

NGHIÊN CỨU TÌNH TRẠNG HER2 VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI MỘT SỐ YẾU TỐ TIỀN LƯỢNG TRONG UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN VÚ XÂM NHẬP

Đặng Công Thuận, Lê Trọng Lân, Nguyễn Trần Bảo Song, Phan Thị Thu Thủy, Trần Nam Đông, Lê Thị Thu Thảo, Ngô Cao Sách, Trần Thị Hoàng Liên, Võ Thị Hồng Vân
Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Để lựa chọn bệnh nhân ung thư vú điều trị đích phân tử cần phải xác định chính xác tình trạng khuếch đại gen HER2. Do đó, đối với những trường hợp nhuộm hóa mô miễn dịch (HMMD) HER2 dương tính (2+) thì cần phải xác định tình trạng khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật lai tại chỗ. Nghiên cứu này của chúng tôi nhằm áp dụng kỹ thuật HMMD và kỹ thuật lai tại chỗ gắn hai màu (DISH) để phát hiện sự khuếch đại gen HER2 và mối liên quan với một số yếu tố tiên lượng trong ung thư biểu mô tuyến vú. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang ở 92 bệnh nhân ung thư biểu mô vú xâm nhập đến điều trị tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế. Phương pháp HMMD và kỹ thuật DISH được thực hiện trên máy BenchMark, Ventana, Roche Diagnostics. Phân nhóm phân tử dựa trên phân loại của Saint Gallen (2011). **Kết quả:** Ung thư vú thường ở vú phải (53,3%); vị trí ¼ trên ngoài; Kích thước $u > 2-5\text{cm}$ (46,7%); Thể ống xâm nhập không có ghi chú đặc biệt (73,9%); Di căn hạch 59,8%; Độ mô học 2 (60,3%); Giai đoạn bệnh II (51,1%). ER(+) 42,4%, PR(+) 41,3%, HER2(+) 34,8%, Ki67 mức độ vừa và cao chiếm đa số (59,8%). Phân nhóm phân tử ung thư vú xâm nhập chiếm đa số là phân nhóm lòng ống B (28,3%). Gen HER2 khuếch đại bằng kỹ thuật DISH trong nhóm HER2 (2+) 46,2%, HER2 (3+) là 100%. Sự khuếch đại gen HER2 có mối liên quan với sự bộc lộ protein HER2, phân nhóm phân tử; không có mối liên quan với giai đoạn bệnh. **Kết luận:** HER2 dương tính ở 34,8% khi nhuộm HMMD, 46,2% các HER2 (2+) có khuếch đại gen. Có mối liên quan giữa sự khuếch đại gen HER2 với sự bộc lộ protein HER2 và với phân nhóm phân tử trong ung thư vú xâm nhập.

Từ khóa: Ung thư vú xâm nhập, hóa mô miễn dịch, độ mô học, giai đoạn bệnh, phân nhóm phân tử ung thư vú, lai tại chỗ gắn hai màu, DISH.

Abstract

HER2 STATUS AND RELATIONSHIP WITH PROGNOSTIC FACTORS IN INVASIVE BREAST CARCINOMA

Dang Cong Thuan, Le Trong Lan, Nguyen Tran Bao Song, Phan Thi Thu Thuy, Tran Nam Dong, Le Thi Thu Thao, Ngo Cao Sach, Tran Thi Hoang Lien, Vo Thi Hong Van
Hue University of Medicine and Pharmacy

Background: To select patients with targeted breast cancer therapy it's necessary to accurately determine the status of HER2 gene amplification. Therefore, HER2 gene amplification should be determined by in situ hybridization (ISH) for all of cases which HER2 positive (2+) by Immunohistochemistry (IHC) staining. Our study aims to apply IHC and DISH to detect HER2 status and relationship with prognostic factors in breast cancer. **Subjects and research methods:** Cross-sectional descriptive study; 92 patients were diagnosed with invasive breast carcinoma at Hue University Hospital and Hue Central Hospital. IHC and DISH were performed on the Benchmark machines (Ventana) of Roche Diagnostics. Molecular subtypes based on the classification of Saint Gallen (2011). **Results:** Tumor was usually located in the right breast (53.3%); tumor size $> 2-5\text{cm}$ (46.7%); Invasive carcinoma not otherwise specified (73.9%); lymph node metastasis 59.8%, histologic grade 2 (60.3%); disease stage II (51.1%). ER (+) 42.4%, PR (+) 41.3%, HER2 (+) 34.8%, Ki67 (+) 59.8% of cases. The most common molecular subtype of breast cancer is Luminal B (28.3%). HER2 gene amplified by DISH in HER2 (2+) 46.2%, HER2 (3+) by 100%. HER2 gene amplification is associated with HER2 protein expression, molecular subtypes; There is no relationship with the disease stage. **Conclusion:** In addition to

immunohistochemistry, gene amplification with DISH is useful for determining the status of the HER2 gene and supporting the accurate grouping molecular subtypes of breast cancer and target therapy. 34.8% HER2 positive by IHC staining; HER2 gene amplified by DISH in 46.2% of HER2 (2+) cases. There are relationship between the HER2 gene amplified and HER2 protein expression, molecular subtypes in invasive breast carcinoma.

