

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SAO MÃ CỦA GENE QUI ĐỊNH EGFR TRONG BỆNH UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN VÚ BẰNG KỸ THUẬT RT-PCR

Hồ Hoàng Thị Kim Huệ, Hà Thị Minh Thi, Phan Thị Minh Phương

Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Thụ thể của yếu tố phát triển biểu mô (EGFR) là một thành viên của họ EGFR- những receptor tyrosine kinase xuyên màng type I, đóng vai trò quan trọng trong quá trình tăng trưởng và phát triển của cơ thể. Tuy nhiên, EGFR thường biểu lộ quá mức và chính sự biểu lộ sai lệch này cùng với con đường tín hiệu mà nó khởi động đã gây ra sự phát triển không giới hạn và sự tăng sinh không kiểm soát được ở các khối u ác tính bao gồm ung thư biểu mô tuyến vú (UTBM), một trong những ung thư hay gặp nhất ở phụ nữ. **Mục tiêu:** (1) Đánh giá mức độ sao mã của gene qui định EGFR trong mẫu mô ung thư biểu mô tuyến vú bằng kỹ thuật RT-PCR. (2) So sánh mức độ sao mã của gene qui định EGFR trong ung thư biểu mô tuyến vú với u xơ tuyến vú. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 70 mẫu mô bao gồm 38 mẫu mô UTBM tuyến vú và 32 mẫu u xơ tuyến vú được tách chiết RNA tổng. Kỹ thuật RT-PCR bán định lượng khuếch đại gene mã hóa EGFR ở mô UTBM và mô u xơ tuyến vú bằng cách sử dụng cặp mồi đặc hiệu gene EGFR. Sản phẩm được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2%. **Kết quả nghiên cứu:** Nồng độ RNA tổng trong mô UTBM tuyến vú là $170,03 \pm 201,12$ ng/ μ l, cao hơn so với mô u xơ tuyến vú: $65,96 \pm 43,16$ ng/ μ l ($p < 0,05$). Nồng độ cDNA trung bình trong UTBM tuyến vú là $2495,72 \pm 1072,55$ ng/ μ l ($p > 0,05$). Tỷ lệ nồng độ DNA trung bình sau phản ứng RT-PCR của gene EGFR/GAPDH trong UTBM tuyến vú là $1,22 \pm 0,24$, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với u xơ tuyến vú: $0,75 \pm 0,19$ ($p < 0,0001$). Điểm cắt của tỷ lệ EGFR/GAPDH là 0,97, diện tích dưới đường cong ROC: 0,913, $p < 0,0001$, độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 81,58% và 93,75%. **Kết luận:** Mức độ sao mã của gene EGFR trong UTBM tuyến vú tăng cao gấp 1.63 lần so với u xơ tuyến vú. Điểm cắt của tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng của gene EGFR/GAPDH: 0,97 với độ nhạy 81,58% và độ đặc hiệu 93,75%.

Từ khóa: EGFR, RT-PCR, ung thư biểu mô tuyến vú

Abstract

STUDY ON TRANSCRIPTION POSSIBILITY OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) GENE IN BREAST CARCINOMA TISSUES BY REVERSE TRANSCRIPTION-PCR ASSAY

Ho Hoàng Thị Kim Huệ, Hà Thị Minh Thi, Phan Thị Minh Phương

Hue University of Medicine and Pharmacy

Background: EGFR is a member of the EGFR family- type I transmembrane tyrosine kinase receptors, which plays an essential role in development and growth of body. However, EGFRs are frequently overexpressed, this overexpression and its signal pathway induce unrestricted development and uncontrolled proliferation in human malignant tumors including breast carcinoma, one of the most

