

- Diabetes and Endocrinology. 02/28 2021;(13):88-96.
4. **Fenta ET, Eshetu HB, Kebede N, et al.** Prevalence and predictors of chronic kidney disease among type 2 diabetic patients worldwide, systematic review and meta-analysis. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2023;15(1): 245.
5. **Joshi R, Subedi P, Yadav GK, et al.** Prevalence and risk factors of chronic kidney disease among patients with type 2 diabetes mellitus at a tertiary care hospital in Nepal: a cross-sectional study. *BMJ open*. 2023;13(2):e067238.
6. **Mulu GB, Kebede WM, Tarekegn FN, et al.** The prevalence and risk factors of chronic kidney disease among type 2 diabetes mellitus follow-up patients at Debre Berhan Referral Hospital, Central Ethiopia. *Journal of Clinical Nephrology*. 2023;7(1):025-031.
7. **Jitraknatee J, Ruengorn C, Nochaiwong S.** Prevalence and risk factors of chronic kidney disease among type 2 diabetes patients: a cross-sectional study in primary care practice. *Scientific reports*. 2020;10(1):6205.
8. **Kumela Goro K, Desalegn Wolide A, Kerga Dibaba F, et al.** Patient awareness, prevalence, and risk factors of chronic kidney disease among diabetes mellitus and hypertensive patients at Jimma University Medical Center, Ethiopia. *BioMed Research International*. 2019;2019(1): 2383508.
9. **Damtie S, Biadgo B, Baynes HW, et al.** Chronic Kidney Disease and Associated Risk Factors Assessment among Diabetes Mellitus Patients at A Tertiary Hospital, Northwest Ethiopia. *Ethiop J Health Sci*. Nov 2018;28(6): 691-700. doi:10.4314/ejhs.v28i6.3
10. **Shen Y, Cai R, Sun J, et al.** Diabetes mellitus as a risk factor for incident chronic kidney disease and end-stage renal disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2017;55:66-76.

TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH VỚI DẤU ẤN PAN-TRK (EPR17341) TRONG UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Dương Thu Anh¹, Phạm Quốc Thắng², Nguyễn Thanh Toàn³,
Trần Quang Vũ¹, Cao Ngọc Tuyết Nga¹, Thái Anh Tú¹, Ngô Quốc Đạt²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Đột biến tái tổ hợp gen NTRK đã được xác định là các đột biến sinh ung ở nhiều loại cơ quan khác nhau. Việc phát hiện ra đột biến NTRK có giá trị quan trọng trong chẩn đoán và điều trị vì bệnh nhân có thể được điều trị với các thuốc nhắm trúng đích ức chế tyrosine kinase (larotrectinib và entrectinib) với tỉ lệ đáp ứng cao (>75%), bất kể loại mô học của khối u. Theo khuyến cáo của ESMO 2019, nhuộm hoá mô miễn dịch với pan - TRK là công cụ sàng lọc hiệu quả đột biến NTRK. **Mục tiêu:** Nghiên cứu nhằm chuẩn hoá quy trình nhuộm hoá mô miễn dịch dấu ấn pan - TRK (EPR17341) tại cơ sở chúng tôi, thông qua hiệu chỉnh một số thông số kỹ thuật dựa trên khuyến cáo của nhà sản xuất, từ đó xây dựng quy trình nhuộm tối ưu để có thể áp dụng trong thực hành chẩn đoán thường quy. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực hiện hồi cứu trên 163 mẫu khối mô vùi nền (FFPE) đã được chẩn đoán ung thư đại trực tràng có mất ổn định vi vệ tinh tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Ung Bướu Thành phố Hồ Chí Minh. **Kết quả:** Thông qua 5 quy trình thử nghiệm, chúng tôi đã xây dựng được quy trình nhuộm hoá mô miễn dịch tối ưu với kháng thể pan-TRK (EPR17341), thực hiện nhuộm và khảo sát biểu hiện

dấu ấn này trên 163 trường hợp ung thư đại trực tràng có mất biểu hiện vi vệ tinh cho thấy tỉ lệ dương tính là 6,7%, biểu hiện chủ yếu ở màng bào tương và bào tương. **Kết luận:** Quy trình nhuộm hoá mô miễn dịch với kháng thể VENTANA pan - TRK (EPR17341) được tối ưu thành công cho thấy tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong chẩn đoán và điều trị bệnh nhân ung thư mang đột biến tái tổ hợp gen NTRK.

