảy mũi xoang, chúng tôi rút ra kết luận sau:

- Tỷ lệ đột biến chung toàn bộ 4 exon là 56,3%. Đột biến điểm L861Q (exon 21) chiếm nhiều nhất (25,1%) và đột biến exon 20 (T79M) chiếm ít nhất (8,3%).

- Có 95% các trường hợp nghiên cứu bọc lộ dấu ấn P53, trong đó mức độ bọc lộ vừa và mạnh (++) và (+++) nhiều nhất và bằng nhau (39,6%). 100% các trường hợp bọc lộ dấu ấn Ki67, trong đó bọc lộ mức độ vừa (++) chiếm nhiều nhất (58,4%), mức độ bọc lộ yếu chỉ có 10,4%.

- Ung thư biểu mô vảy không sừng hóa có tỷ lệ đột biến gen EGFR cao hơn nhóm sừng hóa nhưng tỷ lệ bọc lộ các dấu ấn P53 và ki67 không liên quan đến typ ung thư sừng hóa hay không sừng hóa.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dale, O. T., Pring, M., Davies, A., Leary, S., Ingarfield, K., Toms, S., Waterboer, T., Pawlita, M., Ness, A. R., & Thomas, S. J. (2019). Squamous cell carcinoma of the nasal cavity: A descriptive analysis of cases from the Head and Neck 5000 study. *Clinical Otolaryngology*.
2. Viran J.Ranasinghe, Vanessa C.Stubbs, Danielle C.Reny et al (2020). Predictors of nodal metastasis in sinonasal squamous cell carcinoma: A national cancer database analysis. *World Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. Volume 6, 137-141.
3. Chittibabu Vatte, Ali M Al Amri, Cyril Cyrus et al (2017). Tyrosine kinase domain mutations of EGFR gene in head and neck squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther*, 10: 1527–1533.
4. Adel K El Naggar, John KC Chan, Jennifer R Grandis, Takashi Takata et Pieter J Slootweg (2017). WHO Classification of Head and Neck Tumours. Lyon; 11-30.
5. Eiichi Sasaki, aisuke Nishikawa, Nobuhiro Hanai et

- al (2018). Sinonasal squamous cell carcinoma and EGFR mutations: a molecular footprint of a benign lesion. *Histopathology*. 73(6):953-962.
6. **Aaron M. Udager, Delphine C.M. Rolland, Jonathan B. McHugh, Bryan L. Betz et al (2018)**. High-Frequency Targetable EGFR Mutations in Sinonasal Squamous Cell Carcinomas Arising from Inverted Sinonasal Papilloma. *Cancer Resarch*. Volum 75, Issue 13, 68-92.
7. **Christos Perisandis (2017)**. Prevalence of EGFR Tyrosine Kinase Domain Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Cohort Study and Systematic Review. *In Vivo*; 31 (1): 23-34.
8. **Fernando López, José Luis Llorente, Carlos Martín Oviedo, Blanca Vivanco et al (2012)**. Gene amplification and protein overexpression of EGFR and ERBB2 in sinonasal squamous cell carcinoma. *Cancer*. Volume 118, Issue7, 1818-1826.
9. **Xiaowei Wang, Wei Lv, Fang Qi, Zhiqiang Gao et al (2017)**. Clinical effects of p53 overexpression in squamous cell carcinoma of the sinonasal tract: A systematic meta-analysis with PRISMA guidelines. *Medicine (Baltimore)*; 96(12): e6424

## XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN GÂY BỆNH THALASSEMIA Ở TRẺ EM TẠI BỆNH VIỆN TRẺ EM HẢI PHÒNG

Đỗ Thị Quỳnh Mai\*, Nguyễn Ngọc Sáng\*\*, Bạch Thị Như Quỳnh\*\*

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định đột biến gen gây bệnh thalassemia ở trẻ em. **Đối tượng:** 85 bệnh nhi Thalassemia điều trị tại bệnh viện Trẻ em Hải Phòng từ 01/01/2015 đến 31/12/2020. **Phương pháp:** Mô tả một loạt ca bệnh. **Kết quả:** Thể bệnh lâm sàng:  $\beta$ -thalassemia 56(65,9%),  $\alpha$ -thalassemia 27(31,8%) và 2 bệnh nhi mang cả 2 gen đột biến  $\alpha$  và  $\beta$ -thalassemia (2,3%). Ở bệnh nhi  $\alpha$ -thalassemia, phát hiện 4 dạng đột biến: SEA, 3.7, HbCs, C2deIT với tỉ lệ lần lượt là 23(56,1%); 4(9,8%); 11(26,8%); 3(7,3%). Có 23 bệnh nhi (85,2%) có tổn thương nhiều hơn 1 gen. Phát hiện được 6 loại đột biến  $\beta$ -thalassemia: CD26 33(39,8%), CD41/42 21(25,3%), CD71/72 15(18,1%), CD17 13(15,7%), CD95 3(3,6%) và IVS I-1 1(1,2%). Có 97,6% đột biến ở giai đoạn dịch mã RNA. Hình thành 15 kiểu gen phối hợp đột biến, biểu hiện thành 3 loại kiểu hình  $\beta^0\beta^0$  9(15,5%),  $\beta^0\beta^E$  26(44,8%) và  $\beta^0\beta$  21(39,7%). **Kết luận:** Thể bệnh  $\beta$ -thalassemia gặp nhiều hơn  $\alpha$ -thalassemia. Có 4 dạng đột biến ở bệnh nhi  $\alpha$ -thalassemia là SEA, 3.7, HbCs và C2deIT. Có 6 loại đột biến  $\beta$ -thalassemia gồm CD26, CD41/42, CD17, CD71/72, CD95 và IVS I-1 được biểu hiện thành 3 loại kiểu hình  $\beta^0\beta^0$ ,  $\beta^0\beta^E$  và  $\beta^0\beta$ .

**Từ khóa:** Thalassemia, MARMS-PCR, đột biến gen, alen.

### SUMMARY

#### IDENTIFYING GENETIC MUTATIONS CAUSING THALASSEMIA IN CHILDREN AT HAIPHONG CHILDREN'S HOSPITAL

**Objectives:** To identify gene mutations causing Thalassemia in children. **Subjects:** 85 patients

diagnosed with Thalassemia treated at Haiphong Children's Hospital from January 1, 2015, to December 31, 2020. **Methods:** Case-series study. **Results:** The clinical forms:  $\beta$ -thalassemia 56(65.9%),  $\alpha$ -thalassemia 27(31.8%) and 2 patients carrying both  $\alpha$  and  $\beta$ -thalassemia mutations (2.3%). In patients with  $\alpha$ -thalassemia, 4 mutant forms of SEA, 3.7, HbCs, C2deIT were detected with 23(56.1%), 4(9.8%), 11(26.8%), 3(7.3%) cases, respectively. There were 23 patients (85.2%) with damage on 1 gene. There were 6 mutant forms of  $\beta$ -thalassemia detected: CD26 mutations 33(39.8%), CD41/42 mutations 21(25.3%), CD71/72 mutations 15(18.1%), CD17 mutations 13(15.7%), CD95 mutations 3(3.6%), and IVS I-1 mutation 1(1.2%). There were 97.6% mutations at the RNA translation stage. There were 15 genotypes carrying mutations, expressed in 3 phenotypes  $\beta^0\beta^0$  in 9 patients (15.5%),  $\beta^0\beta$  in 21 patients (39.7%), and  $\beta^0\beta^E$  in 26 patients (44.8%). **Conclusions:**  $\beta$ -thalassemia patients experience more than  $\alpha$ -thalassemia. There were 4 types of mutations in  $\alpha$ -thalassemia patients, including SEA, 3.7, HbCs, and C2deIT. There were 6 types of  $\beta$ -thalassemia mutants, including CD26, CD41/42, CD17, CD71/72, CD95, and IVS I-1, which were expressed in 3 phenotypes  $\beta^0\beta^0$ ,  $\beta^0\beta^E$  and  $\beta^0\beta$ .

**Keywords:** Thalassemia, MARMS-PCR, gene mutation, alen.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thalassemia thuộc nhóm bệnh rối loạn tổng hợp huyết sắc tố, là bệnh di truyền phổ biến nhất trên thế giới với ước tính khoảng 7% dân số mang gen bệnh. Bệnh thalassemia gây thiếu máu tan máu mạn tính, nặng có thể dẫn tới tử vong nếu không được phát hiện sớm và điều trị kịp thời. Do đó, việc điều trị bệnh nhi Thalassemia là một gánh nặng rất lớn cho gia đình và xã hội.

Từ những hậu quả nặng nề mà bệnh gây nên, việc xác định các dạng đột biến phổ biến

\*Bệnh viện Trẻ Em Hải Phòng

\*\*Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

Chịu trách nhiệm chính: Bạch Thị Như Quỳnh

Email: btnquynh@hpmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 13.9.2021

Ngày phản biện khoa học: 5.11.2021

Ngày duyệt bài: 16.11.2021