- Địa chỉ liên hệ: Phan Thị Minh Phương, email: phuong66@gmail.com

DOI: 10.34071/jmp.2015.3.4

- Ngày nhận bài: 20/4/2015 * Ngày đồng ý đăng: 9/6/2015 * Ngày xuất bản: 10/7/2015

common cancer in women. **Objective:** (1)To evaluate transcript level of EGFR gene in breast carcinoma tissues by RT-PCR assay.(2)To compare transcript level of EGFR gene in breast carcinoma with breast fibro adenoma. **Subject and Methods:** total RNA from 70 samples including 38 breast carcinoma tissues and 32 breast fibroadenoma tissues were extracted. EGFR transcript level were determined using semi-quantitative Reverse Transcription-PCR assay. PCR products were tested by electrophoresis on agarose gel 2%. **Results:** RNA total concentration in breast carcinoma tissues was 170.03 ± 201.17 ng/ μ l, was significantly higher in breast fibro adenoma tissue: 65.96 ± 43.16 ng/ μ l ($p < 0.05$). EGFR transcript level was highly expressed in breast carcinoma compared to breast fibro adenoma (1.22 ± 0.24 compared to 0.75 ± 0.19) ($p < 0.0001$). The cut-off point of the rate EGFR/GAPDH was 0.97, area under the curve: 0.913, $p < 0.0001$, sensitivity and specificity were 81,58% and 93.75%. **Conclusion:** Transcript level of EGFR gene in breast carcinoma was significantly 1.63 times higher than in breast fibro-adenoma. The cut-off point of the rate EGFR/GAPDH was 0.97, sensitivity: 81.58% and specificity: 93.75%.

Key words: EGFR, RT-PCR, breast carcinoma

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

EGFR là một thành viên của họ EGFR-những receptor tyrosine kinase xuyên màng type I, đóng vai trò quan trọng trong quá trình tăng trưởng và phát triển của cơ thể bằng cách điều hòa cả quá trình biệt hóa và tạo hình thái của tế bào và mô. Tuy nhiên, EGFR thường biểu lộ quá mức và chính sự biểu lộ sai lạc này cùng với con đường tín hiệu mà nó khởi động đã gây ra sự phát triển không giới hạn và quá trình tăng sinh không kiểm soát được ở các khối u ác tính bao gồm ung thư biểu mô tuyến vú. Ung thư biểu mô tuyến vú là u tân sinh ác tính ở tuyến vú. Đây là loại ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở phụ nữ. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm hai mục tiêu: (1) Đánh giá mức độ sao mã của gene qui định thụ thể yếu tố phát triển biểu mô trong mẫu mô ung thư biểu mô tuyến vú bằng kỹ thuật RT-PCR. (2) So sánh mức độ sao mã của gene qui định EGFR trong ung thư biểu mô tuyến vú với u xơ tuyến vú [7], [8], [10].

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm bệnh: 38 mẫu mô tuyến vú của bệnh nhân UTBM tuyến vú được chẩn đoán xác định bằng kết quả mô bệnh học tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 4/2012 đến tháng 7/2013.

Nhóm chứng: 32 mẫu mô tuyến vú của bệnh nhân u xơ tuyến vú được chẩn đoán xác định bằng kết quả mô bệnh học tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 4/2012 đến tháng 7/2013.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang dùng thử nghiệm in vitro có đối chứng.

Các bước thực hiện: tiến hành tách chiết RNA tổng bằng kit Phenol/Chloroform, sau đó tổng hợp cDNA bằng bộ kit do Công ty Việt Á cung cấp. Kỹ thuật RT-PCR bán định lượng khuếch đại gene mã hóa EGFR ở mô UTBM và mô u xơ tuyến vú bằng cách sử dụng cặp mồi đặc hiệu gene EGFR của tác giả Luca De Antonella[9], trình tự cặp mồi:

Mồi xuôi: 5'-TCTCAGCAACATGTCGATGG-3'

Mồi ngược: 5'-TCACATCCATCTGGTACGTG-3'