Từ khóa: NTRK, pan - TRK (EPR17341), tối ưu hoá, hoá mô miễn dịch, ung thư đại trực tràng có mất ổn định vi vệ tinh, mô vùi nền.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF THE IMMUNOHISTOCHEMISTRY PROTOCOL FOR THE PAN-TRK (EPR17341) MARKER IN COLORECTAL CANCER

Introduction: NTRK gene fusions have been identified as oncogenic alterations in a variety of tumor types. The detection of NTRK fusions is of significant diagnostic and therapeutic importance, as affected patients may benefit from targeted tyrosine kinase inhibitors such as larotrectinib and entrectinib, which achieve high response rates (>75%) irrespective of tumor histology. According to the 2019 ESMO guidelines, immunohistochemistry with pan-TRK antibodies represents an effective screening approach for identifying NTRK fusions. **Objective:** This study aimed to standardize the immunohistochemistry (IHC) protocol for pan-TRK (EPR17341) staining at our institution by optimizing specific technical parameters based on the manufacturer's recommendations, thereby establishing an optimized protocol applicable to routine diagnostic practice. **Materials and**

¹Bệnh viện Ung bướu

²Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

³Bệnh viện Quân Y 175

Chịu trách nhiệm chính: Dương Thu Anh

Email: dtanh.nt22@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 15.9.2025

Ngày phản biện khoa học: 23.10.2025

Ngày duyệt bài: 18.11.2025

Methods: We conducted a retrospective analysis of 163 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) colorectal carcinoma specimens with microsatellite instability, retrieved from the Department of Pathology, Ho Chi Minh City Oncology Hospital.

Results: Through five trial procedures, we successfully optimized the IHC protocol for pan-TRK. Application of the optimized protocol to 163 microsatellite-unstable colorectal carcinoma cases revealed a pan-TRK positivity rate of 6.7%, predominantly localized to the membrane and cytoplasm. **Conclusion:** The optimized IHC protocol using the VENTANA pan-TRK (EPR17341) antibody demonstrated reliable performance and holds promise for broad application in the diagnosis and potential management of NTRK fusion-positive cancers.

Keywords: NTRK, pan-TRK (EPR17341), optimized, immunohistochemistry, microsatellite instability colorectal carcinoma, FFPE.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ các thụ thể tropomyosin kinase hướng thần kinh (neurotrophic tropomyosin kinase receptors- NTRK hoặc TRK) là một nhóm tyrosine kinase xuyên màng có vai trò quan trọng trong sự phát triển của hệ thần kinh. Các thành viên của họ thụ thể này là TRKA, TRKB và TRKC, được mã hóa bởi các gen NTRK1, NTRK2 và NTRK3 tương ứng. Đột biến tái tổ hợp gen NTRK đã được xác định là các đột biến sinh ung ở nhiều loại cơ quan khác nhau.² NTRK1 lần đầu tiên được xác định là gen gây ung thư ở đại trực tràng vào năm 1982 bởi Mariano Barbacid và cs.⁶ Kể từ đó, ngày càng nhiều tổ hợp gen NTRK khác nhau đã được phát hiện, với hơn 80 loại tái tổ hợp gen trên nhiều loại khối u ở cả người lớn và trẻ em.¹ Việc phát hiện ra đột biến NTRK có giá trị quan trọng trong chẩn đoán và điều trị vì những bệnh nhân mang đột biến này có thể được điều trị với thuốc nhắm trúng đích ức chế tyrosine kinase (larotrectinib và entrectinib). Các thuốc này đã chứng minh hiệu quả tốt với tỉ lệ đáp ứng cao (>75%) và đã được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt cho những bệnh nhân ung thư mang đột biến tổ hợp gen NTRK ở giai đoạn tiến triển hoặc di căn, bất kể loại mô học của khối u.^{3, 4}

Đột biến tái tổ hợp NTRK có thể được phát hiện bằng nhiều phương pháp như hoá mô miễn dịch (IHC), lai tại chỗ gắn huỳnh quang (FISH), phản ứng chuỗi polymerase phiên mã ngược (RT-PCR) hay giải trình tự gen thế hệ mới (NGS). Đối với các khối u mang đột biến NTRK đặc trưng, FISH hoặc RT-PCR được xem là lựa chọn hàng đầu để chẩn đoán. Ngược lại, với các khối u có tần suất đột biến NTRK thấp, hoặc không rõ loại gen đột biến, NGS có thể giúp phát hiện được các loại biến thể này trong một lần xét nghiệm.