Key words: *invasive breast cancer, immunohistochemistry, histologic grade, disease stage, molecular subtypes, Dual In Situ Hybridization, DISH*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú (UTV) là loại ung thư thường gặp nhất và là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong do ung thư ở phụ nữ trên toàn thế giới và ở nước ta. Hiện nay, dựa trên sự phát triển đột phá của sinh học phân tử, phương pháp điều trị trúng đích (target therapy) đã ra đời như là một phương pháp hóa trị mới trong điều trị ung thư vú. Để lựa chọn bệnh nhân ung thư vú điều trị đích phân tử cần phải xác định chính xác tình trạng khuếch đại gen HER2. Các trường hợp nhuộm HMMD HER2 dương tính (3+) được coi là có khuếch đại gen, đối với những trường hợp nhuộm HMMD HER2 dương tính (2+) được coi là nghi ngờ thì cần phải xác định tình trạng khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật lai tại chỗ. Lai tại chỗ huỳnh quang (FISH) và lai tại chỗ gắn hai màu (DISH) đều được FDA công nhận là kỹ thuật phát hiện sự khuếch đại gen HER2, tuy nhiên DISH có nhiều ưu điểm vượt trội hơn và giá thành rẻ hơn. Kỹ thuật DISH là một kỹ thuật khá mới trên thế giới, ở Việt Nam chỉ có một nghiên cứu trên 67 trường hợp ung thư vú tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (2013) [6]. Ngoài ra, cho đến nay tại Việt Nam có rất ít các công trình khoa học liên quan đến xác định sự khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật này được công bố. Với mục đích ứng dụng kỹ thuật mới trong chẩn đoán bệnh ung thư vú, giúp lựa chọn bệnh nhân điều trị trúng đích và tìm hiểu mối liên quan với một số yếu tố tiên lượng bệnh như sự biểu lộ thụ thể HER2, giai đoạn bệnh, phân nhóm phân tử... chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm hai mục tiêu sau:

1. *Xác định các đặc điểm giải phẫu bệnh, sự biểu lộ thụ thể HER2, khuếch đại gen HER2 và một số yếu tố tiên lượng trong ung thư biểu mô tuyến vú.*

2. *Khảo sát mối liên quan giữa sự khuếch đại gen HER2 với sự biểu lộ thụ thể HER2, phân nhóm phân tử và giai đoạn bệnh trong ung thư biểu mô tuyến vú.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

92 bệnh nhân được chẩn đoán là ung thư biểu mô tuyến vú đến điều trị tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế từ

tháng 04 năm 2016 đến tháng 07 năm 2017.

Tiêu chuẩn chọn bệnh: Có chẩn đoán mô bệnh học sau phẫu thuật là ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập.

Tiêu chuẩn loại trừ: Ung thư biểu mô tuyến vú tái phát hoặc đã điều trị trước đó.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang

- *Xét nghiệm mô bệnh học và hóa mô miễn dịch:* Được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế.

Nhuộm mảnh mô bằng phương pháp nhuộm Hematoxylin-Eosin. Phân loại mô học, giai đoạn bệnh theo Tổ chức Y tế Thế giới 2003. Phân độ mô học theo Scaff-Bloom-Richarson (SBR) cải biên.

Nhuộm HMMD 4 dấu ấn sinh học ER, PR, Ki-67 và HER2 thực hiện trên máy Bench Mark, Ventana dùng bộ kit phát hiện màu Ultra ViewDAB của hãng Roche. Đánh giá sự biểu lộ thụ thể estrogen, progesteron: dựa theo tiêu chuẩn của Allred và nhà sản xuất dựa trên 2 tiêu chuẩn là cường độ và tỷ lệ % tế bào u bắt màu nhuộm. Đánh giá Ki-67 dương tính theo tiêu chuẩn của Saint Gallen: <14%: thấp, ≥14%: cao. Đánh giá biểu lộ HER2 theo tiêu chuẩn đánh giá ASCO/CAP 2013 như sau: 0 (âm tính): Không có phản ứng; 1+ (âm tính): Nhuộm màng nhạt màu/một phần <10% tế bào u. 2+ (không rõ ràng): Nhuộm màng hoàn toàn từ yếu đến vừa >10% tế bào u. IHC 3+ (dương tính): Bắt màu đậm hoàn toàn màng tế bào >10% tế bào u. HER2 được xác định là dương tính khi IHC 2+ và 3+.

- *Phân nhóm phân tử:* Dựa vào kết quả HMMD 3 dấu ấn ER, PR, Ki67 và khuếch đại gen HER2 bằng DISH theo phân loại của Saint Gallen 2011 [10].