Đồng thời, gene nội chuẩn GAPDH được sử dụng để đánh giá chất lượng mẫu trong mỗi phản ứng. Sản phẩm sau phản ứng RT-PCR được điện di trên gel agarose 2% để kiểm tra, và đo nồng độ DNA. Tính tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng của gene EGFR/GAPDH, sử dụng thuật toán về đường cong ROC để tính giá trị điểm cắt, độ nhạy và độ đặc hiệu [5], [9].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tuổi mắc bệnh

Bảng 3.1. Phân bố nhóm chứng và nhóm bệnh theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi \ Nhóm	Nhóm chứng (n=32)		Nhóm bệnh (n=38)	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
<30	26	81,3	0	0,0
30-39	3	9,4	4	10,5
40-49	2	6,3	13	34,7
50-59	1	3,1	16	42,1
60-69	0	0,0	3	7,9
≥70	0	0,0	2	5,3
Tổng cộng	32	100,0	38	100,0
p<0,001				

Nhận xét: Bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú trẻ nhất là 32 tuổi, lớn tuổi nhất là 80 tuổi. Hai nhóm tuổi mắc bệnh ung thư vú cao nhất là 50-59 tuổi và 40-49 tuổi chiếm 76,8%.

Tuổi mắc bệnh ung thư vú trung bình là $51,05 \pm 9,85$ tuổi. Tuổi mắc bệnh u xơ tuyến vú trung bình là $25,16 \pm 9,32$ tuổi.

3.2. Nồng độ RNA tổng (RNA total) và độ tinh sạch RNA (Tỷ số A_{260}/A_{280})

Sử dụng kit xử lý mẫu mô và tách chiết RNA

tổng bằng phenol/chloroform của Công ty cổ phần công nghệ Việt Á để tách chiết RNA tổng từ mẫu mô tuyến vú thu thập được. Sau đó tiến hành kiểm tra nồng độ RNA tổng số bằng máy Nanodrop 2000 cho kết quả như sau:

Bảng 3.2. Nồng độ RNA trung bình sau tách chiết

Nhóm	Nhóm chứng	Nhóm bệnh	p=0,006
Nồng độ RNA tổng trung bình (ng/μl)	65,96	170,03	
Độ lệch chuẩn	$\pm 43,16$	$\pm 201,70$	

Một dung dịch acid nucleic đạt tiêu chuẩn về độ sạch (không tạp nhiễm protein khi tỷ số A_{260}/A_{280} nằm trong khoảng 1,8 – 2,0). Mẫu RNA tổng số được kiểm tra độ tinh sạch bằng máy Nanodrop và cho kết quả như sau:

Bảng 3.3. Tỷ số A_{260}/A_{280} trung bình kiểm tra sau tách chiết

Nhóm	Nhóm chứng	Nhóm bệnh	p=0,938
Tỷ số A_{260}/A_{280} trung bình	2,01	2,02	
Độ lệch chuẩn	$\pm 0,75$	$\pm 0,12$	

Nhận xét: Sự khác biệt về nồng độ RNA tổng trung bình giữa nhóm chứng và của nhóm bệnh có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Hầu hết các mẫu trong nghiên cứu đều đạt độ tinh sạch từ 1,8- 2,0.

