

NGHIÊN CỨU SỰ ĐỘT BIẾN GEN P53 TRÊN BỆNH NHÂN POLYP ĐẠI TRỰC TRÀNG TẠI BỆNH VIỆN VIỆT TIỆP HẢI PHÒNG

NGUYỄN VĂN QUÂN – *Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam*
NGUYỄN THỊ CHÍN – *Bệnh viện Kiến An Hải Phòng*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Polyp đại trực tràng (PLĐTT) là một bệnh lý tương đối phổ biến trong nhóm bệnh ở đường tiêu hóa dưới. Polyp là khối u lồi vào lòng đại trực tràng, nó được hình thành do sự tăng sản quá mức của lớp niêm mạc [2].

Gen *p53* có chức năng điều hoà sự phát triển tế bào - chu kì tế bào, bao gồm chết tế bào theo chương trình (apoptosis), thúc đẩy sự ổn định của nhiễm sắc thể và ức chế các tế bào đi vào pha S[1],[3],[4]. Đa số các nghiên cứu về đột biến *p53* thường giới hạn trong phạm vi vùng exon 5- 8 [7]. Theo López I và CS, ở các nước phát triển thì tỉ lệ đột biến gen *p53* của ung thư đại - trực tràng là khoảng 45%, còn ở các nước đang phát triển thì tỉ lệ này thấp hơn. Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về biểu hiện của protein *p53* ở polyp đại trực tràng, nhưng các số liệu về đột biến gen *p53* ở polyp đại

trực tràng vẫn chưa được xem xét và đánh giá đầy đủ. Xuất phát từ thực tiễn trên chúng tôi tiến hành *Nghiên cứu sự đột biến gen p53 ở bệnh nhân polyp đại trực tràng* nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ đột biến gen *p53* ở những bệnh nhân polyp đại trực tràng tại Bệnh viện Việt Tiệp Hải Phòng.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Địa điểm, thời gian nghiên cứu: Từ tháng 06 năm 2010 đến tháng 06 năm 2013 tại Trung tâm nội soi Tiêu hóa Bệnh viện Việt Tiệp Hải Phòng và tại Trung tâm nghiên cứu Gen - Protein trường Đại học Y Hà Nội.

2. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân đã xác định và làm giải phẫu sinh lý polyp ĐTT.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Thiết kế nghiên cứu: Tiến cứu, mô tả cắt ngang.

3.2. Cơ mẫu và chọn mẫu nghiên cứu: Nghiên cứu trên 46 bệnh nhân PLĐTT đã làm giải phẫu sinh lý.

3.3. Chọn mẫu nghiên cứu: Chọn chủ đích những BN đến khám tại Bệnh viện Việt Tiệp, được chỉ định nội soi đại trực tràng, làm giải phẫu bệnh lý chẩn đoán PLĐTT. Xác định gen *p53*: Có đột biến hay không đột biến.

3.4. Kỹ thuật xác định gen *p53* đột biến

Bệnh phẩm mô sinh thiết được làm xét nghiệm xác định đột biến gen *p53* tại Trung tâm nghiên cứu Gen - Protein trường Đại học Y Hà Nội.

* Quy trình tách chiết DNA

DNA được tách chiết từ mẫu mô bằng phương pháp phenol/chloroform:

Một mẫu nhỏ mô polyp được nghiền trong 600 μ l dung dịch lysis buffer bằng cối nghiền đồng thể, sau đó chuyển sang ống Eppendorf 1,5 ml.

- Thêm 4 μ l protease K (20 mg/ml), ủ 56°C/16h.

Cho 400 μ l phenol: chloroform: isoamylalcohol (25:24:1), đảo nhẹ, ly tâm 8000v/10phút/4°C. Hỗn hợp được chia làm 3 phần:

Lớp dung dịch phía trên có chứa DNA.

Lớp ở giữa là cặn tế bào.

Lớp dưới cùng là dịch chiết.

Hút lấy phần dịch chứa DNA phía trên cùng và tiến hành lặp lại bước trên một lần nữa sẽ đảm bảo không còn tạp chất trong mẫu.

