

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

BỘ Y TẾ



NGUYỄN VĂN HÙNG

**NGHIÊN CỨU MỨC XÂM LẤN
VÀ BỘC LỘ GEN *TP53*, *KI-67* TRONG UNG THƯ
TẾ BÀO ĐÁY VÀ TẾ BÀO VỎY DA ĐẦU MẶT CỔ**

Chuyên ngành: UNG THƯ

Mã số: 62720149

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2017

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Tạ Văn Tờ

Phản biện 1: PGS.TS Nguyễn Văn Hiếu

Phản biện 2: GS.TS Trần Hậu Khang

Phản biện 3: PGS.TS Trịnh Tuấn Dũng

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sỹ cấp Trường họp tại Trường Đại học Y Hà Nội.

Vào hồi giờ ngày tháng năm 2017.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Đại học Y Hà Nội

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nguyễn Văn Hùng, Tạ Văn Tờ (2013). Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và dấu ấn miễn dịch p53, Ki-67 của các ung thư biểu mô da, *Hội nghị khoa học nghiên cứu sinh lần thứ XIX năm 2013*, Trường Đại học Y Hà Nội, số 20, 19-24.
2. Nguyễn Văn Hùng, Tạ Văn Tờ (2014). Đánh giá sự bộc lộ dấu ấn miễn dịch p53, Ki-67 của các ung thư biểu mô da và các yếu tố liên quan. *Tạp chí Ung thư học Việt Nam*, số 2, 499-505.
3. Nguyễn Văn Hùng (2016). Nghiên cứu biểu hiện gen *TP53* trong ung thư biểu mô tế bào đáy vùng đầu mặt cổ tại Bệnh viện K. *Tạp chí Y học thực hành*, số 7, 15-18.
4. Nguyễn Văn Hùng (2016). Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và dấu ấn miễn dịch p53, Ki-67 của các ung thư biểu mô da vùng đầu mặt cổ tại Bệnh viện K từ 2012-2014”, *Tạp chí Y học thực hành*, số 7, 77-79.
5. Nguyễn Văn Hùng (2016). Tình trạng đột biến gen *TP53* trong ung thư biểu mô tế bào vảy vùng da đầu mặt cổ tại Bệnh viện K. *Tạp chí ung thư học Việt Nam*, Hội thảo Quốc gia PCUT lần thứ XVIII, số 2, 315-319.
6. Nguyễn Văn Hùng (2016). Đánh giá mức xâm lấn trong điều trị ung thư da vùng đầu mặt cổ bằng phẫu thuật tại Bệnh viện K từ 2012-2014. *Tạp chí Y học thực hành*, số 9, 111-113.
7. Nguyễn Văn Hùng (2016). Nghiên cứu biểu hiện gen *TP53* trong ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu mặt cổ tại Bệnh viện K. *Tạp chí Y học thực hành*, số 9, 68-70.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư (UT) da là dạng u ác tính hay gặp nhất vùng đầu mặt cổ, gồm nhiều loại u ác tính xuất phát từ các tế bào biểu mô da. Ung thư da có tỷ lệ mắc tăng dần theo tuổi, thường gặp người trên 50 tuổi, tỷ lệ nam nhiều hơn nữ. Khu vực vùng đầu mặt cổ, ung thư tế bào (UTTB) đáy hay gặp ở vùng mặt hơn các khu vực khác, chiếm khoảng 75% các trường hợp. Theo số liệu năm 2002, tại Mỹ có khoảng trên 1,3 triệu người mắc ung thư da/năm. Tại Việt Nam, chưa có thống kê cụ thể về tỷ lệ mắc ung thư da.

Hai loại ung thư da hay gặp nhất là UTTB đáy và UTTB vảy. Căn nguyên bệnh sinh của ung thư da được cho là do tia cực tím mặt trời. Những thương tổn DNA do tia cực tím gây ra luôn được tự sửa chữa. Gen *TP53* ngăn chặn việc phân chia tế bào bị hư hỏng DNA, chịu trách nhiệm mã hoá cho protein, cấu tạo nên yếu tố sao chép có tác dụng điều chỉnh sự nhân lên của tế bào. Bên cạnh đó, Ki-67 là một protein không histon chủ yếu can thiệp vào sự phát triển, kiểm soát chu kỳ tế bào và được cho rằng có liên quan mật thiết với hình thái tăng trưởng của tế bào, đặc biệt là chỉ số phân bào và độ mô học của u. Sự bộc lộ sản phẩm đột biến gen *TP53* và chỉ số tăng sinh nhân Ki-67 trong ung thư nói chung phản ánh tính chất ác tính của bệnh. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với hai mục tiêu:

- 1. Đánh giá mức xâm lấn của ung thư tế bào đáy và ung thư tế bào vảy của da vùng đầu mặt cổ.**
- 2. Xác định tình trạng đột biến gen *TP53*, mức độ bộc lộ *p53*, *Ki-67* và mối liên quan của chúng với lâm sàng và mô bệnh học.**

Những đóng góp mới của luận án

Xác định được khoảng cách trung bình tới chân u, mức xâm lấn của u về cả bề ngang và bề sâu, từ đó đưa ra được khuyến cáo về diện cắt an toàn sử dụng trong phẫu thuật UTTB đáy và UTTB vảy da vùng đầu mặt cổ.

Kết quả nghiên cứu phản ánh rõ các mối liên quan giữa biểu hiện hóa mô miễn dịch *p53* và *Ki-67*, tỷ lệ đột biến gen *TP53*, các loại đột biến và vùng Exon thường gặp trong UTTB đáy và UTTB vảy.

Cấu trúc của luận án

Luận án dài 112 trang bao gồm 6 phần: Đặt vấn đề 2 trang; Tổng quan 35 trang; Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 18 trang; Kết quả nghiên cứu 25 trang; Bàn luận 29 trang; Kết luận 2 trang và Kiến nghị 1 trang.

Luận án có 36 bảng; 3 biểu đồ và 21 hình. Luận văn sử dụng 189 tài liệu tham khảo, trong đó có 22 tài liệu Tiếng Việt và 166 tài liệu Tiếng Anh.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. MÔ HỌC CỦA DA

Da chiếm khoảng 16% trọng lượng cơ thể, nó bao bọc toàn bộ mặt ngoài của cơ thể. Da có rất nhiều chức năng như chức năng bảo vệ, chức năng cân bằng nội môi, chống mất nước qua da hay điều hoà thân nhiệt. Trong đó chức năng quan trọng nhất là bảo vệ cơ thể trước tác động của môi trường bên ngoài. Da người có cấu tạo gồm ba lớp: thượng bì, trung bì và hạ bì.

1.2. DỊCH TỄ HỌC UNG THƯ DA

1.2.1. Ung thư tế bào đáy

Ung thư tế bào đáy là loại ung thư da thường gặp nhất trên thế giới với tỷ lệ mắc gia tăng hàng năm. Levi F. (2001) ước tính hàng năm ở Mỹ có trên 1 triệu người mắc ung thư da không hắc tố, trong đó UTTB đáy chiếm tới 75%. Tại Úc, Hoey S.E. (2007) đưa ra tỷ lệ mắc UTTB đáy chuẩn theo tuổi ở nam giới là 2.145/100.000 dân và nữ giới là 1.259/100.000 dân. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Bùi Xuân Trường từ 1994-1997 thấy 67% bệnh nhân là UTTB đáy. Nghiên cứu của Nguyễn Hương Giang (2005) thì ung thư da không hắc tố chiếm 91,67% ung thư da, trong đó 50% là UTTB đáy. Nghiên cứu gần đây của Vũ Thái Hà cho thấy tỷ lệ UTTB đáy năm 2010 tăng gần gấp 3 lần so với năm 2007 và chiếm 58,8% tổng số bệnh nhân UT da.

1.2.2. Ung thư tế bào vảy

Trên thế giới, UTTB vảy hay gặp ở những người da trắng sống ở vùng nhiều ánh nắng mặt trời, có hoạt động thường xuyên ngoài trời.

Với tỷ lệ mới mắc ở Mỹ khoảng hơn 100/100.000 dân, ở Pháp là 30/100.000 dân. Bộ Sức khỏe và An sinh xã hội Úc (2014) cho biết tỷ lệ mắc bệnh là 166/100.000 người, trong vòng 5 năm tăng gần 50% lên 250/100.000 dân, đây là tỷ lệ cao nhất thế giới vì nó liên quan đến chủng tộc (người da trắng) và cường độ chiếu sáng của mặt trời. Ở Việt Nam tỷ lệ UTTB vảy chiếm khoảng trên 20% các trường hợp UT da. Theo nghiên cứu của Bùi Xuân Trường (1999) tỷ lệ UTTB vảy là 27% và của Nguyễn Thị Hương Giang (2005) là 27,78%.

1.3. SINH BỆNH HỌC UTTB ĐÁY VÀ UTTB VẢY

1.3.1. Ung thư tế bào đáy

Bệnh thường được phát hiện trên một nền da đã tổn thương trước đó, nhưng cũng thường xuất hiện trên một vùng dường như còn nguyên vẹn mà không có bất kỳ thay đổi da rõ ràng nào. Những thay đổi được xem như giai đoạn tiền ung thư của UTTB đáy là sẹo bỏng, viêm nhiễm mạn tính như những đám loét lao cũ, đám mụn tái đi tái lại, các mụn cơm (mụn cóc) già và các sùng (mụn) của da. UTTB đáy hay xảy ra nhất từ độ tuổi 50 trở lên, một số gặp ở trường hợp người trẻ hơn và đa số các tổn thương phát triển ở vùng đầu cổ, ít thấy hơn ở thân và chi, có thể có nhiều ổ ung thư.

1.3.2. Ung thư tế bào vảy

UTTB vảy sùng hoá luôn luôn hình thành trên các tổn thương biến đổi tiền ung thư, tương tự như UTTB đáy thường ở những vị trí da bị phơi nhiễm như mặt, cổ, mu tay... Thống kê của Herendi (1951) cho thấy UTTB vảy thường là đơn ổ, trong khi UTTB đáy phần thân cơ thể thường đa ổ. Theo Trendelenburg (1933), UTTB vảy thường gặp ở nam nhiều hơn nữ, thường trước tuổi 40, tăng dần ở tuổi 50 và đạt đỉnh ở các tuổi 60 đến 70.

Rất khó phân biệt UTTB vảy và UTTB đáy ở giai đoạn sớm. Nhưng UTTB vảy sau đó sẽ phát triển nhanh hơn. Khối u được hình thành từ các tế bào không biệt hoá và đa hình. Trên vi thể hiện diện nhiều tế bào khổng lồ đa nhân và phân bào không điển hình. Sau khi vượt qua ranh giới giữa lớp biểu mô và mô liên kết, khối u bắt đầu thâm nhiễm sâu và đồng thời phá huỷ các mô lân cận. Xu hướng phá huỷ là đặc trưng của khối u này.

1.4. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG UNG THƯ DA

1.4.1. Triệu chứng lâm sàng

1.4.1.1. Ung thư tế bào đáy

Các hình thái lâm sàng thường gặp: nốt hoặc nốt loét; nông; xơ; hỗn hợp; tăng sắc tố.

1.4.1.2. Ung thư tế bào vảy

Bệnh thường biểu hiện rất đa dạng với các thể lâm sàng:

- UTTB vảy xâm nhập.
- UTTB vảy tại chỗ.

1.4.2. Phân loại giai đoạn theo TNM

Theo phân loại UTTB đáy và UTTB vảy của da đầu mặt cổ của AJCC (2014).

1.5. MÔ BỆNH HỌC UNG THƯ DA

1.5.1. Phân loại mô bệnh học UTTB đáy

Phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2006 chia UTTB đáy thành các typ sau:

- * *Typ bề mặt (ICD-O code 8091/3).*
- * *Typ nốt (ICD-O code 8097/3).*
- * *Typ vi nốt (ICD-O code 8090/3).*
- * *Typ xâm nhập (ICD-O code 8092/3).*
- * *Typ xơ - biểu mô (ICD-O code 8093/3).*
- * *Typ biệt hóa phần phụ da (ICD-O code 8098/3).*
- * *Typ đáy - vảy (ICD-O code 8094/3).*
- * *Typ sừng hóa (ICD-O code 8090/3).*
- * *Các biến thể khác: biến thể nang, dạng tuyến, xơ hóa/xơ cứng...*

1.5.2. Ung thư tế bào vảy

Theo phân loại của WHO gồm các thể chính sau:

- *UTTB vảy thể tiêu gai.*
- *UTTB vảy - tế bào thoi.*
- *UTTB vảy mụn cơm.*
- *UTTB tuyến vảy.*

Phân độ biệt hóa theo 3 độ theo “TNM át-lát” (1997):

- Độ I : Biệt hoá cao (well differentiated)
- Độ II : Biệt hoá vừa (moderately differentiated)
- Độ III : Biệt hoá kém hoặc không biệt hoá (poorly differentiated or undifferentiated).

Phân độ biệt hoá theo 4 độ theo Borders (1920), đó là:

- Độ 1: Có trên 75% các tế bào biệt hoá.
- Độ 2: Có từ 50%-75% các tế bào biệt hoá.
- Độ 3: Có từ 25-50% các tế bào biệt hoá.
- Độ 4: Có dưới 25% các tế bào biệt hoá.

Theo phân loại mới của NCCN (2014) xu hướng phân làm 2 độ:

- Độ biệt hóa cao (Well or moderately differentiated).
- Kém biệt hóa (Poorly differentiated).

1.6. ĐIỀU TRỊ UNG THƯ DA

1.6.1. Phẫu thuật

1.6.1.1. Phẫu thuật cắt bỏ UTTB đáy và UTTB vảy

1.6.1.2. Phẫu thuật tạo hình ổ khuyết sau cắt u

1.6.2. Xạ trị

1.6.3. Hóa trị liệu

1.7. NGHIÊN CỨU VỀ GEN *TP53* TRONG UNG THƯ DA

1.7.1. Cấu trúc gen *TP53*

Gen *TP53* là một gen ức chế u nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể số 17 (17p13), mã hoá cho protein p53 có trọng lượng phân tử 53 kD. Gen *TP53* gồm 11 exon (từ E1 đến E11, trong đó E1 không mã hóa) và 10 intron.

