

4,5% lên 9% và sự tương quan này là độc lập, không liên quan đến các YTNC tim mạch khác [8].

MAU đánh dấu một sự xáo trộn trong chức năng của hàng rào tế bào nội mô vi cầu thận. MAU đi kèm với sự gia tăng xuất độ protein niệu lâm sàng, tăng creatinin huyết thanh, không những dễ phát triển thành suy thận giai đoạn cuối, mà còn tăng nguy cơ tim mạch. MAU phản ánh rối loạn chức năng nội mô toàn thân. Hơn nữa, các nghiên cứu tiền lâm sàng cho thấy khi dùng albumin đánh dấu phóng xạ, người ta cũng nhận thấy có sự hiện diện của albumin trong toàn bộ hệ thống mạch máu, kể cả cơ tim và não. Điều đáng quan tâm là hiện tượng giảm MAU phản ánh sự cải thiện chức năng nội mô. MAU không chỉ là biểu hiện sớm của tổn thương thận mà còn liên quan đến nhiều YTNC, là chỉ điểm nguy cơ cao bị tử vong và tai biến tim mạch ở bệnh nhân ĐĐT. Nhiều nghiên cứu đoàn hệ trên bệnh nhân ĐĐT type 2 cho thấy so với người không có MAU, những người có MAU có nguy cơ tử vong do bệnh ĐMV và nhồi máu cơ tim cao hơn. Trong nghiên cứu của chúng tôi ở cả 2 nhóm ĐĐT và không ĐĐT, nhóm MAU (+) có điểm SYNTAX trung bình cao hơn có ý nghĩa so với nhóm MAU (-) ( $28,22 \pm 6,94$  so với  $19,52 \pm 7,17$ ;  $p < 0,001$  và  $23,57 \pm 7,49$  so với  $16,26 \pm 7,02$ ,  $p = 0,0005$ ). Chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan thuận mức độ yếu giữa điểm SYNTAX và nồng độ MAU ( $r = 0,306$ ;  $p = 0,001$ ).

## V. KẾT LUẬN

Có mối tương quan giữa mức độ nặng của tổn thương động mạch vành thông qua thang điểm SYNTAX với độ nặng của bệnh đái tháo

đường. Điểm SYNTAX trung bình của nhóm bệnh nhân ĐĐT cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không ĐĐT ( $p < 0,001$ ). Có mối tương quan thuận giữa mức độ nặng tổn thương động mạch vành với các yếu tố nguy cơ như (HATT, EF).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Thị Huỳnh Nga, Hồ Thượng Dũng** (2011), "Đặc điểm hình thái tổn thương động mạch vành trên bệnh nhân đái tháo đường típ 2", Nghiên cứu Y học, 15, tr. 264 – 270.
2. **Association A.D.** (2018), "2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2019", Diabetes Care, 42(Supplement\_1), pp. S13-S28.
3. **Bertoluci M.C., V.Z. Rocha** (2017), "Cardiovascular risk assessment in patients with diabetes", Diabetol Metab Syndr, 9, p. 25.
4. **Chu Z.G. et al** (2010), "Characteristics of coronary artery disease in symptomatic type 2 diabetic patients: evaluation with CT angiography", Cardiovasc Diabetol, 9, p. 74.
5. **Esper R.B. et al** (2018), "SYNTAX Score in Patients With Diabetes Undergoing Coronary Revascularization in the FREEDOM Trial", J Am Coll Cardiol, 72(23 Pt A), pp. 2826-2837.
6. **Mamas M.A. et al** (2014), "Impact of left ventricular function in relation to procedural outcomes following percutaneous coronary intervention: insights from the British Cardiovascular Intervention Society", Eur Heart J, 35(43), pp. 3004-12a.
7. **Selvin E. et al** (2005), "Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study", Arch Intern Med, 165(16), pp. 1910-6.
8. **Sleight P.** (2000), "The HOPE Study (Heart Outcomes Prevention Evaluation)", J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 1(1), pp. 18-20.

## VAI TRÒ NHUỘM KÉP P16/KI-67 TRONG SÀNG LỌC UNG THƯ CỔ TỬ CUNG

Phạm Thị Mây<sup>1</sup>, Lê Trung Thọ<sup>2</sup>, Lê Hoài Chương<sup>1</sup>,  
Trần Thị Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Như<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Chương trình sàng lọc ung thư cổ tử cung đã giúp giảm tỷ lệ mắc và tử vong do ung thư cổ tử cung.