Cho 400 μ l Chloroform:Isoamylalcohol (24:1), thể tích chloroform:isoamylalcohol tỷ lệ 1:1 với thể tích dịch thu được. Đảo nhẹ, ly tâm 8000v/10phút/4°C. Hút lấy phần dịch trên cùng và tiến hành lặp lại 1 lần nữa.

Tủa DNA bằng 1ml cồn tuyệt đối, cho thêm 50 μ l Na acetat, để lạnh qua đêm ở 20°C.

Ly tâm 13000 v/p trong 20 phút ở 4°C, đổ dịch trên, thu tủa.

Rửa tủa bằng cồn 70°. Ly tâm thu tủa.

Tủa DNA được hoà tan bằng 50 μ l nước tinh khiết hoặc TE.

DNA sau khi được tách chiết sẽ được tiến hành đo nồng độ và độ tinh sạch, chỉ có mẫu DNA đạt giá trị yêu cầu về tinh sạch (mật độ quang OD260/OD280 $\geq 1,8$) mới được sử dụng cho các phân tích tiếp theo[6].

* Quy trình xác định đột biến gen *p53*

Nhiều nghiên cứu cho thấy đột biến gen *p53* và bất hoạt gen *p53* có vai trò chủ yếu trong UTĐTT. Đột biến gen *p53* gặp > 50% trường hợp UTĐTT, trong đó hơn một nửa là đột biến điểm tại vị trí 249 (AGG to AGT, = hotspot). Dạng đột biến này gây ra biến đổi acid amin serine thay thế arginine (249^{ser}).

Gen *p53* là một gen có kích thước lớn (20kb, gồm 11 exon và 10 intron).

Do các đặc điểm trên và kinh phí hạn chế, nên nghiên cứu chỉ có điều kiện khảo sát tại vùng gen đột biến đã được xác định trong các nghiên cứu trước

đây, đặc biệt là đột biến điểm tại vị trí 249 (AGG \rightarrow AGT, = hotspot).

Phản ứng PCR khuếch đại exon 7 của gen *p53*.

Exon 7 của gen *p53* sẽ được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu có trình tự như sau:

P53-F: 5'- CTTGCCACAGGTCTCCCCAA - 3'

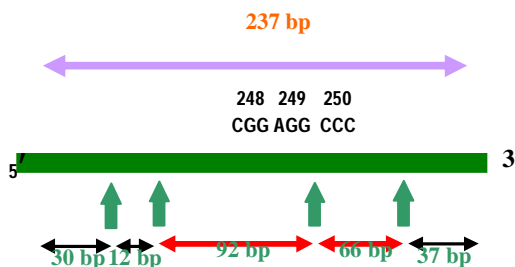
P53-R: 5'- AGGGTCAGCGGCAAGCAGA - 3'.

Sản phẩm PCR sẽ được điện di trên gel agarose 2%. Sản phẩm PCR sau điện di sẽ có kích thước 237 bp.

Phản ứng enzym cắt giới hạn Hae III:

Sản phẩm khuếch đại exon 7 của gen *p53* sẽ được xác định đột biến bằng phản ứng enzym cắt giới hạn. Sản phẩm PCR sẽ được cắt bằng enzym *HaeIII*, enzym này cắt phức bộ GG|CC tại vị trí 249 (AGG).

Sản phẩm PCR của exon 7 được cắt thành năm đoạn có kích thước 30 bp, 12 bp, 92 bp, 66 bp và 37 bp. Sản phẩm sau cắt của enzym giới hạn được điện di trên gel agarose 2%. Kết quả điện di xuất hiện 2 vạch: 92 bp và 66 bp, do vạch 12 bp, 37 bp và 30 bp kích thước nhỏ nên bị mất trong quá trình điện di.



Phân tích kết quả exon 7:

Mẫu không có đột biến vị trí 249 exon 7 của gen *p53*, kết quả điện di sẽ xuất hiện 2 vạch trong đó vạch trên (92 bp) và vạch dưới (66 bp) do bị enzym *HaeIII* cắt thành hai đoạn.