Tuy nhiên, việc áp dụng rộng rãi NGS bị hạn chế do chi phí triển khai và vận hành xét nghiệm, khả năng chi trả của người bệnh, nhu cầu chuyên môn về tin sinh học cũng như thời gian xử lý tương đối chậm. Chính vì thế, ESMO 2019 đã khuyến cáo cách tiếp cận hai bước bằng hoá mô miễn dịch sàng lọc ban đầu và xác nhận lại bằng NGS.⁵ Chiến lược này đặc biệt phù hợp với bối cảnh các nước phát triển, trong đó có Việt Nam. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm chuẩn hoá quy trình nhuộm dấu ấn Pan - TRK tại cơ sở chúng tôi, thông qua việc hiệu chỉnh một số thông số kỹ thuật dựa trên khuyến cáo của nhà sản xuất, để đạt được kết quả nhuộm tối ưu trong thực hành, từ đó ứng dụng trong nghiên cứu, chẩn đoán và điều trị cho bệnh nhân mang đột biến NTRK.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu. Nghiên cứu thực hiện hồi cứu, mẫu được chọn là các khối mô vùi nén (FFPE) đã được chẩn đoán ung thư đại trực tràng có mất ổn định vi vệ tinh tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Ung Bướu TPHCM. Chúng tôi chọn 163 mẫu và 2 lõi mô u trên mỗi mẫu để hạn chế tình trạng âm tính giả.

Kháng thể sử dụng là VENTANA pan - TRK (EPR17341) là kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ thỏ, gắn trực tiếp vào vùng tận C của protein TRK A, B và C.

Mô chứng được sử dụng trong nghiên cứu là mô tiểu não: biểu hiện protein TRK tự nhiên trong lớp hạt của chất xám, không biểu hiện ở chất trắng. Tế bào có thể bắt màu nhiều vị trí: nhân, bào tương hoặc màng tế bào.

Quy trình nhuộm hóa mô miễn dịch

Bước 1: Chuẩn bị hóa chất bao gồm: kháng thể pan - TRK (EPR17341), chất bọc lộ kháng nguyên Ventana Cell Conditioning 1 (CC1), chất ức chế Peroxidase, dung dịch Hematoxylin và chất nhuộm xanh (Bluing) sau nhuộm tương phản.

Bước 2: Chuẩn bị tiêu bản: Cắt mỏng mẫu mô vùi nén, mỗi lát dày 3 µm. Ủ trong tủ ẩm 37°C qua đêm. Sấy tiêu bản ở 60–65°C trong 2 giờ trước khi nhuộm.

Bước 3: Vận hành điều chỉnh trên máy nhuộm tự động Ventana BenchMark ULTRA của hãng Roche theo hướng dẫn của nhà sản xuất và quy trình thử nghiệm (Bảng 1).

Bước 4: Đánh giá tiêu bản hóa mô miễn dịch để lựa chọn quy trình tối ưu nhất. Biểu hiện pan-TRK (EPR17341), Sự nhuộm màu được quan sát trong nhiều vị trí: nhân tế bào, tế bào chất và màng tế bào, với tỉ lệ bắt màu > 1% các tế bào u được xem là dương tính. Tiêu bản được đọc

bởi hai bác sĩ giải phẫu bệnh kết hợp với kiểm tra mô học, thông tin lâm sàng có liên quan, và mẫu chứng thích hợp. Trong trường hợp có sự

khác nhau giữa hai bác sĩ thì sẽ được đọc lại cùng nhau, lấy sự đồng thuận.

Bảng 1: Các quy trình thử nghiệm nhuộm hoá mô miễn dịch với dấu ấn pan – TRK (EPR17341) so với khuyến cáo của nhà sản xuất