3.3. Nồng độ DNA bổ sung (cDNA)

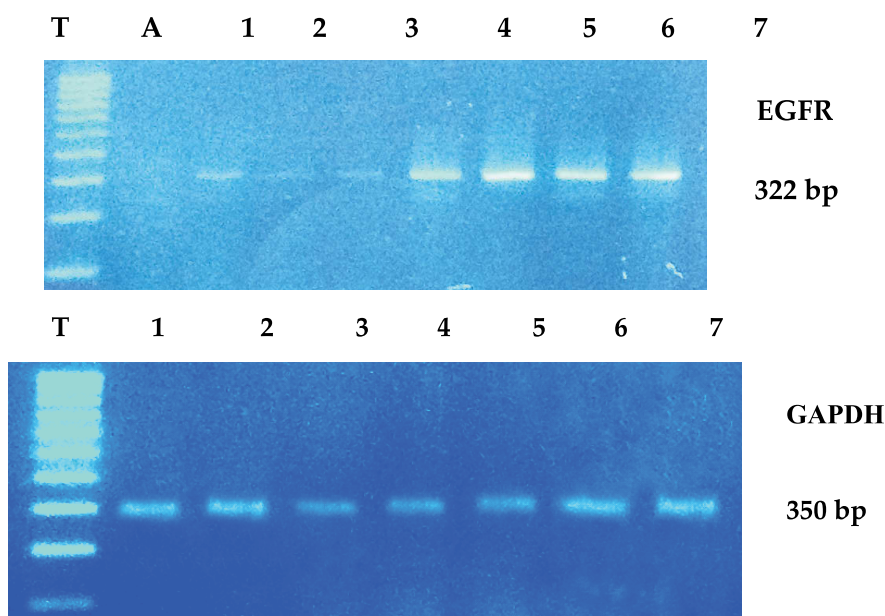
Bảng 3.4. Nồng độ cDNA trung bình sau khi tổng hợp

Nhóm	Nhóm chứng	Nhóm bệnh	p=0,572
Nồng độ cDNA trung bình (ng/μl)	2595,72	2472,29	
Độ lệch chuẩn	$\pm 1072,55$	$\pm 739,29$	

Nhận xét: Sự khác biệt về nồng độ cDNA giữa nhóm chứng và nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

3.4. Kết quả sao mã mRNA của gene EGFR trên mô u xơ tuyến vú và mô UTBM tuyến vú

Sử dụng cặp mồi đặc hiệu với gene EGFR tiến hành phản ứng RT-PCR và nested-PCR bán định lượng trên các mẫu RNA tổng tách chiết từ những mô u xơ tuyến vú và mô UTBM tuyến vú để xác định mức độ sao mã của gene EGFR. Sản phẩm được điện di trên gel agarose 2% có kích thước 322bp. Đồng thời, gene GAPDH cũng được khuếch đại. Kết quả cho thấy tất cả các bệnh nhân trong nghiên cứu đều có chất lượng mRNA tốt đảm bảo tiêu chuẩn cho phản ứng. Sản phẩm cũng được điện di trên gel agarose 2% có kích thước 350bp.

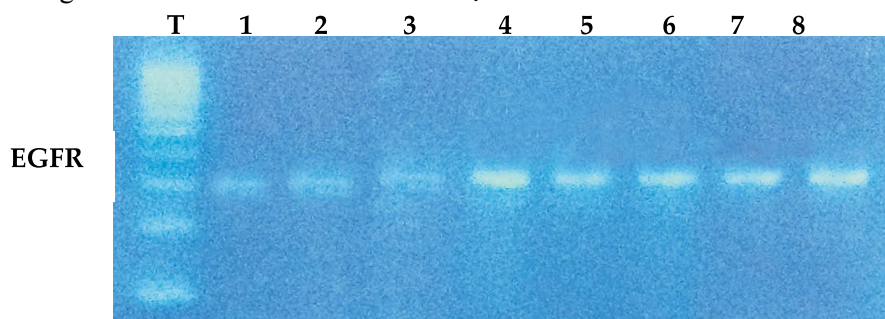


Hình 3.1. Kết quả phản ứng RT- PCR của gene EGFR và gene GAPDH trên mẫu mô u xơ tuyến vú và ung thư biểu mô tuyến vú. Sản phẩm được khuếch đại từ cDNA của mẫu mô u xơ tuyến vú (1- 3), mô ung thư biểu mô tuyến vú (4- 7), T: thước 100bp, A: chứng âm nước cất.