Mẫu có đột biến 249 exon 7 của gen *p53*, kết quả điện di sẽ xuất hiện 3 vạch trong đó vạch trên (158 bp), vạch giữa (92 bp) và vạch dưới (66 bp) do không bị enzym *HaeIII* cắt (nếu là dị hợp tử) và chỉ có 1 vạch với kích thước 158 bp (nếu là đồng hợp tử).

Mẫu không được xử lý với enzym *HaeIII* có 1 vạch kích thước 237 bp.

4. Xử lý số liệu: Số liệu thu thập được xử lý trên phần mềm SPSS 16.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả tách chiết DNA

DNA của các mô polyp được tách chiết theo quy trình phenol/chloroform. Sau khi tách chiết, các mẫu DNA được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng phương pháp đo mật độ quang trên máy nano-Drop.

Bảng 1. Kết quả đo nồng độ và độ tinh sạch của các mẫu DNA sau tách chiết từ mô polyp

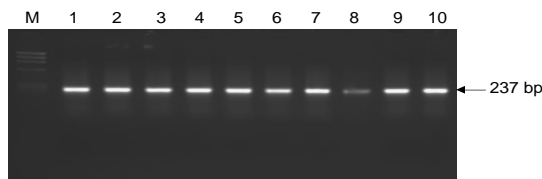
Mã số TB	Nồng độ DNA (ng/μl)	Độ tinh sạch (A _{260/280})	Mã số TB	Nồng độ DNA (ng/μl)	Độ tinh sạch (A _{260/280})	Mã số TB	Nồng độ DNA (ng/μl)	Độ tinh sạch (A _{260/280})
1	307	1,81	17	248	1,92	33	154	1,82
2	264	1,86	18	256	1,82	34	155	1,81
3	304	1,92	19	158	1,93	35	138	1,85
4	176	1,80	20	188	1,82	36	182	1,87
5	274	1,82	21	280	1,82	37	196	1,83
6	284	1,81	22	215	1,82	38	120	1,87
7	239	1,85	23	246	1,86	39	133	1,85
8	227	1,86	24	278	1,83	40	120	1,82
9	183	1,90	25	210	1,82	41	181	1,84
10	184	1,81	26	142	1,83	42	167	1,83
11	169	1,81	27	166	1,82	43	128	1,85
12	189	1,82	28	151	1,86	44	130	1,81
13	110	1,83	29	251	1,82	45	187	1,86
14	261	1,81	30	255	1,85	46	241	1,82
15	181	1,90	31	188	1,87			
16	245	1,83	32	152	1,81			

* Nhận xét: Tất cả mẫu DNA đều có độ tinh sạch cao với tỷ số mật độ quang ở bước sóng 260/280 nm nằm trong khoảng 1,8÷2,0.

2. Xác định đột biến gen p53

2.1. Xác định đột biến sử dụng kỹ thuật cắt enzym giới hạn

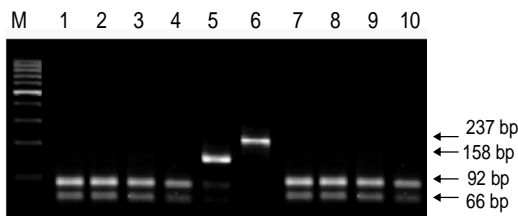
Sau khi tổng hợp mẫu DNA theo quy trình phenol/chloroform, tiến hành kiểm tra chất lượng DNA bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu để khuếch đại exon 7 của gen p53, điện di sản phẩm thu được trên gel agarose 2% có kích thước 237 bp.



Hình 1. Kết quả khuếch đại DNA trên gel agarose 2%

Nhận xét: Kết quả hình 1 cho thấy sản phẩm PCR thu được sau khuếch đại có kích thước 237 bp đặc hiệu, rõ nét, không có sản phẩm phụ.