1.7.2. Chức năng gen *TP53*

Gen *TP53* có vai trò quan trọng trong kiểm soát chu kỳ tế bào và apoptosis. Sự bất thường của gen *TP53* tạo ra sự rối loạn tăng sinh tế bào, dẫn đến hình thành ung thư. Khi cơ thể bị tác động bởi các kích thích (như DNA tổn thương, sốc điện, thiếu oxy, sự biểu hiện quá mức oncogen), gen *TP53* sẽ được hoạt hóa gây dừng chu kỳ phân bào cho đến khi DNA được sửa chữa hoặc gây apoptosis nếu DNA tổn thương không sửa chữa được.

1.7.2.1. Hoạt động của gen *TP53*

1.7.2.2. Kiểm soát chu kỳ tế bào

1.7.2.3. Phân tích di truyền phân tử

1.7.4. Các phương pháp phát hiện đột biến gen *TP53*

1.7.4.1. Hóa mô miễn dịch với ung thư da

1.7.4.2. Kỹ thuật sinh học phân tử PCR

1.8. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI

1.8.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Nhiều nghiên cứu đã cho thấy đột biến gen *TP53* chiếm khoảng một nửa các trường hợp UTTB đáy đơn lẻ. Nghiên cứu của Rady (1992) cho thấy 50% các trường hợp UTTB đáy có đột biến gen *TP53*, nghiên cứu sau đó của Ziegler (1993) phát hiện 56% trường hợp UTTB đáy có đột biến gen *TP53*. Các nghiên cứu ở người châu Á cho thấy tỷ lệ đột biến gen *TP53* trong UTTB đáy ở các nước là khác nhau. Theo nghiên cứu của Kim (2002), tỷ lệ gen *TP53* đột biến chiếm khoảng 30%, nghiên cứu của Ghaderi (2005) là 68,3% còn trong nghiên cứu của Malhotra (2011) thì tỷ lệ đột biến chỉ chiếm 17,6%.

Năm 2007, Thierry Soussi khi thống kê nhiều báo cáo nghiên cứu về biến đổi gen *TP53* ở các bệnh nhân UTTB vảy vùng đầu cổ của các tác giả khác nhau, tiến hành nghiên cứu ở các địa điểm khác nhau và thấy 64 loại biến đổi ở gen *TP53* đã được phát hiện, tuy nhiên chỉ có 20 biến đổi là có từ 2 nghiên cứu trở lên cùng phát hiện thấy, có tới 44 biến đổi chỉ gặp trong 1 nghiên cứu. Như vậy, biến đổi của gen *TP53* rất đa dạng, rất có thể nó có thể phụ thuộc vào chủng tộc người và địa dư khác nhau thì có các biến đổi khác nhau.

1.8.2. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam

Ở Việt Nam, nghiên cứu về đột biến gen *TP53* ở ung thư da còn hạn chế. Chúng tôi chỉ tìm thấy được hai nghiên cứu của Trần Đức Phần và Lê Đức Minh về đột biến gen *TP53* trong ung thư da đã được thực hiện.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu gồm 71 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là UTTB đáy và UTTB vảy tại Bệnh viện K từ tháng 3/2012 đến tháng 3/2014.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân mắc bệnh ung thư da vùng đầu mặt cổ có tổn thương tiên phát, chưa được phẫu thuật, được chẩn đoán xác định về mặt MBH

là UTTB đáy hoặc UTTB vảy từ các bệnh phẩm sau khi được điều trị bằng phẫu thuật tại Bệnh viện K.

- Khối nền còn được lưu trữ và đủ bệnh phẩm để cắt lại tiêu bản, nhuộm HMMD và giải trình tự gen.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không thỏa mãn bất kỳ tiêu chuẩn lựa chọn trên.
- Bệnh nhân có 2 loại ung thư, đã được điều trị trước đó.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.4. Cách thức tiến hành

2.2.4.1. Khai thác thông tin

2.2.4.2. Nghiên cứu mô bệnh học

Phân loại UTTB đáy:

Các hình thái lâm sàng thường gặp:

- Hình thái nốt hoặc nốt loét.
- Hình thái nông.
- Hình thái xơ.
- Hình thái hỗn hợp.

Phân độ UTTB vảy:

Phân độ biệt hoá theo 4 độ: Năm 1920 Broders tìm ra một phương pháp để nhớ để đánh giá khả năng phát triển của ung thư theo 4 độ ác tính, đó là:

- Độ 1: > 75% các tế bào biệt hoá.
- Độ 2: 50%-75% các tế bào biệt hoá.
- Độ 3: 25-50% các tế bào biệt hoá.
- Độ 4: < 25% các tế bào biệt hoá.

2.2.4.3. Nghiên cứu mức xâm lấn của UTTB da

Các rìa diện cắt được xác định và đánh giá xâm lấn qua xét nghiệm mô bệnh học, dựa vào mặt phẳng, vị trí giải phẫu và đánh dấu bệnh phẩm.

2.2.4.4. Đánh giá sự biểu hiện của protein p53 và Ki-67

Sử dụng phương pháp nhuộm HE, đánh giá mức độ biểu hiện của protein p53, Ki-67 dựa theo đánh giá tiêu chuẩn của Izumi (2008):

Âm tính: < 10 % tế bào u bắt màu

Dương tính (1+): Từ 10% - 50% tế bào u bất màu

Dương tính (2+): Từ 51% - 80% tế bào u bất màu

Dương tính (3+): > 80% tế bào u bất màu

2.2.4.5. **Đánh giá đột biến gen TP53**

Xác định trình tự gen *TP53* được thực hiện trên máy ABI PRISM Genetic Analyzer. Các thông số và chất lượng được thu thập, kiểm tra bằng các phần mềm ABI Data Collection v2.0 và Sequencing Software v5.3. Trình tự gen *TP53* của mẫu ung thư được so sánh với trình tự tham chiếu công bố trên GenBank qua sử dụng phần mềm BioEdit để xác định đột biến.

2.3. XỬ LÝ SỐ LIỆU

Xử lý các dữ liệu bằng phần mềm Epidata 3.1 và SPSS 16.0, sử dụng thuật toán kiểm định giả thuyết χ^2 ; các test kiểm định có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG

3.1.1. Tuổi và giới tính

Nhóm tuổi > 70 chiếm tỷ lệ cao nhất 43,7% và thấp nhất là độ tuổi dưới 40, chiếm 1,4%; tuổi trung bình là 66,4. Nữ giới chiếm tỷ lệ 54,9%; nam giới chiếm tỷ lệ 45,1%.

3.1.2. Tỷ lệ của UTTB đáy và UTTB vảy

Bảng 3.2: Tỷ lệ UTTB đáy và UTTB vảy

Mô bệnh học	n	Tỷ lệ %
UTTB đáy	51	71,8
UTTB vảy	20	28,2
Tổng số	71	100,0

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân mắc UTTB đáy là 71,8%, UTTB vảy là 28,2%.

3.1.3. Vị trí tổn thương

UTTB đáy gặp ở vị trí vùng quanh mắt là phổ biến nhất (27,5%). UTTB vảy gặp phổ biến ở vị trí mũi (25%). Có sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê giữa vị trí u của UTTB đáy và UTTB vảy ($\chi^2=18,06$; $p=0,034$).

3.1.4. Kích thước u

Bảng 3.4: Phân bố kích thước u

Kích thước u	UTTB đáy		UTTB vảy	
	n	%	n	%
Nhỏ hơn 1 cm	6	11,8	2	10
1 – 2 cm	28	54,9	11	55,5
2 – 4 cm	15	29,4	7	35
Lớn hơn 4 cm	2	3,9	0	0
$X \pm sd$	2,21 \pm 1,13		2,09 \pm 0,95	
Min – max	0,7 – 6,0		0,5 – 4,0	
Tổng	51	71,8%	20	28,2%

Nhận xét: Kích thước trung bình của UTTB đáy (2,21 cm) lớn hơn so với UTTB vảy (2,09 cm). Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

3.3. ĐÁNH GIÁ MỨC XÂM LẤN CỦA UT DA

3.3.1. Khoảng cách tới rìa u

Bảng 3.6: Khoảng cách tới rìa u

Khoảng cách tới rìa u	UTTB đáy		UTTB vảy		p
	n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %	
2-3 mm	6	11,8	0	0	
4-5 mm	35	68,6	10	50	0,23
6-7 mm	6	11,8	2	10,0	1,00
8-9 mm	2	3,9	1	5,0	1,00
>10 mm	2	3,9	7	35,0	0,002
$X \pm sd$	5,1 \pm 1,57		7,5 \pm 3,76		0,011
Tổng số	51	71,8	20	28,2	0,007

Nhận xét: Có bằng chứng chỉ rõ mối quan hệ có ý nghĩa thống kê giữa thể MBH với khoảng cách tới rìa u ($\chi^2=14,2$; $p=0,007<0,05$). Khi sử dụng kiểm định t ghép cặp cho ta thấy có sự khác biệt giữa trung bình khoảng cách tới rìa u của 2 loại ung thư ($t_{21,6}=-2,763$; $p=0,011$).

3.3.2. Liên quan giữa diện cắt dương tính với thể GPBL

Bảng 3.7: Mối liên quan giữa diện cắt dương tính xa nhất và GPBL

Thể GPB	Diện cắt dương tính xa nhất (mm)						Tổng
	1 mm	2 mm	3 mm	4 mm	5 mm	6 mm	
UTTБ đáy	1 (2%)	10 (19,6%)	21 (41,2%)	14 (27,5%)	5 (9,8%)	0	51 (71,8%)
UTTБ vảy	-	1 (5%)	4 (20%)	9 (45%)	5 (25%)	1 (5%)	20 (28,2%)
Tổng	1 (1,4%)	11 (15,5%)	25 (35,2%)	23 (32,4%)	10 (14,1%)	1 (1,4%)	71 (100%)

Nhận xét: Ở các trường hợp UTTB đáy, diện cắt dương tính xa nhất 3 mm chiếm tỷ lệ cao nhất (41,2%), tỷ lệ này giảm dần ở mức 4 mm (27,5%) và 5 mm (9,8%). Đối với UTTB vảy, tỷ lệ cao nhất nằm ở diện cắt dương tính xa nhất 4 mm (45%) sau đó giảm xuống ở diện cắt 5 mm (25%) và diện cắt 6 mm chỉ còn 5%. Mối tương quan giữa diện cắt dương tính xa nhất và thể GPBL không có ý nghĩa thống kê ($\chi^2=10,472$; $p=0,063$).

3.3.7. Liên quan xâm lấn diện đáy u

Bảng 3.12: Mức xâm lấn của đáy u với thể GPBL

Loại UTTB Diện đáy	UTTБ đáy		UTTБ vảy		Tổng	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Âm tính	6	11,8	3	15	9	12,7
1 mm	39	76,5	16	80	55	77,5
2 mm	3	5,9	0	0	3	4,2
3 mm	2	3,9	1	5	3	4,2
4 mm	1	2	0	0	1	1,4
Tổng	51	71,8	20	28,2	71	100,0

Nhận xét: Mức xâm lấn của đáy u chủ yếu ở kích thước 1 mm (77,5%), trong đó chiếm 76,5% UTTB đáy và 80% UTTB vảy. Mức độ lan của đáy u to nhất là 4 mm của 1 bệnh nhân UTTB đáy. Kiểm định khi bình phương cho ta thấy không có mối liên quan nào giữa mức độ xâm lấn của đáy u và loại UTTB có ý nghĩa thống kê ($\chi^2=1,75$; $p=0,78$).

3.4. KẾT QUẢ NHUỘM HMMD VỚI P53 VÀ KI-67

3.4.1. Liên quan giữa mức độ dương tính p53 và Ki-67 với GPBL

Bảng 3.13: Mỗi liên quan giữa mức độ dương tính p53 với GPBL

Loại u	Âm tính		Dương tính						Tổng số		p
			1+		2+		3+				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
UTTB đáy	2	3,9	30	58,8	14	27,5	5	9,8	51	100	0,001
UTTB vảy	7	35,0	5	25,0	3	15,0	5	25,0	20	100	
Tổng số	9	12,7	35	49,3	17	23,9	10	14,1	71	100	

Nhận xét: Tỷ lệ dương tính chung ở UTTB đáy là 96,1%, cao hơn so với UTTB vảy là 65%, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p=0,001$).

Bảng 3.14: Mỗi liên quan giữa mức độ dương tính Ki67 với GPBL

Loại u	Âm tính		Dương tính						Tổng số		p
			1+		2+		3+				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
UTTB đáy	8	15,7	26	51,0	8	15,7	9	17,6	51	100	0,002
UTTB vảy	0	0	6	30,0	12	60,0	2	10,0	20	100	
Tổng số	8	11,3	32	45,1	20	28,2	11	15,5	71	100	

Nhận xét: Tỷ lệ dương tính chung ở UTTB đáy là 84,3%, thấp hơn so với UTTB vảy là 100%, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p=0,002$).

3.5. KẾT QUẢ GIẢI TRÌNH TỰ GEN TP53

3.5.1. Phân loại đột biến gen TP53

Bảng 3.19: Phân loại đột biến gen TP53

Đột biến gen	UTTB đáy		UTTB vảy		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%
<i>Đột biến sai nghĩa</i>	19	95	16	100	35	97,2
<i>Đột biến vô nghĩa</i>	1	5	0	0	1	2,8
Tổng	20	55,6	16	47,4	36	100

Nhận xét: Trong 36 mẫu mang đột biến, có 35 trường hợp (97,2%) là đột biến thay thế axit amin (đột biến sai nghĩa), và có 1 trường hợp (2,8%) là đột biến vô nghĩa.