*Nhận xét:*Đậm độ vạch sản phẩm điện di ở các mẫu mô UTBM tuyến vú xuất hiện rõ hơn nhiều so với mẫu tách từ mô u xơ tuyến vú. Gene EGFR được tăng cường sao mã ở mô UTBM tuyến vú trong khi sản phẩm sao mã của nó được phát hiện rất ít trên mô u xơ tuyến vú.

3.5. Kết quả RT-PCR bán định lượng so sánh mức độ sao mã của gene EGFR ở mô UTBM tuyến vú và mô u xơ tuyến vú

Chúng tôi tiến hành đo nồng độ DNA sau phản ứng khuếch đại gene EGFR và GAPDH bằng máy Nanodrop 2000. Mức độ sao mã của gene EGFR ở mô ung thư và mô đối chứng được tính bằng tỉ lệ nồng độ DNA sau phản ứng EGFR/GAPDH và sau đó vẽ đồ thị.

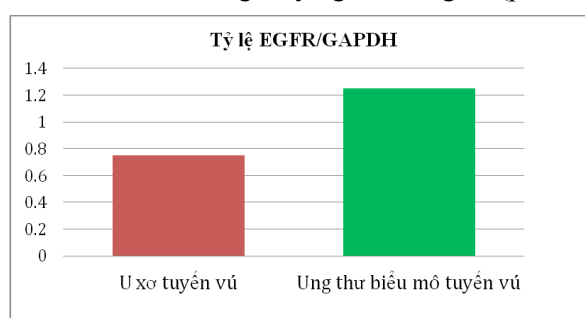


Hình 3.2. Kết quả phản ứng RT-PCR của gene EGFR trên bệnh u xơ tuyến vú và UTBM tuyến vú. Sản phẩm được khuếch đại từ cDNA của mô u xơ tuyến vú (1- 3) và mô UTBM tuyến vú (4- 8). T:Thước 100 bp.

Bảng 5. Mức độ sao mã của gene EGFR ở mô UTBM tuyến vú và mô u xơ tuyến vú

Nhóm	Nhóm chứng	Nhóm bệnh
Số trường hợp	32	38
Tỉ lệ EGFR/GAPDH trung bình	0,75	1,22
Độ lệch chuẩn	$\pm 0,19$	$\pm 0,24$
p < 0,0001		

Nhận xét: Tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng PCR của gen EGFR/GAPDH ở nhóm UTBM tuyến vú là $1,22 \pm 0,24$ cao hơn tỷ lệ này ở nhóm u xơ tuyến vú là $0,75 \pm 0,19$. Sự khác biệt về khả năng sao chép của gene EGFR giữa nhóm bệnh và nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

**Biểu đồ 3.1.** So sánh sự sao mã của EGFR ở mô UTBM tuyến vú và mô u xơ tuyến vú.

3.6. Kết quả tính cut-off (ngưỡng) của RT-PCR bán định lượng gen EGFR

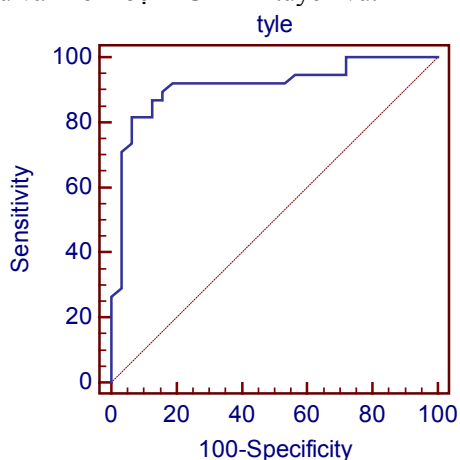
Đặt giả thiết H_0 là không có sự khác biệt giữa hai nhóm UTBM tuyến vú và u xơ tuyến vú

Ho gen EGFR (u xơ tuyến vú = 0) = gen EGFR (UTBM tuyến vú = 1)

Sử dụng thuật toán về đường cong ROC. Trên phần mềm MedCal 12.7 tính toán về điểm cắt (cut-off point), độ nhạy và độ đặc hiệu

Ta có với điểm cắt: Tỷ EGRG/GAPDH = 0,97; độ nhạy: 81,58%; độ đặc hiệu: 93,75%. Ứng với chỉ số Jouden J = 0,7533. Diện tích dưới đường cong ROC (AUC): 0,913 thỏa mãn $> 0,80$.