- *Xét nghiệm lai tại chỗ gắn hai màu DISH:* dùng bộ kit INFORM HER2 Dual ISH của hãng Roche, đánh giá HER2 bằng DISH theo hướng dẫn của ASCO/CAP 2013: Tiêu bản được khảo sát trên kính hiển vi quang học, ở các vật kính 20, 40, 60. Các tiêu chuẩn bắt buộc khi khảo sát một tiêu bản DISH. 1. Các tín hiệu của gen HER2, CEN17 (trung thể của nhiễm sắc thể 17) phải hiện diện trên tế bào nội chứng (tế bào sợi, tế bào nội mô, lymphô bào). 2. Chỉ khảo sát tín

hiệu bản sao gen HER2 và tín hiệu CEN17 trên vùng tế bào ung thư xâm lấn. 3. Nhuộm nền phải được phân biệt rõ với các tín hiệu. Xác định vùng tế bào ung thư xâm lấn và đếm số tín hiệu HER2, CEN17 của 20 tế bào u. Tín hiệu HER2 có màu đen nằm trong nhân, có thể là từng tín hiệu riêng lẻ hoặc từng cụm. Để xác định mỗi cụm là bao nhiêu tín hiệu thường là do người khảo sát ước lượng khi so sánh kích thước các cụm với các tín hiệu riêng lẻ. Tín hiệu CEN17 có màu đỏ nằm trong nhân.

Xác định tỉ lệ trung bình cộng của các tín hiệu HER2/CEN17 của mỗi trường hợp: Nếu tỉ lệ HER2/CEN17 < 1,8: Không khuếch đại gen HER2; Tỉ lệ HER2/CEN17 $\geq 2,2$: có khuếch đại gen HER2. Nếu $1,8 \leq \text{Tỉ lệ} \leq 2,2$: đếm thêm 20 tế bào và đánh giá tỷ lệ HER2/CEP17 của 20 tế bào này, nếu vẫn không thay đổi kết quả thì xem xét lặp lại kỹ thuật lại tại chỗ [6].

- Xử lý số liệu: Số liệu được lưu trữ bằng chương trình Excel và xử lý bằng SPSS 16.0

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Các đặc điểm giải phẫu bệnh, sự biểu lộ thụ thể HER2, khuếch đại gen HER2 và một số yếu tố tiên lượng trong ung thư biểu mô tuyến vú

Bảng 1. Phân bố bệnh theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	n	%
<30		1,1
30-39		9,8
40-49		22,8
50-59		34,8
>60		31,5
Tổng cộng	92	100

Bảng 2. Tình trạng kinh nguyệt

Tình trạng kinh nguyệt	n	%
Còn kinh		39,1
Mãn kinh		60,9
Tổng cộng		100

Bảng 3. Kết quả khảo sát vị trí u

Vị trí u	n	%
Trái	43	46,7
Phải	49	53,3
Tổng cộng	92	100

Bảng 4. Định khu tổn thương u

Định khu	n	%
1/4 trên ngoài	43	46,7
1/4 trên trong	24	26,1
1/4 dưới ngoài	8	8,7
1/4 dưới trong	5	5,4
Vùng trung tâm	12	13,0
Tổng cộng	92	100

Bảng 5. Kích thước u

Kích thước u	n	%
$\leq 2\text{cm}$	16	17,4
> 2 - 5 cm	55	59,8

> 5 cm	21	22,8
Tổng cộng	92	100,0
p < 0,001		

Bảng 6. Loại mô học

Loại mô học	n	%
UTBM tuyến tiết rưng đầu	2	2,2
UTBM thể tủy	1	1,1
UTBM nhầy	6	6,5
UTBM tiểu thùy xâm nhập	9	9,8
UTBM dị sản	6	6,5
UTBM ống xâm nhập không có ghi chú đặc biệt	68	73,9
Tổng cộng	92	100

Bảng 7. Độ mô học

Độ mô học	n	%
Độ I		11,8
Độ II		60,3
Độ III		27,9
Tổng cộng		100

Bảng 8. Tình trạng di căn hạch nách

Di căn hạch nách	n	%
Chưa di căn		40,2
Di căn	1-3 hạch	37,0
	4-9 hạch	18,5
	> 9 hạch	4,3
Tổng cộng		100

Bảng 9. Giai đoạn bệnh (pTNM)

Giai đoạn	n	%
I	12	13
II	IIA	27,2
	IIB	23,9
III	IIIA	27,2
	IIIB	8,6
Tổng cộng	92	100

Bảng 10. Sự bố lộ của thụ thể ER và PR

	ER		PR	
	n	%	n	%
Âm tính	53	57,6	54	58,7
Dương tính	39	42,4	38	41,3
Tổng cộng	92	100	92	100

Bảng 11. Sự bộc lộ của HER2

Thụ thể Her2		n	%	Tổng cộng
Âm tính	0	56	60,9	65,2
	1+	4	4,3	
Dương tính	2+	13	14,1	34,8
	3+	19	20,7	
Tổng cộng		92	100,0	100,0

Bảng 12. Sự biểu hiện Ki67

Ki67	n	%
Thấp	37	40,2
Cao	55	59,8
Tổng cộng	92	100

Bảng 13. Phân nhóm phân tử

Phân nhóm phân tử		n	%
Lòng ống A		20	21,7
Lòng ống B	HER2(-)	21	22,9
	HER2(+)	5	5,4
HER2		21	22,8
Bộ ba âm tính		25	27,2
Tổng cộng		92	100