3.5.4. Biểu hiện tình trạng ĐBG TP53 của UTTB đáy và UTTB vảy

Bảng 3.20: Tình trạng đột biến gen TP53 trên 2 loại UT

Loại UTTB	Đột biến		Không đột biến		Tổng số	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
UTTB đáy	20	60,6	13	39,4	33	(64,7%)
UTTB vảy	16	88,9	2	11,1	18	(35,3%)
Tổng số	36	70,6	15	29,4	51	(100%)

Trong đó, 60,6% trường hợp UTTB đáy và 88,9% mẫu bệnh phẩm UTTB vảy biểu hiện đột biến gen TP53. Sự khác biệt giữa tỷ lệ đột biến gen TP53 trên mẫu bệnh phẩm UTTB đáy và UTTB vảy có ý nghĩa thống kê theo kiểm định khi bình phương ($\chi^2 = 4,49$; $p=0,034$).

3.5.7. Liên quan giữa hóa mô miễn dịch p53 và đột biến gen TP53

Bảng 3.25: Mối liên quan giữa HMMD p53 và đột biến gen TP53

HMMD p53 \ Đột biến gen TP53	UTTB đáy		UTTB vảy	
	Đột biến	Không đột biến	Đột biến	Không đột biến
-	0	0	6 (85,7%)	1 (14,3%)
1+	10 (55,6%)	8 (44,4%)	3 (75%)	1 (25%)
2+	7 (63,6%)	4 (36,4%)	2 (100%)	0
3+	3 (75,0%)	1 (25%)	5 (100%)	0
Tổng số	20 (60,6%)	13 (39,4%)	16 (88,9%)	2 (11,1%)

Nhận xét : UTTB đáy: ở mức độ dương tính p53 (1+) có 55,6% đột biến gen TP53; ở mức độ (2+) là 63,6% và mức (3+) có tới 75%. Không có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa HMMD p53 và đột biến gen TP53 ở các trường hợp UTTB đáy ($\chi^2=0,582$; $p=0,748$).

Đối với UTTB vảy: ở mức độ dương tính p53 (1+) có 75% đột biến gen TP53; ở mức độ (2+) là 100% và (3+) cũng có 100%. Không có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa HMMD p53 và đột biến gen TP53 ở các trường hợp UTTB vảy ($\chi^2=1,73$; $p=0,631$).

3.5.8. Liên quan giữa HMMD Ki-67 và đột biến gen TP53

Bảng 3.26: Liên quan giữa HMMD Ki-67 và đột biến gen TP53

Đột biến gen TP53 HMMD Ki-67	UTTB đáy		UTTB vảy	
	Đột biến	Không đột biến	Đột biến	Không đột biến
-	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0	0
1+	11 (68,8%)	5 (31,2%)	5 (83,3%)	1 (16,7%)
2+	4 (66,7%)	2 (33,3%)	9 (90%)	1 (10%)
3+	4 (50%)	4 (50%)	2 (100%)	0
Tổng số	20 (60,6%)	13 (39,4%)	16 (88,9%)	2 (11,1%)

Nhận xét : UTTB đáy: ở mức độ dương tính Ki-67 (1+) có 68,8% đột biến gen TP53; ở mức độ (2+) là 66,7% và (3+) có 50%. Không có mối tương quan giữa HMMD Ki-67 và đột biến gen TP53 ở các trường hợp UTTB đáy ($\chi^2=1,848$; $p=0,604$).

Đối với UTTB vảy: ở mức độ dương tính Ki-67 (1+) có 83,3% đột biến gen TP53; ở mức độ (2+) là 90% và (3+) là 100%. Không có mối tương quan giữa HMMD Ki-67 và đột biến gen TP53 ở các trường hợp UTTB vảy ($\chi^2=0,45$; $p=0,799$).

CHƯƠNG 4 BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG

4.1.2. Tỷ lệ của UTTB đáy và UTTB vảy

Kết quả của chúng tôi cao hơn so với một số tác giả khác. Theo Trịnh Quang Diện (1999), UTTB đáy chiếm tỷ lệ cao 52,5%, tiếp đến là UTTB vảy 38,4%; Lê Tuấn Hùng (1999), tương ứng là 50,5% và 34,3%. So sánh với các nghiên cứu ở nước ngoài, tỷ lệ trong nghiên cứu của Al Aboud KM (2003) là 51%; 26. Kết quả của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Thomas DR (1979): UTTB đáy (61%); UTTB vảy (25%). Một số kết quả nghiên cứu nước ngoài khác cũng có kết quả tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Một nghiên cứu dịch tễ học

của Andrade (2011) kéo dài 5 năm tại Singapore chỉ ra tỷ lệ UTTB đáy là 68,3% và ở UTTB vảy là 31,7%. Marks (1995) có nhận định tỉ lệ UTTB đáy và UTTB vảy ở mức xấp xỉ 3 đến 4 trên 1 (~3-4:1). Nghiên cứu về ung thư đầu và cổ của Ouyang (2010) cũng chỉ ra UTTB đáy là UT thường gặp nhất ở UT da, chiếm tới 70-75%.

4.1.3. Phân bố theo vị trí tổn thương

Các nhà khoa học trên thế giới cho rằng đầu mặt cổ là vị trí thường xuyên tiếp xúc với ánh sáng mặt trời nhất, các tia UVA, UVB, UVC tác động trực tiếp đến da vùng đầu mặt cổ gây ung thư. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định những u ở vị trí đầu mặt cổ có nhiều khả năng tái phát và di căn, trong đó, tái phát nhiều nhất ở các vị trí mũi, má và thái dương. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khá tương đồng với một số nghiên cứu trong và ngoài nước. Nghiên cứu của Bùi Xuân Trường (2005) đưa ra tỷ lệ vị trí tổn thương của UTTB đáy vùng đầu cổ như sau: da đầu chiếm 2,4%, trán - thái dương chiếm 7,4%, quanh mắt chiếm 10,8%, má chiếm 16,4%, mũi chiếm 28,8%, môi và cằm chiếm 6,2%, tai và quanh tai chiếm 5,2%. Các tác giả Kikuchi (1996) và Chen (2006) cũng đều cho rằng vùng mũi và quanh mắt hay xuất hiện UTTB đáy. Việc xác định vị trí của khối u có vai trò đặc biệt quan trọng giúp cho việc lập kế hoạch điều trị. Các nghiên cứu của Rajpar (2008) và Smeets NW (2004) đều cho thấy vị trí khối u thuộc “vùng chữ H” ở mặt (quanh mắt, lông mày, mũi, rãnh mũi má, quanh miệng, trước và sau tai) là những vị trí có nguy cơ tái phát sau điều trị cao nhất. Hiện nay vẫn chưa có giải thích chính xác là tại sao UTTB đáy lại hay gặp ở vùng mũi hay bất kỳ vị trí nào khác trên mặt. Tuy nhiên, Kikuchi (1996) cho rằng UTTB đáy trên mặt gặp nhiều ở mũi vì vùng này là nhô ra nên tiếp xúc với ánh sáng mặt trời nhiều nhất.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, UTTB vảy gặp phổ biến nhất ở vị trí vùng thái dương (25%) và vùng mũi (25%), tiếp đến là vùng má (15%) và trán (15%). Nghiên cứu của Andrade (2011) cũng chỉ ra những vị trí tổn thương trên mặt tương tự, nhưng với tỷ lệ khác, đó là gò má (31%); môi dưới (17,8%); tai (11,7%); trán (11,5%) và mũi (10,1%). Nghiên cứu của Veness (2007) đã chỉ ra được UTTB vảy ở các vị trí tai, trán, da đầu và môi dưới có tỷ lệ tái phát cao. Kết quả kiểm định Khi bình phương trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa vị trí tổn thương và thể UT ($p=0,035$). Điều này chứng tỏ các vị trí tổn thương của UTTB vảy và UTTB đáy có sự khác biệt rõ rệt.

4.1.4. Phân bố theo kích thước tổn thương

Kích thước khối u cũng đóng vai trò quan trọng trong điều trị và nguy cơ tái phát bệnh, khối u to hơn sẽ có nguy cơ tái phát cao hơn. Cherpelis (2002) cùng các cộng sự công bố trong nghiên cứu của họ rằng kích thước khối u có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với sự di căn, cụ thể khối u có kích thước lớn hơn 2 cm có nguy cơ di căn cao hơn, bên cạnh đó, những trường hợp UTTB vảy xâm lấn có kích thước nhỏ hơn 1 cm cũng có thể di căn, nhưng không thường xuyên. Một số các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi thường đến khám muộn hoặc tự điều trị nên tổn thương đã lan rộng.

Kích thước tổn thương thường gặp nhất của UTTB đáy là từ 1-2 cm, chiếm 54,9%; tiếp đến là kích thước 2-4 cm chiếm 29,4%; kích thước nhỏ hơn 1 cm là 11,8%, kích thước ít gặp nhất là lớn hơn 4 cm, chỉ chiếm 3,9%. Kích thước trung bình là 2,21 cm. Kích thước to nhất đo được là 6 cm. Kết quả này khá tương đồng so với nghiên cứu của Đỗ Thu Hằng (2005) và Lê Đức Minh (2014), hai tác giả này đều chỉ ra kích thước 1-2 cm là thường gặp nhất ở UTTB đáy, tỷ lệ lần lượt là 50,8% và 44,3%. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng khác so với một số nghiên cứu trong và ngoài nước khác. Nghiên cứu của Manstein ME (2003) chỉ ra có tới 85% u có kích thước < 2 cm. Điều này có thể là do trình độ dân trí, điều kiện kinh tế cao, thói quen khám bệnh định kỳ nên người dân được khám và điều trị sớm. Người dân nước ta thường khi thấy có vấn đề, có triệu chứng mới đi khám, không có thói quen khám bệnh định kỳ nên để u to mới đến bệnh viện. Một nghiên cứu của Hoàng Anh Tuấn (2012) chỉ ra kích thước gặp nhiều nhất là nhỏ hơn 1 cm (41,3%). Sự khác biệt này có thể lý giải là do tác giả khu trú vào UTTB đáy vùng mi mắt. Các khối u vùng mi mắt sẽ gây ảnh hưởng đến khả năng thị giác của bệnh nhân nên họ đến khám sớm hơn so với u ở vị trí khác.

Ở UTTB vảy, kích thước u từ 1-2 cm chiếm tỷ lệ cao nhất là 55%; tiếp đến là từ 2-4 cm chiếm 35%; u nhỏ hơn 1 cm chiếm 10% và không có u lớn hơn 4 cm. Điều này khá khác biệt so với nghiên cứu của Đỗ Thu Hằng (2005) khi tác giả này chỉ ra kích thước u từ 2-5 cm chiếm tỷ lệ cao nhất với 63,7%; tỷ lệ u nhỏ hơn 2 cm chỉ chiếm 19,8%. Kết quả nghiên cứu của Phạm Cẩm Phương (2001) cũng tương tự. Khi nghiên cứu mối tương quan giữa kích thước u với các đặc điểm như tuổi, giới tính và phân bố theo loại UT, kết quả cho thấy không có mối tương quan nào có ý nghĩa thống kê.

4.3. ĐÁNH GIÁ MỨC XÂM LẤN CỦA UT DA

4.3.1. Khoảng cách tới rìa u

Đánh giá khoảng cách tính từ rìa u tới mép ngoài của khối u đã phẫu thuật, xác định diện cắt tới từng milimet qua 4 rìa da mang tính chất đại diện cho diện cắt quanh u. Trong nghiên cứu này có 8,5% khoảng cách tới chân u < 3 mm; 63,4% với 4-5 mm; 11,3% với 6-7 mm; 4,2% và 12,6 % đối với khoảng cách từ 8-9 mm và lớn hơn 10mm. Một nghiên cứu trên 292 bệnh nhân của Bùi Xuân Trường (2005) cho biết khoảng cách tới rìa u nhỏ hơn 5mm chiếm 10%; 5mm chiếm 32%; 7mm chiếm 36%; 10mm chiếm 10,1% và khoảng cách lớn hơn 10mm chiếm 0,6%.

Với UTTB đáy có 11,8% được phẫu thuật với khoảng cách tới rìa u nhỏ hơn 3 mm; 68,6% với 4-5 mm; 11,8% với 6-7 mm; 3,9% với 8-9 mm và 3,9% với khoảng cách lớn hơn 10 mm. Như vậy cắt rộng dưới 5mm là chủ yếu (80,4%), đây là mức cắt rộng vừa đủ. Có 2 trường hợp (3,9%) cắt rộng hơn 10 mm, do u tái phát, hoặc ở vị trí rộng rãi. Theo Breuninger và Dietz (1991) chứng minh rằng với những UTTB đáy kích thước nhỏ hơn 1 cm, 30% được phẫu thuật với khoảng cách tới rìa u 2 mm; 16% với 3 mm và 5% với 5 mm. Ở kích thước từ 1-2 cm, tỷ lệ này lần lượt là 48%; 34% và 18%. Weinstein (2002) thì cho rằng rạch da cách bờ thương tổn 5-10mm cho tỷ lệ khỏi khoảng 83%.

Với UTTB vảy có 50% được phẫu thuật với khoảng cách tới rìa u 4-5 mm; 10% với 6-7 mm; 5% với 8-9 mm và 35% với lớn hơn 10 mm. Tỷ lệ 50% ở khoảng cách 4-5 mm theo nguyên tắc đối với phẫu thuật UTTB vảy chưa phù hợp do việc đánh giá, xác định trên lâm sàng, trước phẫu thuật khối u ung thư là UTTB vảy hay UTTB đáy có phần khó khăn để chính xác với một số thể của UTTB vảy (kết quả chính xác dựa vào GPBL).

4.3.2. Liên quan giữa diện cắt dương tính xa nhất với thể GPBL

Đối với mức xâm lấn của UTTB đáy, theo Fleming (1995) với thể nốt/loét và thể nông, chỉ cần cắt bỏ tổn thương cách bờ nhìn thấy về mặt lâm sàng khoảng 5 mm đã điều trị khỏi 90%, với thể xơ nên cắt cách bờ 7,2 mm. Diện cắt cách rìa u 5 mm được cho là chắc chắn làm giảm tỷ lệ tái phát ở những u nhỏ hơn 2 cm. Gulleth (2010) cho rằng ở diện cắt 3 mm cũng có thể an toàn sử dụng để nâng cao tính thẩm mỹ cũng như đạt tỷ lệ chữa khỏi 95%. Từ kết quả nghiên cứu này có thể khẳng định diện cắt trên u 5 mm sẽ mang lại an toàn cho gần 90% bệnh nhân UTTB đáy. Theo nghiên cứu của chúng tôi, diện cắt dương tính xa nhất 3

mm chiếm tỷ lệ cao ở cả 4 thể hình thái: thể nốt loét là 38,5%; thể xơ là 42,9%; thể nông là 100% và thể hỗn hợp là 50%. Ở hai thể nốt loét và xơ xuất hiện thêm cả những diện cắt dương tính xa nhất là 4 mm và 5mm, chiếm tỷ lệ khá cao. Ngược lại, ở thể nông và hỗn hợp, diện cắt dương tính xa nhất tìm thấy được xa nhất chỉ là 3 mm. Chúng tôi không tìm ra bằng chứng nào trong nghiên cứu chỉ ra được mối liên quan giữa diện cắt dương tính xa nhất của u với hình thái lâm sàng của UTTB đáy.