Với $p < 0,0001$ ta bác bỏ giả thiết H_0 nghĩa là có sự khác biệt về tỷ số EGFR/GADPH giữa nhóm u xơ tuyến vú và nhóm bệnh UTBM tuyến vú.

**Hình 3.3.** Đường cong ROC về tỷ lệ nồng độ gene EGFR/GADPH

Như vậy, bước đầu nhận định tỷ EGFR/GAPDH < 0,97: chưa hướng đến ung thư.
tỷ EGFR/GAPDH $\geq 0,97$: hướng đến ung thư.

4. BÀN LUẬN

4.1. Tuổi mắc bệnh

Đặc điểm phân bố bệnh ung thư vú theo nhóm tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi có quy luật như sau: hiếm gặp ở tuổi 30 - 39, tăng nhanh theo tuổi và đỉnh cao nhất ở nhóm tuổi 40 - 59 (76,8%), giảm nhanh ở các tuổi cao hơn, nhóm tuổi 60- 69 tuổi (7,9%) và ≥ 70 tuổi (5,3%). Đây cũng là quy luật thường gặp trong ung thư vú qua các nghiên cứu trong nước như Đặng Công Thuận (2008)[4], Nguyễn Tuấn Hưng (2012).

4.2. Nồng độ RNA tổng và độ tinh sạch của RNA

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật tách chiết RNA tổng được tiến hành bằng quy trình sử dụng Phenol/Chloroform của Công ty Việt Á. Quy trình của bộ kit này đơn giản, dễ tiến hành, giá thành tương đối rẻ nhưng tách RNA tổng rất ổn định. Các mẫu RNA tổng tách chiết được từ các mẫu mô bệnh phẩm tuy có nồng độ khác nhau nhưng vẫn đảm bảo cho phản ứng tổng hợp cDNA.

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy nồng độ cDNA tổng trung bình ở nhóm chứng là $65,96 \pm 43,16$

(ng/ μ l) và ở nhóm bệnh là $170,03 \pm 201,70$ ng/ μ l. Nồng độ RNA tổng trung bình ở nhóm bệnh cao hơn nhóm chứng và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này có lẽ do những mẫu mô ung thư đa phần đều bị hoại tử mủn nát nên dễ nghiền hơn so với những mẫu mô u xơ tuyến vú là những mẫu mô rất dai chắc.

Chất lượng RNA còn được kiểm tra bằng phương pháp đo quang dựa trên tỷ lệ của sự hấp thụ tại bước sóng 260 và 280nm (A_{260}/A_{280}). Kết quả từ bảng 3.3 cho thấy tỷ số A_{260}/A_{280} trung bình ở nhóm chứng là $2,01 \pm 0,75$, và ở nhóm bệnh là $2,02 \pm 0,12$. Sự khác biệt về tỷ số A_{260}/A_{280} giữa nhóm chứng và nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Hầu hết các mẫu RNA tổng trong nhóm chứng và nhóm bệnh đều đạt độ tinh sạch từ 1,8 – 2,0.

4.3. Nồng độ DNA bổ sung

Sau khi tổng hợp, các mẫu cDNA được kiểm tra nồng độ trên máy Nanodrop 2000 của hãng Thermo Scientific. Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy nồng độ cDNA trung bình ở nhóm chứng là $2595,72 \pm 1072,55$ ng/ μ l và ở nhóm bệnh là $2472,29 \pm 739,29$ ng/ μ l. Sự khác biệt về nồng độ cDNA của nhóm chứng và nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chất lượng cDNA còn được kiểm tra bằng phản ứng PCR sử dụng gene nội kiểm chuẩn GAPDH. Kết quả cho thấy tất cả các mẫu cDNA đều đảm bảo chất lượng cho các phản ứng PCR tiếp theo.

