

Phần A: GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tế bào đáy thuộc nhóm ung thư da không phải hắc tố và là loại u ác tính gồm những tế bào giống với những tế bào ở lớp đáy của thượng bì. Đây là loại ung thư da thường gặp nhất và tỷ lệ bệnh tăng nhanh hàng năm trên thế giới và kết quả điều trị sớm rất tốt. Các yếu tố nguy cơ góp phần vào sự hình thành và phát triển của UT tế bào đáy bao gồm tiếp xúc với tia cực tím, chủng tộc, tuổi tác, giới tính, nghề nghiệp và quá trình sửa chữa DNA. Các yếu tố nguy cơ góp phần vào sự hình thành và phát triển của UT tế bào đáy bao gồm tiếp xúc với tia cực tím, chủng tộc, tuổi tác, giới tính, nghề nghiệp và quá trình sửa chữa DNA. Trong đó tia cực tím trong ánh nắng mặt trời đóng vai trò quan trọng nhất trong cơ chế sinh bệnh của UT tế bào đáy. UT tế bào đáy thường gặp ở người lớn tuổi, vị trí thường gặp ở vùng mặt, là nơi tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên, bệnh cũng có thể gặp ở các vị trí khác của cơ thể như âm hộ, bìu, lòng bàn tay - bàn chân, giường móng tay - chân, hoặc xuất hiện ở các vết loét mạn tính, sẹo bỏng, vết xăm, nhưng không bao giờ gặp ở vùng niêm mạc. Tổn thương điển hình là khối u nhỏ, ở vùng da hở, thâm nhiễm cứng, bề mặt giãn mạch, hay có hiện tượng tăng sắc tố, có thể loét và dễ chảy máu. Các thương tổn DNA luôn được cơ thể sửa chữa và quá trình sửa chữa này do gen ức chế khối u *TP53* đảm nhiệm. Đột biến gen *TP53* đã được nghiên cứu tại nhiều nước trên thế giới và là đột biến thường gặp trong bệnh ung thư nói chung và UT tế bào đáy nói riêng. Tại Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và điều trị UT tế bào đáy nhưng vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu một cách hệ thống về đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học, các yếu tố nguy cơ và sự đột biến của gen *TP53* trong UT tế bào đáy.

2. MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: ***“Nghiên cứu lâm sàng, mô bệnh học và tình trạng đột biến gen TP53 trong ung thư tế bào đáy”*** được thực hiện với hai mục tiêu sau:

- 1. Khảo sát đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và một số yếu tố nguy cơ ở bệnh nhân ung thư tế bào đáy*
- 2. Xác định kháng nguyên P53, tình trạng đột biến gen TP53 trong ung thư tế bào đáy*

3. TÍNH CẤP THIẾT VÀ Ý NGHĨA CỦA LUẬN ÁN

Ung thư tế bào đáy là một trong những ung thư da thường gặp nhất. Theo thống kê tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, tỉ lệ UT (ung thư) tế bào đáy gia tăng hàng năm, năm 2010 cao gấp hơn 2 lần so với năm 2007. Bệnh tuy ít ảnh hưởng đến tính mạng nhưng nó xâm lấn tổ chức xung quanh làm biến dạng và rối loạn chức năng của một số cơ quan bộ phận như mũi, miệng và mắt. Có nhiều yếu tố nguy

cơ gây UT tế bào đáy, trong đó quang trọng nhất là ánh sáng mặt trời và đột biến gen.

Việc nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học của UT tế bào đáy là cơ sở giúp chẩn đoán sớm và chính xác từ đó có biện pháp điều trị đúng, kịp thời làm giảm chi phí điều trị, giảm tỉ lệ tái phát đồng thời nâng cao chất lượng cuộc sống của người bệnh. Ngoài ra, xác định được một số yếu tố nguy cơ gây UT tế bào đáy giúp đề ra các biện pháp đề phòng một cách có hiệu quả từ đó làm giảm tỉ lệ mắc bệnh. Đặc biệt trong nghiên cứu này còn tiến hành giải trình tự gen *TP53* để tìm đột biến, giúp cho chúng ta hiểu được cơ chế bệnh sinh cũng như vai trò của gen *TP53* trong UT tế bào đáy.

Thực tế cho thấy ở Việt Nam có nhiều trường hợp mắc UT tế bào đáy, đặc biệt là nông dân, những người làm nghề chài lưới, nhưng do hạn chế hiểu biết về bệnh nên nhiều bệnh nhân đã không đến khám hoặc đến quá muộn khi tổ chức ung thư đã di căn. Cho đến hiện nay chưa có một nghiên cứu một cách hệ thống về đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và các yếu tố nguy cơ cũng như đột biến gen *TP53* trong UT tế bào đáy. Chính vì vậy, việc nghiên cứu này là cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn cao.

4. NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Nghiên cứu được tiến hành trên 131 bệnh nhân UT tế bào đáy, không những chỉ ra đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và một số yếu tố nguy cơ của bệnh UT tế bào đáy mà còn xác định sự thay đổi protein P53 trong UT tế bào đáy. Nghiên cứu còn tiến hành giải trình tự gen *TP53* tìm đột biến nhằm góp phần hiểu biết thêm về liên quan của gen này trong cơ chế bệnh sinh của UT tế bào đáy. Từ đó góp phần chẩn đoán sớm và phòng bệnh.

5. BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 118 trang

Đặt vấn đề 2 trang

Chương 1. Tổng quan tài liệu 32 trang

Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 22 trang

Chương 3. Kết quả nghiên cứu 28 trang

Chương 4. Bàn luận 31 trang

Kết luận 2 trang

Khuyến nghị 1 trang.

Luận án có 34 bảng, 9 biểu đồ, 5 sơ đồ, 8 hình, 4 phụ lục và 127 tài liệu tham khảo (112 tài liệu tiếng Anh, 15 tài liệu tiếng Việt, số tài liệu 5 năm gần đây (2010-2015) là 29 tài liệu tham khảo.

PHẦN B: NỘI DUNG LUẬN ÁN

Chương 1: TỔNG QUAN

1.1. Phân loại ung thư da

UT tế bào đáy là loại u ác tính gồm những tế bào giống với những tế bào ở lớp đáy của thượng bì. Đây là ung thư da hay gặp nhất, chiếm khoảng 80%. Bệnh thường tiến triển chậm, xâm lấn tổ chức xung quanh gây biến dạng và làm rối loạn chức năng của một số cơ quan bộ phận như mũi, miệng và mắt. Ung thư tế bào vảy chiếm khoảng 20% các loại ung thư da, đứng thứ hai sau ung thư tế bào đáy. Ung thư tế bào hắc tố là một loại ung thư rất ác tính của các tế bào hắc tố với tỉ lệ tử vong cao, chiếm khoảng 5%. Một số ung thư da khác: Bowen, Paget, ung thư tế bào xơ, ung thư tế bào Merkel...

1.2. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học của UT tế bào đáy

1.2.1. Đặc điểm lâm sàng

* *Hình thái nốt/nốt loét*: Thường gặp nhất chiếm khoảng 80%. Tổn thương thường bắt đầu là sẩn sau đó tiến triển thành nốt có màu đỏ hoặc hồng, bóng trung tâm lõm giữa, mật độ chắc, bề mặt giãn mạch. Trên bờ có sẩn ngọc màu sáp hoặc trong mờ. Tổn thương có thể lan rộng, trung tâm hoại tử và loét do vậy trước đây còn được gọi là "loét ở động vật gặm nhấm".

* *Hình thái nông*: Hình thái thường gặp thứ 2 sau hình thái nốt, chiếm 9-17,5% các trường hợp UT tế bào đáy. Là mảng bằng phẳng hoặc hơi gồ lên so với mặt da, bờ tổn thương trông giống sợi chỉ nhỏ, giới hạn rõ, màu đỏ hoặc hồng. Trung tâm có thể có teo, đóng vảy hoặc loét. Trên bề mặt có thể xuất hiện các đốm sắc tố.

* *Hình thái xơ*: chiếm khoảng 2-3% các UT tế bào đáy. Là mảng hoặc sẩn xơ có màu giống như màu da thường hoặc màu hồng hoặc màu trắng, một số trường hợp thương tổn bằng phẳng với mặt da đôi khi thành sẹo lõm, thâm nhiễm, trên có các mạch máu giãn, giới hạn không rõ ràng với da lành, phía dưới khối u thường lan rộng hơn so với bờ tổn thương.

* *Hình thái sắc tố*: Tổn thương ở thể nốt hoặc thể nông xuất hiện tăng sắc tố. Tùy thuộc vào số lượng và vị trí của melanin mà biểu hiện lâm sàng của tổn thương khác nhau như màu đen, nâu hoặc xám xanh.

1.2.2. Đặc điểm mô bệnh học UTBM tế bào đáy

UT tế bào đáy là ung thư biểu mô ác tính, bao gồm các tế bào trông giống lớp đáy của thượng bì. Đặc điểm mô bệnh học đặc trưng để chẩn đoán cho các thể của UT tế bào đáy đó là trên tiêu bản nhuộm HE (Hematoxylin & Eosin), các tế bào ung thư có nhân thâm màu (kiềm tính), hình trụ, tỷ lệ nhân/ bào tương tăng, mất các cầu nối gian bào. Các đám tế bào ở ngoại vi của khối u sắp xếp theo kiểu hàng đậu. Đặc trưng nhất là khối u tách rời khỏi chất nền xung quanh tạo thành một khoảng sáng và bao quanh các đám tế bào kiểu hàng đậu. Các tế bào bên trong khối u sắp xếp khá lộn xộn. Phần lớn các khối u đều bắt đầu từ thượng bì rồi xâm lấn xuống hạ bì ở dạng rắn hoặc dạng u nang hoặc thành dải tạo nên các mô hình phát triển khác nhau.

Một đặc điểm thường gặp ở các khối u có kích thước lớn là có hiện tượng hoại tử ở trung tâm khối u.

* *Đặc điểm chung về mô bệnh học của UT tế bào đáy*: bao gồm các tế bào trông giống lớp đáy của thượng bì. Các tế bào ung thư có nhân thâm màu, hình trụ, tỷ lệ nhân/ bào tương tăng, mất các cầu nối gian bào. Các đám tế bào ở ngoại vi của khối u sắp xếp theo kiểu hàng đậu. Đặc trưng nhất là khối u tách rời khỏi chất nền xung quanh tạo thành một khoảng sáng và bao quanh các đám tế bào kiểu hàng đậu. Các tế bào bên trong khối u sắp xếp khá lộn xộn. Phần lớn các khối u đều bắt đầu từ thượng bì rồi xâm lấn xuống hạ bì ở dạng rắn hoặc dạng u nang hoặc thành dải tạo nên các mô hình phát triển khác nhau.

* *Phân loại mô bệnh học của UT tế bào đáy*:

Thể nông (ICD-O code 8091/3): Gồm các đám tế bào dạng tế bào đáy liên tục với biểu bì hoặc nang lông, lồi vào trong trung bì và được bao quanh bởi mô nhày lỏng lẻo.

Thể nốt (ICD-O code 8097/3): Gồm nhiều đám kích thước lớn các tế bào dạng tế bào đáy với nhân xếp kiểu hàng đậu ở xung quanh.

Thể vi nốt (ICD-O code 8090/3): gồm các u nhỏ tỏa lan trong biểu bì kích thước tương đương với nang lông và có thể có các ổ vi xâm nhập ăn sâu vào trong trung và hạ bì nên rất dễ bị bỏ sót khi đánh giá rìa diện cắt u.

Thể xâm nhập (ICD-O code 8092/3): Các tế bào ung thư bất màu ba zơ, các tế bào dạng đáy sắp xếp thành các dải, dây với bào tương hẹp bờ lờm chờm, xung quanh là chất nền với mật độ dày đặc của sợi xơ.

Thể xơ - biểu mô (ICD-O code 8093/3): U đặc trưng bởi mạng lưới các nhánh, các dải tế bào dạng tế bào đáy bao quanh mô xơ mạch lan rộng từ biểu bì và tạo thành hình ảnh “cửa sổ”.

Thể biệt hóa phần phụ da (ICD-O code 8098/3): Thể này đặc trưng bởi các thành phần giống phần phụ da như các cấu trúc dạng ống tuyến, nang lông và tuyến bã. Sự biệt hóa nang lông thường thấy rõ hơn so với thể nông.

Thể đáy - vảy (ICD-O code 8094/3): Mô bệnh học của thể đáy-vảy điển hình có 3 phần chính: phần biểu hiện của UTBM tế bào đáy với các tế bào biểu mô dạng đáy thâm màu, hàng rào bên ngoài khối u ranh giới rõ, có vết nứt xung quanh khối u, kiểu tăng trưởng dạng sàng và dạng tuyến có thể có mặt trong phần này của khối u. Phần đặc trưng cho ung thư tế bào vảy, các tế bào ung thư bất màu sáng hơn, lớn hơn và có xu hướng sừng hóa đồng nhất với tổn thương ở biểu bì. Phần trung gian là vùng chuyển tiếp, ở vùng này các tế bào ung thư không có nét đặc trưng điển hình của ung thư tế bào đáy cũng như ung thư tế bào vảy mà mang tính chất trung gian. Các tế bào ung thư chứa nhiều nguyên sinh chất và hiện tượng sừng hóa mạnh hơn so với các thể của UT tế bào đáy.

Thể sừng hóa (ICD-O code 8090/3): Có cấu trúc của thể nốt, kết hợp với sự sừng hóa. Sự sừng hóa có thể mảnh, hình phễu hoặc dạng cấu trúc nang lông. Hiện tượng canxi hóa cũng hay gặp.

Các biến thể khác: bao gồm biến thể nang: gồm một hoặc nhiều nang với các kích

thước khác nhau tập trung ở gần vùng trung. Biến thể dạng tuyến: Cấu trúc gồm có nhiều dải mỏng mảnh các tế bào dạng tế bào đáy sắp xếp tạo thành các mạng lưới tế bào. Biến thể xơ hóa/xơ cứng: Các dải và các “tổ” tế bào u gắn chặt với mô đệm xơ cứng. Biến thể nang phễu: Các cấu trúc giống dạng phễu với nút sừng ở trung tâm và xung quanh là các tế bào dạng tế bào đáy. Các dải tế bào thường xếp theo kiểu nối thông với nhau. Biến thể sắc tố: Các hắc bào nằm rải rác giữa các đám tế bào u còn các đại thực bào chứa melanin lại tập trung ở mô đệm.

1.3. Gen TP53 và UT tế bào đáy

Gen *TP53* còn được gọi là gen ức chế khối u, nó nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 17. Có kích thước 22000 bp, gần bằng với kích thước của gen ung thư (oncogen), gồm 11 exon mã hoá cho một RNA thông tin có kích thước 2,2 Kb. Gen *TP53* đã được phát hiện từ năm 1979, nó là một protein có trọng lượng phân tử khoảng 53 kDa, p53 thường được tìm thấy với nồng độ cao trong các tế bào ung thư. P53 có khả năng hạn chế các đột biến xảy ra ở tế bào thông qua tác dụng của nó trên chu kỳ tế bào. Đột biến gen *TP53* chiếm khoảng một nửa các trường hợp UT tế bào đáy đơn lẻ. Các nghiên cứu giải trình tự gen *TP53* trong UTBM tế bào đáy để tìm đột biến đều cho thấy đột biến thường gặp nhất là chuyển đổi vị trí pyrimidin này bằng pyrimidin khác (C=>T) hoặc cặp pyrimidine này bằng một cặp pyrimidine khác. Ở Việt Nam, nghiên cứu về đột biến gen *TP53* ở ung thư da còn hạn chế. Hoàng Anh Tuấn xác định tỷ lệ protein p53 dương tính trong UT tế bào đáy vùng mi mắt, theo tác giả thì đột biến gen này chiếm 22,2%.

- Gen *Patched* (PTCH): nằm trên nhiễm sắc thể 9q22.3, có tác dụng ức chế sự phát triển các tế bào ung thư do gen có tác dụng trực tiếp làm tăng cường quá trình chết theo chương trình của các tế bào u. Gen *Patched* chịu trách nhiệm mã hoá protein Patched, là các receptor ở màng tế bào để cho các protein họ Hedgehog gắn vào. Khi gen này bị đột biến được cho là chịu trách nhiệm khởi phát hội chứng Gorlin, bệnh khô da sắc tố. Đây là 2 bệnh rối loạn di truyền có liên quan đến UT tế bào đáy. Đột biến gen *Patched* gặp ở 30- 40% các trường hợp UTBM tế bào đáy.

- Gen *Hedgehog*: chịu trách nhiệm sản xuất protein hedgehog của màng tế bào có tác dụng dẫn truyền tín hiệu vào nhân tế bào làm hoạt hóa một số gen trong đó có gen *Patched*. Trường hợp gen *Hedgehog* bị đột biến, gen *Patched* sẽ không được hoạt hóa cũng là nguyên nhân dẫn đến ung thư da.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Đối tượng nghiên cứu là 131 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là UT tế bào đáy tại Bệnh viện Da liễu Trung ương trong thời gian 2 năm (2012-2013), và 131 người có đặc điểm khá tương đồng với những trường hợp mắc UT tế bào đáy, tự nguyện tham gia nghiên cứu.

2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thời gian nghiên cứu: Thời gian thu thập số liệu từ năm 2012 đến năm 2013.

2.2.2. Địa điểm nghiên cứu:

Tại Bệnh viện Da liễu Trung ương và Bộ môn Y sinh học - Di truyền Trường Đại học Y Hà Nội.

Tại cộng đồng: Thu thập các thông tin về những người có địa chỉ cư trú tương đồng với những người thuộc nhóm UT tế bào đáy.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả để mô tả các đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học, đột biến gen *TP53* và nghiên cứu bệnh-chứng để xác định một số yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy.

2.3.2. Mẫu nghiên cứu

2.3.2.1. Mẫu nghiên cứu cho nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và đột biến gen *TP53*: Dựa theo công thức tính cỡ mẫu, nghiên cứu đã thực hiện trên 131 bệnh nhân UT tế bào đáy.