Đối với UTTB vảy, diện cắt dương tính xa nhất chủ yếu tìm thấy được là 4 mm (độ biệt hóa I: 40%; độ II: 45,5%; độ III: 50%). Tỷ lệ dương tính ở các diện cắt 5 mm cũng khá cao ở trường hợp độ biệt hóa II (27,3%) và độ III (25%). Diện cắt dương tính 6 mm còn xuất hiện ở một trường hợp độ II (9,1%). Theo Taylor (1999), với UTTB vảy, ria diện cắt được khuyến cáo là 4 -15 mm tính từ quầng đỏ.

Nghiên cứu còn cho thấy tỷ lệ còn tế bào ung thư ở các diện cắt 2 mm; 3 mm ở UTTB đáy tương ứng là 19,6% và 41,2%, cao hơn so với UTTB vảy (5% và 20%). Ngược lại, ở các diện cắt 4 mm và 5 mm tỷ lệ UTTB đáy (27,5% và 9,8%) thấp hơn so với UTTB vảy (45% và 25%). Diện cắt dương tính 6 mm còn xuất hiện ở 1 trường hợp UTTB vảy (5%). Với các UTTB đáy và UTTB vảy đều có sự xâm nhập trong giới hạn như các tài liệu. UTTB vảy còn có khả năng xâm nhập lớn hơn 5 mm và có thể tới 10 mm như nhiều y văn đã đề cập đến.

4.3.5. Mức xâm lấn đáy u

Tỷ lệ còn tế bào ung thư ở lát cắt 1 mm là phổ biến (77,5%). Ta có thể thấy diện cắt cách đáy u càng sâu, tỷ lệ tìm thấy tế bào ung thư càng giảm, tuy nhiên khẳng định này trong nghiên cứu của chúng tôi lại không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như các thông tin về UT da, đặc biệt là UTTB đáy thể xơ rất ít khi xâm lấn quá màng đáy, đến lát cắt 2 mm đã hầu hết không có tế bào ung thư (4,2%)... Tuy nhiên khuyến cáo trong UTTB vảy, sự xâm lấn sâu của tế bào ung thư được nghiên cứu tần suất trên mộ dải lan rộng từ 2-8 mm. Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy có 1 trường hợp UTTB đáy xâm nhập tới 4 mm, do sự xâm nhập tại vùng quanh mắt, tổ chức quanh mắt lỏng lẻo, tế bào ung thư xâm nhập sâu và bệnh nhân phải khoét mắt, có thể lý giải do u lan đến gần mắt, ảnh hưởng chức năng bệnh nhân, việc phẫu thuật như ý muốn ảnh hưởng lớn đến mắt nên bác sĩ phẫu thuật thường dè dặt bảo tồn giải phẫu, viêm phẫu thuật dễ tái phát ung thư, dẫn đến khi tái phát u dễ xâm lấn rộng.

4.4. ĐẶC ĐIỂM BỘC LỘ HMMD P53 VÀ KI-67

4.4.1. Mối tương quan giữa HMMD với thể GPBL ung thư da *Hóa mô miễn dịch p53*

Mức độ dương tính p53 được xác định theo tỷ lệ số tế bào bắt màu khi nhuộm HMMD. Trong 51 trường hợp UTTB đáy, có 49 trường hợp (96,1%) thể hiện p53 dương tính, trong đó có 61,2% thể hiện mức dương tính (1+) có nghĩa là có từ 10 - 50% tế bào bắt màu; tiếp đến là 28,6% thể hiện mức dương tính (2+): từ 51-80% tế bào bắt màu; ít nhất là 10,2% thể hiện mức dương tính (3+): từ 51-80% tế bào bắt màu. Kết quả của các nghiên cứu về biểu hiện kháng nguyên p53 trong UTTB đáy là khác nhau với một số nghiên cứu khác. Rasoul Esmaeili (2015) và Monsef (2012) cùng đưa ra tỷ lệ dương tính p53 ở UTTB đáy là 76%, thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi đưa ra. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác lại cho kết quả cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, Abu Juba (2013) đưa ra kết quả 100% UTTB đáy dương tính p53, Karagece (2002) cho kết quả 98%. Bên cạnh đó, tỷ lệ mức dương tính (2+) trở lên (>50% tế bào bắt màu) ở một số nghiên cứu cao so với chúng tôi (38,8%), ở nghiên cứu của Monsef (2012) là 60%, của Abu Juba (2013) cùng cộng sự là 50%. Nhận xét chung, nhiều tác giả cho rằng tỷ lệ UTTB đáy dương tính với HMMD p53 là từ 42% đến 90%. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến của gen ức chế khối u trong UTTB đáy trong các nghiên cứu có thể giải thích là do sự khác nhau về chủng tộc và địa dư của các bệnh nhân UTTB đáy.

Trong 20 trường hợp UTTB vảy, có 13 trường hợp (65%) thể hiện p53 dương tính, trong đó mức (1+) và (3+) đều chiếm 38,5%, mức (2+) chỉ chiếm 23%. Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra được sự khác biệt về mức độ dương tính của p53 giữa UTTB đáy và UTTB vảy có ý nghĩa thống kê. ($p < 0,05$). Một số nghiên cứu khác trên thế giới cho kết quả khá khác biệt. Mothebat Gouda (2014) đưa ra tỷ lệ dương tính p53 ở UTTB vảy lên tới 88,9%, của Batinac (2004) là 86,7%, của Khodaeiani (2013) là 50,2% và Kerschmann (1994) và cộng sự là 60%, thậm chí nghiên cứu của Abu Juba (2013) cùng cộng sự cho kết quả 100%. Về tỷ lệ giữa các mức độ dương tính cũng có sự khác biệt nhất định giữa các nghiên cứu với nhau. Recep Birdi (2016) chỉ ra dương tính (1+) chiếm 35%; dương tính (2+) là 37,5% và dương tính (3+) là 27,5%; trong khi đó, Khodaeiani (2013) đưa ra các tỷ lệ này lần lượt là 60%; 20% và 20%.

Bảng 4.1: Tỷ lệ dương tính p53 ở một số nghiên cứu

Tỷ lệ dương tính p53	Rasoul 2015 [114]	Monsef 2012 [174]	AbuJuba 2013 [175]	Karagece 2012 [176]	Gouda 2014 [178]	Batinac 2004 [179]
UTTB đáy	76%	76%	100%	98%	-	-
UTTB vảy	-	-	100%	-	88,9%	86,7%

Hóa mô miễn dịch Ki-67

Trong 71 trường hợp chúng tôi thực hiện nhuộm HMMD, có 8 trường hợp thể hiện âm tính Ki-67 (11,3%) và đều là các UTTB đáy. Ở các trường hợp UTTB đáy dương tính với Ki-67, tỷ lệ cao nhất là 60,5% thể hiện mức dương tính (1+); (2+) là 18,6% và (3+) là 20,9%. So sánh với UTTB vảy, mức chiếm tỷ lệ cao nhất lại là (2+) với 60%; tiếp đến là (1+) với 30% và (3+) với 10%. Mỗi tương quan giữa HMMD Ki-67 và loại UTTB đáy hay vảy này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

So sánh với kết quả của các tác giả trên thế giới, tác giả Rasoul (2015) cho rằng tỷ lệ dương tính Ki-67 ở UTTB đáy là 60% và tác giả Gouda (2014) cho biết tỷ lệ này ở UTTB vảy là 88,3%. Về tỷ lệ mức độ dương tính ở các nghiên cứu cũng rất khác nhau. Trường hợp UTTB đáy, tỷ lệ mức dương tính (2+) trở lên ($> 50\%$ tế bào bắt màu) đều cao hơn so với kết quả của chúng tôi, với khoảng từ 33% đến 70%; còn ở các trường hợp UTTB vảy, tỷ lệ này ở nghiên cứu của chúng tôi (70%) phù hợp với khoảng từ 40% đến 80% mà các nghiên cứu đưa ra. Những sự khác biệt trong các kết quả nghiên cứu có thể là do sự khác biệt trong kỹ thuật HMMD, kích thước mẫu, cách lựa chọn mẫu hay thậm chí là do nhận xét chủ quan của người đọc kết quả.

4.5. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN TP53**4.5.1. Các loại đột biến gen TP53**

Chúng tôi tập trung phân tích đột biến gen TP53 từ exon 5 đến exon 8, phát hiện 36 đột biến từ trải dài từ codon 132 đến codon 300. Trong đó, đột biến ở exon 5, exon 6 và exon 8 đều có 8 trường hợp (22,2%), tại exon 7 xuất hiện 12 trường hợp (33,4%) và đa số các đột biến gen TP53 được phát hiện trong khu vực từ exon 5-8. Các nghiên cứu ở trong nước hay thế giới tiến hành phân tích đột biến gen TP53 trên rất nhiều đoạn exon khác nhau. Nghiên cứu của Trần Đức Phần (2015) phân tích đột biến tại các exon từ 2 đến 8, trong khi đó, ở bài báo của Bolshakov (2003) cùng cộng sự là từ exon 4 đến 9; của Ling (2001) và cộng sự là từ 5 đến 9; của Reifemberger (2004) là từ exon 4 đến 10 và

trong một nghiên cứu mới đây của Wang (2014) cùng cộng sự năm 2014 là từ exon 2 đến 11.

Kết quả phân tích đột biến gen *TP53* cho thấy 35 trường hợp (97,2%) là đột biến sai nghĩa và chỉ có 1 trường hợp (2,8%) là đột biến mất nghĩa. Tất cả các đột biến điểm trong nghiên cứu của chúng tôi đều là đột biến thay thế axit amin, xảy ra ở tất cả các đoạn gen được phân tích và tìm thấy biến đổi. Trường hợp đột biến mất nghĩa thuộc về một mẫu UTTB đáy, xuất hiện ở exon 6, codon 236, bộ ba mã hóa axit amin Tyrosine TAC đã biến đổi thành bộ ba kết thúc TAG. Trường hợp này, sự biến đổi trong phân tử protein là nhiều vì gen sẽ ngăn lại, kết thúc ngay khi xuất hiện đột biến. Trong những trường hợp đột biến sai nghĩa, có 11 loại biến đổi nucleotide được phát hiện gây biến đổi axit amin trong phân tử protein. Trong đó, loại biến đổi nucleotide C→T thường được nhắc đến trong rất nhiều bài báo nghiên cứu như là một kết quả biến đổi với nguyên nhân chính là tiếp xúc với tia UV trong ánh sáng mặt trời, chỉ chiếm 16,7% và không phải loại biến đổi gặp nhiều nhất trong nghiên cứu này (C→G: 19,4%). Đột biến C→T ở các nghiên cứu nước ngoài, đặc biệt là trên những người da trắng, chiếm tỷ lệ rất cao trong các loại biến đổi nucleotide, từ 50% đến 72%.

4.5.2. Biểu hiện tình trạng ĐB gen *TP53* ở UTTB đáy và UTTB vảy

Trong nghiên cứu, chúng tôi chọn ra 51/71 mẫu để làm xét nghiệm đột biến gen *TP53* qua PCR, kết quả có 36 trường hợp mang đột biến gen *TP53* (70,6%). Trong đó có 20/33 trường hợp (60,6%) UTTB đáy và 16/18 (88,9%) trường hợp UTTB vảy mang đột biến gen *TP53*. Ta có thể dễ dàng thấy được tỷ lệ đột biến *TP53* ở UTTB vảy cao hơn rõ rệt so với các trường hợp UTTB đáy, sự khác biệt này mang ý nghĩa thống kê.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với một số nghiên cứu của Việt Nam và trên thế giới. Nhiều tác giả cho rằng tỷ lệ đột biến gen *TP53* ở UTTB đáy ở khoảng 30% đến 50%. Một số nghiên cứu khác cho kết quả nằm ngoài khoảng này, cụ thể, Ling (2001) và cộng sự kết luận có 66,7% UTTB đáy thể hiện đột biến gen *TP53*, điểm khác biệt là đối tượng của nghiên cứu này chỉ có 9 người, trong đó đa số là các UTTB đáy di truyền. Ở mỗi bệnh nhân, tác giả lấy 3 mẫu để xét nghiệm nên tỷ lệ có phần cao hơn so với nhiều nghiên cứu khác. Ngược lại, nghiên cứu của Wang (2014) cùng cộng sự thực hiện tại Trung Quốc được công bố vào mới đây chỉ ra kết quả này chỉ là 20%, ông cho rằng tỷ lệ này thấp hơn nhiều so với những nghiên cứu trên người da

trắng là vì màu da trắng “nhạy cảm” và tiếp xúc nhiều hơn với tia UV ở ánh sáng mặt trời so với người da màu. Ở các trường hợp UTTB vảy, tỷ lệ ở các nghiên cứu khác cũng thấp hơn nhiều so với kết quả của chúng tôi. Bolshakov (2003) chỉ ra tỷ lệ đột biến gen *TP53* ở UTTB vảy là 41,2%; ở nghiên cứu của Moles (1993) chỉ là 15%.