Bảng 14. Kết quả khảo sát sự khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật DISH

DISH	n	%
Không khuếch đại	67	72,8
Khuếch đại	25	27,2
Tổng cộng	92	100

3.2. Mối liên quan giữa sự khuếch đại gen HER2 với sự biểu lộ thụ thể HER2, phân nhóm phân tử và giai đoạn bệnh

Bảng 15. Mối liên quan giữa khuếch đại gen HER2 với sự biểu lộ protein HER2

DISH	Không khuếch đại		Khuếch đại		Tổng cộng	
	n	%	n	%	n	%
HMMD						
Her2 (-)	60	65,2	0	0	60	65,2
Her2 (2+)	7	7,6	6	6,5	13	14,1
Her2 (3+)	0	0	19	20,7	19	20,7
Tổng cộng	67	72,8	25	27,2	92	100

(p<0,001)

Bảng 16. Mối liên quan giữa khuếch đại gen HER2 với phân nhóm phân tử

DISH	Không khuếch đại		Khuếch đại	
	n	%	n	%
PNPT				
Lòng ống A	20	21,7	0	0

Lòng ống B	HER2 (-)	21	22,8	0	0
	HER (+)	0	0	5	5,4
HER2	0	0	21	22,8	
Bộ ba âm tính	25	27,2	0	0	
Tổng cộng	66	71,7	26	28,2	
(p<0,001)					

Bảng 17. Mối liên quan giữa khuếch đại gen HER2 với giai đoạn bệnh

GĐB \ DISH	Không khuếch đại		Khuếch đại		Tổng cộng	
	n	%	n	%	n	%
I	10	10,9	2	2,2	12	13,0
II	32	34,8	15	16,3	47	51,1
III	25	27,2	8	8,7	33	35,9
Tổng cộng	67	72,8	25	27,2	92	100
(p=0,48)						

4. BÀN LUẬN

Tuổi phát hiện

Trong nghiên cứu này, bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú trẻ nhất là 29 tuổi, bệnh nhân lớn tuổi nhất là 90 tuổi. Tuổi trung bình là 55,43 ± 13,12 tuổi. Nhóm tuổi mắc bệnh cao nhất là 50–59 tuổi (34,8%) và ≥60 tuổi (31,5%). Nhóm tuổi thường gặp trong nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trong nước [4], [7], [8], [12]. Tuy nhiên, khi so sánh với các tác giả nước ngoài thì tuổi phát hiện bệnh trung bình có sự khác biệt tùy nghiên cứu [9], [11].

Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi các lý do như chủng tộc, điều kiện kinh tế và trình độ nhận thức rất khác nhau giữa các quốc gia, các vùng cũng như các miền trong cùng một nước, vấn đề tầm soát ung thư sớm, số lượng cỡ mẫu, địa điểm và thời gian nghiên cứu của nhiều tác giả cũng như sự khác biệt về môi trường, lối sống, đặc điểm sinh học khác biệt của phụ nữ Việt Nam hoặc do các cơ chế sinh ung thư chuyên biệt khác.

Tình trạng kinh nguyệt

Số bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú đã mãn kinh chiếm tỷ lệ cao hơn (60,9%) so với số vẫn còn kinh nguyệt (39,1%). Kết quả này cũng phù hợp với tác giả Nguyễn Văn Chủ (2015) [1].

Kết quả này có thể là do trong thời kỳ mãn kinh và tiền mãn kinh, người phụ nữ thường bị rối loạn nội tiết, đặc biệt là estrogen, gây kích thích lên các tế bào biểu mô tuyến vú, gia tăng nguy cơ ung thư vú. Ngoài ra các nghiên cứu còn cho thấy các typ ác tính (TNB-, TNB+, HER2) thường gặp ở các bệnh nhân tiền mãn kinh hơn so với các typ có tiền lượng

tốt hơn như typ lòng ống.

Kết quả khảo sát vị trí và định khu khối u

Vị trí tổn thương thường ở vú phải (53,3%) nhiều hơn vú trái (46,7%), tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Tâm (2017), vị trí tổn thương ở vú phải cũng chiếm đa số (52,5%), tổn thương tại vú trái chỉ chiếm 47,5% [4].

Về định khu khối u: Nghiên cứu này cho kết quả ung thư vú gặp ở vị trí ¼ trên ngoài là nhiều nhất chiếm tỷ lệ 46,7%; tiếp đến là ¼ trên trong (26,1%); vị trí ¼ dưới trong vú có tỷ lệ thấp nhất là 5,4%. Kết quả trong nghiên cứu này tương tự với kết quả của các tác giả trong nước [3], [4].

Các kết quả nghiên cứu đều cho thấy ung thư vú hay gặp nhất ở vị trí ¼ trên ngoài, có lẽ do ở vị trí này có mật độ tuyến vú cao khác các vị trí khác khi khám.