Quy trình	Roche	I	II	III	IV	V
Bước 1: Khử parafin	Có	Có	Có	Có	Có	Có
Bước 2: Bộc lộ kháng nguyên	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C	ULTRA CC1, 88 phút, 100°C
Bước 3: Ủ trong kháng thể nguyên phát	16 phút, 36°C	16 phút, 36°C	24 phút, 36°C	32 phút, 36°C	32 phút, 36°C	32 phút, 36°C
Bước 4: Ưc chế peroxidase	Có	Có	Có	Có	Có	Có
Bước 6: Nhuộm tương phản	Hematoxylin II, 4 phút	Hematoxylin II, 4 phút	Hematoxylin II, 4 phút	Hematoxylin II, 4 phút	Hematoxylin II, 4 phút	Hematoxylin II, 4 phút
Bước 7: Sau nhuộm tương phản	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút	Chất nhuộm xanh (Bluing), 4 phút
Bước 8: Khuếch đại tín hiệu	Nếu cần	Không	Không	Không	H2O2 và AMP, 12 phút; AMP MULTIMER, 8 phút	H2O2 và AMP, 8 phút; AMP MULTIMER, 8 phút

Đạo đức trong nghiên cứu: Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong Nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, số 440/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 22 tháng 01 năm 2025.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Dựa trên việc hiệu chỉnh các thông số như đã trình bày ở bảng 1, chúng tôi ghi nhận kết quả sau:

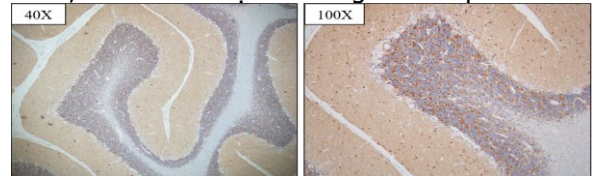
Bảng 2: Bảng đánh giá kết quả các quy trình thử nghiệm nhuộm hoá mô miễn dịch với dấu ấn pan – TRK (EPR17341)

Quy trình	I	II	III	IV	V
Cường độ tín hiệu	Âm tính	Âm tính	Yếu	Mạnh, không đặc hiệu	Mạnh, đặc hiệu
Nhuộm nền	-	-	-	+	-
Đánh giá	Thất bại	Thất bại	Không đạt	Không đạt	Tối ưu

Trong 5 quy trình thử nghiệm, cả quy trình I và II đều không biểu hiện tín hiệu nhuộm ở các mẫu được khảo sát. Khi tăng dần thời gian ủ trong kháng thể, quy trình III cho biểu hiện cường độ tín hiệu yếu. Quy trình IV bổ sung chất khuếch đại tín hiệu cho thấy cường độ tín hiệu mạnh, tuy nhiên không đặc hiệu, các tiêu bản có hiện tượng nhuộm nền. Quy trình V rút ngắn thời gian chất khuếch đại tín hiệu, cho cường độ tín hiệu mạnh, đặc hiệu và duy trì tính ổn định qua các lần lặp lại. Hình minh họa kết quả nhuộm bằng quy trình V cho thấy mô u biểu hiện dương tính nhiều mức độ và vị trí (Hình 2).

Ở mô chứng tiểu não, các tế bào lớp hạt của chất xám biểu hiện protein TRK tự nhiên, bắt màu pan – TRK tại nhiều vị trí: nhân, bào tương và màng tế bào, không có biểu hiện pan – TRK ở chất trắng.

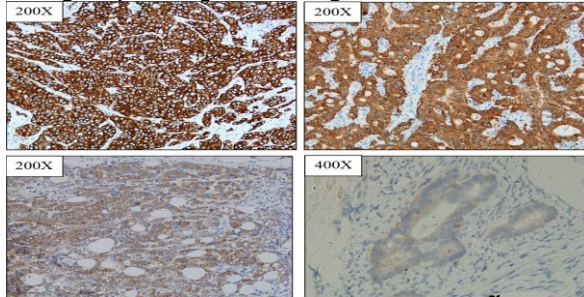
Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ biểu hiện pan – TRK trong ung thư đại trực tràng có mất ổn định vi vệ tinh là 6,7%, tương đồng so với các nghiên cứu khác trên thế giới.⁷ Phần lớn trường hợp biểu hiện dương tính màng bào tương, chưa ghi nhận trường hợp dương tính nhân, có thể do tỉ lệ ca dương tính thấp.



Hình 1: Kết quả nhuộm hoá mô miễn dịch với dấu ấn Pan - TRK (EPR17341)

Mô chứng tiểu não (A: Độ phóng đại 40x; B: Độ phóng đại 100x). Biểu hiện protein TRK tự nhiên ở lớp hạt của chất xám, không bắt màu

chất trắng. Tế bào có thể bắt màu ở nhân, bào tương hoặc màng bào tương.