Bảng 4.2: Tỷ lệ đột biến gen *TP53* theo một số nghiên cứu

Tỷ lệ ĐB gen <i>TP53</i>	<i>Moles</i> 1993 [206]	<i>Ling</i> 2001 [197]	<i>Bolshakov</i> 2003 [196]	<i>Ghaderi</i> 2005 [109]	<i>Wang</i> 2014 [199]
<i>UTTB đáy</i>	-	66,7%	47,3%	68,3%	20%
<i>UTTB vảy</i>	15%	-	41,2%	-	-

Khi phân tích tỷ lệ đột biến gen *TP53* trên các exon, ở các trường hợp UTTB đáy, có 12,1% đột biến tại exon 5; 15,2% ở exon 6; 18,2% ở exon 7 và 15,2% ở exon 8. Ở các trường hợp UTTB vảy, các tỷ lệ trên exon 5-8 lần lượt là 22,2%; 16,7%; 33,3% và 16,7%. Ở cả hai thể giải phẫu bệnh lý ta thấy đột biến xảy ra trên exon 7 chiếm tỷ lệ cao nhất. Tuy nhiên kết quả kiểm định khi bình phương kết luận rằng không có mối tương quan có ý nghĩa thống kê nào giữa vị trí exon đột biến gen *TP53* và thể GPBL của UT da. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ tập trung phân tích các đột biến nằm trên exon 5 đến exon 8, trong đó có 15/51 mẫu không phát hiện đột biến gen *TP53* (29,4%). Các mẫu này có thể xuất hiện đột biến ngoài các exon 5-8, hoặc cũng có thể phát hiện được các mối tương quan giữa đột biến với giải phẫu bệnh lý hay các đặc điểm khác của u khi phân tích ngoài những exon này. Điều đó là hạn chế và sai số trong nghiên cứu của chúng tôi. Những hạn chế này có thể mở ra những định hướng mới cho các nghiên cứu trong tương lai.

4.5.3. Mối liên quan giữa đột biến gen *TP53* và dấu ấn HMMD

Ở các trường hợp UTTB đáy có HMMD p53 dương tính, ta có thể thấy được mức độ dương tính hay tỷ lệ các tế bào bắt màu càng cao thì tỷ lệ đột biến gen *TP53* càng cao: (1+) là 55,6%; (2+) là 63,6% và (3+) lên tới là 75%. Cũng tương tự như vậy, ở UTTB vảy, mức độ dương tính càng cao thì tỷ lệ đột biến gen *TP53* cũng cao theo: (1+) là 75% và (2+) với (3+) đều cho tỷ lệ 100% đột biến. Đối với những trường hợp dương tính với dấu ấn Ki-67, tỷ lệ đột biến gen *TP53* của UTTB đáy thấp hơn UTTB vảy, lần lượt ở mức (1+) là 68,8% và 83,3%; mức (2+) là 66,7% và 90%; mức (3+) là 50% và 100%. Tuy nhiên, các sự khác biệt này đều không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Đột biến gen *TP53* đại diện hầu hết sự thay đổi di truyền phổ biến trong nhân các khối u. Sự tích tụ của protein cũng có thể xảy ra như là kết quả của biểu sinh thay đổi, do đó nó không phải là một chỉ số bắt buộc của một đột biến gen. Nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự tăng sinh protein p53 quá mức không phải lúc nào cũng gây ra đột biến gen *TP53*. Nghiên cứu của Yoshiaki (1994) trên 12 mẫu UTTB đáy trên các exon 2, 10 và 11, chỉ ra có 2/4 trường hợp dương tính p53 phát hiện đột biến gen *TP53* và cả 2 đều là đột biến sai nghĩa; trong 8 trường hợp âm tính p53 còn lại thì có 3 trường hợp đều phát hiện đột biến mất nghĩa. Giải thích cho sự thiếu nhất quán này, tác giả cho rằng có thể đột biến xuất hiện trên ngoài những exon đang phân tích (exon 3-9), hoặc kỹ thuật PCR được phân tích ở 3 mức glyxerol khác nhau 0%, 5% và 10% và lý do thứ ba là đột biến thực sự không xuất hiện. Bên cạnh đó cũng có một số ý kiến trái chiều. Một nghiên cứu của Lidia Frey (2010) thực hiện phân tích 10 mẫu UTTB đáy trên exon 5-8 như nghiên cứu của chúng tôi, trong đó có 6 mẫu có mức dương tính cao và 4 mẫu có mức dương tính thấp. Kết quả cho thấy cả 4 mẫu có mức dương tính thấp đều không xuất hiện đột biến gen *TP53*. Trong 6 mẫu có mức dương tính cao, có 4 mẫu được phát hiện đột biến gen *TP53* và tác giả này cho rằng có mối liên quan giữa mức tăng sinh p53 và đột biến gen *TP53*. Các nghiên cứu về mối tương quan giữa mức tăng sinh của p53 và Ki-67 với đột biến gen *TP53* khá phổ biến trong ung thư vú, thận, đại trực tràng, tử cung... nhưng với ung thư da và đặc biệt là ung thư da vùng đầu mặt cổ thì vẫn còn là một đề tài khá mới mẻ ở cả trong nước và trên thế giới. Đây có thể là một định hướng mới cho các nghiên cứu về gen, hóa mô miễn dịch ở ung thư da trong tương lai.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 71 trường hợp ung thư da vùng đầu mặt cổ, trong đó có 51 trường hợp UTTB đáy và 20 trường hợp UTTB vảy, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Mức xâm lấn của ung thư da

- Trung bình khoảng cách tới rìa u của UTTB đáy ($5,1 \pm 1,57$ mm) nhỏ hơn của UTTB vảy ($7,5 \pm 3,76$ mm), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- **Mức xâm lấn:** Ở UTTB đáy, diện cắt dương tính xa nhất 3 mm và 4 mm chiếm tỷ lệ cao nhất, lần lượt là 41,2% và 27,5%. Ở UTTB vảy, diện cắt dương tính xa nhất chiếm tỷ lệ cao nhất là 4 mm (45%); 5

mm (25%) và có 1 trường hợp lên tới 6 mm (5%). Không có bằng chứng chỉ ra có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa diện cắt dương tính xa nhất với từng đặc điểm sau: thể GPBL, hình thái lâm sàng của UTTB đáy, độ mô học của UTTB vảy, thời gian khởi phát bệnh, vị trí u và kích thước u ($p>0,05$).

- **Mức xâm lấn của đáy u:** chủ yếu là 1 mm ở cả UTTB đáy (76,5%) và UTTB vảy (80%). Càng xuống sâu, tỷ lệ còn tế bào ung thư càng ít: 2 mm là 4,2%; 3 mm là 4,2% và 4 mm là 1,4%. Không có mối tương quan có ý nghĩa thống kê nào giữa mức xâm lấn của đáy u và thể GPBL ($p>0,05$).

2. Đặc điểm gen *TP53*, *Ki-67* và mối liên quan của chúng với lâm sàng, mô bệnh học

Kết quả nhuộm HMMD:

- Tỷ lệ dương tính p53 ở UTTB đáy là 96,1%, cao hơn so với UTTB vảy là 65%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

- Tỷ lệ dương tính Ki-67 ở UTTB đáy là 84,3%, thấp hơn so với UTTB vảy là 100%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

- Không phát hiện mối liên quan có ý nghĩa thống kê nào giữa bậc lộ p53; Ki-67 với hình thái lâm sàng của UTTB đáy, độ mô học UTTB vảy và kích thước của u ($p>0,05$).

Kết quả giải trình tự gen *TP53*:

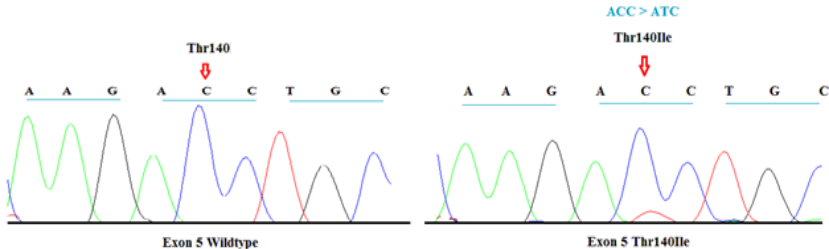
- Phát hiện 36/51 mẫu mang đột biến gen *TP53* (70,6%), trong đó 97,2% là đột biến sai nghĩa và 2,8% là đột biến mất nghĩa.

- Tỷ lệ phát hiện đột biến gen *TP53* ở UTTB đáy là 60,6%, thấp hơn so với ở UTTB vảy là 88,9%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Không phát hiện mối liên quan có ý nghĩa thống kê nào giữa đột biến gen *TP53* với hình thái UTTB đáy và độ mô học UTTB vảy.

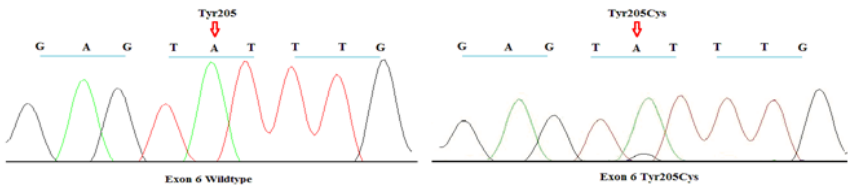
KIẾN NGHỊ

1. Mức xâm lấn trong UTTB đáy với diện cắt 5mm là đủ an toàn cho người bệnh, với UTTB vảy diện cắt u cần rộng rãi hơn, trên 10mm là đủ an toàn cho người bệnh.
2. Cần tiếp tục nghiên cứu về vai trò của gen *TP53* và *Ki-67* trong ung thư da, cơ chế bệnh sinh của UTTB đáy và UTTB vảy để tìm ra các thuốc điều trị thích hợp.

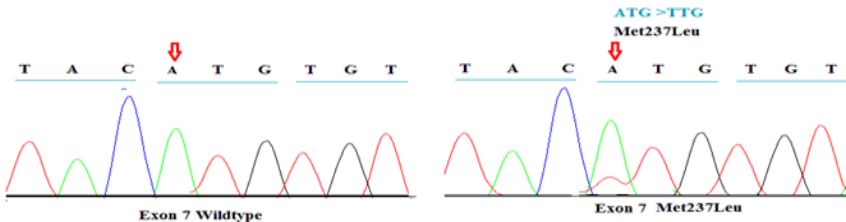
Một số hình ảnh đột biến gen TP53 trên các exon



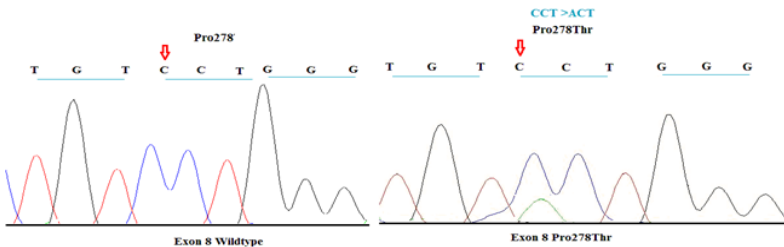
Đột biến tại Exon 5 (BN Nguyễn Văn T, UTTB đày, số GPBL:12-13884)



Đột biến tại Exon 6 (BN Lê Xuân T, UTTB đày, số GPBL:12-119149)



Đột biến tại Exon 7 (BN Nguyễn Danh K, UTTB đày, số GPBL:12-16161)



Đột biến tại Exon 8 (BN Nguyễn Văn H, UTTB vảy, số GPBL:13-37572)

MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING MINISTRY OF HEALTH
HANOI MEDICAL UNIVERSITY



NGUYEN VAN HUNG

**INVASIVENESS OF TUMORS AND EXPRESSION
OF THE *TP53* GENE, THE KI-67 IN BASAL CELL
CARCINOMAS AND SQUAMOUS CELL CARCINOMAS
OF THE HEAD AND NECK**

Speciality: Oncology

Code: 62720149

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS

HANOI - 2017

**THE RESEARCH WORK IS ACHIEVED AT
HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

Supervisor: Associate Professor. PhD. Ta Van To

Critic 1: Professor.PhD. Nguyen Van Hieu

Critic 2: Prof. PhD. Tran Hau Khang

Critic 3: Professor.PhD. Trinh Tuan Dung

The thesis will be defended in front of the Doctoral thesis Examiner
Committee in Hanoi Medical University.

At o'clock date month 2017.

Thesis may be found in:

- National library of Vietnam
- Library of Hanoi Medical University

LIST OF SCIENTIFIC RESEARCH WORKS PUBLISHED

1. Nguyen Van Hung, Ta Van To (2013) The clinical features, histopathology and immune markers p53, KI-67 of the skin carcinoma, *The 19th Scientific Research Conference 2013*, Hanoi Medical University, No.20, 19 – 24.
2. Nguyen Van Hung, Ta Van To (2014) Evaluation of immune markers expression p53, KI-67 of the skin carcinoma and related factors. *Vietnam Oncology Journal*, No. 2 – 2014, 499 – 505.
3. Nguyen Van Hung (2016). Research on the *TP53* gene expression in basal cell carcinoma of the head and neck at Vietnam National Cancer Hospital. *Journal of Practical Medicine*, No. 7 (2016), 15 – 18.
4. Nguyen Van Hung (2016) The clinical features, histopathology and immune markers p53, KI-67 of the skin carcinoma of the head and neck at Vietnam National Cancer Hospital from 2012 – 2014. *Journal of Practical Medicine*. No.8 (2016), 77 – 79.
5. Nguyen Van Hung (2016). The state of the *TP53* gene mutation in squamous cell carcinoma in the head and neck at Vietnam National Cancer Hospital. *Vietnam Oncology Journal*. The 18th PCUT National Conference, No.2 – 2016, 315 – 319.
6. Nguyen Van Hung (2016). Evaluation of invasion in Skin Cancer of the Head and Neck treatment by surgery at Vietnam National Cancer Hospital from 2012 – 2014. *Journal of Practical Medicine*. No.9 (2016), 111 – 113.
7. Nguyen Van Hung (2016). Research on the *TP53* gene expression in squamous cell carcinoma in the head and neck at Vietnam National Cancer Hospital. *Journal of Practical Medicine*. No.9 (2016), 68 – 70.

INTRODUCTION

Skin cancer is a malignant tumor most common in the head and neck region, including several types of malignant tumor derived from epithelial cells. Skin cancer incidence increases with age, often over 50-year old people, proportion of skin cancer in male is higher than female. The head and neck region, basal cell carcinoma (BCC) are more common in the face region than other regions, approximately 75%. According to data in 2002, there were more than 1.3 million people in US suffering from skin cancer each year. In Vietnam, it has not had a specific statistic on the incidence of skin cancer.