4.4. Kết quả sao mã mRNA của gene qui định EGFR trên mô u xơ tuyến vú và mô ung thư biểu mô tuyến vú

Trong nghiên cứu này, mức độ sao mã của gene EGFR được đánh giá dựa vào kết quả của kỹ thuật RT-PCR và nested-PCR bán định lượng trên mẫu cDNA của mô u xơ tuyến vú và mô UTBM tuyến vú với mỗi đặc hiệu cho gene EGFR. Sản phẩm thu được sau phản ứng PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 2% với hiệu điện thế 80V trong vòng 30 phút trong điều kiện hạn chế ánh sáng. Kết quả điện di thu được một băng có kích thước 322bp. Quan sát các hình 3.1, 3.2 chúng ta thấy đậm độ vạch sản phẩm thu được sau phản ứng PCR ở những mẫu ung thư rõ hơn nhiều so với

mẫu mô bệnh vú lành tính. Đồng thời khi so sánh tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng PCR của gene EGFR so với gene nội chuẩn GAPDH thì nhận thấy tỷ lệ này ở mẫu mô ung thư biểu mô tuyến vú cao hơn nhiều so với mẫu mô u xơ tuyến vú; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này gợi ý rằng gene EGFR được tăng cường sao mã ở mô ung thư biểu mô tuyến vú trong khi đó sản phẩm của sự sao mã thấp hơn nhiều ở mô u xơ tuyến vú [2], [3].

Mức độ chính xác của sự sao mã EGFR ở mô ung thư và u xơ tuyến vú được đánh giá bằng cách tính giá trị ngưỡng (cut - off point) của tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng PCR của gene EGFR so với gene nội chuẩn GAPDH bằng phần mềm Med.Cal 12.7 áp dụng thuật toán đường cong ROC. Chúng tôi tính toán được giá trị ngưỡng (cut - off point) của tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng EGFR/GAPDH là 0,97 tương ứng với độ nhạy là 81,53%, độ đặc hiệu là 93,75%. Như vậy, những trường hợp nào mức độ sao mã mRNA của gene EGFR $\geq 0,97$ thì hướng đến ung thư và những trường hợp nào mức độ sao mã của mRNA của EGFR $< 0,97$ thì chưa hướng đến ung thư.

Nghiên cứu của Mothaffar F. và cộng sự (2010) chỉ ra rằng EGFR tăng cường sao mã và biểu lộ dương tính trong 475 trên 2567 bệnh nhân ung thư vú. Sự tăng cường sao mã và biểu lộ quá mức của gene EGFR hay gặp ở người trẻ, người da đen, liên quan với nồng độ của các thụ thể hormone và sự tăng sinh của khối u [10]. Nghiên cứu của Rohit Bhargava chỉ ra rằng việc tăng cường sao mã mRNA có liên quan mật thiết với sự biểu lộ của protein EGFR trong ung thư biểu mô tuyến vú [6].

Tác giả Đặng Thị Tuyết Minh (2008) cũng ghi nhận rằng gene EGFR được tăng cường sao mã mạnh ở những mô UTBM tuyến vú so với mô u xơ lành tính [1]. Theo Phan Đăng Anh Thư (2011) cũng cho thấy kết quả tương tự trên ung thư đại trực tràng [3]. Kết quả nghiên cứu của Phan Thị Minh Phương (2010) cũng đã ghi nhận rằng mRNA của gene EGFR được tăng cường sao mã ở mô UTBM tuyến giáp trong khi đó lại sao mã rất kém ở mô bướu giáp keo lành tính [2].