Kích thước u

Nghiên cứu này cho thấy kích thước u nhỏ nhất đo được khi phẫu tích là 1cm, lớn nhất là 12,5 cm. Kích thước u trung bình là 4,0 ± 2,164 cm. Các khối u có kích thước > 2 - 5cm chiếm đa số (59,8%); tiếp theo u có kích thước > 5cm (22,8%); thấp nhất là nhóm u < 2cm với 17,4%. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trong và ngoài nước [4], [8], [9], [12].

Mặc dù các nghiên cứu đều cho kết quả u có kích thước từ 2-5 cm chiếm đa số nhưng tỷ lệ ở các nghiên cứu trong nước cao hơn nghiên cứu ở nước ngoài. Điều này đã chứng minh được hiệu quả của chương trình tầm soát sớm.

Kích thước u có ý nghĩa quan trọng để đánh giá giai đoạn bệnh, liên quan đến di căn hạch nách và

là một yếu tố tiên lượng độc lập quan trọng. Kích thước u nguyên phát càng lớn, nguy cơ di căn hạch càng cao, đặc biệt là dễ cho di căn xa.

Loại mô học

Ung thư biểu mô loại không có ghi chú đặc biệt chiếm đa số 73,9%, sau đó là ung thư thể tiểu thùy xâm nhập chiếm 9,8%; thấp nhất là ung thư biểu mô với các đặc điểm tùy chỉ chiếm 1,1%.

Tỷ lệ từng loại mô học là khác nhau giữa các tác giả, nhưng nhìn chung các nghiên cứu trên đều cho một kết quả UTBM tuyến vú thể ống xâm nhập tức là ung thư biểu mô ống xâm nhập loại không có ghi chú đặc biệt (theo phân loại WHO 2013) chiếm tỷ lệ cao nhất [4], [5], [7], [8], [12].

Độ mô học

Trong 68 trường hợp UTBM ống xâm nhập loại không có ghi chú đặc biệt được nghiên cứu, độ II chiếm tỷ lệ cao nhất (60,3%).

Nhìn chung, các tác giả trong nước đều đưa ra kết quả là độ mô học II chiếm đa số, phù hợp với kết quả của nghiên cứu này [4], [7], [8], [12]. Tuy nhiên, theo các tác giả nước ngoài thì độ mô học III chiếm đa số [11], [61].

Điều này có thể giải thích là do sự khác biệt về đặc tính sinh học của nhóm bệnh nhân được nghiên cứu và khi đánh giá các yếu tố trên tiêu bản có sự khác nhau do nhận định chủ quan của mỗi người vì xếp độ này thường được đánh giá bằng cách quan sát trên kính hiển vi tiêu bản nhuộm HE.

Dù cách chia độ như thế nào hoặc đối tượng

nghiên cứu khác nhau giữa các tác giả khác nhau nhưng kết quả nghiên cứu đều thống nhất, tỷ lệ sống thêm giảm dần theo độ mô học tăng dần với sự khác biệt rất có ý nghĩa. Tầm quan trọng của độ mô học trong tiên lượng ung thư vú đã được xác định và là thành phần bắt buộc trong chẩn đoán giải phẫu bệnh.

Tình trạng di căn hạch nách

Trong nghiên cứu này, số lượng hạch lấy được nhiều nhất sau phẫu tích là 20 hạch; số hạch bị di căn nhiều nhất là 13 hạch. Các bệnh nhân ung thư vú trong nghiên cứu này có tỷ lệ di căn hạch nách khá cao (58,8%). Các trường hợp di căn từ 1-3 hạch chiếm 37,0%.

Tỷ lệ di căn hạch nách trong nghiên cứu của tôi tương tự kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước [4], [7], [12]. Tuy nhiên, tỷ lệ này cao hơn nhiều so với tác giả nước ngoài như Hage (2011) (31%) [11]. Điều này có thể được giải thích qua việc tầm soát phát hiện ung thư vú giai đoạn sớm ở các nước Châu Âu có hiệu quả, trong khi bệnh nhân ở Việt Nam đến khám thường trong tình trạng bệnh đã nặng, khả năng di căn hạch cao.

Giai đoạn bệnh sau phẫu thuật

Giai đoạn II chiếm 51,1% trong đó giai đoạn IIA chiếm đa số với 25 trường hợp, chiếm 27,2%. Giai đoạn IIIA chiếm tỷ lệ khá cao (27,2%). Giai đoạn IIIB thấp nhất, chiếm 8,6%. Không có giai đoạn IV. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các tác giả trong nước.

Tác giả	Năm	GD II
Nguyễn Phúc Duy Quang [3]	2011	57,2%
Đặng Công Thuận [7]	2016	51,0%
Nguyễn Thị Thanh Tâm [4]	2017	53,7%
Nguyễn Thị Thùy Uyên [12]	2017	57,5%

Nhìn chung các nghiên cứu đều cho kết quả giai đoạn II chiếm đa số, tiếp sau đó là giai đoạn IIIA, không có giai đoạn IV. Điều này chứng tỏ hiệu quả chăm sóc y tế ngày càng tăng, đó là tín hiệu tốt, có ý nghĩa rất lớn cho điều trị ung thư vú. Những bệnh nhân giai đoạn I, II có thời gian sống thêm không bệnh kéo dài hơn, ít tái phát hơn sau điều trị. Việc xác định giai đoạn bệnh và loại mô học có ý nghĩa trong tiên lượng diễn biến lâm sàng.