Sản phẩm PCR sau đó sẽ được cắt bằng enzym HaeIII, enzym này sẽ cắt phức bộ GG|CC tại vị trí 249 (AGG), sản phẩm sau cắt bằng enzym sẽ được điện di trên gel agarose 2% (hình 2).

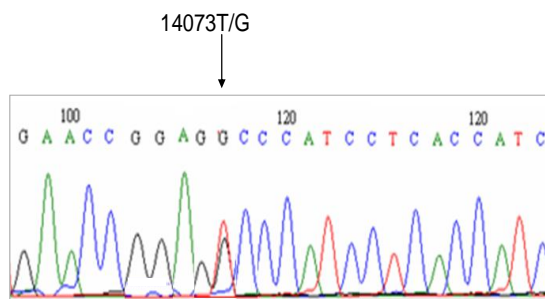


Hình 2. Kết quả sau cắt DNA với enzym HaeIII trên gel agarose 2%

Nhận xét: Kết quả hình 2 cho thấy, sản phẩm điện di của mẫu 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10 sau khi xử lý với enzym HaeIII xuất hiện 2 băng rõ nét có kích thước 92 bp và 66 bp, như vậy mẫu 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10 không bị đột biến gen p53 vị trí 249. Mẫu 5 bị cắt thành 3 băng với kích thước 158 bp, 92 bp, 66 bp, như vậy mẫu 5 bị đột biến gen p53 vị trí 249 dạng dị hợp tử. Mẫu 6 không được xử lý với enzym HaeIII nên chỉ có 1 băng với kích thước 237 bp.

2.2. Giải trình tự sản phẩm DNA của các mẫu đột biến p53

Kết quả xác định đột biến sử dụng enzym cắt giới hạn được khẳng định lại bằng kỹ thuật giải trình tự gen (hình 3).



Hình 3. Kết quả giải trình tự gen của mẫu bệnh nhân có đột biến

Kết quả hình 3: Giải trình tự gen của bệnh nhân cho thấy tại vị trí 14073 có xuất hiện 2 đỉnh trong đó có 1 đỉnh G chuyển thành T và một đỉnh G (14073T/G). Đây là dạng đột biến dị hợp tử. Đỉnh đột biến này sẽ làm thay thế axit amin tại codon 249 (Arginine → Serine).

>p53_2.scf

249Arg

```

1 AGG TTG GCT CAT GAC TGT ACC ACC ATC CAC TAC AAC TAC ATG TGT 45
1 Arg Leu Ala His Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met Cys 15
46 AAC AGT TCC TGC ATG GGC GGC ATG AAC CGG AGG CCC ATC CTC ACC 90
16 Asn Ser Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro Ile Leu Thr 30
91 ATC ATC ACA CTG GAA GAC TCC AGG TCA GGA GCC ACT TGC CAC CCT 135
1 Ile Ile Thr Leu Glu Asp Ser Arg Ser Gly Ala Thr Cys His Pro 45
136 GCA 138
46 Ala
  
```

>p53_3.scf

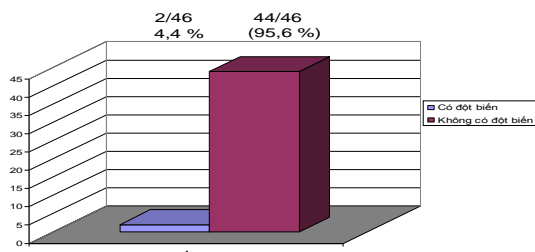
249Ser

```

1 AGG TTG GCT CAT GAC TGT ACC ACC ATC CAC TAC AAC TAC ATG TGT 45
1 Arg Leu Ala His Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met Cys 15
46 AAC AGT TCC TGC ATG GGC GGC ATG AAC CGG AGT GCC CAT CCT CAC 90
16 Asn Ser Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Ser Ala His Pro His 30
91 CAT CAT CAC ACT GGA AGA CTC CAG GTC AGG AGC CAC TTG CCA CCC 135
31 His His His Thr Gly Arg Leu Gln Val Arg Ser His Leu Pro Pro 45
136 TGC ACA 141
46 Cys Thr
  