2.3.2.2. Mẫu nghiên cứu cho nghiên cứu bệnh chứng: Nghiên cứu sử dụng thiết kế nghiên cứu bệnh-chứng do UT tế bào đáy là một bệnh hiếm gặp. Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức và cỡ mẫu nghiên cứu trong mỗi nhóm tính được là 131 bệnh nhân UT tế bào đáy (nhóm bệnh) và 131 người khác (nhóm đối chứng).

2.3.2.3. Chọn mẫu nghiên cứu: Chọn bệnh nhân UT tế bào đáy: theo phương pháp ngẫu nhiên hệ thống dựa theo danh sách những bệnh nhân đã và đang điều trị tại Bệnh viện Da liễu Trung ương trong vòng 2 năm gần đây (2012-2013). Chọn nhóm đối chứng: Cứ 1 bệnh nhân UT tế bào đáy thì chọn 1 người đối chứng theo các tiêu chí: ở gần nhà bệnh nhân, tương đồng về độ tuổi và về giới.

2.3.3. Công cụ và kỹ thuật thu thập số liệu

Bộ câu hỏi phỏng vấn: bao gồm phần hành chính, đặc trưng cá nhân và các yếu tố liên quan của UT tế bào đáy và bệnh án, phiếu xét nghiệm mô bệnh học

2.3.4. Các nội dung và chỉ số nghiên cứu

2.3.4.1. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học

* **Đặc điểm lâm sàng:** Thời gian xuất hiện khối u, vị trí khối u, kích thước khối u, hình thái lâm sàng: nốt rắn chắc, nốt loét, tăng sắc tố, sùi, mảng thâm nhiễm, giãn mạch ở bề mặt tổn thương, hạt ngọc ung thư, tiền sử bệnh nhân, mức độ xâm lấn, di căn hạch.

* **Mô bệnh học:** được phân biệt theo tiêu chí của ICD 10

2.3.4.2. Nghiên cứu một số yếu tố nguy cơ

* **Đặc điểm của nhóm bệnh nhân và nhóm chứng**

- Tuổi

- Giới

- Nơi ở: thành thị và nông thôn.

- Nghề nghiệp: nông dân, công nhân, buôn bán, cán bộ công chức, công nhân, lao động tự do, nội trợ, nghề khác.

- Trình độ học vấn: mù chữ, tiểu học, THCS, THPT, đại học.

- Dân tộc: Kinh và các dân tộc thiểu số khác.

* *Các yếu tố nguy cơ tiếp xúc của UT tế bào đáy*

- Tiếp xúc với ánh nắng, thời điểm tiếp xúc
- Tiếp xúc với nguồn nhiệt cao và các biện pháp bảo hộ lao động
- Tiếp xúc với hoá chất và các biện pháp bảo hộ lao động.
- Tiếp xúc với chất phóng xạ và các biện pháp bảo hộ lao động.
- Tiếp xúc với sóng điện từ và các biện pháp bảo hộ lao động.
- Tiếp xúc với tia X và các biện pháp bảo hộ lao động.
- Tiếp xúc với khói thuốc lá/thuốc lào.
- Tiền sử gia đình có người mắc ung thư da.
- Tiền sử bản thân

2.3.4.3. *Nghiên cứu đột biến gen TP53*

* *Xét nghiệm hoá mô miễn dịch*

- Tỷ lệ âm tính < 1% tế bào u bất màu
- Tỷ lệ dương tính (1+): có từ 1-25% tế bào u bất màu
- Tỷ lệ dương tính (2+): từ 26 - 50% tế bào u bất màu
- Tỷ lệ dương tính (3+): 51 - 75% tế bào u bất màu
- Tỷ lệ dương tính (4+): 76 - 100% tế bào u bất màu

* *Xét nghiệm giải trình tự gen TP53*

+ Xác định tỷ lệ đột biến gen.

2.4.4. *Phân tích số liệu:*

Số liệu sẽ được phân tích trên phần mềm SPSS 16.0. Số liệu được trình bày dưới dạng số lượng và tỷ lệ. So sánh sự khác biệt giữa các tỷ lệ % bằng test Z và χ^2 . Các test thống kê được kiểm định với sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Các yếu tố nguy cơ được so sánh và trình bày dưới dạng tỷ suất chênh (OR) và 95%.

2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức Bệnh viện Da Liễu Trung ương và Hội đồng chấm đề cương nghiên cứu sinh của Trường Đại học Y Hà Nội. Người bệnh sẽ được tư vấn đầy đủ, kỹ lưỡng khi tham gia nghiên cứu. Các thông tin của người bệnh tham gia nghiên cứu được giữ bí mật và mã hóa trên máy vi tính trong quá trình xử lý số liệu, đảm bảo không lộ thông tin.

Chương 3

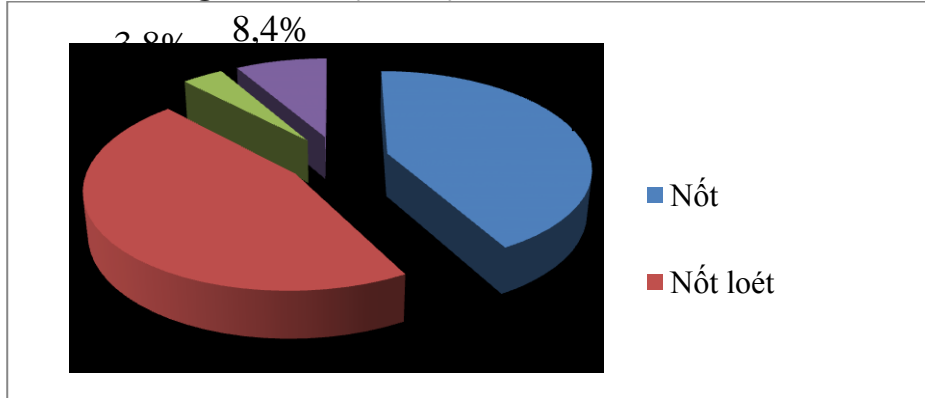
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và các yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy

3.1.1. Đặc điểm bệnh nhân

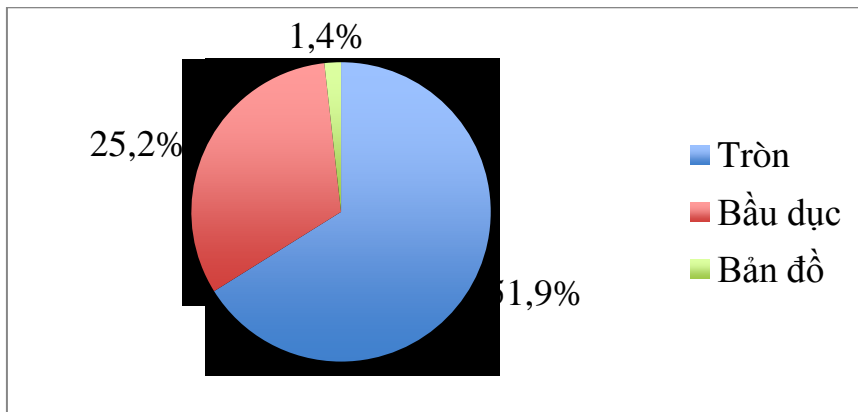
Trong số 131 bệnh nhân UT tế bào đáy được nghiên cứu, nữ chiếm tỷ lệ 51,9%. Nhóm tuổi 70-79 chiếm tỷ lệ cao nhất 32,1%, tiếp theo là độ tuổi 50-59, chiếm 21,4% và thấp nhất là độ tuổi dưới 40, chiếm 3,8%. Chủ yếu bệnh nhân là nông dân: 64,9% và công nhân: 16%

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học



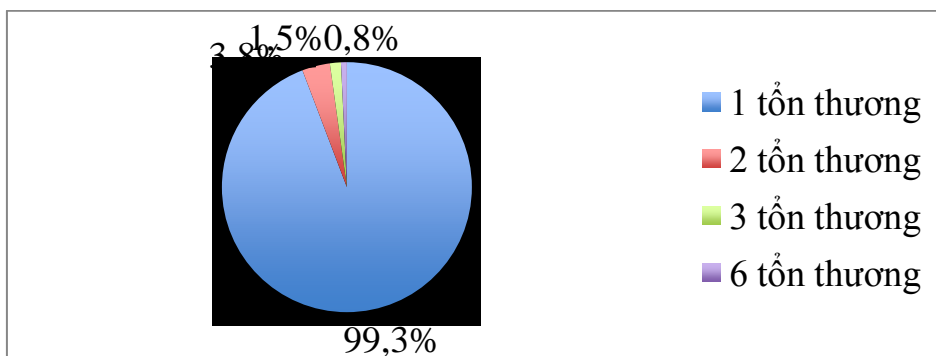
Biểu đồ 3.1. Phân bố theo hình thái lâm sàng/dạng u (n =131)

Hình thái lâm sàng hay gặp nhất là nốt/loét (45,8%) và nốt rắn chắc (42%). Các hình thái ít gặp như mảng cứng/mảng thâm nhiễm và sùi chiếm tỷ lệ thấp (8,4% và 3,8%).



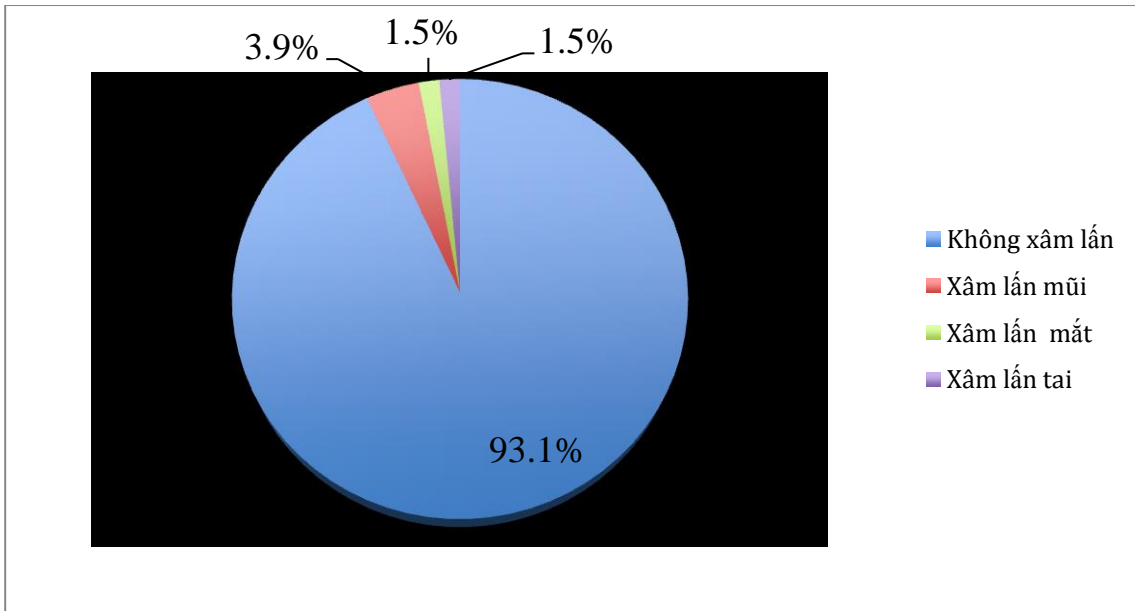
Biểu đồ 3.2. Phân bố hình dạng tổn thương (n=131)

Dạng tổn thương hình tròn chiếm tỷ lệ cao nhất (51,9%), tiếp theo là hình bầu dục (25,2%) và hình bản đồ chiếm tỷ lệ thấp nhất (22,9%).



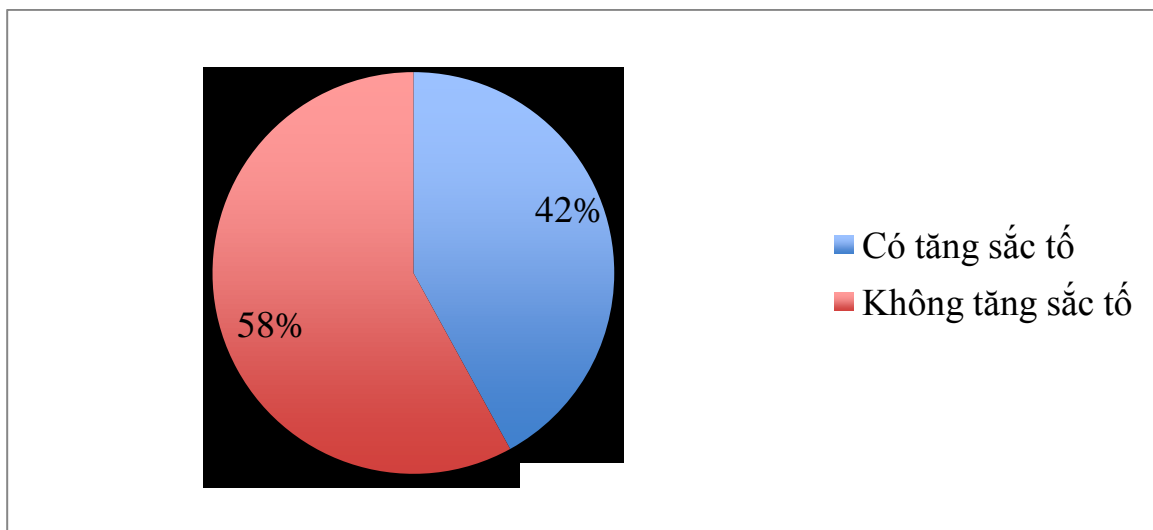
Biểu đồ 3.3. Phân bố số lượng tổn thương (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân có 1 tổn thương chiếm tỷ lệ cao nhất (93,9%), tiếp theo là 2 tổn thương (3,8%), đặc biệt 6 tổn thương chiếm 0,8%.



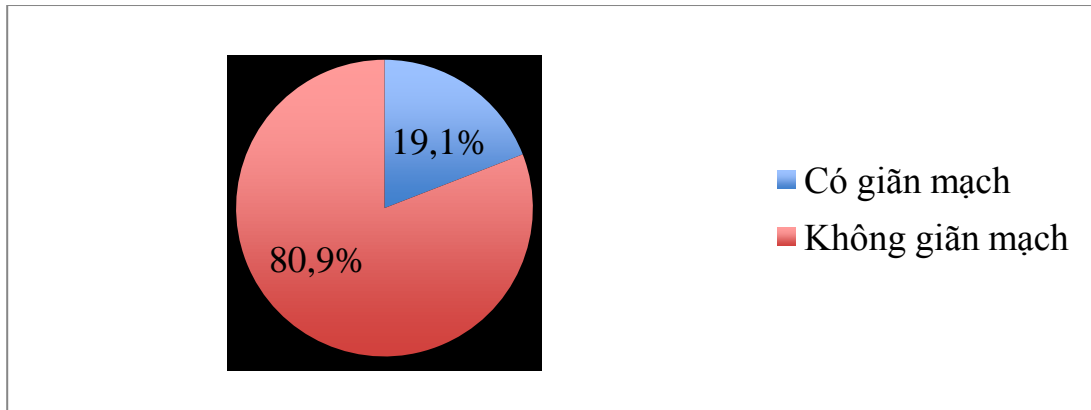
Biểu đồ 3.4. Phân bố xâm lấn tổ chức xung quanh (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân UT tế bào đáy xâm lấn tổ chức xung quanh chiếm tỷ lệ thấp chiếm tỷ lệ thấp (6,9%). Hay gặp nhất là xâm lấn vùng mũi (3,9%), vùng mắt và tai tỷ lệ xâm lấn chiếm 1,5%.



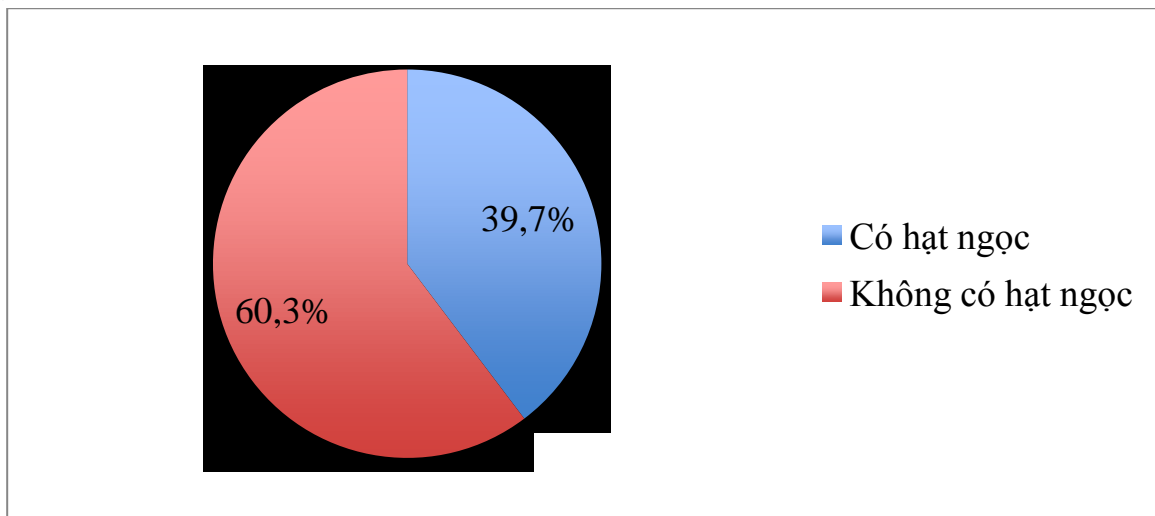
Biểu đồ 3.5. Phân bố thể bệnh theo tính chất tăng sắc tố (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân có tăng sắc tố chiếm tỷ lệ 42% và không tăng sắc tố chiếm 58%.