Sự bộc lộ thụ thể ER, PR

ER, PR âm tính chiếm lần lượt 57,6% và 58,7%. ER, PR dương tính chiếm lần lượt 42,4% và 41,3%. So sánh với các tác giả khác:

Tác giả	Năm	ER(+) (%)	PR (+) (%)
Đoàn Thị Phương Thảo [5]	2012	60,4	39,6
Nguyễn Thùy Linh [2]	2015	51,67	45,0
Engstrom [9]	2013	82,4	57,3
Nguyễn Thị Thùy Uyên [12]	2017	51,7	42,9
Nguyễn Thị Thanh Tâm [4]	2017	47,5	47,5
Nghiên cứu này	2017	42,4	41,3

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ ER và PR thấp hơn trong các nghiên cứu khác, tuy nhiên vẫn tương đồng ở chỗ tỷ lệ dương tính ER cao hơn PR.

Việc đánh giá ER, PR giúp cho việc tiên lượng khả năng đáp ứng điều trị hormone liệu pháp, vì vậy hiện nay được thực hiện thường quy đối với bệnh nhân có chẩn đoán mô bệnh học là ung thư vú.

Sự bộc lộ của HER2

Trong 92 trường hợp thì có 65,2% không biểu hiện gen HER2. Tỷ lệ u dương tính với HER2 là 34,8% trong đó đến 20,7% là bộc lộ quá mức (3+).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho tỷ lệ dương tính với HER2 là 34,8% thấp hơn kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trong và ngoài nước [3],[4],[10],[7],[11],[15].

Kết quả bộc lộ HER2 giữa các tác giả có sự khác biệt như vậy là do thụ thể HER2 là một loại protein thuộc màng tế bào nên dễ bị biến tính trong quá trình xử lý mẫu bệnh phẩm và bị tác động rất lớn bởi dung dịch cố định, thời gian cố định. Mặc khác, theo ASCO thì lý do quan trọng nhất của sự khác biệt về tỉ lệ biểu hiện thụ thể HER2 vẫn là do đặc tính sinh học của cộng đồng bệnh nhân ung thư vú được nghiên cứu [5].

Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có sự thống nhất cách cho điểm giữa các nhà nghiên cứu trong nước cũng như nước ngoài, vì vậy việc đánh giá dương tính hay âm tính phải được xem xét cẩn thận, và trong trường hợp không nhận định được chắc chắn ở mức 2+ thì khuyến cáo nên làm kỹ thuật lai tại chỗ (ISH) để xác định có khuếch đại gen hay không.

Sự biểu hiện Ki67

Kết quả cho thấy Ki67 dương tính mức độ cao chiếm 59,8%.

Tỷ lệ Ki67 là khác nhau cho từng mức độ ở các nghiên cứu nhưng nhìn chung tỉ lệ Ki67 dương tính mức độ cao chiếm đa số [1], [4].

Chỉ số phân bào Ki-67 tương quan thuận với tất cả đặc điểm bệnh học lâm sàng như giai đoạn, di căn hạch, kích thước u và độ mô học. Chỉ số phân bào Ki-67 tương quan thuận, mạnh nhất với kích thước u, những u vú có chỉ số phân bào cao thì kích thước khối u thường lớn hơn [5]. Tỷ lệ Ki67 dương tính càng cao thì nguy cơ tái phát bệnh càng lớn, thời gian sống càng ngắn.

Phân nhóm phân tử

Kết quả phân nhóm phân tử ung thư vú dựa trên HMMMD đối với ER, PR, Ki67 và sự khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật DISH cho thấy phân nhóm LB chiếm tỷ lệ cao nhất 28,3%, tiếp theo là phân nhóm bộ ba âm tính chiếm tỷ lệ cao nhất 27,2%, thấp nhất là phân nhóm LA chiếm tỷ lệ 21,7%.

Kết quả tỷ lệ các phân nhóm phân tử trong

nghiên cứu này có khác biệt so với nghiên cứu khác [9]. Tuy nhiên đa số các nghiên cứu trên đều cho kết quả phân nhóm chiếm tỷ lệ cao nhất là phân nhóm lòng ống B [2], [7].

Như vậy, kết quả phân nhóm phân tử của các nghiên cứu là khác nhau, ngay cả khi lấy mẫu nghiên cứu ở cùng một cơ sở y tế. Chúng tôi phát hiện có sự khác biệt này là do cách chọn đối tượng và cỡ mẫu nghiên cứu; cách đánh giá ER, PR và HER2; cách chọn phân nhóm phân tử theo phân loại nào của từng nghiên cứu.