```

Hình 4. Trình tự axit amin tại vị trí 249 thay đổi từ Arginine thành Serine, vị trí được đánh dấu của BN Đình Quang Tr 63 tuổi

3. Xác định tỷ lệ đột biến gen p53



Hình 5. Tỷ lệ đột biến gen p53 ở các nhóm mô nghiên cứu

Nhận xét: Hình 5 cho thấy, 44/46 mẫu bệnh phẩm không có đột biến gen p53 (chiếm tỷ lệ 95,6%); phát hiện được 2/46 mẫu bệnh phẩm có đột biến gen p53 (chiếm tỉ lệ 4,4%).

4. Nhận xét tỷ lệ đột biến gen p53 trên bệnh nhân polyp đại trực tràng

Bảng 2. Tỷ lệ đột biến theo số lượng

Số lượng polyp	Đột biến		Không đột biến		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
Đơn Polyp	2	4,4	33	71,4	35	75,8
Đa polyp	0	0	11	24,2	11	24,2
Tổng	2	4,4	44	95,6	46	100

Nhận xét: Đột biến chỉ xảy ra ở đơn polyp và chiếm tỷ lệ 4,4%.

Bảng 3. Tỷ lệ đột biến theo hình dạng

Hình dạng Polyp	Đột biến		Không đột biến		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
Có cuống	0	0	24	52,2	24	52,2
Nửa cuống	1	2,2	11	23,9	12	26,1
Không cuống	1	2,2	9	19,5	10	21,7
Tổng	2	4,4	44	95,6	46	100

Nhận xét: Kết quả không đột biến chiếm tỷ lệ cao tới 95,6%. Đồng thời, đột biến xảy ra ở cả polyp không cuống và polyp nửa cuống.

Bảng 4. Tỷ lệ đột biến theo kích thước

Kích thước Polyp	Đột biến		Không đột biến		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
< 10 mm	0	0	28	60,9	28	60,9
10- 20 mm	1	2,2	14	30,4	15	32,6
20 mm	1	2,2	2	4,1	3	6,5
Tổng	2	4,4	44	95,6	46	100

Nhận xét: Sự đột biến xảy ra ở trên các polyp có kích thước không dưới 10 mm.

Bảng 5. Tỷ lệ đột biến theo tuyp mô bệnh học

Mô bệnh học	Đột biến		Kh. Đột biến		Tổng		
	n	%	n	%	n	%	
Polyp U tuyến	Ổng nhỏ	0	0	18	39,1	18	39,1
	Nhung mao	2	4,4	4	8,6	6	13,0
	Ổng nhỏ - N.Mao	0	0	9	19,6	9	19,6
Polyp tầng sản	Đơn thuần	0	0	3	6,5	3	6,5
	Có viêm	0	0	8	17,4	8	17,4
	Có u tuyến	0	0	2	4,4	2	4,4
Tổng cộng	2	4,4	44	95,6	46	100	

Nhận xét: Đột biến xảy ra ở nhóm polyp u tuyến và không thấy xảy ra ở nhóm polyp tầng sản.

Bảng 6. Tỷ lệ đột biến theo mức độ loạn sản

Mức độ loạn sản	Đột biến		Không đột biến		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
Loạn sản nhẹ	0	0	9	75,1	9	75,1
Loạn sản vừa	1	8,3	1	8,3	2	16,6
Loạn sản nặng	1	8,3	0	0	1	8,3
Tổng cộng	2	16,6	10	83,4	12	100

Nhận xét: Đột biến xảy ra ở mức độ loạn sản vừa và nặng.