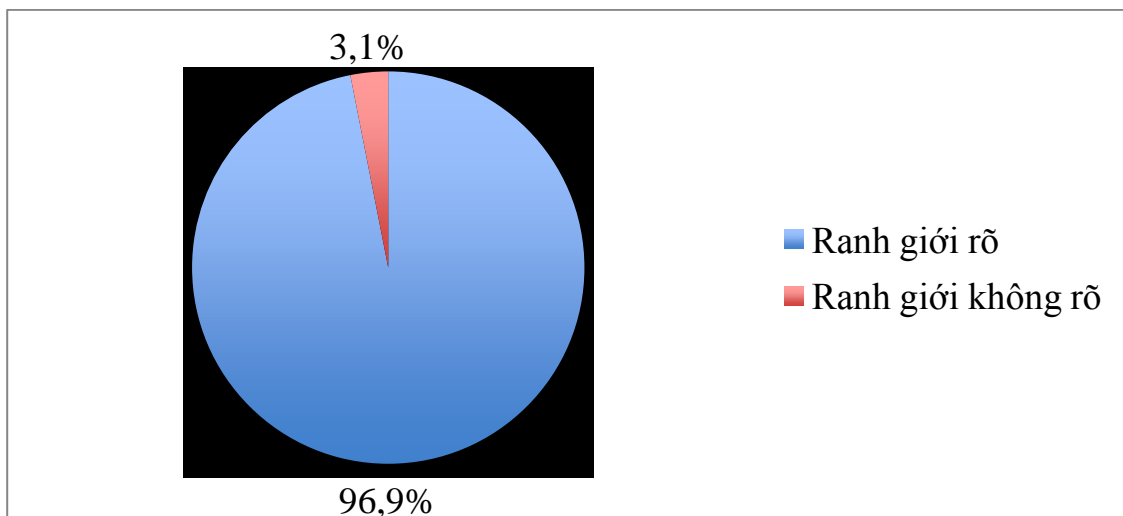
Biểu đồ 3.6. Phân bố thể bệnh theo tính chất giãn mạch (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân có giãn mạch chiếm tỷ lệ 19,1% và không giãn mạch chiếm 80,9%.



Biểu đồ 3.7. Phân bố tính chất hạt ngọc trong UT tế bào đậy (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân có hạt ngọc chiếm tỷ lệ 39,7% và không có hạt ngọc chiếm 60,3%.



Biểu đồ 3.8. Phân bố ranh giới tổn thương (n=131)

Tỷ lệ bệnh nhân có ranh giới tổn thương rõ chiếm tỷ lệ 96,9% và không rõ ranh giới chiếm 3,1%.

Bảng 3.3. Phân bố tổn thương theo vị trí giải phẫu (n=131)

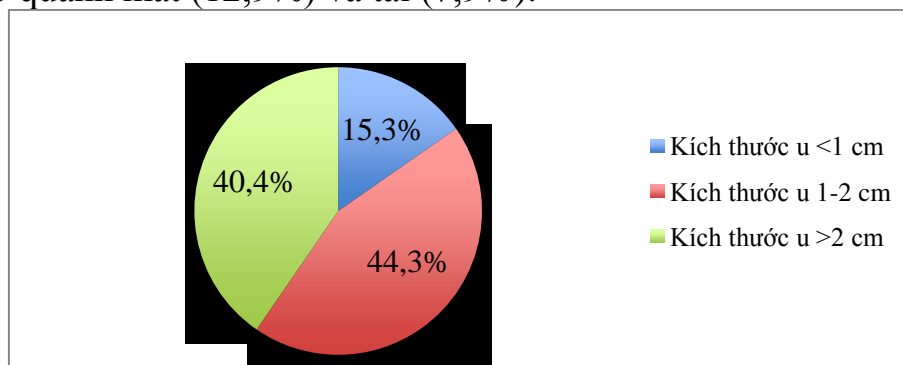
Vị trí	n	%
Đầu, mặt, cổ	139	95,8
Thân mình	4	2,8
Chi	2	1,4
Tổng tổn thương	145	100,0

UT tế bào đáy hay gặp nhất ở vị trí đầu - mặt - cổ (95,8%), ít gặp ở thân mình (2,8%) và chi (1,4%).

Bảng 3.4. Phân bố vị trí tổn thương ở vùng đầu - mặt - cổ

Vị trí tổn thương	n	%
Mũi	31	22,3
Má	32	23
Quanh mắt	18	12,9
Rãnh mũi má	10	7,1
Tai	11	7,9
Trán	10	7,1
Dưới mắt	8	5,7
Quanh miệng	8	5,7
Thái dương	7	5
Đầu	3	1,4
Cổ	1	0,7

Tổn thương ở vùng đầu mặt cổ có 127 bệnh nhân với 139 tổn thương. Vị trí tổn thương UT tế bào đáy ở má và mũi chiếm tỷ lệ cao nhất (chiếm 23 % và 22,3%), tiếp theo là ở quanh mắt (12,9%) và tai (7,9%).

**Biểu đồ 3.9. Phân bố kích thước u (n=131)**

Đa số bệnh nhân có kích thước u từ 1-2 cm chiếm tỷ lệ 44,3%, trên 2 cm chiếm 40,4%.

Bảng 3.5. Phân bố mô bệnh học (n=145)

Thể mô bệnh học		n	%
Thể nốt		77	53,1
Thể vi nốt		30	20,7
Thể xơ		6	4,1
Thể đáy - vảy		1	0,7
Các biến thể	Dạng tuyến	15	10,3
	Sắc tố	16	11,1
Tổng số		145	100

Nghiên cứu 131 bệnh nhân với 145 thể mô bệnh học. Thể nốt chiếm đa số với tỷ lệ 53,1%, tiếp theo là thể vi nốt 20,7%; các biến thể sắc tố 11,1% và dạng tuyến 10,3%.

Bảng 3.6. Sự phối hợp của thể nốt với đặc điểm của các thể khác (n=77)

Sự phối hợp của thể nốt	n	%
Thể nốt đơn thuần	68	88,3
Thể nốt với thể nông	1	1,3
Thể nốt với thể xơ	2	2,6
Thể nốt với thể vi nốt	4	5,2
Thể nốt với thể dạng tuyến	2	2,6

Có 11,7% thể nốt phối hợp với đặc điểm của các thể khác, trong đó phối hợp với thể vi nốt 5,2%, thể xơ 2,6%, thể dạng tuyến 2,6% và thể nông 1,3%.

Bảng 3.7. Sự phối hợp của thể vi nốt với đặc điểm của các thể khác (n=30)

Sự phối hợp của thể vi nốt	n	%
Thể vi nốt đơn thuần	26	86,6
Thể vi nốt với thể xơ	2	6,7
Thể vi nốt với thể dạng tuyến	2	6,7
Tổng cộng	30	100

Có 13,4% thể vi nốt có phối hợp với đặc điểm của các thể khác, trong đó phối hợp với thể xơ 6,7% và thể dạng tuyến 6,7%. Tuổi trung bình ở cả 2 giới của thể nốt là $66 \pm 12,3$, thể vi nốt $63,9 \pm 15,1$, thể dạng tuyến $63,0 \pm 16,5$ và thể xơ $75,5 \pm 12,9$. Tuổi trung bình thể dạng tuyến ở nam giới ($48,8 \pm 18,9$) thấp hơn so với thể nốt ($65,8 \pm 10,2$), thể vi nốt ($63,6 \pm 14,0$), thể xơ ($70,0 \pm 21,2$) và thể sắc tố ($64,5 \pm 11,1$). Tuổi trung bình của thể dạng tuyến ở nữ ($68,3 \pm 12,7$) cao hơn nam ($48,8 \pm 18,9$), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuổi trung bình của thể xơ ở vùng đầu mặt cổ ($79,6 \pm 9,9$) cao hơn so với các thể khác có cùng vị trí ở vùng đầu mặt cổ.

Thể nốt và thể vi nốt ở nam và nữ gần tương đương với nhau. Trong khi đó, thể dạng tuyến thì lại gặp ở nữ nhiều hơn nam (73,4% và 26,6%). Tuy nhiên khi phân tích mối liên quan giữa các thể mô bệnh học với giới thì thấy sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Vị trí đầu-mặt-cổ là vị trí thường gặp nhất của thể nốt (97,1%), thể vi nốt (96,2%), thể xơ (83,3%), thể dạng tuyến (100%) và thể

sắc tố (100%). Không có sự khác biệt giữa vị trí khối u với các thể mô bệnh học ($p>0,05$).

3.1.3. Các yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy

Bảng 3.8. Phân tích mối liên quan giữa một số yếu tố nguy cơ và UT tế bào đáy (phân tích hồi quy đa biến)

Yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy	OR	95% CI
Tuổi (Dưới 60 tuổi/từ 60 tuổi trở lên)	0,9	0,50-1,58
Giới (Nam/ Nữ)	0,5	0,16-1,34
Học vấn (Dưới THPT/ từ THPT trở lên)	0,9	0,46-1,82
Dân tộc (Kinh/ khác)	2,8	0,70- 10,8
Nơi ở (Thành thị/ nông thôn)	1,3	0,60- 2,70
Tôn giáo (Không/ có)	0,86	0,24-3,03
Hút thuốc lá (Có/ không)	2,4	0,84-7,09
Làm việc ngoài trời nắng (Có/ không)	4,3	<u>2,01- 9,17</u>
Tiếp xúc nguồn nhiệt cao (Có/ không)	1,1	0,38-3,35
Tiếp xúc hóa chất (Có/ không)	0,85	0,47-1,52
Tiếp xúc sóng điện từ (Có/ không)	3,5	<u>1,44-8,2</u>
Tiếp xúc tia X (Có/ không)	3,2	<u>1,4-7,3</u>

Trên phương trình hồi quy đa biến, những người làm việc ngoài trời nắng, có tiếp xúc sóng điện từ và có tiếp xúc tia X có nguy cơ mắc UT tế bào đáy cao gấp từ 3,2-4,3 lần những người khác. Những sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

3.2. Xác định protein p53 và đột biến gen TP53 trong UT tế bào đáy

3.2.1. Xác định protein p53

Bảng 3.9. Phân bố mức độ dương tính p53 bằng hoá mô miễn dịch (n=131)

Protein p53	n	%
Dương tính	32	24,4
Âm tính	99	75,6
Tổng số	131	100

Tỷ lệ dương tính với protein p53 chiếm 24,4%.

Bảng 3.10. Phân bố mức độ dương tính p53 bằng hoá mô miễn dịch (n=131)

Mức độ dương tính	n	%
4+	5	3,8
3+	5	3,8
2+	3	2,3
1+	19	14,5

Trong số 131 bệnh nhân được làm hoá mô miễn dịch với protein p53, đa số bệnh nhân có dương tính (+) chiếm 14,5%, dương tính (++++), (++++) đều chiếm 3,8%.

Bảng 3.11. Phân bố các thể mô bệnh học và protein p53(n=131)

Thế MBH \ KN P53	P53				Tổng số	
	Dương tính		Âm tính		n	%
	n	%	n	%		
Thế nốt	13	18,6	57	81,4	70	100
Thế vi nốt	11	40,7	16	59,3	27	100
Thế xơ	2	30	4	70	6	100
Dạng tuyến	4	26	11	74	15	100
Sắc tố	2	15,4	11	84,6	13	100

Thế vi nốt dương tính với p53 chiếm 40,6%, thế nốt dương tính với p53 chiếm 18,6%, thế xơ dương tính với p53 chiếm 30%, thế dạng tuyến dương tính với p53 chiếm 26% và thế sắc tố dương tính với p53 là 15,4%.

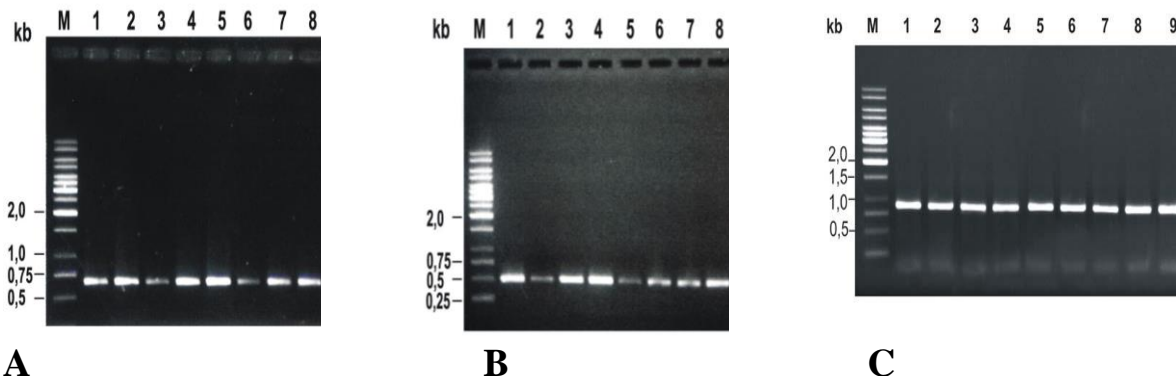
3.2.2. *Đột biến gen TP53 trong UT tế bào đáy*

3.2.2.1. *Thông tin chung về các mẫu nghiên cứu*

Trong số 80 mẫu UT tế bào đáy được giải trình tự gen có 54 mẫu (67,5%) là mẫu bảo quản với paraffin, 26 mẫu tươi (32,5%). Tất cả các mẫu đã tách chiết DNA đủ số và chất lượng cho xét nghiệm phân tử.

3.2.2.2. *Kết quả phân tích gen TP53*

* PCR các đoạn gen cần nghiên cứu



A: đoạn exon 2-4, kích thước: 611bp; **B:** đoạn exon 5-6, kích thước 378bp; **C:** đoạn exon 7-9, kích thước 755bp; **M:** Marker 1kb, 1-10: các mẫu nghiên cứu.

Hình 3.1. Ảnh điện di sản phẩm PCR của gen mã hóa P53 ở mẫu nghiên cứu

Gen P53 được giải trình tự cho 3 đoạn: đoạn 1 từ exon 2 - 4, đoạn 2 là 5-6 và đoạn 3 là 7-9. Kết quả điện PCR các đoạn gen để giải trình tự cho cả 80 bệnh nhân đều tốt, đảm bảo cho việc giải trình tự dễ dàng, có độ chính xác. Hình 3.1 cho thấy trên hình ảnh điện di thấy mẫu 3,6 mất đoạn exon 2-4; mẫu 2,5 mất đoạn exon 5-6.

* Kết quả biến đổi gen P53 ở các mẫu UT tế bào đáy

Bảng 3.12. Tỷ lệ biến đổi gen TP53 ở các mẫu UT tế bào đáy

Biến đổi gen	n	%
Exon 2-4	18	22,5
Exon 5-6	0	0
Exon 7-9	10	12,5
Không biến đổi	52	65,0
Tổng	80	100,0

Kết quả ở bảng trên cho thấy tỷ lệ đột biến là ở exon 2-4 chiếm 22,5% và đột biến ở Exon 7-9 chiếm 12,5%. Đặc biệt, không thấy đột biến ở exon 5-6.

* Phân loại đột biến gen P53

- Tỷ lệ các đột biến mất đoạn và đột biến điểm

Bảng 3.13. Tỷ lệ đột biến mất đoạn ở gen TP53 và đột biến điểm của UT tế bào đáy

Phân loại đột biến gen TP53	n	%
Mất đoạn gen lớn*	8	5,76
Mất đoạn nhỏ**	9	6,47
Đột biến điểm	11	7,91
Tổng số	28	21,14

*: Các mất đoạn lớn: mất đoạn vài trăm bp (mất đoạn gen exon 2, exon 4, exon 7, exon 9).

** : Các mất đoạn nhỏ: mất vài chục bp - mất đoạn 16bp tại vị trí exon 2 - 4 (Del 16 bp (11261- 11277)).

Kết quả ở bảng trên cho thấy: với gen P53, đột biến gặp ở cả 3 dạng, đột biến điểm, đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến mất đoạn lớn.

Số lượng các đột biến trên một mẫu ung thư

Có mẫu ung thư chỉ có 1 đột biến, có mẫu ung thư có 2 đột biến, thậm chí >3 đột biến.

Bảng 3.14. Tỷ lệ các đột biến xảy ra trên 1 mẫu UT tế bào đáy

Số lượng đột biến	n	%
1 đột biến	5	17,85
2 đột biến	5	17,85
3 đột biến	7	25,0
4 đột biến	8	28,75
5 đột biến	0	0
6 đột biến	2	7,14
7 đột biến	0	0
8 đột biến	1	3,17
Tổng số	28	100

Kết quả ở bảng trên cho thấy số mẫu có 1 đột biến chỉ chiếm 17,85% với các mẫu có đột biến. Số còn lại có từ 2 đột biến trở lên. Với những trường hợp có

2 hoặc hơn 2 đợt biến thì các đợt biến trên một bệnh nhân có thể là: hoặc đợt biến mất đoạn lớn và đợt biến điểm; hoặc đợt biến mất đoạn nhỏ và đợt biến điểm; hoặc ≥ 2 đợt biến điểm. Đặc biệt có 1 bệnh nhân có đến 8 đợt biến, trường hợp này cả 8 đợt biến đều là các đợt biến điểm.