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi về mức độ sao mã của EGFR trong UTBM tuyến vú tương tự như kết quả nghiên cứu của các tác giả khác ở trong và ngoài nước mặc dù chỉ thực hiện bằng phương pháp bán định lượng với các sinh phẩm không quá đắt tiền. Điều này cho thấy rõ ràng EGFR được tăng cường sao mã mạnh mẽ trong các ung thư biểu mô, đặc biệt là UTBM tuyến vú. Tín hiệu EGFR tăng cao trong tế bào ung thư có thể là một yếu tố quan trọng trong việc thúc đẩy sự phát triển tế bào ung thư, ngăn chặn sự chết theo chương trình và tạo thuận lợi cho tiến trình di căn theo các cơ chế khác nhau. Việc thay đổi hoặc khóa một giai đoạn nào đó trong tiến trình này chính là đích nghiên cứu tạo

thuốc điều trị ung thư.

5. KẾT LUẬN

Những kết quả nghiên cứu trên cho phép rút ra một số kết luận sau:

- Tăng cường sao mã của gene qui định EGFR ở mô ung thư biểu mô tuyến vú.
- Mức độ sao mã của gene EGFR ở bệnh nhân UTBM tuyến vú tăng cao gấp 1,63 lần so với u xơ tuyến vú. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.
- Nghiên cứu bước đầu nhận định tỷ lệ nồng độ DNA sau phản ứng RT-PCR của gene EGFR/GAPDH $\geq 0,97$ hướng đến ung thư vú và chưa hướng đến ung thư vú khi tỷ EGFR/GAPDH $< 0,97$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Thị Tuyết Minh, Trần Văn Khánh (2008), “Đánh giá mức độ sao chép mRNA của EGFR ở mô ung thư tuyến vú”, *Tạp chí nghiên cứu y học*, tập 5 (số 6), trang 29- 33.
2. Phan Thị Minh Phương (2010), “Xác định con đường tín hiệu MAPK trong ung thư biểu mô tuyến giáp”, *Luận án tiến sĩ y học*, trường Đại học Y Hà Nội, trang 31- 45.
3. Phan Đặng Anh Thư (2011), “Biểu hiện của EGFR (HER-1) trên Carcinoma tuyến đại trực tràng”, *Tạp chí Y Học Việt Nam*, tập 375 (số 1), NXB Y học, trang 21- 27.
4. Đặng Công Thuận (2008), “Ứng dụng chỉ số Nottingham và một số yếu tố khác trong phân nhóm tiên lượng ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập”, *Luận án tiến sĩ y học*, trường Đại học Y Hà Nội, trang 3- 50.
5. Phạm Hùng Vân (2009), “Polymerase Chain Reaction- Các vấn đề cơ bản”, *PCR và real- time PCR các vấn đề cơ bản và các áp dụng thường gặp*, NXB Y học, trang 9- 24.
6. Bhargava Rohit, Gerald L. William et al (2005), “EGFR gene amplification in breast cancer: correlation with epidermal growth factor receptor mRNA and protein expression and HER-2 status and absence of EGFR- activating mutations”, *Modern Pathology* 2005, 18, pp.1027-1033.
7. Danton H. O’ Day (2010), “EGFR signaling and breast cancer”, *Human cell biology*, copyright 1998- 2010 Danton H. O’Day, pp.1-7.
8. Johnston James B., Navaratnam Sri et al (2006), “Targeting the EGFR Pathway for Cancer Therapy”, *Current Medicinal Chemistry*, 13(29), pp.3483- 3492.
9. Luca De Antonella, Sandro Pignata et al (2000), “Detection of Circulating Tumor Cells in Carcinoma Patients by a Novel Epidermal Growth Factor Receptor Reverse Transcription- PCR Assay”, *Clinical Cancer Research*, pp 1439- 1445.
10. Mothaffar F. Rimawi et al (2010), “EGFR Expression in Breast Cancer Association with biologic phenotype and clinical outcomes”, *Cancer* 2010, 116(5), pp.1234-1242.