Qua đó, chúng tôi nhận thấy rằng mặc dù HMMMD là công cụ hữu ích trong phân nhóm phân tử ung thư vú; Tuy nhiên, cần phải sử dụng nhiều dấu ấn miễn dịch khác ngoài ER, PR, HER2 và sử dụng kỹ thuật lai tại chỗ để xác định chính xác tình trạng khuếch đại gen HER2 nói riêng và phân nhóm phân tử ung thư vú nói chung.

Kết quả khảo sát sự khuếch đại gen HER2 bằng kỹ thuật DISH

Trong 92 trường hợp làm DISH thì có 25 trường hợp khuếch đại, chiếm 27,2%, 67 trường hợp không khuếch đại chiếm 72,8%. Trong đó tỷ lệ dương tính ở nhóm ung thư vú có HER2(2+) là 46,2%.

Nhìn chung có sự khác nhau về tỷ lệ khuếch đại của các tác giả cả trong và ngoài nước [37],[52],[14].

Trong nghiên cứu của Vũ Hồng Thắng [15], so sánh tỉ lệ khuếch đại gen HER2 giữa bệnh nhân Việt nam và Thụy Điển bằng phương pháp SISH (thực hiện tại Thụy Điển) cũng cho thấy sự khác biệt giữa hai cộng đồng này và tỉ lệ tương ứng là 41% và 13%. Theo ASCO 2007, tỉ lệ khuếch đại gen HER2 trong ung thư vú trong khoảng 18-20%, tuy nhiên trong thực tế các nghiên cứu thì tỉ lệ có khuếch đại gen HER2 có thể không nằm trong giới hạn này. Điều này có thể khẳng định thêm tính chất khác biệt về sinh học tế bào ung thư vú giữa các cộng đồng, chủng tộc được nghiên cứu.

Ngoài ra, sự khác biệt này là do cỡ mẫu, số lượng mẫu có HER2 (3+) trong nghiên cứu, quá trình thu thập mẫu, bảo quản mẫu. Theo Đoàn Thị Phương Thảo (2013), những mẫu không được cố định tốt thì khó có thể đạt kết quả tốt mặc dù thay đổi nhiều quy trình khác nhau [6].

Mối liên quan giữa khuếch đại gen HER2 với sự biểu lộ protein HER2

Sự khuếch đại gen HER2 có mối liên quan với sự biểu lộ protein HER2 ($p < 0,001$). Tất cả các trường hợp HER2(3+) đều khuếch đại, chiếm 20,7% trên tổng số trường hợp chạy DISH; tất cả các trường hợp HER2 âm tính đều không khuếch đại; có 6/13 trường hợp HER2 (2+) khuếch đại chiếm 6,5% trên

92 trường hợp; chiếm 46,2% trên tổng số trường HER(2+).

Kết quả của các nghiên cứu tuy có khác nhau nhưng nhìn chung tất cả các trường hợp HER2 âm tính đều không khuếch đại, các trường hợp HER2 (3+) thì khuếch đại gần như tuyệt đối, còn tỷ lệ HER2 (2+) khuếch đại tùy từng tác giả [6], [37], [52].

Sự khác nhau này có thể giải thích được là do sự khác nhau giữa các nghiên cứu về cỡ mẫu, thời điểm lấy mẫu, cách xử lý mẫu mô, tính chủ quan của người đọc khi nhận định kết quả cũng như chuẩn hóa kỹ thuật trong quy trình chạy mẫu. Do đó cần tuân thủ theo hướng dẫn của ASCO/CAP khi khảo sát 1 tiêu bản DISH: 1. Các tín hiệu của gen HER2, CEP17 phải hiện diện trên tế bào nội chứng; 2. Chỉ khảo sát tín hiệu HER2, CEP17 trên vùng tế bào ung thư xâm lấn; 3. Nhuộm nền phải được phân biệt rõ với các tín hiệu [6].

Ngoài ra trong kỹ thuật bộc lộ thụ thể HER2 bằng HMMD, chất lượng hóa chất, sự đồng bộ của máy móc trang thiết bị cũng ảnh hưởng đến kết quả lại tại chỗ.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 92 bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Các đặc điểm giải phẫu bệnh, sự biểu lộ thụ

thể HER2, khuếch đại gen HER2 và một số yếu tố tiên lượng

U thường nằm ở vú phải (53,3%) tại vị trí ¼ trên ngoài. Kích thước u thường gặp là > 2-5cm (46,7%). Loại mô học thường gặp là ung thư biểu mô thể ống xâm nhập không có ghi chú đặc biệt (73,9%), di căn hạch 59,8%, độ mô học II (60,3%), giai đoạn II (51,1%).

Phân nhóm phân tử ung thư vú xâm nhập chiếm đa số là phân nhóm lòng ống B (28,3%) và bộ ba âm tính (27,2%).

Gen HER2 khuếch đại bằng kỹ thuật DISH trong nhóm HER2 (2+) là 46,2% và trong nhóm HER2 (3+) là 100%.