Chương 4 **BÀN LUẬN**

4.1. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và yếu tố nguy cơ

4.1.1. Đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học

4.1.1.1. Đặc điểm lâm sàng

Hình thái lâm sàng hay gặp nhất của UT tế bào đáy là hình thái nốt loét (45,8%) và nốt (42%). Kết quả này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu của các tác giả khác ở Việt Nam và trên thế giới, các tác giả này cho rằng hình thái nốt loét là hình thái hay gặp nhất. Để giải thích hiện tượng loét hay gặp trong UT tế bào đáy, Nouri cho rằng do hoại tử riêng lẻ các tế bào cũng như hoại tử thành đám là nguyên nhân gây ra hình thái loét trên lâm sàng. Chính đặc điểm lâm sàng loét là phổ biến trong ung thư da nên các thầy thuốc không công tác trong lĩnh vực ung thư và da liễu rất dễ nhầm với các bệnh nhiễm trùng khác. Ở những người da trắng (da thuộc nhóm I, II theo phân loại của Fitzpatrick), hình thái tăng sắc tố ở khối u rất thấp chỉ chiếm khoảng 6% các trường hợp UTBM tế bào đáy nhưng trong nghiên cứu ở người châu Á (da thuộc nhóm IV, V theo phân loại của Fitzpatrick) thì hình thái này chiếm tỷ lệ rất cao. Theo nghiên cứu ở Nhật bản thì sự xuất hiện sắc tố ở thương tổn u chiếm khoảng 75% các trường hợp UT tế bào đáy, ở Hàn quốc là 55%. Điều này cho thấy sắc tố là dấu hiệu đặc trưng thường gặp ở người châu Á, và đây cũng chính là sự khác biệt về màu da của người da trắng và người châu Á. Cũng theo Kikuchi, hình thái sắc tố có thể coi là một trong những tiêu chuẩn để chẩn đoán UT tế bào đáy ở Nhật Bản. Giãn mạch và tăng sinh mạch máu là hiện tượng thường gặp trong ung thư nói chung và UT tế bào đáy nói riêng, một khối u sẽ không phát triển được nếu như không có sự tăng sinh mạch máu và sự tăng sinh này chịu tác động của yếu tố tăng sinh nội mạch máu. Nghiên cứu mới đây ở châu Âu lại cho thấy tỷ lệ giãn mạch quanh tổn thương lên đến 80,8% các trường hợp UT tế bào đáy, theo tác giả thì có hai hình thái giãn mạch thường gặp nhất trong UT tế bào đáy là giãn mạch hình cành cây và giãn các đoạn mạch ngắn. Theo Rajpar, có khoảng 10% bệnh nhân có từ 2 tổn thương trở lên do đó cần phải khám toàn bộ các vùng da để tránh bỏ sót tổn thương. Về vị trí tổn thương theo vị trí giải phẫu, các nghiên cứu trên thế giới cho thấy UT tế bào đáy có thể gặp ở các vị trí khác nhau của cơ thể như âm hộ, bìu,

lòng bàn tay, bàn chân, giường móng tay, chân, hoặc xuất hiện ở các vết loét mạn tính, sẹo bỏng, vết xăm nhưng không bao giờ gặp ở vùng niêm mạc. Một nghiên cứu ở Lithuania cho thấy ngoài vị trí ở đầu - mặt - cổ thì tỷ lệ mắc UT tế bào đáy ở chân ở nữ cao hơn so với nam giới, điều này có thể được giải thích là do thói quen ăn mặc ở phụ nữ thường mặc váy nên vùng chân luôn tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, trong khi đó nam giới thường đi giày và mặc quần dài nên vùng chân không tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.

4.1.1.2. Đặc điểm mô bệnh học

* Thể nốt: Các nghiên cứu mô bệnh học của UT tế bào đáy đều cho thấy thể nốt là thể gặp nhiều nhất và dao động theo các quốc gia khác nhau từ trên 40% đến gần 90%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thể nốt cũng tương đương với kết quả nghiên cứu khác ở các nước châu Á như Trung quốc 53,9%, Nhật bản 54%, Hàn Quốc 60,3% và Singapore 40% nhưng thấp hơn rất nhiều so với nghiên cứu tại Đài loan, theo tác giả này thể nốt chiếm tới 86,5%. Trong khi đó, theo nghiên cứu tại Úc thì tỷ lệ UT tế bào đáy thể nốt là 48,1%, còn tại Anh thì tỉ lệ thể nốt chiếm đến 78,7%. Sở dĩ tỷ lệ thể nốt ở các nghiên cứu trên khác nhau có thể do trên một bệnh nhân UT tế bào đáy có thể có nhiều hơn một thể mô bệnh học nên khi đánh giá kết quả phụ thuộc vào sự chủ quan của người đọc, đây có thể là lý do góp phần làm thay đổi tỷ lệ các thể mô bệnh học của các nghiên cứu. Theo Cohen thì có khoảng 40% các trường hợp UT tế bào đáy có phối hợp đặc điểm của các thể khác nhau vì vậy nhiều trường hợp không được định thể một cách chính xác nếu chỉ sinh thiết một phần u.

* Thể vi nốt: là thể chiếm tỷ lệ khá cao trong nghiên cứu của chúng tôi (20,6%), đây là thể khó điều trị hơn rất nhiều so với thể nốt vì khả năng tái phát cao. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng thể vi nốt thường xâm nhập một cách kín đáo và sâu hơn so với thể nốt, do đó khó phát hiện ranh giới của u hơn so với thể nốt. Đây có thể là lý do khi phẫu thuật khó lấy hết khối u và tỷ lệ tái phát cao hơn so với thể nốt. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Betti thể vi nốt chiếm 1,6% các trường hợp UT tế bào đáy và tác giả giải thích sự khác nhau này có thể do tiêu chuẩn chẩn đoán khác nhau. Thể này được mô tả chủ yếu dựa vào mô bệnh học, còn trên lâm sàng triệu chứng thường nghèo nàn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với các nghiên cứu của các tác giả khác. Theo các tác giả này thì tỷ lệ thể vi nốt chiếm tỷ lệ rất thấp lần lượt là 7,8% và 3,7%. Khả năng xâm lấn ở vùng mặt và quanh tai của thể vi nốt là rất cao với 77,3% ở mức III và 18,2% ở mức IV theo mức độ Clark sửa đổi. Rất tiếc là trong nghiên cứu này chúng tôi chưa đánh giá được mức độ xâm lấn của các thể ác tính theo phân loại này.

* Thể xơ: trong nghiên cứu của chúng tôi thể xơ chiếm tỷ lệ rất thấp (4,1%) và gặp chủ yếu ở vùng mũi và trán. Thể này có đặc điểm gần giống với thể xâm

nhập nên rất khó phân biệt nên một số nghiên cứu thường ghép 2 thể này với nhau.

* Thể đáy - vảy: Các nghiên cứu đưa ra các tỷ lệ của thể này là khác nhau và nó dao động trong khoảng 0,4 - 12%. Hiện nay vẫn còn tranh cãi thể này là dạng của UT tế bào vảy hay là có sự chồng lấp của 2 loại UT tế bào đáy và UT tế bào vảy. Thuật ngữ “đáy - vảy” được sử dụng để xác định tổn thương mang cả hai nét đặc trưng về mô bệnh học của UT tế bào đáy và ung thư tế bào vảy và có cùng chung vùng chuyển tiếp. Thể này có nguy cơ di căn cao hơn rất nhiều so với UT tế bào đáy và UT tế bào vảy đơn thuần. Cần xem xét sinh thiết hạch vùng đối với thể đáy - vảy có nguy cơ cao như kích thước lớn hơn 2 cm, những trường hợp xâm lấn dây thần kinh và hạch bạch huyết.

* Thể dạng tuyến: nghiên cứu của chúng tôi cho thấy thể dạng tuyến chiếm 10,3% các trường hợp UT tế bào đáy. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Zhang và CS, theo tác giả này thể dạng tuyến chiếm 11,5% nhưng cao hơn so với nghiên cứu của Kikuchi, Chen và Cho.

* Thể sắc tố: Trong nghiên cứu của chúng tôi, biến thể sắc tố là 11,1% . Kết quả này cao hơn các nghiên cứu ở châu Âu nhưng thấp hơn rất nhiều so với nghiên cứu của Kikuchi, tỷ lệ biến thể sắc tố chiếm 69,1%. Theo tác giả này thì hiện tượng tăng sắc tố là do hạt melanin lắng đọng trong khối u và đây là dấu hiệu lâm sàng đặc trưng của người châu Á và là một trong những tiêu chuẩn chẩn đoán UT tế bào đáy ở Nhật Bản.

4.1.2. Một số yếu tố nguy cơ của ung thư tế bào đáy

4.1.2.1. Đặc trưng cá nhân của nhóm bệnh và nhóm chứng

Mặc dù trong nghiên cứu này sự khác biệt về các yếu tố cá nhân và UT tế bào đáy là không rõ nhưng các nghiên cứu khác trên thế giới cũng chỉ ra rằng các chủng tộc người khác nhau có nguy cơ mắc UT tế bào đáy khác nhau. Da bị tổn thương khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời còn phụ thuộc vào màu sắc da. Trên lâm sàng, mức độ tổn thương da do ánh sáng mặt trời phụ thuộc vào độ dày thượng bì hoặc số lượng tế bào hắc tố. Nguy cơ của ung thư da nói chung và UT tế bào đáy nói riêng đều liên quan đến tuổi. Người lớn tuổi thường dễ bị mắc ung thư da hơn người trẻ tuổi. Tỷ lệ UT tế bào đáy gia tăng theo tuổi, có khoảng 90% xuất hiện ở tuổi 50 và cao hơn. Tỷ lệ UT tế bào đáy ở nam giới cao hơn nữ giới từ 1,1-1,9 lần. Tuy nhiên, ở tuổi dưới 50 thì tỷ lệ UT tế bào đáy ở nữ giới lại nhỉnh hơn so với nam giới. Trong số nam giới, tỷ lệ mới mắc ở nhóm tuổi 50-69 và ≥ 70 tuổi cao nhất và tỷ lệ mới mắc tăng 4%/năm. Trong số nữ giới tỷ lệ mới mắc cao nhất ở độ tuổi 50-69 cao hơn độ tuổi ≥ 70 tuổi. Tỷ lệ mới mắc cao nhất của UT tế bào đáy thường gặp ở vùng đầu và cổ, tăng khoảng 2,4% và 1,7% hàng năm cho nam và nữ.

4.1.2.2. Các yếu tố nguy cơ của ung thư tế bào đáy

Tia cực tím trong ánh sáng mặt trời gây ung thư da theo 3 cơ chế: tác động trực tiếp lên ADN, tạo ra các phân tử oxy hóa làm biến đổi ADN và cấu trúc các tế bào, ức chế miễn dịch bẩm sinh chống ung thư của cơ thể. Tia cực tím của ánh nắng mặt trời gây ung thư da đã được chứng minh trên thực tiễn ở một số nước khu vực Bắc Âu và Úc là 2 khu vực được biết đến là bị thủng tầng O zôn và từ đó không ngăn cản được tia cực tím xâm nhập vào trái đất. Tỷ lệ bệnh nhân mắc ung thư da ở các quốc gia thuộc 2 khu vực này cao hơn rất nhiều những quốc gia khác. Những người làm việc ngoài trời có tỉ lệ mắc ung thư da rất cao và theo một số nghiên cứu thì 80% các thương tổn ung thư da ở vùng da hở. Một nghiên cứu khác cho thấy ở những người phơi nắng trên 200.000 giờ có nguy cơ bị ung thư tế bào vảy cao gấp 8-9 lần so với nhóm chứng. Những người có nghề nghiệp phải làm việc ngoài trời (như nông dân, ngư dân, thủy thủ...), thói quen phơi nắng và sự gia tăng du lịch đến các nước nhiệt đới về mùa hè của những người da trắng là các yếu tố quan trọng làm gia tăng tỉ lệ ung thư da. Theo một số nghiên cứu cho thấy người nông dân có nguy cơ UT tế bào đáy tăng gấp 2 lần khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, thuốc trừ sâu, diệt cỏ. Có sự liên quan chặt chẽ giữa yếu tố ánh nắng mặt trời với UT tế bào đáy đó là yếu tố địa dư, ở những vùng gần đường xích đạo thì có tỷ lệ UT tế bào đáy cao hơn nhiều so với vùng khác.

Những người có tiếp xúc với hóa chất có nguy cơ mắc UT tế bào đáy cao hơn 1,2 lần những người chưa từng tiếp xúc với hóa chất, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê. Những người không sử dụng các biện pháp bảo hộ khi tiếp xúc với hóa chất có nguy cơ mắc UT tế bào đáy cao gấp 2,6 lần so với nhóm có sử dụng biện pháp bảo hộ. Một số nghiên cứu trong và ngoài nước cũng cho thấy rằng nhiễm độc một số kim loại nặng như arsenic cũng là nguyên nhân của ung thư da, nhất là ung thư tế bào vảy. Ở những người có nồng độ arsenic cao trong móng có nguy cơ mắc ung thư tế bào vảy cao gấp gần hai lần so với người bình thường. Asen còn có thể làm tăng nguy cơ gây ung thư bằng cách kích thích khối u phát triển, hoạt hóa các hormon. Khi có sự tương tác giữa tiếp xúc với ánh sáng mặt trời và tiếp xúc với asen nó sẽ làm cho UT tế bào đáy phát triển mạnh lên rất nhiều.

Những người tiếp xúc với tia X có nguy cơ mắc UT tế bào đáy cao gấp 3 lần so với nhóm chưa từng tiếp xúc với tia X. Bức xạ ion hóa có khả năng gây ung thư đã được ghi nhận từ những năm đầu thế kỷ XX khi ung thư da thường xuất hiện ở tay các bác sĩ và kỹ thuật viên có tiếp xúc với tia X. Các nghiên cứu dịch tễ học đã xác định rằng xạ trị cũng làm tăng nguy cơ phát triển UT tế bào đáy, xạ trị trứng cá làm tăng nguy cơ UT tế bào đáy gấp 3 lần và xạ trị nám da đầu ở trẻ em làm tăng nguy cơ từ 4 - 6 lần.

4.2. Xác định protein p53, đột biến gen *TP53* trong UT tế bào đáy

4.2.1. Xác định protein p53

Quá trình hình thành và phát triển khối u là một quá trình phức tạp, nó có thể xảy ra tự nhiên hoặc sau khi tiếp xúc với các yếu tố gây độc cho gen. Trong ung thư da, các nghiên cứu dịch tễ học phân tử đã cho thấy rằng bức xạ tia cực tím có thể gây ra đột biến, dẫn đến việc kích hoạt các gen gây ung thư như gen *RAF*, hoặc mất chức năng của các gen ức chế khối u *TP53*. Đột biến gen *TP53* là biến đổi di truyền hay gặp trong nhiều loại ung thư ở người. Hậu quả làm cho protein sản phẩm mất chức năng nhưng nó lại trở nên bền vững hơn và gây tích tụ với một nồng độ cao trong nhân tế bào, tạo ra các sản phẩm gọi là protein p53 đột biến. Bình thường protein của gen *TP53* có đời sống bán huỷ ngắn và không thể phát hiện bằng kỹ thuật nhuộm hoá miễn dịch mô. Đột biến gen này dẫn đến protein p53 bị biến đổi, đời sống bán huỷ của nó sẽ kéo dài nên có thể phát hiện được bằng nhuộm hoá mô miễn dịch.

Trong nghiên cứu này, 131 bệnh nhân được làm hoá mô miễn dịch với p53 trong đó 24,4% bệnh nhân có dương tính, 75,6% âm tính với protein p53. Đa số bệnh nhân có dương tính mô bệnh học 1+ chiếm 14,5%, dương tính 4+, và 3+ đều chiếm 3,8%. Kết quả của các nghiên cứu về biểu hiện protein p53 trong UT tế bào đáy là khác nhau. ở người da trắng cho thấy tỷ lệ đột biến p53 đã được phát hiện trong UT tế bào đáy đơn lẻ là từ 40-56%. Một nghiên cứu mới đây ở Ấn Độ cho thấy đột biến phát hiện ở 100% các trường hợp UT tế bào đáy. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến của gen ức chế khối u trong UT tế bào đáy trong các nghiên cứu có thể giải thích là do sự khác nhau về chủng tộc và địa dư của các bệnh nhân UT tế bào đáy. Các nghiên cứu về mối liên quan giữa bậc lộ protein P53 với mức độ ác tính của UT tế bào đáy ở đưa ra là khác nhau. Kết quả nghiên cứu của De Rosa và CS cũng như nghiên cứu của Barrett và CS cho thấy bậc lộ protein p53 phản ánh độ ác tính của UT tế bào đáy nhưng ngược lại, nghiên cứu của Healy và CS cũng như nghiên cứu của Auepemkiate và CS lại cho thấy bậc lộ protein p53 không phản ánh độ ác tính của UT tế bào đáy.

4.2.2. Đột biến gen *TP53*

Kết quả nghiên cứu cho thấy cho thấy trên hình ảnh điện di thấy mẫu 3,6 mất đoạn exon 2-4; mẫu 2,5 mất đoạn exon 5-6. Tỷ lệ đột biến là ở exon 2-4 chiếm 22,5% và đột biến ở Exon 7-9 chiếm 12,5%. Đặc biệt, không thấy đột biến ở exon 5-6. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy với gen P53, đột biến gặp ở cả 3 dạng, đột biến điểm, đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến mất đoạn lớn. Kết quả cho thấy số mẫu có 1 đột biến chỉ chiếm 17,85% với các mẫu có đột biến. Số còn lại có từ 2 đột biến trở lên. Với những trường hợp có 2 hoặc hơn 2 đột biến thì các đột biến trên một bệnh nhân có thể là: hoặc đột biến mất đoạn lớn và đột

biến điểm; hoặc đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến điểm; hoặc ≥ 2 đột biến điểm. Đặc biệt có 1 bệnh nhân có đến 8 đột biến, trường hợp này cả 8 đột biến đều là các đột biến điểm. Các đột biến điểm phần lớn là thay thế nucleotid, xảy ra ở tất cả các đoạn gen được phân tích và tìm thấy biến đổi. Ngoài ra, có các đột biến chèn thêm nucleotid được phát hiện ở các đoạn IVS1 và IVS6. Kết quả này cũng giống kết quả của các tác giả khác.

Kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phần trên 150 mẫu UT tế bào đáy năm 2015 phát hiện có hai đột biến đồng thời xảy ra tại exon 6 là đột biến c.733T>G và c.735A>C, đột biến này xảy ra tại 1 codon, GGC mã hóa cho acid amin Glycine (G) bị biến đổi thành TGA là mã kết thúc (X). Do xuất hiện mã kết thúc sớm nên gen sẽ ngừng lại. Các biến đổi này là đột biến chắc chắn sẽ gây ảnh hưởng đến kiểu hình ở người mang biến đổi do gen bị ngừng lại. Tuy nhiên, trên exon 6 có biến đổi g.14062A>C (p.G245G) không gây thay đổi acid amin trên phân tử protein nên không gây thay đổi kiểu hình ở bệnh nhân [81]. Nghiên cứu này cũng cho thấy các biến đổi phần lớn ở trạng thái đồng hợp tử, một số ít ở trạng thái dị hợp tử, như các biến đổi: g.11827-11828insC (IVS1); g.12139G>C (exon 3); g.13150T>C và g.13151T>C (exon 4); g.13248A>G (IVS4); g.13451C>G (IVS5); g.14133A>C, g.14183C>T, g.14189C>T và g.14203T>G (IVS6). Biến đổi g.12139G>C ở exon 3 gặp với tỷ lệ rất cao, biến đổi ở exon 4 có 2 loại thì cả 2 loại này đều gặp dị hợp tử. Tuy nhiên, các biến đổi xảy ra hầu hết là biến đổi phối hợp, nên trong 1 mẫu nếu có biến đổi dị hợp với một exon nào đó thì cũng lại còn một biến đổi ở exon khác. Biến đổi gặp nhiều nhất là ở IVS1 và IVS6, biến đổi ở 2 vùng này gặp với tỷ lệ cao với cả UT tế bào đáy, UT tế bào vảy và ung thư hắc tố. Tuy nhiên, các biến đổi ở các vùng intron này hầu hết đều không gây hậu quả gì, rất hiếm các trường hợp biến đổi vùng intron có gây hậu quả hoặc tạo những thay đổi trong tế bào và cơ thể. Với các biến đổi ở các vùng exon là các vùng có sao mã, ở các mẫu ung thư da chúng tôi phát hiện thấy có các biến đổi ở các exon 3, exon 4 và exon 6, các biến đổi ở các exon gặp chủ yếu ở UT tế bào đáy với tỷ lệ: biến đổi ở exon 3 là 84,8%, ở exon 4 là 3,0% và ở exon 6 là 12,1%. UT tế bào vảy cũng có các biến đổi ở exon 3 với tỷ lệ 14,9%. Ở ung thư hắc tố thì không gặp các biến đổi ở các vùng exon. Nếu tính chung cho các loại ung thư da thì tỷ lệ biến đổi ở exon 3 là 61,5%, ở exon 4 là 2,3% và ở exon 6 là 8,3%. Đột biến gen *TP53* trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn các nghiên cứu khác cho thấy tỷ lệ người bị đột biến gen *TP53*, gen tham gia vào điều chỉnh quá trình phân bào và ức chế ung thư ở người Việt Nam thấp hơn ở các nước đã công bố. Vị trí đột biến ở các exon của gen *TP53* trong các báo cáo là khác nhau, theo nghiên cứu của Rady thì tất cả các đột biến gặp ở exon 7 và 8,

còn trong nghiên cứu của chúng tôi thì đột biến xuất hiện ở cả exon 2-4 và exon 7-8.

Nghiên cứu của Trần Đức Phấn cũng chỉ ra rằng tổng số loại biến đổi mà tác giả gặp là 56 loại. Trong đó thay thế nucleotide có 50 loại đột biến chiếm 88,9% số loại đột biến đã gặp, loại chèn nucleotide gặp có 6 loại đột biến chèn nucleotide, chiếm 11,1% số loại đột biến đã gặp. Về vị trí các đột biến xuất hiện, số loại đột biến thay thế nucleotid gặp ở vùng intron có đến 38 loại, đột biến thay thế nucleotid gặp ở vùng exon là 12 loại. Đột biến chèn thêm nucleotid chỉ gặp ở vùng exon và có 6 loại. Cũng theo tác giả này ở 12 loại biến đổi phát hiện được, có 10 biến đổi nucleotid có sự thay đổi acid amin trong phân tử protein, 2 loại biến đổi không gây biến đổi acid amin. 2 biến đổi không gây thay đổi acid amin trên phân tử protein là: 1 ở exon 4, vị trí biến đổi trên bộ gen là g.13150T>C, vị trí tương ứng trên cDNA là c.471T>C, có sự thay thế T thành C, gen hoang dã là GTC đổi thành GTT nhưng acid amin không thay đổi vẫn quy định valin (p.V157V), một loại biến đổi nữa là ở exon 6, vị trí biến đổi trên bộ gen là g.14062A>C, vị trí tương ứng trên cDNA là c.735A>C, có sự thay thế A thành C, mã quy định là GGC nay bị đổi thành GGA nhưng acid amin không thay đổi vẫn quy định glycine (p.G245G). Những biến đổi không gây thay đổi acid amin này chắc chắn không gây ảnh hưởng đến kiểu hình, sẽ không phải là nguyên nhân gây nên các bất thường ở bệnh nhân có biến đổi. Có hai đột biến đồng thời xảy ra tại exon 6 là đột biến c.733T>G và c.735A>C, đột biến này xảy ra tại 1 codon, GGC mã hóa cho acid amin Glycine (G) bị biến đổi thành TGA là mã kết thúc (X). Trường hợp này, sự biến đổi trong phân tử protein là nhiều vì gen sẽ ngừng lại, kết thúc ngay khi xuất hiện đột biến. Cũng theo một số nghiên cứu khác phát hiện thấy có khoảng từ 15- 50% các trường hợp có 1 đột biến. Còn trong nghiên cứu của chúng số mẫu có 1 đột biến chỉ chiếm 17,85%. Số còn lại có từ 2 đột biến trở lên. Với những trường hợp có 2 hoặc hơn 2 đột biến thì các đột biến trên một bệnh nhân có thể là: hoặc đột biến mất đoạn lớn và đột biến điểm; hoặc đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến điểm; hoặc ≥ 2 đột biến điểm. Đặc biệt có 1 bệnh nhân có đến 8 đột biến, trường hợp này cả 8 đột biến đều là các đột biến điểm.

4.3. Bàn luận về phương pháp nghiên cứu và điểm mới của đề tài

Nghiên cứu của chúng tôi là một nghiên cứu phối hợp giữa 3 loại thiết kế nghiên cứu khác nhau: nghiên cứu mô tả cắt ngang để xem xét các đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học, nghiên cứu bệnh-chứng để xác định các yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy và các nghiên cứu hoá mô miễn dịch và sinh học phân tử để xác định các đột biến gen. Thiết kế nghiên cứu là khá tổng hợp sử dụng nhiều kỹ thuật thu thập và phân tích số liệu khác nhau, do vậy đã đưa ra được các bằng chứng khách quan, đặc biệt là các yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy và đột biến

gen *TP53* trong UT tế bào đáy. Trên thế giới các nghiên cứu tương tự như nghiên cứu của chúng tôi không có nhiều mà chủ yếu là sử dụng từng loại thiết kế đơn lẻ và số bệnh nhân được nghiên cứu cũng bị hạn chế. Đặc biệt trong nghiên cứu này chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật phân tích số liệu đa biến (multi-variate regression analysis) để loại các yếu tố nhiễu và xếp loại yếu tố nguy cơ của ung thư biểu mô tế bào đáy. Kỹ thuật này chưa được dùng để phân tích yếu tố nguy cơ trong UT tế bào đáy ở Việt Nam.

Các sai số và hạn chế: Các sai số chủ yếu trong nghiên cứu này bao gồm (1) các sai số nhớ lại và sai số chọn nhóm đối chứng trong nghiên cứu bệnh-chứng; (2) sai số trong xác định đột biến gen *TP53* trong UT tế bào đáy. Đối với các sai số nhớ lại trong việc phỏng vấn bệnh nhân ung thư và nhóm đối chứng được khắc phục bằng cách đào tạo cho điều tra viên thành thực về bộ công cụ phỏng vấn, từng câu hỏi được hiểu và chi tiết cho đối tượng nghiên cứu, tạo không khí thân mật, cởi mở khi tiếp xúc với đối tượng nghiên cứu, trao đổi rõ về mục đích nghiên cứu và tính bảo mật thông tin để đối tượng thoải mái, cởi mở trong quá trình phỏng vấn và từ đó họ sẽ cung cấp đầy đủ các thông tin chính xác cho nghiên cứu. Để khắc phục sai số trong chọn nhóm đối chứng, chúng tôi áp dụng kỹ thuật hạn chế tiêu chuẩn nghiên cứu để làm sao cho nhóm đối chứng khá tương đồng về đặc trưng cá nhân giống như nhóm bệnh về tuổi, giới, nơi ở. Nghĩa là khi tìm được một bệnh nhân ung thư da thì sẽ chọn một người đối chứng cùng giới, độ tuổi tương đồng và ở gần nhà của bệnh nhân để phỏng vấn. Để hạn chế yếu tố nhiễu chúng tôi áp dụng kỹ thuật phân tích đa biến. Để tránh các sai số trong việc xác định các đột biến chúng tôi lựa chọn Bộ môn Y sinh học di truyền thuộc trường Đại học Y Hà Nội để thực hiện các kỹ thuật giải trình tự gen. Đây là một cơ sở có đội ngũ cán bộ có trình độ cao, có kinh nghiệm và có hệ thống máy móc hiện đại. Do vậy kết quả thu được và trình bày trong luận án có độ chính xác và tin cậy cao.

Điểm mới của nghiên cứu này là đã khẳng định lại được yếu tố nguy cơ của UT tế bào đáy là tiếp xúc với ánh nắng mặt trời có cường độ mạnh và thời gian tiếp xúc lâu, có tiếp xúc sóng điện từ và có tiếp xúc tia X. Đồng thời, nghiên cứu này cũng đã xác định được các đột biến của gen *TP53* trong UT tế bào đáy.

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và yếu tố nguy cơ

Hình thái lâm sàng thường gặp của ung thư tế bào đáy là nốt loét (45,8%) và nốt rắn chắc (42%). Hiện tượng tăng sắc tố cao (42%), giãn mạch (19,1%) và hạt ngọc ung thư (39,7%) ở các tổn thương là các dấu hiệu thường gặp. Vị trí

thường ung thư tế bào đáy chủ yếu ở vùng đầu - mặt - cổ (95,8%). Vị trí hay gặp nhất vùng má (23%), vùng mũi (22,3%) và vùng quanh mi mắt (12,9%). Đa số có kích thước thương tổn từ 1 - 2cm (44,3%) và kích thước trên > 2 cm (40,5%). Các thương tổn ung thư chỉ xâm lấn da đơn thuần (93,1%).

Thể mô bệnh học của ung thư tế bào đáy hay gặp là thể nốt (53,1%), thể vi nốt (20,7%). Có 11,7% thể nốt phối hợp với đặc điểm của các thể khác. Trong đó, 5,2% phối hợp với thể vi nốt, 2,6% phối hợp với thể xơ, 2,6% phối hợp với thể dạng tuyến và 1,3% với thể nông. Có 13,4% thể vi nốt có phối hợp với đặc điểm của các thể khác, trong đó 6,7% phối hợp với thể xơ và 6,7% với thể dạng tuyến.

Những người làm việc ngoài trời nắng, có tiếp xúc sóng điện từ và có tiếp xúc tia X có nguy cơ mắc ung thư tế bào đáy cao gấp từ 3,2-4,3 lần có ý nghĩa thống kê so với những người không làm việc ngoài trời nắng, không tiếp xúc sóng điện từ, không tiếp xúc tia X. Những người có tiếp xúc với tiếp xúc hóa chất, tiếp xúc nguồn nhiệt cao, tiếp xúc chất phóng xạ có nguy cơ mắc ung thư tế bào đáy cao hơn nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

2. Xác định protein p53 và đột biến gen TP53

Có 24,4% bệnh nhân ung thư tế bào đáy có dương tính với protein P53. Đa số bệnh nhân có dương tính mô bệnh học (+) chiếm 14,5%, dương tính (++++) và (++++) đều chiếm 3,8%.

Đột biến gen TP53 trong ung thư tế bào đáy gặp ở cả 3 dạng: đột biến điểm, đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến mất đoạn lớn. Tỷ lệ đột biến ở exon 2-4 là khá cao (22,5%) và đột biến ở exon 7-9 (12,5%). Tỷ lệ có một đột biến chiếm 17,85%. Với những trường hợp có từ 2 đột biến trở lên thì thường gặp đột biến mất đoạn lớn và đột biến điểm; hoặc đột biến mất đoạn nhỏ và đột biến điểm; hoặc ≥ 2 đột biến điểm.

KIẾN NGHỊ

1. Nên chẩn đoán sớm UT tế bào đáy bằng xét nghiệm mô bệnh học khi gặp các thương tổn da là nốt cứng, nốt loét ở vùng đầu mặt cổ.
2. Khuyến cáo để đề phòng mắc ung thư tế bào đáy
 - Hạn chế làm việc ngoài trời nắng, tiếp xúc với tia X, chất phóng xạ, hóa chất độc hại, nguồn nhiệt cao.
 - Sử dụng các biện pháp bảo vệ khi tiếp xúc với ánh nắng mặt trời, đặc biệt trong thời điểm 10 -16 giờ.

BACKGROUND

Basal cell carcinoma (BCC) is a member of nonmelanocytic skin cancers and it is a malignant tumor which arises from basal cell-like cells found in the lower layer of the epidermis). It is the most common type of skin cancer with the rapidly increasing prevalence in the world annually and early treatments provide good results. Risk factors contribute to the occurrence and development of BCC is UV exposure, race, age, gender, occupation and DNA repairing.

Among these UVs in sunlight play the most important role in etiological mechanism of BCC. BCC is more common in older, the common site is face where directly exposure to sunlight. However, it can be found in other sites of body such as vulva, scrotum, palm of hand and foot, foot and hand nail bed, or in chronic ulcers, burn scar, tattoo, but never seen in mucous membrane. Typical lesion is small growths, in exposed skin, hard infiltration, telangiectasis surface, hyperpigmentation, possible ulcers and easy bleeding. DNA damages are usually repaired by body and this repairing process is performed by tumor-inhibited *TP53* gene. *TP53* gene mutations have studied in several countries around the world and it is a common mutation in cancers generally and in BCC particularly. In Vietnam there are some works on the clinical features, pathology and treatments for BCC, but there are lack of work that studies systematically on clinical features, pathology, risk factors and mutations of *TP53* gene in BCC.

OBJECTIVES

The study on: “ *Research clinical, histopathological features and TP53 gene mutation in Basal Cell Carcinoma*” was carried out with the following objectives:

1. Survey the clinical, histopathology features and some risk factors in patients with BCC.
2. Identifying P53 protein and *TP53* gene mutation status in BCC.

URGENT NATURE OF THE STUDY

Basal cell carcinoma (BCC) is one of the most common skin cancer. According to statistics at the National Hospital of Dermato-Venerology, the rate of basal cell cancer increases every year. In 2010, more than 2 times higher than in 2007. The disease is not affect the life but it invade the surrounding tissues and dysfunction of some organs such as the nose, mouth and eyes. There are many risk factors, the majority of BCC are induced by sunlight and genetic mutations.

The study of clinical and histopathology characteristics help diagnosis early and precisely; from that, the correctly and timely treatment will reduce costs and the rate of recur while improving the quality of patients life. In addition, identifying a number of BCC's risk factors help to prevent an effective manner thereby reducing the incidence of disease. Especially, this study was conducted *TP53* gene sequencing to find mutations, helps us understand the pathogenesis and gene *TP53* role in BCC.

The fact that in Vietnam there are many cases of BCC, especially farmers who do fishing, but due to limited understanding of the disease, many patients did not visit or come too late when the tomour has metastasized. So far no systematic study of clinical characteristics, histopathology and the risk factors as well as the *TP53* gene mutations in basal cell cancer. Therefore, this research is necessary and highly practical significance.

NEW CONTRIBUTIONS FROM THE THESIS

The study was conducted on 131 patients with BCC, not only the clinical features, histopathology and some risk factors of disease, but also determine the change P53 protein in BCC. The study was conducted *TP53* gene sequencing to find mutations that contribute to better understanding of the genes involved in the pathogenesis of BCC. Thereby contributing to the early diagnosis and prevention.

THESIS OUTLINE

This thesis covers 118 pages, including: preamble (2 pages), the overview (32 pages), materials and method (22 pages), results (28 pages), discussion (31 pages), conclusion (2 page), petition (1 page). It consists of 34 tables, 9 charts, 5 diagram, 8 figures and 127 references (15 in Vietnamese and 112 in English).

Chapter 1. Overview	32 page
Chapter 2. Materials and method	22 page
Chapter 3. Results	28 page
Chapter 4. Discussion	31 page

Chapter 1: OVERVIEW

1.1. Skin cancer classification

BCC is a maglinant tumor involves cells similar cells in basal layer of epidermis. It is the most common skin cancer, make about 80%. The disease has slow progression, invades to surrounded tissues, causes malformation and dysfunction of some organs and parts such as nose, mouth and eye. SCC make about 20% of skin cancers, second common to basal cell cancer. Melanoma is very

aggressive cancer of melanocytes with high mortality, make about 5%. The other skin cancers are Bowen's disease, Paget's disease, fibrocyte cancer, Merkel's cell cancer...

1.2. Clinical and pathological features of BCC

1.2.1. Clinical features

Basal-cell carcinomas may be divided into the following forms:

* *Nodular/ ulcer nodular basal-cell carcinoma*: It is most common, accounts for about 80%. Lesion begin with papule, then progress to nodule with red or pink color, shine and dim in center, firm dense, telangiectasia surface. Papulonodular lesions with pearl-transperance rim. Lesion can spread widely, central necrosis and ulcer, so it has been named as "Rodent ulcer".

* *Superficial basal-cell carcinoma*: The second common after nodular type, makes 9-17.5% cases of BCC. It appears as a flatten or raised erythmatous patch on skin with tiny thread-like rim, obvious margins, red or pink color. It can have central atrophy, scale or ulcer. Pigmented spots can be appeared in surface.

* *Morpheaform (or sclerosing) basal-cell carcinoma*: make 2-3% of BCCs. It is a flesh, pink or white color patch or fibroid papule, in some cases the lesion is flat to skin surface, sometimes creates reduced scar, infiltration, telangiectasia on it, less clear margin to normal skin, the base of tumor tends to spread widerly than lesion margin.