BÀN LUẬN

1. Xác định đột biến gen p53

1.1. Kết quả tách chiết DNA

Tách chiết DNA là bước đầu tiên quan trọng của quy trình thực hiện các kỹ thuật sinh học phân tử. Tách chiết DNA tốt, các phân tử DNA không bị đứt gãy, không bị tạp nhiễm thì các phản ứng tiếp theo sẽ có độ chính xác cao. Có nhiều phương pháp tách chiết DNA, tuy nhiên phương pháp phenol/chlorroform được lựa chọn để tách chiết DNA trong nghiên cứu này. Đây là phương pháp tách chiết DNA cổ điển, cần nhiều thời gian hơn so với những phương pháp tách chiết DNA sử dụng các kit thường quy nhưng sản phẩm DNA thu được có nồng độ và độ tinh sạch cao. Đồng thời, nghiên cứu xác định độ tinh sạch chính xác của DNA bằng các chỉ số hấp thụ quang phổ, dựa vào tỷ lệ A260/A280. Giá trị mật độ quang ở bước sóng 260 nm (A260) của các mẫu DNA cho phép xác định nồng độ DNA trong dung dịch. Protein có độ hấp thụ cao nhất ở bước sóng 280 nm (A280) và độ hấp thụ ở bước sóng 260 nm, do vậy tỷ lệ A260/A280 biểu thị mức độ protein sót lại trong dịch chiết.

Tất cả mẫu DNA được tách chiết từ mô polyp đều có nồng độ và độ tinh sạch nằm trong khoảng 1,8-2,0 khi đo trên máy Nano-drop ở bước sóng 260/280 nm

[6]. Như vậy, những mẫu DNA được tách chiết đều đảm bảo chất lượng, đủ điều kiện cho các thí nghiệm tiếp theo.

1.2. Tỷ lệ đột biến gen p53

Trong nghiên cứu khảo sát tại exon 7 vị trí codon 249 (AGG → AGT, = hotspot), đoạn gen có từ 13970 đến 14176 cho thấy: trên đoạn gen này, chỉ có một điểm đột biến điển hình tại vị trí 14073 (G → G/T). Chính đột biến này đã làm thay đổi axit amin tại vị trí 249 (Arginine → Serine).

Trong 46 mẫu mô polyp, nghiên cứu này phát hiện được 2/46 mẫu có đột biến gen p53 tại codon 249, chiếm tỷ lệ 4,4%. Tỷ lệ này cao hơn nghiên cứu của Rei Kikuchi-Yanosita và cs (1992) với 1,7% nhưng thấp hơn của nghiên cứu của Levine và cs với tỷ lệ 5,6% [5].

Số lượng đột biến trên một mẫu bệnh phẩm: Mỗi bệnh nhân polyp đại - trực tràng trong nghiên cứu này chỉ mang 1 đột biến trong mỗi exon, chiếm tỉ lệ tuyệt đối 100%, phù hợp với số liệu thống kê ở nghiên cứu của Russo và C.S [8].

2. Nhận xét tỷ lệ đột biến gen p53 trên bệnh nhân polyp đại trực tràng

Nghiên cứu đã phát hiện được 2/46 mẫu đột biến gen p53 tập trung ở đơn polyp. Trên đa polyp không gặp trường hợp đột biến nào. Sự đột biến gen p53 trên tập trung trên đơn polyp không thấy nghiên cứu nào nói rõ. Vì vậy, phải chăng do mẫu nghiên cứu có cỡ mẫu còn nhỏ nên chưa thấy sự đột biến trên đa polyp.

Kết quả đột biến gen p53 trong nghiên cứu này cho thấy đột biến gen p53 xảy ra trên polyp nửa cuống và polyp không cuống với kích thước polyp không dưới 10 mm. Đây là một sự gợi ý bệnh nhân thường xuyên khám sức khỏe định kỳ và xử lý polyp khi kích thước còn rất nhỏ dưới 10 mm.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy 2/46 các đột biến xuất hiện trên polyp u tuyến. Kết quả này phù hợp với kết quả trong nghiên cứu của Senji Shirasawa K và CS (Nhật Bản) từ trung tâm polyp và các bệnh đường ruột nghiên cứu trên 45 BN polyp có 3/45 mẫu đột biến các mẫu này cũng đều xuất hiện trên polyp u tuyến [9].