2. Mối liên quan giữa sự khuếch đại gen HER2 với sự biểu lộ thụ thể HER2, phân nhóm phân tử và giai đoạn bệnh

Sự khuếch đại gen HER2 có mối liên quan với sự biểu lộ thụ thể HER2 ($p < 0,001$), phân nhóm phân tử ($p < 0,001$); không có mối liên quan với giai đoạn bệnh ($p > 0,05$).

Bên cạnh hóa mô miễn dịch, kỹ thuật DISH là hữu ích để xác định tình trạng khuếch đại gen HER2, hỗ trợ cho việc phân nhóm phân tử ung thư vú chính xác và lựa chọn bệnh nhân điều trị đích.

Lời cảm ơn: Bài báo này có sử dụng kết quả đề tài khoa học và công nghệ cấp Tỉnh được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Chủ (2015), "Nghiên cứu áp dụng phân loại phân tử ung thư biểu mô tuyến vú bằng phương pháp hóa mô miễn dịch", Luận án tiến sĩ y học, trường Đại học Y Hà Nội.
2. Nguyễn Thùy Linh, Nguyễn Thành Chung, Trần Ngọc Dũng, Nguyễn Phi Hùng (2015), "Nghiên cứu phân nhóm phân tử của ung thư biểu mô tuyến vú ống xâm nhập bằng hóa mô miễn dịch" Nguồn: <http://www.benhvien103.vn/vietnamese/bai-bao-y-hoc/nguyen-cuu-phan-nhom-phan-tu-cua-ung-thu-bieu-mo-tuyen-vu-ong-xam-nhap-bang-hoa-mo-mien-dich/611/> truy cập ngày 18/4/2016.
3. Nguyễn Phúc Duy Quang (2011), "Nghiên cứu sự bộc lộ thụ thể ER, PR, HER2 và nồng độ CA15-3 trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập", Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Dược Huế.
4. Nguyễn Thị Thanh Tâm (2017), "Nghiên cứu phân nhóm phân tử và mối liên quan với các yếu tố tiên lượng kinh điển trong ung thư biểu mô tuyến vú", Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ đa khoa, Trường Đại học Y Dược Huế.
5. Đoàn Thị Phương Thảo (2012), Nghiên cứu gen HER2 và phân nhóm phân tử ung thư vú, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh.
6. Đoàn Thị Phương Thảo, Phan Đăng Anh Thư, Hứa Thị Ngọc Hà, Nguyễn Sào Trung (2013), "Đánh giá HER2 trong ung thư vú bằng phương pháp lai tại chỗ huỳnh quang và lai tại chỗ gắn bạc", Y học TP Hồ Chí Minh, 17(3), tr. 75.
7. Đặng Công Thuận, Phan Thị Thu Thủy (2016), "Nghiên cứu các đặc điểm giải phẫu bệnh, hóa mô miễn dịch và bước đầu áp dụng phân nhóm phân tử bằng hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập", Tạp chí Y Dược học, trường Đại học Y Dược Huế, Số đặc biệt tháng 10/2016, tr. 126-133.
8. Đoàn Phước Thi, Trang Hiếu Hùng, Võ Thị Phương Hòa, Đinh Thị Thương (2016), "Xác định tình trạng bộc lộ thụ thể Her-2 trong ung thư vú xâm nhập tại Bệnh viện Trung ương Huế (2009-2015)", Tạp chí Y Dược học, trường Đại học Y Dược Huế, số đặc biệt tháng 10/2016, tr. 160-166.
9. Engstrom M.J., et al (2013), "Molecular subtypes,

histopathological grade and survival in a historic cohort of breast cancer patients", *Breast cancer res treat*, 104: 463-473.

10. Goldhirsch A, Wood W.C, Coates A.S (2013), "Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013", *Annals of Oncology*, 2013, 24, pp. 2206-2223.

11. Hage AJ, Mieog JSD, Cornelis JHV, Putter H, Harry B, Marc JV (2011), "Impact of established prognostic factors and molecular subtype in very young breast cancer patients: pooled analysis of four EORTC randomized controlled trials", *Breast Cancer Research*, 13, pp. 68-70.

12. Nguyen TTU (2017), "Research on common biomarkers and assess the association with pathologic features in invasive breast carcinoma", Thesis master in

medical science, Hue University of medicine and pharmacy.

13. Stalhammar G, Farrajota P, Olsson A, Silva C, Hartman J, Elmberger G (2015), "Gene protein detection platform-a comparison of a new human epidermal growth factor receptor 2 assay with conventional immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization platforms", *Annals of Diagnostic Pathology* 19 (2015) 203-210.

14. Tang SMC, Soong IS, Luk M, Suen DTK, Hioe F, Man EPS, Tsun OKL, Khoo US (2016), "Comparison of fluorescence in-situ hybridization with dual-colour in situ hybridisation for assessment of HER2 gene amplification of breast cancer in Hong Kong", *Hong Kong Med J* 2016; 22:Epub.

15. Vu H.T (2012), "Prognostic and predictive factors in Vietnamese Breast cancer: A comparison with Swedish patients and effect on survival", *Karolinska Institutet*, 1-46.