* *Pigmented basal-cell carcinoma*: Lesions in nodular or superficial type exhibit increased pigmentation. Based on amount and location of melanin there differences in clinical expression of lesion, such as black, brown or blue-gray color.

1.2.2. BCC histological features

BCC is a maglinant carcinoma, includes cells like basal layer of epidermis. Special pathology for diagnosing types of BCC is based on HE (Hematoxylin & Eosin) stained samples, cancer cells with dark nuclears (base), cylinder, high proportion of nuclear to cytoplasma, lost of intercellular junctions. Peripheral cells of tumor arrange by fence-like pattern. Most typically, the tumor is separated to surround substrate mass, forms clear space and surrounded by fence-like cell clusters. Cells which are inside of tumor arange casually. Most of tumors initiate from epidermis then invade to dermis in solid, cystic or band types, making different developing patterns. A common feature in large size tumors is necrotic phenomenon in center of tumor.

* *General histological features of BCC*: include epidermic basal-like cells. Cancer cells with dark nuclear, cylinder shape, higher proportion of nuclear to cytoplasma, lost of intercellular junction. Peripheral cell clusters of tumor arrange in fence pattern. Specially, the tumor is separated from surrounding substrate

mass, creates clear space and surrounded by fence -like cell clusters. Cells located inside the tumor arrange casually. Most of tumors begin from epidermis then infiltrate to dermis in solid or cystic or strip form, create different developed patterns.

* *Histological classification for BCC:*

Multifocal superficial basal cell carcinoma (ICD-O code 8091/3): is characterized by the presence of superficial lobules of basaloid cells projecting into the dermis. The basaloid cell lobules are surrounded by loose myxoid stroma and are usually confined to the papillary dermis.

Nodular type (ICD-O code 8097/3): The tumour is characterized by large lobules of neoplastic basaloid "germinative" cells with peripheral nuclear palisading.

Micronodular type (ICD-O code 8090/3): involves tiny nodulae spreading in epidermis that similar in size to hair follicle and can have micro-invasive focuses enter deeply to mesodermis and dermis, so it is easily missed during assessing the tumor edge plane.

Infiltrating type (ICD-O code 8092/3): The tumour is poorly delineated and composed of strands, cords and columns of basaloid cells which infiltrate the dermis. Perineural invasion is common and the basaloid cell infiltrate may extend into deeper tissues.

Fibroepithelial type (ICD-O code 8093/3): The tumor characterized by a network of cords of basaloid cells extending from the epidermis into the dermis, creating a fenestrating pattern.

Basal cell carcinoma with adnexal differentiation (ICD-O code 8098/3): This variant is characterized by the presence of adnexal differentiation including basaloid buds, ductal, sebaceous and trichilemmal elements. Follicular differentiation may be prominent in more superficial BCCs

Basosquamous carcinoma (ICD-O code 8094/3): Pathohistology of typical basosquamous type has 3 major components: the areas with features of basal cell carcinoma with nests of typical basaloid cells that are larger, paler and rounder than solid basal cell carcinoma with peripheral palisading of cells surrounded by retraction clefts, and areas with features of squamous cell carcinoma (squamoid cells that have abundant eosinophilic cytoplasm. A transition zone with intermediate cells is evident between area of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma tumor cell.

Keratinizing basal cell carcinoma (ICD-O code 8090/3): consisting of horn cysts and parakeratotic cells with elongated nuclei and slightly eosinophilic cytoplasm that lie in strands, in whorls, or around the horn cysts, in addition to the basaloid neoplastic cells with their deeply basophilic cytoplasm. The calcification is common.

Other variants: Follicular variant involves one or more different size follicles concentrate near mesodermis. Adenoid variant: the structure includes fine strips of basal cell-like cells arranged to form cell networks. Cicatricial/sclerosing variant: Strips and “nests” of tumor cells attached closely to cicatricial substrate tissue. Hopper capsule variant: The hopper-like structure with keratinic blockage in center and surrounded by basal cell-like cells. Cell strips arranged in connective pattern. Pigmented variant: Melanocytes are scattered among tumor cell clusters, and melanin-contained macrophages were concentrated in connective tissue.

1.3. TP53 gene and BCC

TP53 gene, also known as tumor-inhibited gene, locates in short arm of chromosome 17. It's size is 22000 bp, similar to oncogene, includes 11 exone coding for a message RNA sized 2.2 Kb. *TP53* gene has been found since 1979, it is a protein with molecular weight about 53 kDa. Usually, p53 is found with high level inside cancer cells. P53 has ability to limit mutations occur in cell by working in cell cycle. *TP53* gene mutations have seen in half of single BCC cases. *TP53* gene sequencing studies in BCC to find mutations show that the commonest mutation is pyrimidine-pyrimidine translocation (C=>T) or replacing a couple of pyrimidine by another. In Viet Nam, there are few of research on P53 gene mutation in skin cancers. A study on P53 protein rate in BCC of eye lid area conducted by Hoang Anh Tuan identified this mutation make 22.2%.

- *Patched* gene (PTCH), locates on chromosome 9q22.3, inhibites the growth of cancer cells by increasing directly the apoptosis of tumor cells. *Patched* gene is responsible for coding Patched protein, plays as receptor in cell membrane that binded by Hedgehog family proteins. When this gene has mutation, it is thought to be responsible to trigger Gorlin's syndrome, Xerodermapigmentosum. They are two BCC-associated genetic disorders. *Patched* gene mutation expresses in 30- 40% BCC cases.

- *Hedgehog* gene is responsible for producing hedgehog protein of cell wall which communicates to cell nuclear and actives *Patched* gene, among others. In case of *Hedgehog* gene mutated, inactive *Patched* gene also causes skin cancer.

Chapter 2: MATERIALS AND METHODS

2.1. Material

2.1.1. Selection criteria

Subjects are 131 patients who have definitive diagnosis of BCC present in the National Hospital of Dermatology & Venerology (NHDV) for 2 years (between 2012 and 2013), and volunteers who have quite similar features to BCC cases.

2.2. Time and settings

2.2.1. Time: Data was collected from 2012 to 2013.

2.2.2. Settings:

The National Hospital of Dermatology & Venerology (NHDV) and The Department of Medical Biology and Genetics, Ha Noi Medical University.

In communities: The information of community residences who have similar feature to BCC patients was collected.

2.3. Study method

2.3.1. Study design: The descriptive study to describe the clinical characteristics, histopathology, immunohistochemistry, mutation of *TP53* gene and case-control study to identify risk factors of basal cell carcinoma.

2.3.2. Study samples

2.3.2.1. Study samples for investigating clinical and histopathological characteristics: Based on the sample size calculating formula, the study involved 131 patients with basal cell carcinoma

2.3.2.2. The sample for case-control study: Using case-control study design due to BCC is a rare disease. Study sample size was calculated using the formula and study sample size in each group is calculated 131 patients with basal cell carcinoma (case group) and 131 others (control group).

2.3.2.3. Study sample selection : Patients with BCC were selected by systematic randomized method using a list of patients have been treated at the NHDV within the last 2 years (2012 -2013). The control group selection: for each BCC patient, only one control subject was selected by criteria: lives near the patient house, similar in age and gender.

2.3.3. Data collecting tools and techniques

The Questionnaire includes administrative section, personal characteristics and related factors of basal cell carcinoma and medical record, histopathological test forms

2.3.4. Content and measurements

2.3.4.1. Study the clinical and histopathological characteristics

* *Clinical characteristics:* Time from tumor occurrence, tumor location, tumor size, clinical morphology: solid nodule, ulcer nodule, hyperpigmentation, warts, infiltration patch, lesion surface telangiectasia, cancer pearl, a history of the patient, extent of invasion, lymph node metastasis.

* *Histopathology: Using ICD 10 criteria*

2.3.4.2. Studying on risk factors

* *Demographic characteristics of case and control groups*

- Age
- Gender
- Living place: urban and rural.
- Occupation: famer, woker, bussinessman, public servant, casual labourer, householder, other occupation.
- Education: illiteracy, primary, secondary, high-school, graduated.

- Ethnicity: Kinh and other minor ethnicities.

* *Exposed risk factors for BCC*

- Sunlight exposure, exposure timing
- High heat exposure and labor protective methods
- Chemical exposure and labor protective methods.
- Radiation exposure and labor protective methods.
- Radiofrequency exposure and labor protective methods.
- X-ray exposure and labor protective methods.
- Smoking exposure.
- Family history of BCC.
- Personal history

2.3.4.3. *Studying on gene P53 mutation*

* *Immunohistochemical assays*

- Negative rate less than 1% of tumor cells stained
- Positive rate (+): between 1-25% of tumor cells stained
- Positive rate (2+): between 26 - 50% of tumor cells stained
- Positive rate (3+): 51 - 75% of tumor cells stained
- Positive rate (4+): 76 - 100% of tumor cells stained

* *TP53 gene sequencing: Identifying mutated gene prevalence*

2.4.4. Data analysis:

Data was analysed using SPSS 16.0 software. Data was presented in form of quantity and proportion. The difference of percentage rate was compared using Z test and χ^2 test. Statistical tests were tested with statistical significant difference was set at $p < 0.05$. Risk factors were compared and presented as odd ratio (OR) and 95%.

2.5. Ethics in studying

The study was approved by Ethic Committee of NHDV. Patients were informed thoroughly when participating to the study. Patient information was kept in secret and coded in computer during data processing to ensure not any information would be released.

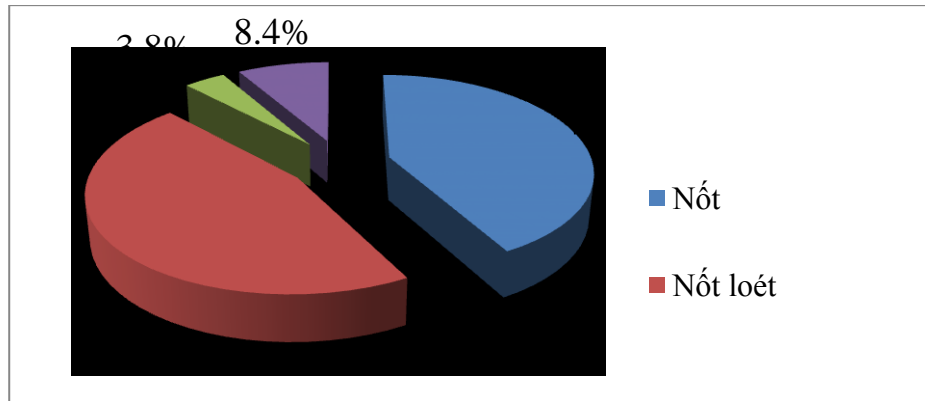
CHAPTER 3. RESULTS

3.1. Clinical and histopathological characteristics and risk factors of BCC

3.1.1. Patients characteristics

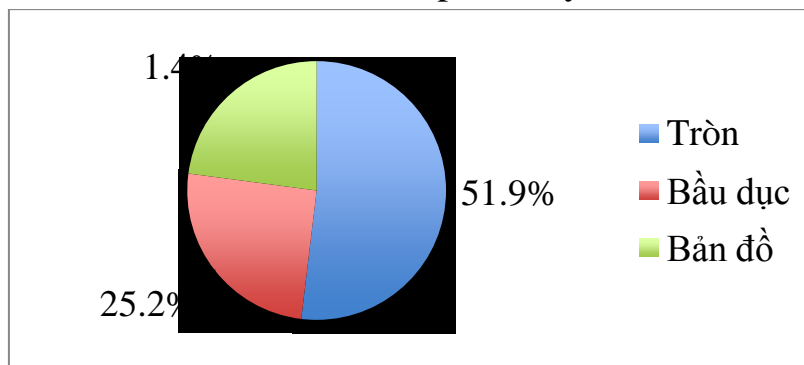
Out of 131 patients with BCC were involved in study, female proportion is 51.9%. 70-79 year age group accounted for the highest rate of 32.1%, followed by the 50-59 year age group, which accounted for 21.4 % and the lowest rate was under 40 year age, accounted for 3.8 %. Most of patients had no religious belief (95.4%). Majority of patients were farmers (64.9%) and workers (16%)

3.1.2. Clinical and histopathological characteristics



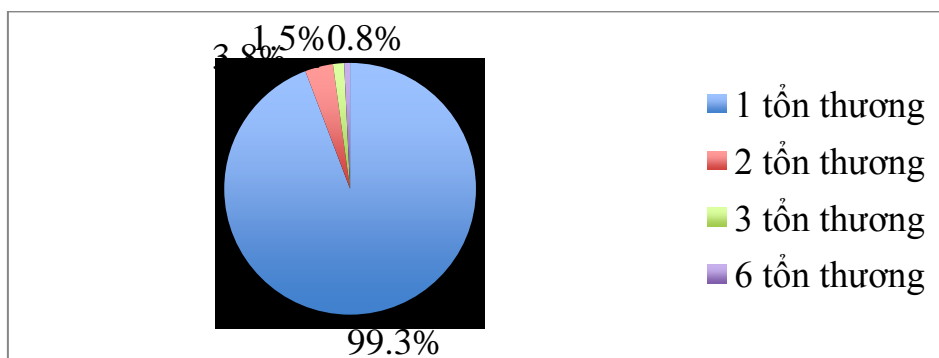
Scheme 3.1. Distribution by clinical forms /tumor types (n =131)

Most common clinical form is nodules/ulcers (45.8%) and solid nodules (42%). The rare forms as hard patch/infiltrated patch and papilomatous accounted lower rate (8.4% and 3.8%, respectively).



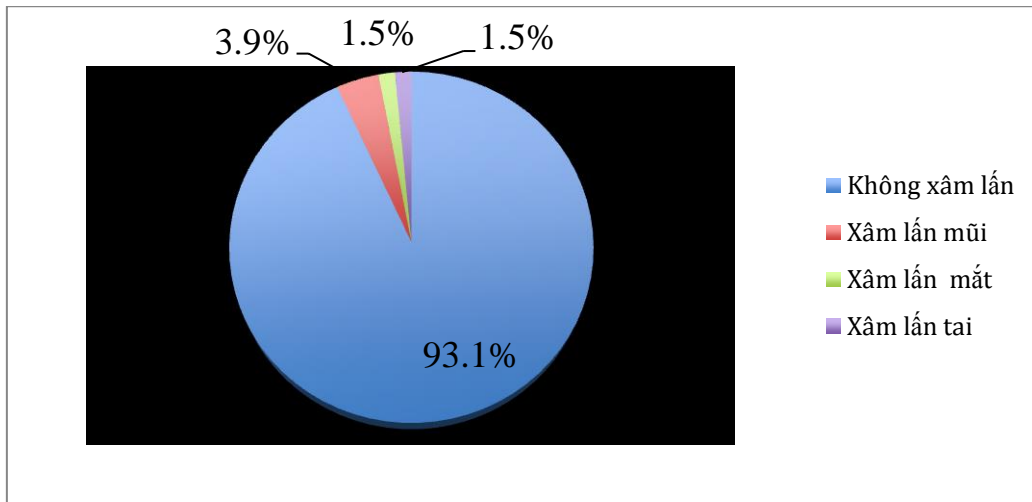
Scheme 3.2. Distribution of lesion shape (n=131)

Round shape of lesion accounted highest rate (51.9%), followed by oval (25.2%) and map shape had lowest rate (22.9%).



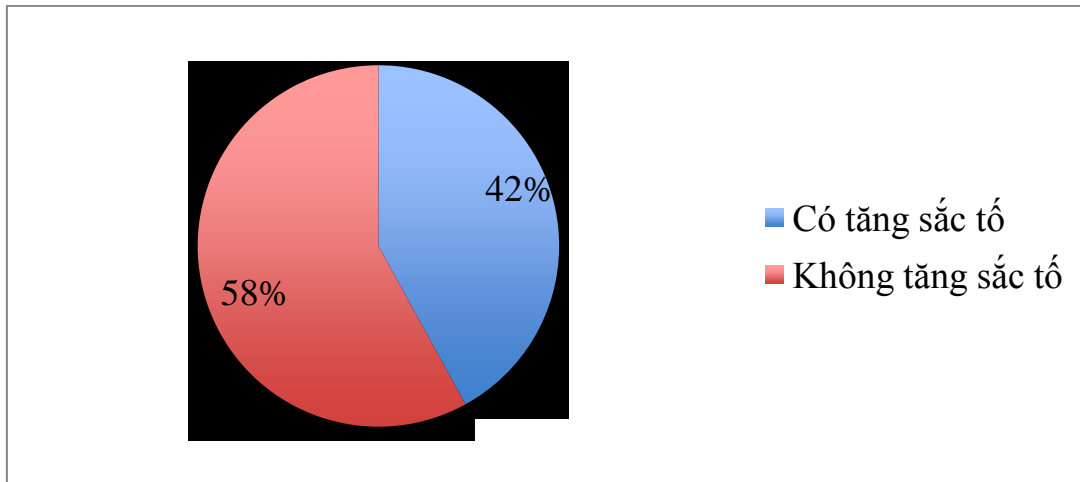
Scheme 3.3. Distribution of lesion quantity (n=131)

Patients with 1 had highest rate (93.9%), followed by 2 lesions (3.8%), especially 6 lesions accounted 0.8%.



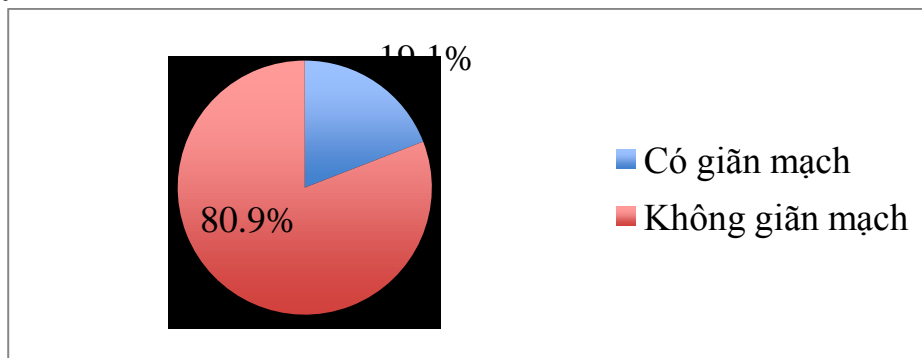
Scheme 3.4. Distribution of invasive organized (n=131)

BCC patients with invasive organized around low percentage (6.9%). The most common is invasive nasal region (3.9%), eye and ear proportion accounted for 1.5% of invasive.