Hình 2: Kết quả nhuộm hoá mô miễn dịch với dấu ấn Pan - TRK (EPR17341)

Carcinôm tuyến đại – trực tràng. A: Biểu hiện dương tính màng bào tương – cường độ mạnh (3+) (độ phóng đại 200x); B: Biểu hiện dương tính bào tương – cường độ mạnh (3+) (độ phóng đại 200x); C: Biểu hiện dương tính màng bào tương – cường độ trung bình (2+) (độ phóng đại 200x); D: Biểu hiện dương tính màng bào tương – cường độ yếu (1+) (độ phóng đại 400x).

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi đã hiệu chỉnh và tối ưu hoá quy trình nhuộm hoá mô miễn dịch với kháng thể VENTANA pan - TRK (EPR17341), khảo sát biểu hiện dấu ấn này trên 163 trường hợp ung thư đại trực tràng có mất biểu hiện vi vệ tinh với tỉ lệ dương tính là 6,7%, biểu hiện chủ yếu ở màng bào tương và bào tương.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng ứng dụng rộng rãi quy trình nhuộm hoá mô miễn dịch

với dấu ấn pan – TRK trong chẩn đoán và điều trị bệnh nhân ung thư mang đột biến tái tổ hợp gen NTRK.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amatu A, Sartore-Bianchi A, Bencardino K, Pizzutilo EG, Tosi F, Siena S. Tropomyosin receptor kinase (TRK) biology and the role of NTRK gene fusions in cancer. *Ann Oncol*. 2019;30(Suppl_8):viii5-viii15.
2. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(12):731-47.
3. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-9.
4. Kasi PM, Afghan MK, Bellizzi AM, Chan CH. Larotrectinib in Mismatch-Repair-Deficient TRK Fusion-Positive Metastatic Colon Cancer After Progression on Immunotherapy. *Cureus*. 2022;14(7):e26648.
5. Marchio C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate AJ, Bibeau F, Dietel M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1417-27.
6. Pulciani S, Santos E, Lauver AV, Long LK, Aaronson SA, Barbacid M. Oncogenes in solid human tumours. *Nature*. 1982;300(5892):539-42.
7. Svrcek M, Colle R, Cayre A, Bourgoin P, Cohen R, Andre T, et al. Prevalence of NTRK1/3 fusions in mismatch repair-deficient (dMMR)/microsatellite instable (MSI) tumors of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Journal of Clinical Oncology*. 2021;39(15_suppl):e15537-e.

TÌNH TRẠNG SUY DINH DƯỠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN CỦA TRẺ EM VIÊM AMIDAN MẠN TÍNH TẠI BỆNH VIỆN TAI MŨI HỌNG TRUNG ƯƠNG NĂM 2024-2025

Đoàn Thị Huyền,¹ Lê Anh Tuấn², Lê Thị Hương¹,
Đỗ Nam Khánh¹, Nguyễn Văn Dũng³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm mô tả tình trạng dinh dưỡng và một số yếu tố liên quan của trẻ em viêm amidan mạn tính tại Bệnh viện Tai Mũi Họng

²Trường Đại học Y Hà Nội
Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương
³Bệnh viện Quân y 103

Chịu trách nhiệm chính: Lê Anh Tuấn
Email: leanhtuan.ent@gmail.com
Ngày nhận bài: 11.9.2025
Ngày phản biện khoa học: 21.10.2025
Ngày duyệt bài: 20.11.2025

Trung ương năm 2024-2025. **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang. **Kết quả:** Nghiên cứu trên 125 trẻ bị viêm amidan tại Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương cho thấy độ tuổi trung bình là 5 ± 2 . Nhóm 3-5 tuổi chiếm 57,6%, thấp nhất là nhóm 10-12 tuổi (4,8%). Tỷ lệ trẻ nam là 61,6%. Có 79,2% trẻ từng viêm amidan >5 lần trước nhập viện. Tỷ lệ nhiễm khuẩn hô hấp là 42,4%, nhiễm khuẩn tiêu hóa 9,6%, bệnh tai mũi họng kèm theo là 20,8%. Chỉ 3,2% được điều trị tại tuyến trước. Nhóm 3-5 tuổi có tỷ lệ SDD nhẹ cân cao nhất (29,2%), SDD gây còm và thấp còi đều là 22,2%. Ở nhóm 6-7 tuổi, tỷ lệ SDD gây còm cao nhất (17,9%), tiếp theo là nhẹ cân (15,4%) và thấp còi (12,8%). Nhóm 8-9 tuổi có tỷ lệ