Về đột biến trên mức độ loạn sản: Kết quả của Sundblad AS, Chumbita, và Zoppi JA (Achéntina) nghiên cứu trên 58 mẫu polyp tuyến loạn sản có 26/58 mẫu đột biến p53 chiếm 44,8%. Kết quả này cao hơn hẳn kết quả của nghiên cứu này chỉ chiếm 4,4%. Mặt khác, theo kết quả nghiên cứu của Shaw P và CS (Thụy Sĩ) về đột biến p53 trong polyp u tuyến loạn sản và khối u đại trực tràng cho thấy đột biến gen p53 xảy ra tại thời điểm phát triển của chứng loạn sản và được tìm thấy trong 50% u tuyến loạn sản và 70% ung thư ruột kết. Trong nghiên cứu này, thời điểm xảy ra đột biến gen p53 ở mức độ loạn sản vừa và nặng. Sự khác nhau này có thể do đối tượng nghiên cứu trong nghiên cứu này là bệnh nhân có polyp, còn trong nghiên cứu của Shaw P và CS bao gồm bệnh nhân polyp u tuyến loạn sản và bệnh nhân ung thư ruột kết.

Kết quả đột biến p53 trong nghiên cứu này là thấp có 2 lý do: *Thứ nhất*, đây là mô polyp nên tỉ lệ đột biến gen p53 không cao bằng ở mô ung thư đại tràng, dẫn đến sự tích lũy các đột biến gen p53 của 2 nhóm mẫu là khác nhau. Theo nghiên cứu của Russo A và CS[8], Qian Hau và cộng sự (Trung Quốc) và nhiều tác giả nước ngoài khác cho thấy có tới 42% đến 88% khối UTĐTT có biểu hiện sự đột biến gen p53 ở các mức độ và vị trí khác nhau. UTĐTT là kết quả của một quá trình bệnh lý liên quan đến nhiều yếu tố, trong đó sự thiếu kiểm soát của hệ miễn dịch là một trong những nguyên nhân. Quá trình này thường biến đổi lâu dài từ những thay đổi về gene, theo thời gian các biến đổi tiếp theo được diễn ra cuối cùng là sự mất kiểm soát chương trình chết tự nhiên của tế bào dẫn đến đột biến gen và hình thành các khối u. Riêng ở bệnh ung thư đại - trực tràng, có khoảng 85% các khối u đại - trực tràng (ĐTT) được hình thành theo con đường mất ổn định nhiễm sắc thể. Do đó, thời gian là yếu tố đồng hành với sự xuất hiện ung thư. *Thứ hai*, Trong nghiên cứu của Rei Kikuchi-Yanosita và C.S. cho rằng; không loại trừ các trường hợp đột biến khác xảy ra trên exon 5 (và các đột biến trên exon khác) nhưng đã bị bỏ qua [5], nghiên cứu này mới chỉ khảo sát đột biến gen p53 tại exon 7 ở vị trí 249. Các đột biến R249S chỉ xuất hiện nhiều ở vùng Đông Á và vùng Hạ Sahara, Châu Mỹ và có thể đột biến nằm ở một số vùng khác của gen nhưng vì gen p53 có kích thước quá lớn, nên việc giải trình tự tất cả các mẫu đòi hỏi nguồn kinh phí lớn và khó thực hiện. Do vậy đề tài chỉ khảo sát đột biến gen p53 tại exon 7 [6].

Gen p53 đã được nghiên cứu hơn 30 năm qua, 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 [6].

* Đặc điểm của BN có đột biến gen p53 nghiên cứu này:

BN Đinh Quang Tr 63 tuổi, nam, ở ngoại thành: hơn 1 năm nay BN thỉnh thoảng có đau bụng vùng hố chậu trái, đại tiện phân lúc lỏng lúc táo, có lúc phân có máu tươi. BN đã được nội soi ngày 12/08/2010 thấy có 1 polyp ở đại tràng sigma, kích thước > 2cm, có cuống, màu sẫm. BN đã được sinh thiết và kết quả mô bệnh học là polyp u tuyến nhưng mao ung thư hóa (mã số tiêu bản: 2573). Kết quả giải trình tự gen p53: Có đột biến ở vị trí 249 exon 7 với kiểu đột biến dị hợp tử (mã TB số 5).