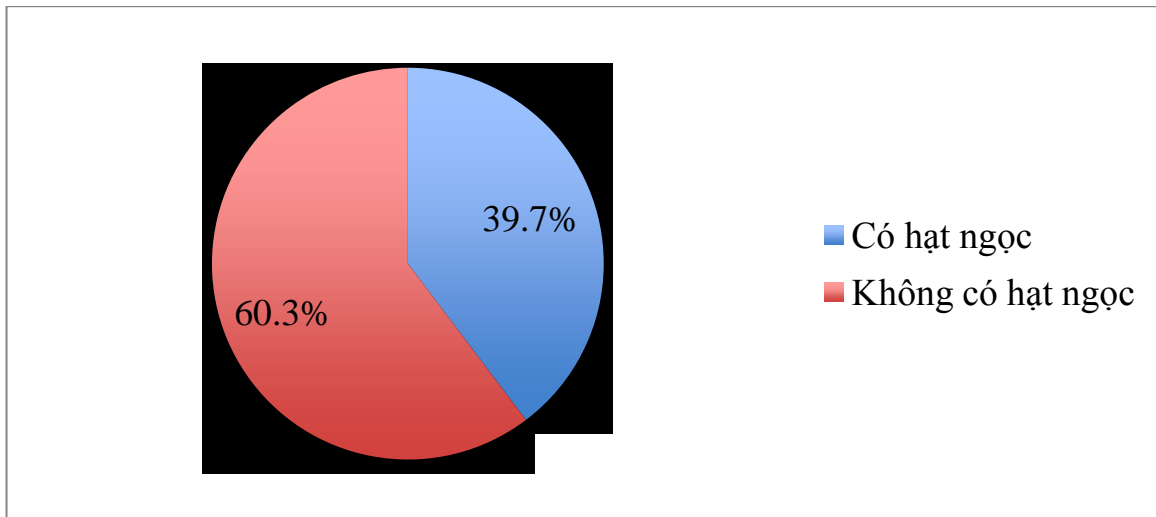
Scheme 3.5. Distribution of disease types based on hyperpigmented patterns (n=131)

Rate of patients with and without hyperpigmentation was 42% and 58%, respectively.



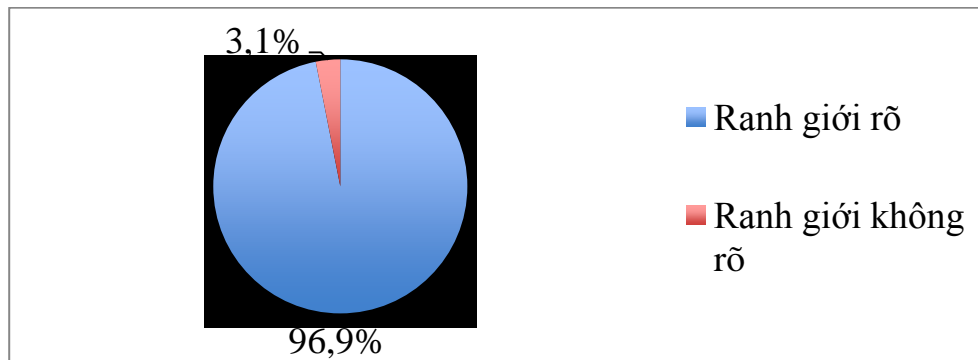
Scheme 3.6. Distribution of disease types based on telangiectasia (n=131)

Rate of patients with and without telangiectasia was 19.1% and 80.9%, respectively.



Scheme 3.7. Distribution of pearl-like features in BCC (n=131)

Rate of patients with and without pearl-like lesion is 39.7% and 60.3%, respectively.



Scheme 3.8. Distribution of lesion margin (n=131)

Rate of patients with definitive margin and indefinite margin is 96.9% and 3.1%, respectively.

Table 3.1. Lesion distribution according to anatomic location (n=131)

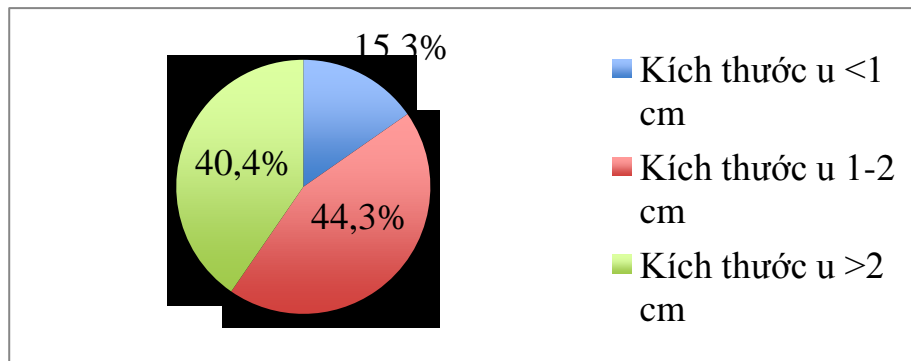
Location	n	%
Head, face, neck	139	95,8
Trunk	4	2,8
Extremities	2	1,4
Total of lesions	145	100,0

BCC is most common found in head – face – neck (95.8%), less common in trunk and extremities (2.8% and 1.4%, respectively).

Table 3.2. Lesion distribution in head – face-neck location

Lesion location	n	%
Nose	31	22.3
Cheek	32	23
Orbital circle	18	12.9
Nasolabial fold	10	7.1
Ear	11	7.9
Forehead	10	7.1
Under-eye	8	5.7
Mouth surrounding	8	5.7
Thái dương	7	5
Head	3	1.4
Neck	1	0.7

Lesions in head-face-neck found in 127 patients with 139 lesions. The location of BCC lesions in cheek and nose accounts for highest rate 23% and 22.3%, respectively, followed by in orbital circle (12.9%) and in ears (7.9%).

**Plot 3.9. Distribution of tumor size (n=131)**

Most of patients have tumor size between 1-2 cm, with rate of 44.3%, larger than 2cm is 40.4%.

Table 3.3. Distribution of histopathology (n=145)

Histopathological types		n	%
Nodular		77	53,1
Micronodular		30	20,7
Morpheiform		6	4,1
Basosquamous		1	0,7
Variants	Adenoid	15	10,3
	Pigmented	16	11,1
Total		145	100

The study involved 131 patients with 145 histopathological types. Nodular type is most common with rate of 53.1%, followed by micronodular type 20.7%; Pigmented variant is 11.1% and adenoid variant is 10.3%.

Table 3.4. Combination of nodular type with other type characteristics (n=77)

Nodular type combination	n	%
Single nodular type	68	88.3
Nodular type with superficial type	1	1,3
Nodular type with morphoeiform type	2	2,6
Nodular type with micronodular type	4	5,2
Nodular type with adenoid type	2	2,6

11.7% of nodular type is found combining with other type characteristics, among these combining with micronodular type is 5.2%, Morphoeiform type 2.6%, adenoid type 2.6% and superficial type 1.3%.

Table 3.5. Combination of mini-tumor type with other type characteristics (n=30)

Combination of mini-tumor type	n	%
Single Micronodular type	26	86.6
Micronodular type with Morphoeiform type	2	6.7
Micronodular type with adenoid type	2	6.7
Total	30	100

13.4% of micronodular type has combination with characteristics of other types. Among these combination with fibroid type is 6.7% and with adenoid type is 6.7%. The mean age of patients in both genders with nodular type is 66 ± 12.3 , with micronodular type is 63.9 ± 15.1 , with adenoid type is 63.0 ± 16.5 and with morphoeiform type is 75.5 ± 12.9 . The mean age of male patients with adenoid type is lower than those with nodular type (48.8 ± 18.9 vs 65.8 ± 10.2), micronodular type ($63,6 \pm 14.0$), morphoeiform type (70.0 ± 21.2) and pigmented type (64.5 ± 11.1). The mean age of female patients with adenoid type is higher than that of male patients (68.3 ± 12.7 vs 48.8 ± 18.9), the difference is statistic significant ($p < 0.05$). The mean age of patients with morphoeiform type in head-face-neck location is 79.6 ± 9.9 , higher than those with other types in same location.

Nodular type and micronodular type is quite similar in men and women. Meanwhile adenoid type is more common found in women than in men (73.4% vs 26.6%). However, the analysis of relationship between histopathological types and gender showed that this difference is not significant ($p > 0.05$). Head, face and neck are most locations of nodular type (97.1%), micronodular type (96.2%), morphoeiform type (83.3%), adenoid type (100%) and pigmented type (100%). There are no significant difference of tumor location and histopathological types ($p > 0.05$).

3.1.3. Risk factors của BCC

Table 3.6. Analysis of relationship between some risk factors and BCC (multivariable regression analysis)

Risk factors của BCC	OR	95% CI
Age (less 60 years/ 60 years or more)	0.9	0.50-1.58
Gender (Male/Female)	0.5	0.16-1.34
Education (lower than high-school/high-school or higher)	0.9	0.46-1.82
Ethnics (Kinh/Others)	2,8	0,70- 10,8
Living place (Urban/Rural)	1,3	0,60- 2,70
Religious belief (N/Y)	0,86	0,24-3,03
Smoking (Y/N)	2,4	0,84-7,09
Occupational sunlight exposure (Y/N)	4,3	<u>2,01- 9,17</u>
High heat exposure (Y/N)	1,1	0,38-3,35
Chemical exposure (Y/N)	0,85	0,47-1,52
Radiofrequency exposure (Y/N)	3,5	<u>1,44-8,2</u>
X-ray exposure X (Y/N)	3,2	<u>1,4-7,3</u>

Using multivariable regression formula, persons who have occupational sunlight, radiofrequency or X-ray exposure are 3,2 to 4,3 times more likely to have BCC than others. These differences are significant.

3.2. Identification of p53 protein and p53 gene mutation in BCC

3.2.1. P53 protein identification

Table 3.7. The distribution ratio of positive to p53 by immunohistochemistry

Protein p53	n	%
Positive	32	24,4
Negative	99	75,6
Total	131	100

Rate positive for p53 protein accounted for 24.4%.

Table 3.8. Distribution of p53 positive level using immunohistochemical assays (n=131)

Positive level	n	%
4+	5	3,8
3+	5	3,8
2+	3	2,3
1+	19	14,5

Among 131 patients underwent immunohistochemical assays, most of patients have histopathological positive 1+, accounted 14.5%, positive 4+, and 3+ is 3,8%.

Table 3.9. Distribution of histopathological type and P53 protein (n=131)

P53 antigen Histopathological type	P53				Total	
	Positive		Negative			
	n	%	n	%	n	%
Nodular	13	18.6	57	81.4	70	100
Micronodular	11	40.7	16	59.3	27	100
Morphoeiform	2	30	4	70	6	100
Adenoid	4	26	11	74	15	100
Pigmented	2	15.4	11	84.6	13	100

Micronodular type that is positive to p53 is 40.6%, nodular type that is positive to p53 is 18.6%, morphoeiform type that is positive to p53 is 30%, adenoid type that is positive to p53 is 26% and pigmented type that is positive to p53 is 15.4%.

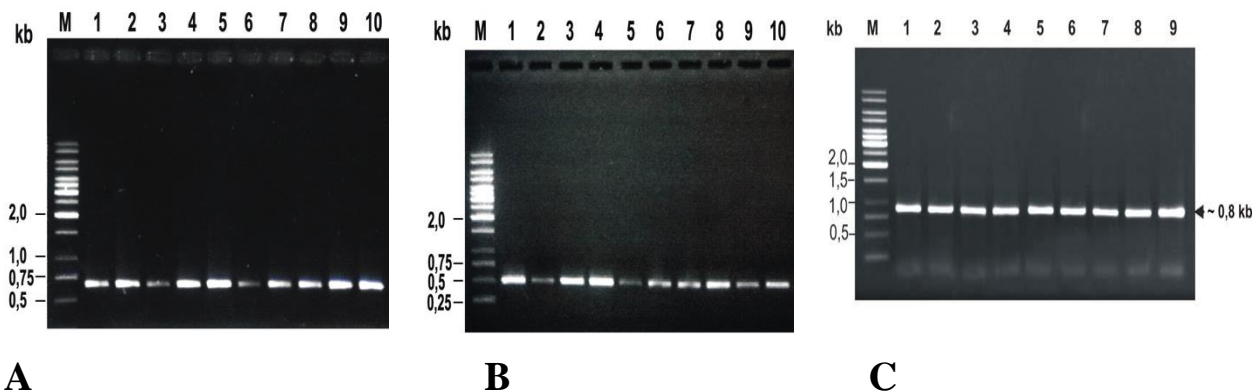
3.2.2. Gene p53 mutation in BCC

3.2.2.1. Genral information on study samples

Among 80 BCC samples which were sequenced, 54 samples (67.5%) is stored in paraffin, 26 fresh samples (32,5%). All of samples is extracted DNA with proper quantity and quality for molecular testing.

3.2.2.2. TP53 gene analysis findings

* PCR of studying gene sections



A: exon 2-4 section, size: 611bp; **B**: exon 5-6 section, size 378bp; **C**: exon 7-9 section, size 755bp; **M**: Marker 1kb, 1-10: studying samples.

Figure 3.1. Photos of PCR product electrophoresis of P53-coded gene in studying sample TP53 gene was sequenced for 3 section: section 1 from exon 2 - 4, section 2 is 5-6 and section 3 is 7-9. The result of gene section PCR electrophoresis for sequencing is good for all of 80 patients, ensure the sequencing is easy and

accuracy. Figure 3.1 showed that on electrophoresis photo the 3,6 samples missed exon 2-4 section; 2,5 samples missed exon 5-6 section.

* *TP53* gene modification findings in BCC samples

Table 3.10. Rate of *TP53* gene modification in BCC samples

Gene modification	n	%
Exon 2-4	18	22.5
Exon 5-6	0	0
Exon 7-9	10	12.5
Without modification	52	65.0
Total	80	100,0

Results of above table showed that rate of mutation in exon 2-4 was 22.5% and in exon 7-9 was 12.5%. Especially, mutation in exon 5-6 was not found.

* Classification of P53 gene mutation

- Rate of deletions and point mutations

Table 3.11. Rate of deletions in *P53* gene and point mutations of BCC

Classification of <i>P53</i> gene mutation	n	%
Major deletion*	8	5.76
Minor deletion **	9	6.47
Point mutation	11	7,91
Total	28	21,14

*: Major deletion: The deletion with hundreds of bp (deletion of exon 2, exon 4, exon 7, exon 9).

** : Minor deletion: The deletion with *mất vài chục bp* – deletion of 16bp in site of exon 2 - 4 (Del 16 bp (11261- 11277)).

Results of above table showed that for *TP53* gene, 3 types of mutation can be found: point mutation, minor deletion and major deletion.

Number of mutations on a cancer sample

A cancer sample can include one, two or even more than 3 mutations.

Table 3.12. Rate of mutations occur on one BCC sample

Number of mutations	n	%
1 mutation	5	17,85
2 mutations	5	17,85
3 mutations	7	25,0
4 mutations	8	28,75
5 mutations	0	0
6 mutations	2	7,14
7 mutations	0	0
8 mutations	1	3,17
Total	28	100

Results of above table showed that the samples with 1 mutation accounted only 17.85% in the samples with mutation. The rest of samples included 2 mutations or more. For cases with 2 or more mutations, the mutations in a patient can be major deletion plus point mutation; or minor deletion plus point mutation; or 2 point mutations and more. Especially, one patient had 8 mutations. In this case all of 8 mutations were point mutation.

Chapter 4: DISCUSSION

4.1. Clinical, histopathological characteristics and risk factors

4.1.1. Clinical and histopathological characteristics

4.1.1.1. Clinical characteristics

The most common clinical morphology of BCC is nodular ulcer (45,8%) and nodular morphology (42%). These finding are in line with those of other authors in Viet Nam and in the rest of the world, these authors believe that nodular ulcer morphology is most common morphology. To explain for ulcer phenomenon in BCC, Nouri argued that the necrosis of individual cells as well as the patch of necrosis is case of ulcer morphology on clinical. The feature of clinical ulcer is common in skin cancer make it can be easily misdiagnosed to other infections by physicians who are infamiliar to oncological and dematological sections. In Caucasian people (with skin of type I, II by Fitzpatrick's classification), hyperpigmented morphology in tumor is low, accounts only about 6% of BCC cases, but in studies on Asian people (with skin of type IV, V by Fitzpatrick's classification) this morphology accounts high proportion. According to research in Japan, the pigment appearance in tumor lesion accounts about 75% of BCC cases and in South Korea they accounts for 55%. It showed that pigmentation is characteristic sign which found commonly in Asian people, and it is also the difference of skin colour between Caucasian and Asian people. Again, according to Kikuchi, pigmented morphology can be considered as one of criteria for diagnosis of BCC in Japan. Telangiectasia is common phenomenon in cancer

generally and in BCCs especially, a tumor will not develop without vessel growth and this growth is impacted by endothelial growth factor. A recent study in Europe showed that rate of lesions surrounding telangiectasis lesion was found in up to 80.8% of BCC cases, according to authors, there were two common telangiectasic morphology in BCCs is tree-like telangiectasia and the telangiectasia of short vessel sections. According Rajpar, approximately 10% of patients with 2 or more lesions, therefore it is needed to examine whole skin to avoid missing out lesions. For lesion sites based on anatomic location, research in the world showed that BCC can be seen in different locations of the body such as the vagina, scrotum, palm, sole, nail bed, or appeared in chronic ulcers, burn scars and tattoos, but never seen in membrane. One study in Lithuania showed that beside head-face-neck location, the prevalence of BCC in the legs of women is higher than that of men, this can be explained by the habit of dressing, the women often wear dress so that the legs are exposed to sunlight, while men often wear shoes and long pants, so the legs are not exposed directly to sunlight.