The most common cancers are basal cell carcinoma (BCC) and squamous cell carcinoma (SCC). Etiology pathogenesis of skin cancer is ultraviolet (UV) rays which come from the sun. The DNA damages due to UV are always self – correcting. The *TP53* Gene prevents the damaged DNA cell division, is responsible for protein gene coding which is constituting a transcription factor which regulate the cell replication. Besides, KI-67 is a non-histon protein primarily intervening in the development and control of the cell cycle, especially the mitotic index and tumor histology. In general, the expression of The *TP53* Gene mutation and KI-67 proliferative index in cancer reflect the malignant feature. Hence, we carry on this study for two objectives which are:

- 1. To assess the invasion of BCCs and SCCs in the skin of the head and neck.*
- 2. To determine the The *TP53* Genemutation situation, The p53 protein and KI-67 expression and their correlation with clinic and histopathology.*

New contributions of the thesis:

Determining the median surgical excision margin, the tumor invasiveness in depth and breadth; there by recommending the safe sectional area in the surgery of BCC and SCC of the head and neck.

Research results reflect clearly the correlation between p53 and KI-67 immunohistochemistry (IHC), the proportion of The *TP53* Gene mutation, types of mutation and common Exon in BCC and SCC.

Thesis Structure

The thesis contains 112 pages including 6 parts: 2 pages of Introduction; 35 pages of Overview; 18 pages of Study subjects and Methods; 25 pages of Results; 29 pages of Discussion; 2 pages of Conclusion and 1 page of Recommendation.

The thesis contains 38 tables; 22 figures and 3 charts. The thesis uses 212 references which consist of 24 Vietnamese documents and 166 English documents.

CHAPTER 1 OVERVIEW

1.1. SKIN HISTOLOGY

Skin accounts for 16% of body weight; it covers the entire outer surface of the body. Skin has many functions, such as protection, biological homeostasis, anti-dehydration through the skin, body temperature regulation. The most important function is to protect the body from the impact of environment. The human skin is made up of three layers: epidermis, dermis and hypodermis.

1.2. EPIDEMIOLOGY OF SKIN CANCER

1.2.1. Basal cell carcinoma (BCC):

BCC is the most common type of skin cancer in the world, the incidence increases every year. Levi. F (2001) estimated that more than 1 million people suffer from non-melanoma skin cancer in the US, BCC accounts for 75%. In Australia, Hoey S.E. (2007) showed that the standardized incidence ratio of BCC in male was 2.145/100.000 of population; in female was 1.259/100.000. In Vietnam, a study by Bui Xuan Truong from 1994 – 1997 showed that 67% of the patients are the BCC. According to the study of Nguyen Huong Giang (2005), non-melanoma skin cancer accounts for 91.67% of skin cancer, of which BCC accounts for 50%. A recent study of Vu Thai Ha showed the incidence of BCC in 2010 increased nearly 3 times compared to 2007; it took 58.8% of total skin cancer patients.

1.2.2. Squamous cell carcinoma (SCC)

World-wide SCC is common in the white people who live in plenty of sunlight region and have regular outdoor activities. The incidence is more than 100/100.000 of population in US; 30/100.000 in France. Australian Department of Health and Human Services (2014) showed that the incidence was 166/100.000 of population; it increased nearly 50% to 250/100.000 of population within 5 years. This is the highest incidence world-wide because it relates to the race (white people) and the light intensity of sunlight. In Vietnam, the incidence of SCC accounts for more than 20% of skin cancer. According to studies, the SCCs took 27% in a study by Bui Xuan Truong (1999) and 27.78% in a study by Nguyen Thi Huong Giang (2005)

1.3. BCC AND SCC PATHOPHYSIOLOGY

1.3.1. Basal cell carcinoma (BCC)

The disease is usually detected in a background of damaged skin before, but also appears in a seemingly intact skin which does not have any transparent change. These changes are considered precancerous stage of BCC as burn scars, chronic infections such as old tuberculosis ulcer, relapsed pimples, warts and keratins. BCC is most common in over 50-year old people, some occur in younger people. Most lesions grow in the region of head and neck, lesser in body and limbs, multifocal cancer.

1.3.2. Squamous cell carcinoma (SCC)

SCC is always formed in the precancerous change lesions, similarly to BCC, on the exposed skin such as face, neck, back of hands. Herendi (1951) showed that most SCCs were unifocal, whilst BCCs in the body area were usually multifocal. According to Trendelenburg (1933), SCC usually occurred more in male than female, before age 40, it increased gradually in age 50 and peaks in age 60 – 70.

It is difficult to distinguish between SCC and BCC at the early stage. However, the SCCs will grow faster than. The tumor is formed from undifferentiated and polymorphic cells. On microscope, it shows many polymorphonuclear giant cells and atypical mitotic cells. After passing the boundary between the epithelium and connective tissue, the tumor starts infiltrating deeply and simultaneously destroying the nearby tissue. The destroying tendency is the feature of this tumor.

1.4. SKIN CANCER CLINICAL CHARACTERISTICS

1.4.1. Clinical symptoms

1.4.1.1. Basal cell carcinoma (BCC)

The common clinical morphology: nodular BCC/ulcers; superficial BCC; fibrosis BCC; mixed BCC; hyperpigmentation.

1.4.1.2. Squamous cell carcinoma (SCC):

Various manifestations including clinical genre:

- Infiltrating SCC
- SCC in situ.

1.4.2. TNM Classification:

BCC and SCC classification of the skin of head and neck by American Joint Committee on Cancer (AJCC) (2014)

1.5. HISTOPATHOLOGY OF SKIN CANCER

1.5.1. Histopathological classification of BCC:

WHO (2006) classified BCC into these types:

- * *Superficial type (ICD-O code 8091/3).*
- * *Nodular type (ICD-O code 8097/3).*
- * *Micronodular type (ICD-O code 8090/3)*
- * *Infiltrating type (ICD-O code 8092/3)*
- * *Fibroepithelial type (ICD-O code 8093/3).*
- * *With adnexal differentiation type (ICD-O code 8098/3).*
- * *Basosquamous type (ICD-O code 8094/3).*
- * *Keratotic type (ICD-O code 8090/3).*
- * *Other differentiations: Follicular type, gland type, fibrosis/sclerosis,...*

1.5.2. Squamous cell carcinoma (SCC)

WHO Classified into these types:

- Acantholytic squamous cell carcinoma
- Spindle cell carcinoma
- Verrucous carcinoma
- Mucoepidermoid carcinoma (Glandular differentiation)

Histopathological Grading by TNM Atlas (1997):

- Grade 1: Well differentiated
- Grade 2: Moderately differentiated)
- Grade 3: Poorly differentiated or undifferentiated)

Border's system (Descriptive system)(1920):

- Grade 1: >75% differentiated cells.
- Grade 2: 50 – 75% differentiated cells.
- Grade 3: 25 – 50% differentiated cells.
- Grade 4: <25% differentiated cells.

New classification by NCCN (2014):

- Well or moderately differentiated.
- Poorly differentiated

1.6. SKIN CANCER TREATMENT**1.6.1. Surgery*****1.6.1.1. Surgical Excision for BCC and SCC******1.6.1.2. Vacant local plastic surgery after cutting tumor*****1.6.2. Radiotherapy****1.6.3. Chemotherapy****1.7. RESEARCHS ON THE *TP53* GENE IN SKIN CANCER****1.7.1. The *TP53* Gene Structure:**

The *TP53* gene is located on the short arm of chromosome 17 (17p13), encoded for 53 kDa protein named p53. It includes 11 exons (E1 – E11, in which E1 is not encoded) and 10 introns.

1.7.2. The *TP53* Gene Function:

The *TP53* Gene plays an important role in controlling cell cycle and apoptosis. Abnormal The *TP53* Gene makes cell proliferative disorder and then evolves cancer. When the body is affected by stimulations (such as damaged DNA, electric shock, lack of oxygen, oncogene overexpression), The *TP53* Gene will be activated to stop mitotic cycle until DNA is fixed or cause apoptosis if the damaged DNA can not be fixed.

1.7.2.1. The *TP53* Gene Activity***1.7.2.2. Cell-cycle control******1.7.2.3. Molecular genetic analysis*****1.7.4. The detection of The *TP53* Gene mutation methods*****1.7.4.1. Skin cancer immunohistochemistry (IHC)******1.7.4.2. PCR molecular biology technique***

1.8. RESEARCH SITUATION RELATED TO THE TOPIC.

1.8.1. Research situation in the world

Many studies have shown that The *TP53* Genemutation accounts for about a half of single BCCs cases. Rady (1992) showed that 50% of BCC had The *TP53* Genemutation. Later research by Ziegler (1993) detected that 56% of BCC had The *TP53* Gene mutation. Researchs on Asians showed that the proportion of The *TP53* Gene mutation in BCC varies between countries. The proportion of The *TP53* Gene mutation was 30% by the study of Kim (2002); 68.3% by Ghaderi (2005); 17.6% by Malhotra (2011)

In 2007, Thierry Soussi reviewed many researchs about genetic mutation in the patients with SCC in the head and neck. Researchs were carried on in different locations. It was found that 64 types of The *TP53* Gene mutation were detected, there were 44 mutations in one research. Thus, The *TP53* Gene mutation is very various and it may be modified depending on different races and geography.

1.8.2. Research situation in Vietnam

In Vietnam, researchs on The *TP53* Gene mutation of skin cancer are still limited. We only find two studies on skin cancer which are carried on by Tran Duc Phan and Le Duc Minh.

CHAPTER 2 SUBJECT AND METHODOLOGY

2.1. STUDY SUBJECTS

Study subjects include 71 patients who were confirmative diagnosed as BCCs and SCCs in Vietnam National Cancer Hospital from March 2012 to March 2014.

2.1.1. Patient Selection Criteria

- Patients who suffered from skin cancer in the head and neck having primary lesion, with no operation conducted; were confirmative diagnosed histopathologically as BCC and SCC after surgery in Vietnam National Cancer Hospital.

- Specimens were stored enough to cut specimen and do immunohistochemical staining and gene sequencing.

2.1.2. Exclusion Criteria

- Patients who did not meet any inclusion criteria.
- Patients who had 2 types of cancer and had been treated previously.

2.2. STUDY METHODOLOGY

2.2.1.Design: Prospective descriptive study and clinical intervention study without control.

2.2.4. Proceeding Method

2.2.4.1. Information extraction

2.2.4.2. Histopathological study:

Classification of BCCs:

Common clinical morphology:

- Nodular BCCs/ulcer
- Superficial BCCs
- Fibrosis BCCs
- Mixed BCCs

Classification of SCCs:

4 grades of differentiation: In 1920, Borders found an easy way to remember to evaluate cancer development according to 4 grades of malignance.

- Grade 1: >75% differentiated cells.
- Grade 2: 50 – 75% differentiated cells.
- Grade 3: 25 – 50% differentiated cells.
- Grade 4: <25% differentiated cells.

2.2.4.3. The invasion study of skin carcinoma:

The sectional areas are indentified and evaluated invasion by histopathological tests; based on plane and anatomy location and specimen marks.

2.2.4.4. The evaluation of protein p53 and Ki-6 expression

Using HE stain to evaluate protein p53 and Ki-67 expression, based on stardard evaluation by Izumi (2008)

Negative:	<10% of tumor cells stained
Positive (1+):	10 – 50% of tumor cells stained
Positive (2+):	51 – 80% of tumor cells stained
Positive (3+):	>80% of tumor cells stained

2.2.4.5. The evaluation of The TP53 Gene mutation

Sequencing The TP53 Gene is performed on ABI PRISM Genetic Analyzer. Parameters and quality are collected and checked by Data Collection v2.0 and Sequencing Software v5.3 softwares. Sequencing The TP53 Gene of the sample is compared to reference sequencing published in GenBank by using BioEdit software to identify the mutation.

2.3. DATA PROCESSING

The datas are processed by Epidata 3.1 and SPSS.16, using Hypothesis Testing Algorithm χ^2 ; verification testing is significant when $p < 0.05$.

CHAPTER 3 RESULTS

3.1. SOME CLINICAL CHARACTERISTICS

3.1.1. Age and sex

Age group >70 took the highest proportion 43.7%. Age group <40 took the lowest proportion 1.4%. The medium age group took the highest proportion 66.4%. Female took 54.9% and male took 45.1%.

3.1.2. Proportion of BCCs and SCCs

Table 3.2: Proportion of BCCs and SCCs

Histopathology	n	%
BCCs	51	71,8
SCCs	20	28,2
Total	71	100,0

The proportion of patients suffered from BCC was 71.8% and SCC 28.2%

3.1.3. Lesions region:

BCC around eyes area were most popular (27.5%). SCC was popular in the nose area (25%). The difference was significant statistic between BCC and SCC tumor locations ($\chi^2=18.06$; $p=0,034$).

3.1.4. Tumor size

Table 3.4: Tumor size distribution

Tumor size	BCC		SCC	
	n	%	n	%
<1cm	6	11,8%	2	10%
1 – 2 cm	28	54,9%	11	55,5%
2 – 4 cm	15	29,4%	7	35%
> 4 cm	2	3,9%	0	0
<i>X ± sd</i>	2,21 ± 1,13		2,09 ± 0,95	
<i>Min – max</i>	0,7 – 6,0		0,5 – 4,0	
Total	51	71,8%	20	28,2%

Comments: The average size of BCC tumor (2.21cm) was bigger than that of SCC tumor (2.09). This difference was not statistically significant ($p > 0.05$)

3.3. THE EVALUATION OF INVASIVENESS OF SKIN TUMOR

3.3.1. Surgical excision margin

Table 3.6: Surgical excision margin:

Surgical excision margin:	BCC		SCC		p
	n	%	n	%	
2-3mm	6	11,8	0	0	0,23
4-5mm	35	68,6	10	50	
6-7mm	6	11,8	2	10,0	1,00
8-9mm	2	3,9	1	5,0	1,00
>10mm	2	3,9	7	35,0	0,002
<i>X ± sd</i>	5,1 ± 1,57		7,5 ± 3,76		0,011
Total	51	71,8	20	28,2	0,007

There was evidence indicating the statistical significance relationship between histopathological type and surgical excision margin ($\chi^2=14.2$; $p=0,007 < 0,05$). When using t-test, we found the difference between surgical excision margin of 2 types of carcinomas ($t_{21,6}=-2,763$; $p=0,011$).