BN Phùng Văn Kh 68 tuổi, nam, ở ngoại thành: 6 tháng nay BN thỉnh thoảng có đau bụng, đại tiện phân táo, có lúc phân lẫn nhày máu. BN đã được nội soi ngày 09/11/2010 thấy có 1 polyp ở đại tràng sigma, kích thước 1,5cm, có cuống, màu sẫm. Kết quả mô bệnh học là polyp u tuyến nhưng mao (mã số tiêu bản: 3035). Kết quả giải trình tự gen p53: có đột biến ở vị trí 249 exon 7 với kiểu đột biến dị hợp tử (mã TB số 22).

KẾT LUẬN

- Tỷ lệ đột biến gen p53 trên bệnh nhân polyp đại

trực tràng là 2/46 (4,4%). Đột biến xảy tại exon 7 ở vị trí 249 với kiểu đột biến dị hợp tử.

- Đột biến p53 xảy ra trên bệnh nhân đơn polyp chiếm 4,4%, polyp không cuống và nửa cuống cùng chiếm tỷ lệ 2,2%, không xảy ra đột biến ở bệnh nhân có kích thước < 10mm.

- Đột biến p53 xuất hiện trên polyp u tuyến, gặp cả mức độ loạn sản vừa và nặng cùng chiếm 8,3% trên tổng số 12 polyp có loạn sản.

SUMMARY

The research discloses the Gen p53 for some concerned cancer types. It studied on great rectum polyp patient in Hai Phong Viet Tiej hospital. The result showed that the Gen p53 great rectum polyp is 2/46 (4.4%). The sudden change happened at exon 7 on the position 249 with odd zygote sudden change stype, while that did not happen to the patients with the size bellow 10mm.

Keywords: Gen p53, great rectum polyp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trịnh Tuấn Dũng (2007), *Nghiên cứu sự biểu hiện của các kháng nguyên p53, Ki67, Her -2/neu trong ung thư đại trực tràng bằng hóa mô miễn dịch*. Tạp chí Y học TH.

2. Phạm Phan Địch, Trịnh Bình, Đỗ Kính (1998), *Mô học*, NXB Y học, Tr: 319- 319.

3. Chu Văn Đức (2009), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và sự bộc lộ CK7, CK20, Ki67 và p53 của ung thư đại tràng*. Luận văn thạc sĩ y học, Học

viện Y Dược cổ truyền Việt Nam, 2009.

4. Cho Y, Gorina S, Jeffrey P.D, Pavletich N.P (1994), "Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations", Science, 265, pp. 346–355.

5. Kikuchi-Yanoshita R, Konishi M, Ito S et al., (1992), "Genetic Changes of Both p53 Alleles Associated with the Conversion from Colorectal Adenoma to Early Carcinôm in Familial Adenomatous Polyposis and Non-Familial Adenomatous Polyposis Patients", Cancer Res 52, pp.3965-3971.

6. Kirk GD, Lesi OA, Mendy M, Szymańska K, Whittle H, Goedert JJ, Hainaut P, Montesano R (2005). 249(ser) TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B viral infection, and risk of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*; 24(38):5858-67.

7. López I, L P Oliveira, Tucci P, Alvarez-VALIN F, Môt R Coudry, Marín M (2011) "Different mutation profiles associated to P53 accumulation in colorectal cancer" Epub, pp. 81 – 7.

8. Russo A, Bazan V, Iacopetta B et al(2005) "The TP53 Colorectal Cancer International Collaborative Study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment.", J Clin Oncol; 23: 7518–7528.

9. Shinozawa I (1996), "Evaluation ofpatients with colorectalpolyp in our department for the past five year", Asian pacific congress of gastroenterology, Yokchama, Japan, pp. 442.