4.1.1.2. Histopathological characteristics

* Nodular type: The histopathological studies on BCC showed that nodular type is most common and fluctuate in different countries from more than 40% to nearly 90%. Our findings on nodular type is similar to results of other studies in Asian countries as China - 53.9%, Japan - 54%, South Korea - 60.3% and Singapore 40%, but much lower than that of studies in Taiwan, according to these authors, nodular type accounts up to 86.5%. Meanwhile, according to studies in Australia, the rate of nodular type in BCC case is 48.1%. In UK, the rate of nodular type is 78.7%. Reason of difference in rate of nodular type in these studies may be a BCC patients may have more than one histopathological type, so the results can be assessed depending on the subjectivity of the observer, this reason can contribute to changing the rate of the histopathological types in studies. According to Cohen, about 40% of BCC cases have combined characteristics of other types, so many cases can not be identified correctly with only partial tumor biopsy.

* Micronodular type: This type accounts quite high percentage in our study (20.6%), this type is treated more difficultly than nodular type because of high potential recurrence. Research showed that micronodular type often invades more silently and deeply than nodular type, so it is more difficult to detect the tumor margins than in nodular type. It may be the reason for difficulty of surgery in removing whole tumor and for higher rate of recurrence comparing to nodular type. However, in the study of Betti, micronodular type accounts for 1.6% of BCC cases and the authors explained this difference may be due to different diagnostic criteria. This type described mainly based on histopathological evidence, and clinical symptoms are often poor. Results in our study is higher than that in the

studies of other authors. According to these authors, the proportion of micronodular type is very low (7.8% and 3.7%, respectively). The infiltrative ability in the face and around the ears of micronodular typer is very high, with 77.3% in III level and 18.2 in IV level on the modified Clark's grade. Unfortunately, in this study we did not assess the invasive extent of malignant types using this classification.

* **Sclerosing/Morpheiform type:** In our study the sclerosing type had very low rate (4.1%) and had been found mainly in the nose and forehead areas. This type had similar characteristics to the infiltrating type, so it can be very difficult to differentiated to each other. Some studies often combine these types together.

* **Basosquamous type:**The research showed difference in the proportion of this type, ranged from 0.4 to 12% . Currently, the baffle is still on this type is a form of squamous cell carcinoma or it is the overlap of BCC and squamous cell carcinoma. The term "basosquamous" is used to determine the lesions with both histopathological characteristics of BCC anf squamous cell carcinoma and has the same transition area. This type has a much more higher risk of metastasis than that of BCC or squamous cell cercinoma alone. Consideration should be given to regional lymph node biopsy for high-risk basosquamous type with size larger than 2 cm and in cases with nerve and lymph node infiltration.

* **Adenoid subtype:** Our study showed that adenoid type accounts for 10.3% of BCC cases. Our results is equivalent to that in the study of Zhang et al., according to these authors adenoid type accounts for 11.5 % but higher than that in the study of Kikuchi, Chen and Cho.

* **Pigmented subtype:** In our study, pigmented type is 11.1 %. This proportion is higher than that in the studies in Europe, but much lower than that in study of Kikuchi, which showed that the rate of pigmented type is 69.1 %. According to this author, the hyperpigmentation is caused by melanin deposition in the tumor and it is the special clinical signs of Asian and is one of the diagnostic criteria for BCC in Japan.

4.1.2. Some risk factors of BCC

4.1.2.1. Personal characteristics of case and control group

Although in this study the differences in the individual factors and BCC are not clear but other studies in the world also indicated that people of different races have different risk of BCC. Skin damaged due to exposure to sunlight depends on skin color. On clinical, the severity of skin lesion caused by sunlight depends on the epidermic thickness or amount of melanocytes. The risk of skin cancer in general and BCC in particular are related to age. Older people are often more susceptible to skin cancer than younger people. The incidence of BCC increases with age, with 90% more likely occur in the 50s of age or more. Rate of BCC is

1.1 to 1.9 times higher in men than in women. However, in people under 50s, the rate of BCC in women is slightly higher than in men. In men, the incidence in the age group of 50-69 and 70 years of age or more is highest and it is increased by 4% per year. Among women, the highest incidence is found in the age group of 50-69, higher than in group of 70 years of age or more. The highest incidence of BCC is found in head and neck, increased by 2.4% and 1.7% annually for both genders.

4.1.2.2. Risk factors of BCC

Ultraviolet rays in sunlight can cause skin cancer by 3 mechanisms: (1) making direct effects on DNA; (2) creating oxidative molecules alter the DNA and cell structure and (3) inhibiting the innate immunity in fighting cancer. Skin cancer resulted from ultraviolet rays in sunlight have been proven in practice in some Northern European countries and Australia - two areas known as ozone holes and thus can not prevent ultraviolet rays from entering to Earth. The proportion of patients with skin cancer in the countries located in these two regions is much higher than that in other countries. People who work outside has very high prevalence of skin cancer and according to some research, 80% cancerous skin lesions are on exposed skin areas. Another study showed that in the people who have more than 200,000 hours of sunlight exposure, risk of having squamous cell carcinoma is 8-9 times higher than that in the control group. People who have to work outdoors (such as farmers, fishermen, sailors etc...), sun exposure habits and the increase in travelling to tropical countries in the summer of Caucasian people are the important factors that increase the prevalence of skin cancer. Some studies showed that risk of having BCC in a farmer would increase by two times when he/she expose to sunlight, pesticides, herbicides. There are close relation between sunlight and BCC that is geography, in areas near the equator, the prevalence of BCC is much higher in comparison to others

People who exposes to chemicals have 1.2 times higher risk of BCC than those without exposure to chemicals, but this difference is not statistical significant. Those who do not use protective measures when exposing to chemicals have 2.6 times higher risk of BCC than the group using protective measures. Some domestic and foreign research found that the poisoning of heavy metals such as arsenic also causes skin cancer, especially squamous cell carcinoma. In people with high levels of arsenic in nails, the risk of squamous cell cancer almost two times higher than the average people. Arsenic can increase the cancer risk by stimulating tumor growth, activating hormones. When the interaction between sunlight and arsenic exposure occurs, BCC can grow strongly.

People with X-rays exposure has risk of BCC 3 times higher than those who has no exposure to X-rays. Ionizing radiation has potential capability in causing cancer has been recognized since the early twentieth century when skin cancer often appears on the hands of doctors and technicians who have X-ray exposure. Epidemiological studies have determined that radiation therapy increases the risk of developing BCC, radiation therapy for acne increases the risk of BCC by 3 times and those for scalp fungus in children increases the risk by 4-6 times.

4.2. Identification of P53 proteins, TP53 gene mutations in BCC

4.2.1. Identification of p53 proteins

The process of formation and development of tumors is complex, it can occur naturally or after exposure to the gene toxic factors. For skin cancer, the molecular epidemiological studies showed that UV radiation can cause mutation, leading to the activation of oncogenes such as RAF gene, or lost of function of tumor-inhibited *TP53* gene. *TP53* gene mutations are genetic alteration commonly seen in many types of human cancer. Consequently, it makes protein products become nonfunctional but more sustainable and accumulate with a high concentration in the cell nucleus, creating the product known as p53 mutation protein. Normally, p53 protein has short half- life and can not be detected by immunohistochemical staining techniques. The mutation of this gene leads to alteration of protein, its half- life lasts up longer so it can be detected by immunohistochemical staining.

In this study, 131 patients were given p53 immunohistochemical assays, among these 24.4% of patients were positive for p53, 75.6% were negative for p53 protein. Most patients have histopathological positive at 1+ (14.5%), positive at 4+ and 3+ were 3.8% for each one. Findings from studies of p53 proteins expression in BCC is different in Caucasian people, with p53 mutation rate was detected in BCC is ranged from 40 to 56%. A recent study in India showed that mutations were detected in 100% of cases of BCC. The difference in mutation rate of tumor-inhibited gene in BCC can be explained by differences in race and geography of BCC patients. Studies on relationship between p53 protein expression with malignancy of BCC produced different findings. Results of study conducted by De Rosa et al. as well as by Barrett et al. revealed that p53 protein expression reflects the aggressiveness of BCC, but the study of Healy et al. and of Auepemkiate et al. showed that p53 protein expression do not reflect the malignancy of BCC.

4.2.2. TP53 gene mutation

Results of this study showed that on electrophoresis image sample of 3,6 lost exons 2-4; sample of 2.5 lost exons 5-6. Rate of mutation in exon 2-4 was 22.5% and in exon 7-9 was 12.5%. Specifically, mutation was not found in exon 5-6. Our study also showed that for *TP53* gene, mutations occurred in all three forms, point mutation, small segment deleting mutation and large segment deleting mutation.

The results showed that the samples had one mutation accounted for only 17.85% of samples with mutation. The rest of samples had two mutations or more. For cases with two or more mutations, the mutations on a patient can be: large segment deletion and point mutation; or small segment deletion and point deletion; or 2 point deletions or more. Especially, one patient had 8 mutations. In this case, all of 8 mutations were point mutation. Most point mutations were nucleotide replacement, occurred on all of gene segments which were analysed and found alteration. Besides this, nucleotide insertion mutations were found in IVS1 and IVS 6 segment. These results were similar to results of other authors. Results from the study of Tran Duc Phan on 150 BCC samples in year of 2015 detected two mutations occurred in exon 6. They were c.733T>G and c.735A>C mutations. These mutations occurred in one codon, GGC coded for Glycine (G) amino acid was converted into the TGA, which is terminal codon (X). Because of early appearance of terminal code, gene was shortened. These alterations lead to effects in the phenotype of carriers due to shortened gene. However, in exon 6 with alteration g.14062A> C (p.G245G) do not cause amino acid changes in the protein molecules, so it do not change the phenotype of patients [81]. This study also showed that most of variations were homozygous state, only few in heterozygous state, as variations of g.11827-11828insC (IVS1); g.12139G> C (exon 3); g.13150T> C and g.13151T> C (exon 4); g.13248A> G (IVS4); g.13451C> G (IVS5); g.14133A> C, g.14183C> T, g.14189C> T and g.14203T> G (IVS6). G.12139G> C variation in exon 3 was found with high proportion, variations in exon 4 had 2 types, both of which were heterozygous. However, the variations occurred mostly in combined pattern, so in one sample if heterozygous variation occurred in a certain exon, it would occur in other exon. The variations were found mostly in IVS1 and IVS6, variations in these two areas were encountered with high proportion in both of squamous carcinoma and melanoma. However, the variations in these intron regions almost produced no consequence, in very rare cases the variations in the intron regions led to consequences or made the changes in the cell and the body. With variations in in the exon region where transcription occurs, in skin cancer samples we found there are variations in the exon 3, exon 4 and exon 6, the variations in the exons were found in BCC with rates: variation in exon 3 was 84.8%, in exon 4 was 3.0% and in exon 6 was 12.1%. Squamous cell carcinoma also had variations in exon 3 with rate of 14.9%. Changes in exon areas were not found in melanoma. For all kinds of skin cancer, the rate of variation in exon 3 was 61.5%, in exon 4 was 2.3% and 8.3% in exon 6. *TP53* gene mutation in our study was lower than that in other studies. It showed the rate of people with mutation in *TP53* gene, gene involved in the regulation of cell division and cancer inhibition, is lower in Vietnamese than in people from other published countries.

Mutation sites in exon of *TP53* gene is different in different reports, according to research by Rady, all mutations occur in exon 7 and 8, but in our study, the mutation occurs both in exon 2-4 and exon 7-8.

Research of Tran Duc Phan also indicated that total variation types that the author encountered is 56 types. Among them there were 50 types of nucleotide substitution mutation, accounted for 88.9% of mutation types encountered, nucleotide insertion mutation had 6 types, accounted for 11.1% of mutation types found. On location where the mutation appeared, nucleotide substitution types found in intron regions had up to 38 types, nucleotide substitution found in exon areas had 12 types. Nucleotide insertion only found in exon areas and also had 6 types. Also according to this author, in 12 types of variation was found, 10 nucleotide variations has amino acid changes in protein moleculars, 2 types of variation did not lead to amino acid changes. 2 variations did not cause amino acid changes in the protein molecules were: 1 in exon 4, variation site on the genome was g.13150T> C, the corresponding site on the cDNA was c.471T> C, with T replaced by C, the wild gene changed to GTT but the amino acid, valine, was not changed (p.V157V), another variation was in exon 6, variation site on the genome was g.14062A > C, the corresponding site on the cDNA was c.735A> C, there was replacement of A to C, regulated code, GGC, was now being changed to GGA, but the amino acid was not changed, remain regulated for glycine (p.G245G). These variations which did not change amino acid certainly did not affect to the phenotype, and was not cause of abnormalities in patients with them. There are two mutations occurred simultaneously in exon 6 was c.733T> G and c.735A> C, these mutations occurred in one codon, GGC encoded for the amino acid Glycine (G) was converted into TGA which was terminal code (X). In this case, the alteration of protein molecules was abundant, because the genes would be shortened and end as soon as mutation appeared. Also according to other studies, it was found that between 15 to 50% of cases with 1 mutation. But in our study the samples with one mutation accounted for only 17.85%. The remaining had 2 mutations or more. For case with 2 or more mutations, the mutations on a patient can be: large deletion and point mutation; or small deletion and point mutation; or 2 or more point mutations. Specially, one patient had up to 8 mutations, in this case all of mutations were point mutation.

4.3. Discussion on study method and novel argues of thesis

Our study is a combination involved three different kinds of study designs: cross-sectional descriptive study to examine the clinical and histopathological characteristics, case-control study to identify risk factors of BCC and immunohistochemical and molecular biological studies to identify the gene mutations. The study design is quite comprehensive, using many various collected

and analyzed data techniques, so it provides the objective evidence, especially the risk factors of BCC and *TP53* gene mutation in BCC. Around the world, there are few research similar to our research. Most research uses individual design and the number of patients involved in study was limited. Especially, in this study we have used the multivariate regression analysis to eliminate confounding factors and classify risk factors for BCC. This technique has not been used to analyze the risk factors for BCC in Vietnam

Biases and Limitations: Major biases in this study includes (1) the recall bias and control group selecting bias in case-control study; (2) biases in *TP53* gene mutation identification in BCC. For recall biases in cancer patients and control group interview, they were corrected by training for investigators mastering on interview toolkits, each question is informed and detailed to the study participants, created an intimate and open environment upon contact with the participants, informed clearly on objectives and information confidentiality so that the participants feel comfortably and open during interviews, from that they would provide sufficient accurate information for research. To correct the bias in selecting the control group, we apply the study-involved criteria limitation technique so that the control groups had similar personal characteristics to case groups in age, gender, residence. It means that whenever a skin cancer patient was found, a control person with the same sex, age similarity and lived near the patient's house would be selected for interview. To minimize confounding factors we apply multivariate analysis techniques. To avoid errors in determining the mutation we selected the Genetic Medical Biology and Genetic Department at the Ha Noi Medical University to perform gene sequencing techniques. This is a facility with high skilled, experienced staff and state-of-art equipment. Therefore, the results obtained and presented in this thesis had high accuracy and reliability.

A novel findings of this study reconfirmed the risk factors of BCC, included intense and long-time sunlight exposure, electromagnetic wave exposure and X-ray exposure. At the same time, this study identified the genetic mutations of *TP53* gene in BCC.

CONCLUSION

1. Clinical and histopathological characteristics and some risk factors

Most common clinico-morphological types in BCC are nodular/ulcer (45,8%) and solid nodular (42%). Hyperpigmentation (42%), telangiectasia (19.1%) and pearl cancer (39.7%) on lesions are common signs. Most common sites of tumors are in head - face - neck (95.8%). Among these, it concentrates mainly on the cheeks (23%), nose (22.3%) and around the eyelids (12.9%). Almost tumor size from 1-2 cm (44.3%) and over 2 cm (40.5%). Almost all carcinoma invasion is located in the skin (93.1%).

The common histopathological types are nodular type (53.1%), micronodular type (20.7%). 11.7% of nodular type combined with other types. Among this, 5.2% is combined with micro-nodular type, 2.6% combined with morphoeiform type, 2.6% combined with adenoid type and 1.3% combined with superficial type. There is 14.3% of micro-nodular type combined with other types, 6.7% combined with morphoeiform type and 6.7% combined with adenoid type.

People who worked in the sun, exposed to electromagnetic waves and X-ray are more likely to have a risk of basal cell carcinoma from 3.2 to 4.3 times than those who did not work in the sun, did not exposed to electromagnetic waves and X-ray. This difference is significant. People who exposed to chemicals, heat sources and radioactive agents had a high risk of basal cell carcinoma but the difference was not statistically significant.

2. P53 protein expression and *TP53* gene mutation

24.4% of BCC patients are positive to p53 protein, 75.6% are negative. Most of patients have histopathological positive 1+, accounts for 14.5%, positive 4+ and 3+ accounts 3.8% for each.

In *TP53* gene, mutation occurs in all 3 types, point mutation, small deletion mutation and large deletion mutation. Rate of gene mutation in exon 2-4 is quite high (22.5%) and mutation in Exon 7-9 is 12.5%. Rate of one mutation accounts for only 17.85%. For cases with 2 or more mutations, it is large deletion mutation and point mutation, or small deletion mutation and point mutation; or 2 point mutations or more.

PETITION

1. Based on clinical and histopathological features of basal cell carcinoma, helping clinicians can diagnose early and treated in time attitude.
2. Recommendations to prevent basal cell carcinoma
 - Limit outdoor work sunlight, exposure to X-rays, radioactive substances, toxic chemicals, high heat source.
 - Use protective measures when exposed to the sun, especially in time of 10 -16 hours.
 - Use protective measures with provisions on exposure to toxic chemicals, high heat sources, radioactive substances, X-rays.