3.3.2. The correlation between positive sectional area and pathological anatomy type

Table 3.7: The correlation between the farthest positive sectional area and pathological anatomy

Pathological anatomy type	The farthest positive sectional area (mm)						Total
	1 mm	2 mm	3 mm	4 mm	5 mm	6 mm	
<i>BCC</i>	1 (2%)	10 (19,6%)	21 (41,2%)	14 (27,5%)	5 (9,8%)	0	51 (71,8%)
<i>SCC</i>	-	1 (5%)	4 (20%)	9 (45%)	5 (25%)	1 (5%)	20 (28,2%)
Total	1 (1,4%)	11 (15,5%)	25 (35,2%)	23 (32,4%)	10 (14,1%)	1 (1,4%)	71 (100%)

In BCCs cases, the farthest positive sectional area 3mm took the highest proportion (41.2%). This proportion gradually decreased to 27.5% by 4mm and 9.8% by 5mm. For SCCs, the highest proportion was the farthest positive sectional area 4mm (45%); then decreased to 25% by 5mm and 5% by 6mm. The correlation between the farthest positive sectional area and pathological anatomy type was not statistically significant. ($\chi^2=10,472$; $p=0,063$).

3.3.7. The correlation with invasion in depth

Table 3.14: The invasion in depth and pathological type

Carcinomatype \ Margins	BCC		SCC		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>Negative</i>	6	11,8	3	15	9	12,7
<i>1 mm</i>	39	76,5	16	80	55	77,5
<i>2 mm</i>	3	5,9	0	0	3	4,2
<i>3 mm</i>	2	3,9	1	5	3	4,2
<i>4 mm</i>	1	2	0	0	1	1,4
Total	51	71,8	20	28,2	71	100,0

Comments: The invasive in depth was mainly 1-mm (77.5%), BCCs (76.5%) and SCCs (80%). The largest spreading level was 4 mm in one BCC patient. χ^2 test showed that no correlation between the invasion in depth and pathological type was statistically significant ($\chi^2=1,75$; $p=0,78$).

3.4. RESULTS OF P53 AND KI-67 IMMUNOHISTOCHEMICAL (IHC) STAINING

3.4.1. The correlation between p53 and Ki-67 positive level and pathological anatomy

Table 3.15: The correlation between p53 positive level and pathological anatomy

Types	Negative		Positive						Total		p
			1+		2+		3+				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
BCC	2	3,9	30	58,8	14	27,5	5	9,8	51	100	0,001
SCC	7	35,0	5	25,0	3	15,0	5	25,0	20	100	
Total	9	12,7	35	49,3	17	23,9	10	14,1	71	100	

Comments: The proportion of positive in BCCs was 96.1% which was higher than SCCs (65%). This difference was statistically significant (p=0,001).

Table 3.16: The correlation between Ki-67 positive level and pathological anatomy

Types	Negative		Positive						Total		p
			1+		2+		3+				
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
BCCs	8	15,7	26	51,0	8	15,7	9	17,6	51	100	0,002
SCCs	0	0	6	30,0	12	60,0	2	10,0	20	100	
Total	8	11,3	32	45,1	20	28,2	11	15,5	71	100	

Comments: The proportion of positive in BCCs was 84.3% which was lower than SCCs (100%). This difference was statistically significant (p=0,002).

3.5. RESULTS OF THE TP53 GENE SEQUENCING

3.5.1. Classification of TP53 gene mutation

Table 3.21: Classification of TP53 gene mutation

Mutation	BCCs		SCCs		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Missense mutation</i>	19	95	16	100	35	97,2
<i>Nonsense mutation</i>	1	5	0	0	1	2,8
Total	20	55,6	16	47,4	36	100

Comments: Within 36 mutation samples, 35 cases (97.2%) were acid amin replacement mutations (Missense mutation) and 1 case (2.8%) was nonsense mutation.

3.5.4. The expression status of *TP53* gene mutation in BCCs and SCCs

Table3.24: Status of *TP53* gene mutation in 2 types of carcinomas

Carcinoma type	Mutation		No mutation		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>BCC</i>	20	60,6	13	39,4	33	(64,7%)
<i>SCC</i>	16	88,9	2	11,1	18	(35,3%)
Total	36	70,6	15	29,4	51	(100%)

60.6% of BCCs and 88.9% SCCs expressed The *TP53* Gene mutation. The difference between the proportion of The *TP53* Gene mutation in BCCs and SCCs samples was statistic significant when using χ^2 test ($\chi^2= 4,49$; $p=0,034$).

3.5.7. The correlation between p53 IHC and The *TP53* Gene mutation

Table3.27: The correlation between p53 IHC and The *TP53* Gene mutation

IHC p53	BCCs		SCCs	
	<i>Mutation</i>	<i>No mutation</i>	<i>Mutation</i>	<i>No mutation</i>
-	0	0	6 (85,7%)	1 (14,3%)
1+	10 (55,6%)	8 (44,4%)	3 (75%)	1 (25%)
2+	7 (63,6%)	4 (36,4%)	2 (100%)	0
3+	3 (75,0%)	1 (25%)	5 (100%)	0
Total	20 (60,6%)	13 (39,4%)	16 (88,9%)	2 (11,1%)

Comments:

- BCCs: Positive level p53 (1+) took 55.6% of *TP53* mutation; (2+) took 63.6% and (3+) took 75%. There was no statistical significant correlation between IHC p53 and gene mutation. ($\chi^2=0,582$; $p=0,748$).

- SCCs: Positive level p53 (1+) took 75% of *TP53* mutation; (2+) took 100% and (3+) took 100%. There was no significant correlation between IHC p53 and gene mutation. ($\chi^2=1,73$; $p=0,631$).

3.5.8. The correlation between Ki-67 IHC and The *TP53* Gene mutation

Table3.28: The correlation between Ki-67 IHC and The *TP53* Gene mutation

IHC Ki-67	BCCs		SCCs	
	Mutaion	No mutation	Mutaion	No mutation
-	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0	0
1+	11 (68,8%)	5 (31,2%)	5 (83,3%)	1 (16,7%)
2+	4 (66,7%)	2 (33,3%)	9 (90%)	1 (10%)
3+	4 (50%)	4 (50%)	2 (100%)	0
Total	20 (60,6%)	13 (39,4%)	16 (88,9%)	2 (11,1%)

Comments:

- BCCs: Positive level Ki-67 (1+) took 68.8% of *TP53* mutation; (2+) took 66.7% and (3+) took 50%. There was no statistical significant correlation between IHC Ki-67 and gene mutation. ($\chi^2=1,848$; $p=0,604$).

- SCCs: Positive level Ki-67 (1+) took 83.3% of *TP53* mutation; (2+) took 90% and (3+) took 100%. There was no statistical significant correlation between IHC Ki-67 and gene mutation. ($\chi^2=0.45$; $p=0,799$).

CHAPTER 4 DISCUSSION

4.1. CLINICAL CHARACTERISTICS

4.1.2. The proportion of BCCs and SCCs

Our results were higher than that of other authors. Trinh Quang Dien (1999) showed that BCCs took 52.2% and SCCs took 38.4%; Le Tuan Hung (1999) also showed that BCCs took 50.5% and SCCs took 34.3%. In comparision with foreign studies, Al About KM (2003) showed 51% and 26%, respectively. Our results were higher than

Thomas DR (1979): BCCs (61%) and SCCs (25%). One foreign study also had the same result as us. An epidemiological study by Andrade (2011) which lasted 5 years in Singapore showed the proportion of BCCs was 68.3% and SCCs was 31.7%. Marks (1995) showed the BCCs: SCCs ratio approximately 3~4 to 1 (~3-4:1). Study in head and neck cancer by Ouyang (2010) also indicated that BCCs were the most common cancers in skin cancer, which took 70 – 75%.

4.1.3. The distribution by lesion location

Scientists reckon that the head and neck are the regions which are often exposed to sunlight. UVA, UVB, UVC which directly impact on the head and neck skin region cause cancer. Many studies have affirmed that the tumors in the head and neck are likely to relapse and metastasize. It relapses mostly in nose, cheek and temples. Our results were quite similar to some domestic and foreign studies. Bui Xuan Truong (2005) indicated the proportion of BCCs lesion region in the head and neck: scalp took 2.4%; forehead – temples took 7.4%; eye area took 10.8%; cheek took 16.4%; nose took 28.8%; lips and chin took 6.2%; ears areas took 5.2%. Both Kikuchi (1996) and Chen (2006) indicated that nose and eyes area often occur BCCs. The region determination of the tumor plays an important role for the treatment plan. Rajpar (2008) and Smeets NEW (2004) showed the tumor belonging to “H region” (eyes, eyebrows, nose, nose-cheek groove, front and behind the ears) was most at risk of relapse after treatment. Currently, there have not had any explanation why the BCCs often occur on nose area or other areas. However, Kikuchi (1996) indicated that BCCs occurred on nose area because it protruded so it was exposed most to sunlight.

In our study, SCCs were most popular in temples (25%) and nose area (25%), cheek (15%) and forehead (15%). Andrade (2011) also indicated the same lesion region, but in different proportion: cheek bone (31%); lower lip (17.8%); ears (11.7%); forehead (11.5%) and nose (10.1%). Veness (2007) indicated that SCCs in ears, foreheads, scalp

and lower lip had high proportion of relapse. Our results by using χ^2 test showed the statistical significance between SCCs and BCCs lesion region ($p=0,035$). This proved that BCCs and SCCs lesion region differed transparently.

4.1.4. The distribution by lesion size

Tumor size also plays an important role in treatment and risk of relapsing; the bigger the tumor is, the higher the risk of relapsing is. Cherpelis (2002) et al. published that the tumor size had statistical significance with metastasis; tumor which was larger than 2 cm was at higher risk of metastasis. Besides, invasive SCCs which was smaller than 1 cm could also be metastasis but not frequently. Some patients among study subjects used to visit clinic lately or self-medicate so the lesion had spreaded.

The most common lesion size of BCCs was 1 – 2cm (54.9%); then 2 – 4cm (29.4%); < 1cm (11.8%); > 4cm (3.9%). The average size was 2.21cm. The biggest size was 6cm. This result is quite similar to Do Thu Hang (2005) and Le Duc Minh (2014). Two authors also indicated that the size 1 (50.8%) - 2 (44.3%) cm was most common in BCCs. However, our results were also different from some other domestic and foreign studies. Manstein ME (2003) showed that tumor less than 2cm accounted for 85%. This might due to education level, good economic condition, period health check-up; therefore people were early examined and treated. In Vietnam, people only visit doctor when they realize symptoms. They are not in the habit of periodic health check-up until the tumor gets bigger. Hoang Anh Tuan (2012) showed the most common tumor was less than 1 cm (41.3%). This difference might be explained by localizing in SCCs of the eyelids area. Tumors around eyelids would affect to visual ability, so the patients came to doctor earlier.

In SCCs, tumor size 1 – 2cm accounts for the highest proportion (54.9%); 2 – 4 cm (29.4%); 1 cm (11,8%) ; 4 cm (3,9%). This quite differs from a study of Do Thu Hang (2005) as this author showed that

the tumor size 2 – 5 cm accounted for the highest proportion (63.7%); 2cm (19.8%). Pham Cam Phuong (2001) also showed the same results. When studying the correlation between tumor size and age/sex/carcinoma types, there was not any statistical significant correlation.

4.3. THE EVALUATION OF INVASIVENESS OF SKIN TUMOR

4.3.1. Surgical excision margin

Evaluating the distance from surgical excision margin to outer area of the operated tumor; identifying the millimeter sectional area through 4 edges of skin which represent for tumor cutting area. In this study, surgical excision margins <3mm accounted for 8.5%; 4-5 mm 63,4%, 6-7 mm 11,3%, 8-9 mm 4,2% and >10mm 12,6 %. A study on 292 patients by Bui Xuan Truong (2005) showed that surgical excision margin less than 5mm accounted for 10%; 5mm 32%; 7mm 36%; 10mm 10.1% và > 10mm 0.6%.

In BCCs, 11.8% of the cases were operated with surgical excision margin less than 3mm; 4-5 mm 68.6%; 6-7 mm 11.8%; 8-9 mm 3.9% and more than 10 mm took 3.9%. Therefore, cutting less than 5mm (80.4%) was large enough. There were 2 cases of cutting larger than 10mm (3.9%), it might be due to either relapsed tumor, or in wide position. Breuninger and Dietz (1991) proved that for less than 1cm BCCs, 30% were operated with 2mm surgical excision margin, 3mm 16%, 5mm (5%). The size 1 – 2 cm, this proportion respectively was 2mm 48%; 3mm 34% and 5mm 18%. 165. Weinstein (2002) indicated that skin incision 5 – 10mm far from the lesion edge showed 83% cured.

In SCCs, 50% of the cases were operated with surgical excision margin 4-5 mm; 6-7 mm 10%; 8-9 mm 5% và >10 mm 35%. On the surgery principle of SCCs, the proportion of 50% (4 – 5mm) has not been appropriate because the clinical evaluation and determination, pre-operative SCCs and BCCs were very difficult to be accurate to some types of SCCs (accurate results were based on pathological anatomy)

4.3.2. The correlation between the farthest positive sectional area and pathological anatomy

For invasive SCCs, Fleming (1995) with nodular type/ulcer and superficial type, lesion incision far from the lesion edge 5mm could cure 90%; with fibrotic type, it should be incised far from the lesion edge 7.2mm. Sectional area 5mm was indicated to be sure to decrease the proportion of relapse of <2cm tumors. Gullet (2010) indicated that Sectional area 3mm might also be safe to boost the aesthetisim as well as cure 95%. This study result could affirm that the sectional area with >5mm tumor brought safety to almost 90% of BCCs patients. According to our study, positive farthest sectional area 3mm took the highest proportion on 4 figures: nodular type 38.5%; fibrosis type 42.9%; superficial type 100% and mixed type 50%. In nodular and fibrosis type, positive sectional area was 4mm and 5mm which took quite high proportion. In contrast, the superficial and mixed type, positive sectional area was 3mm. We did not find any evidence within study which indicated the correlation between positive sectional area and clinical figures of BCCs.

In SCCs, positive sectional area was mainly found 4mm (the differentiated grade I: 40%; Grade II: 45.5%; Grade III: 50%). The positive proportion in 5mm sectional area was quite high in Grade II (27.3%) and Grade III (25%) differentiation. 6mm positive sectional was appeared in Grade II (9.1%). Taylor (1999), in SCCs, edge of sectional area was recommended as 4 – 15mm from the red circle.

The study also showed that the proportion of BCCs in sectional area was 19.6%, 3mm 41.2% respectively; it was higher than SCCs (5% v`a 20%). In contrast, the proportion of BCCs sectional area 4mm and 5mm (27.5% v`a 9,8%) were lower than SCCs (45% v`a 25%). Positive sectional area 6mm also appeared in 1 case of BCC (5%). BCCs and SCCs had the limited invasion, as other documents. SCCs were able to invasive more than 5mm and to 10mm, as other mentioned documents.

4.3.5. The invasive in depth

The proportion of remaining carcinoma cell at 1mm section was very popular (77.5%). The deeper the sectional area was, the lower the proportion of carcinomas cell was found. However this affirmation was not statistically significant ($p>0.05$). As some information about skin cancer, especially in BCCs, the fibrosis type rarely invaded through basement membrane. Mostly no carcinoma cell was in section 2mm (4.2%). However in the recommendation of SCCs, the deep invasion of carcinoma cell is studied that frequency spreading on tissue is from 2 – 8 mm. Within this study, we found 1 case of 4mm invasive BCC, because the invasion around the eyes and their organization were loose, carcinoma cell invaded deeply so the patient had to have eye enucleation; the tumor spreaded near to the eye so it affected to the function; the surgery as expecting affected much to the eyes so the surgeon often conserved anatomy; the operated border was easy to relapse to cancer leading to large invasive relapsed tumor.

4.4. IHC P53 AND KI-67 EXPRESSION CHARACTERISTICS

4.4.1. The correlation between IHC and pathological anatomy

IHC p53

Positive level p53 was identified according to the proportion of stained cell by IHC. Within 51 BCCs cases, 49 cases (96.1%) showed positive p53, in which 61.2% of the cases expressed positive level (1+): 10 – 50% of the cells were stained, 28.6% expressed positive level (2+): 51 – 80% of the cells were stained, 10.2% expressed positive level (3+): 51 – 80% of the cells were stained. The study results of p53 expression in BCCs were different from other studies. Rasoul Esmaeili (2015) and Monsef (2012) both showed that the p53 positive level in BCCs took 76% which was lower than our results. However, other studies showed the higher result, Abu Juba (2013) 100%, Karagece (2002) 98%. Besides, positive level (2+) and above (>50% stained cells) in some studies were higher than ours (38.8%), Monsef (2012) 60%, Abu Juba et al. 50%. In general, many authours indicated that BCCs positive for

p53 IHC 42 – 90%. This difference about the proportion of tumor inhibiting gene mutation in BCCs could be explained by race and geography.

Within 20 cases of SCCs, 13 cases (65%) expressed positive p53, in which positive (1+) and (3+) took 38.5%, positive (2+) took 23%. Our study also resulted that the difference of p53 positive level in BCCs and SCCs was statistically significant. ($p < 0.05$). Some other studies showed quite different results. Mothebat Gouda (2014) showed the proportion of p53 positive in SCCs 88.9%, Batinac (2004) 86,7%, Khodaeiani (2013) 50,2%, Kerschmann (1994) et al. 60%, Abu Juba (2013) et al. 100%. The proportion of positive level differs among studies. Recep Birdi (2016) showed that positive (1+) took 35%, (2+) 37.5%, (3+) 27.5%; while Khodaeiani (2013) showed results respectively 60%; 20% and 20%.

Table 4.1: Proportion of p53 positive within studies

Positive level	Rasoul 2015 [114]	Monsef 2012 [174]	AbuJuba 2013 [175]	Karagece 2012 [176]	Gouda 2014 [178]	Batinac 2004 [179]
BCCs	76%	76%	100%	98%	-	-
SCCs	-	-	100%	-	88,9%	86,7%

IHC Ki-67

Within 71 cases of IHC, 8 cases expressed Ki-67 negative (11.3%) and they were BCCs. In BCCs Ki-67 positive cases, the highest proportion was 60.5% expressing positive (1+), (2+) 18.6%, (3+) 20.9%. In comparison with SCCs, the highest proportion was (2+) with 60%, (1+) 30% and (3+) 10%. The correlation between IHC Ki-67 and BCCs or SCCs was statistically significant ($p < 0.05$)

In comparison with other foreign results, Rasoul (2015) indicated that the proportion of Ki-67 positive in BCCs was 60%, Gouda (2014) showed that the proportion of Ki-67 positive in SCCs was 88.3%. The proportions of positive level are quite different. In BCCs, the proportion of positive level (2+) and above (>50% stained

cells), which was from 33 – 70%, was higher than ours. In SCCs, this proportion in our study (70%) was appropriate with other studies (40 – 80%). These differences within results may be due to IHC techniques difference, sample size, sample selection or subjective comments of the result readers.

4.5. THE *TP53* GENE MUTATION CHARACTERISTICS

4.5.1. Types of *TP53* gene mutation

We focused on analyzing the *TP53* gene mutation from exon 5 to exon 8, detected 36 mutations from codon 132 to codon 300. There were 8 cases (22.2%) having mutation in exon 5, exon 6 and exon 8. Exon 7 included 12 cases (33.4%) and most p53 mutations were detected in exon 5 – 8. Domestic and foreign researchs analyzed *TP53* gene mutation on many different exons. Tran Duc Phan (2015) analyzed the mutation from exon 2 to 8, while Bolshakov et al. (2003) analyzed from exon 4 to 9, Ling et al. (2001) worked from exon 5 to 9, Reifenger (2004) worked from exon 4 to 10 and Wang et al. (2014) worked from exon 2 to 11.

Mutation analysis results showed that 35 cases (97.2%) were missense mutation and only 1 case (2.8%) was nonsense mutation. All the mutations in our study were acid amin replacement mutation occurring on all gene segments which were analyzed and found with mutation. The nonsense mutation belonged to a BCC sample, on exon 6 and codon 236, triplets Tyrosin TAC became stop codon TAG. In this case, changes in protein were plenty because the gene would be shorter and stop immediately when mutation came. In missense mutation, 11 types of mutating nucleotide were detected in causing mutating acid amin in protein. In which type of mutating nucleotide C → T used to be mentioned in many articles as a result of mutation caused by sunlight UV exposure; it took 16.7% and was not the most common mutation in this study (C → G: 19,4%). Mutation C → T in foreign researchs, especially in white people, took a very high proportion within nucleotide mutations (50 – 72%)

4.5.2. The expression of *TP53* gene mutation in BCCs and SCCs situation

In this study, we chose 51/71 samples to do mutation test via PCR, resulted in 36 cases of *TP53* gene mutation (70.6%). 20/33 cases of BCCs (60.6%) and 16/18 cases of SCCs (88.9%) had *TP53* gene mutation. We could easily see that the proportion of *TP53* gene mutation in SCCs was clearly higher than BCCs. This difference was statistically significant.

Our results were higher than some studies in the world and Vietnam. Many authors indicated that the proportion of *TP53* gene mutation in BCCs was about 30 – 50%. Some results by other studies were not in this range, Ling et al. (2001) showed 66.7%; but the difference was that its subjects contained only 9 people, in which most of them were genetic BCCs, the author took 3 samples each person, so this proportion was higher than other studies. In contrast, Wang et al. (2014) of which study carried on in China was done with the result 20%. He indicated that this proportion was much lower than studies results in white people, because white skin was more sensitive and more exposed to sunlight UV. In SCCs, the proportion in other studies was also lower than ours. Bolshakov (2003) also indicated the proportion of *TP53* gene mutation in SCCs 41.2%, Moles (1993) 15%.

Table 4.2: Proportion of *TP53* gene mutation according studies

Proportion of <i>TP53</i> gene mutation	<i>Moles</i> 1993 [206]	<i>Ling</i> 2001 [197]	<i>Bolshakov</i> 2003 [196]	<i>Ghaderi</i> 2005 [109]	<i>Wang</i> 2014 [199]
<i>BCCs</i>	-	66,7%	47,3%	68,3%	20%
<i>SCCs</i>	15%	-	41,2%	-	-

When analyzing proportion of *TP53* gene mutation on exon, in BCCs cases, there were 12.1% mutations on exon 5, 15.2% on exon 6, 18.2% on exon 7 and 15.2% on exon 8. In SCCs, there were mutations on exon 5 – 8 accounting for 22.2%; 16.7%; 33.3% và 16.7%, respectively. In both pathological anatomy types, mutation on exon 7

took the highest proportion. However, the result by χ^2 test concluded that the correlation between exon *TP53* gene mutation and pathological anatomy type was not statistically significant. In this study, we only focused on analyzing mutations on exon 5 – 8, in which 15/51 samples were not been detected *TP53* mutation (29.4%). These samples could emerge mutation outside exon 5 – 8, or probably detect the correlation between mutation and pathological anatomy or other tumor characteristics. This is the limitation and errors within our study. The limitation can open up new orientation for other studies in the future.

4.5.3. The correlation between *TP53* gene mutation and IHC markers

In BCCs with positive p53 IHC, the higher positive level or stained cells was, the higher the proportion of *TP53* mutation was; (1+) 55.6%; (2+) 63.6% and (3+) 75%. In SCCs, the higher positive level was, the higher the proportion of mutation was. : (1+) 75%, both (2+) and (3+): 100%. In Ki-67 with positive markers, the proportion of BCCs was lower than SCCs, BCCs (1+) 68.8%, SCCs (1+) 83.3%; (2+) BCCs 66,7%, SCCs 90%; (3+) BCCs 50%, SCCs 100%, respectively. However, this difference was not statistically significant ($p>0.05$)

The *TP53* gene mutation represents most of the popular genetic changes in tumor nucleus. The protein accumulation can also occur as changed epigenetics; thus, it is not compulsory index of a mutation. Many studies also indicated that p53 protein over-proliferation does not always cause *TP53* gene mutation. Yoshiaki (1994) studied 12 samples of BCCs on exon 2, 10, 11 and indicated that 2/4 p53 positive cases had mutation, both were missense mutations; within 8 p53 negative cases, 3 cases were nonsense mutations. To explain for this inconsistency, the author indicated that the mutation might emerge on outside the analyzing exon (exon 3 – 9); or PCR technique was analyzed in 3 level of glycerol 0%, 5% and 10%, respectively; or the mutation did not really emerge. Besides, there were some disagreeing opinions. Lidia Frey (2010) analyzed 10 BCCs samples on exon 5 – 8 like our study, 6 high positive samples and 4 low positive samples.

The results showed that 4 low positive samples did not emerge *TP53* gene mutation. In 6 high positive samples, 4 samples were detected in *TP53* gene mutation. The author believes that there was correlation between p53 proliferation and *TP53* gene mutation. Studies on the correlation between p53 and Ki-67 proliferation and *TP53* gene mutation are quite popular in breast cancer, kidney cancer and colorectal cancer, uterine cancer, etc. Skin cancer, especially skin cancer in the head and neck is a relatively new topic in both Vietnam and the world. This may be a new orientation for studies of genes and IHC in skin cancer in the future.

CONCLUSION

From studying 71 cases of skin cancer in the head and neck, which contains 51 BCCs and 20 SCCs, it is concluded that:

1. The invasive skin cancer

- The median surgical excision margins for BCCs group (5.1 ± 1.57 mm) was smaller than SCCs group (7.5 ± 3.76 mm), this correlation was statistically significant ($p < 0.05$).

- The invasive BCCs were 3-mm (41.2%) and 4-mm (27.5%) respectively, accounted for the highest proportion. The invasive SCCs were 4-mm (45%) and 6-mm (5%) respectively, accounted for the highest proportion. There was no evidence to point out the statistical significance between the farthest positive section and pathological anatomy, BCCs morphology, BCCs histology, onset timing of disease, tumor location and tumor size ($p > 0.05$)

- The invasive in depth was 1-mm in BCCs (76.5%) and SCCs (80%), almost no positive cancer cell found in 2-mm margins (4.2%); 3-mm margins (4.2%) and 4-mm margins (1.4%). There was no statistical significance between the invasion and pathological anatomy type .

2. Characteristics of The *TP53* Gene, Ki-67 and the correlation with clinic and histology

The IHC staining results:

- The percentage of p53 expression in BCCs group (96.1%) was higher than SCCs group (65%), the difference was statistically significant ($p < 0.05$).

- The percentage of Ki-67 expression in BCCs group (84.3%) was smaller than SCCs group (100%), the difference was statistically significant ($p < 0.05$).

- There was no statistical significance between p53 and Ki-67 expression and BCCs morphology, SCCs histology and tumor size ($p > 0.05$)

The sequencing of The TP53 Gene mutations:

- *TP53* gene mutations were detected in 36/51 samples (70.6%). Of which, 97.2% was missense mutation and 2.8% was nonsense mutation.

- The percentage of *TP53* gene mutations found in BCCs group (60.6%) was smaller than SCCs group (88.9%), the difference was statistically significant ($p < 0.05$). There was no statistical significance between *TP53* gene mutation and BCCs morphology and SCCs histology.

RECOMMENDATION

1. The invasive BCCs level with 5mm sectional area is safe enough for the patient; initiatively do SCCs test to determine larger sectional area.
2. There should be study on the role of The *TP53* Gene in pathogenesis of BCCs and SCCs to prevent appropriately. Identifying some skin mutation codons by UV effect is also the orientation for new studies of genes, histology in skin cancer, in order to make preventions, such as genes repair medicine and appropriate preventing UV.