<sup>1</sup>Bệnh viện Phụ sản Trung ương

<sup>2</sup>Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Thị Mây

Email: drmaypham@gmail.com

Ngày nhận bài: 2.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 15.12.2023

Ngày duyệt bài: 8.01.2024

Hiện nay, các chương trình sàng lọc ung thư cổ tử cung trên toàn thế giới đang chuyển từ sàng lọc tế bào học sang xét nghiệm DNA HPV. Mặc dù xét nghiệm DNA HPV mang lại độ nhạy cao và giá trị tiên đoán âm tính nhưng độ đặc hiệu đối với tổn thương tiền ung thư và ung thư cổ tử cung còn hạn chế. Phần lớn các trường hợp nhiễm HPV chỉ thoáng qua và không gây ra tổn thương tiền ung thư và ung thư cổ tử cung, nên cần có các phương pháp phân loại hiệu quả để giảm số trường hợp soi cổ tử cung không cần thiết. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chứng minh phương pháp tế bào học nhuộm kép với sự kết hợp 2

dấu ấn sinh học p16/Ki-67 có giá trị độ nhạy và độ đặc hiệu cao phát hiện CIN2+ và CIN3+ hơn so với xét nghiệm HPV. P16 là chất ức chế khối u và Ki-67 là chất đánh giá sự tăng sinh của tế bào. Tế bào bình thường sẽ không đồng thời có biểu hiện của cả p16 và Ki-67. Nhuộm kép p16/Ki-67 đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt năm 2020 để phân loại phụ nữ dương tính với HPV, trong sàng lọc HPV đơn thuần hoặc đồng xét nghiệm tế bào học-HPV. Trong bài tổng quan này chúng tôi sẽ thảo luận về tầm quan trọng của phương pháp nhuộm kép p16/Ki-67 và tóm tắt cơ sở ứng dụng của nhuộm kép trong sàng lọc, phân loại tổn thương tiền ung thư cổ tử cung. **Từ khóa:** nhuộm kép p16/Ki-67, virus gây u nhú ở người (HPV), tầm soát ung thư cổ tử cung.

## SUMMARY

### THE ROLE OF P16/KI-67 DUAL STAINING IN CERVICAL CANCER SCREENING

Cervical cancer screening programs have helped reduce cervical cancer incidence and mortality. Currently, cervical cancer screening programs worldwide are shifting from cytology screening to HPV DNA testing. Although HPV DNA testing provides high sensitivity and negative predictive value, its specificity for precancerous lesions and cervical cancer is limited. The majority of HPV infections are transient and do not cause precancerous lesions and cervical cancer, so effective triage methods are needed to reduce the number of unnecessary colposcopy cases. Many recent studies have demonstrated that the dual staining cytology method with the combination of 2 biomarkers p16/Ki-67 has higher sensitivity and specificity values for detecting CIN2+ and CIN3+ than HPV testing. P16 is a tumor suppressor protein and Ki-67 is a cell proliferation marker. Normal cells will not express both p16 and Ki-67 at the same time. P16/Ki67 dual staining was approved by the United States Food and Drug Administration (US FDA) in 2020 for the triage of HPV positive women, either in primary HPV screening or HPV/cytology co-testing. In this review, we discuss the significance of p16/Ki-67 dual-staining and summarize the application basic of dual staining in screening and classifying cervical precancerous lesions. **Keywords:** p16/Ki-67 double staining, HPV, cervical cancer screening

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều thập niên qua, ở nhiều nước, xét nghiệm tế bào cổ tử cung âm đạo là trụ cột của chương trình tầm soát ung thư cổ tử cung (UTCTC). Các chương trình sàng lọc dựa trên tế bào học đã làm giảm rõ rệt tần suất UTCTC. Theo hướng dẫn sàng lọc UTCTC hiện nay, phụ nữ sẽ được sàng lọc bằng HPV DNA, nếu dương tính với các tip HPV nguy cơ cao sẽ tiếp tục xét nghiệm tế bào học và nếu chẩn đoán có tế bào bất thường (ASC-H, AGC- AIS, LSIL, HSIL, ung thư) sẽ phải tiến hành soi CTC ngay để đánh giá tổn thương và sinh thiết để có chẩn đoán cuối cùng. Tuy nhiên, ngoại trừ các trường hợp HSIL

và ung thư cần soi CTC và sinh thiết ngay thì nhóm bất thường tế bào còn lại có số lượng rất lớn (lên đến > 5% tổng số các trường hợp được sàng lọc) mà trong số đó có tỷ lệ lớn những bất thường này không tiến triển thành CIN III và như vậy việc tiến hành soi CTC và/hoặc sinh thiết sẽ là không cần thiết và gây lãng phí tiền bạc cho nhiều phụ nữ<sup>1</sup>. Mặc dù xét nghiệm DNA HPV mang lại độ nhạy cao và giá trị tiên đoán âm tính nhưng độ đặc hiệu của nó đối với tổn thương tiền ung thư và UTCTC còn hạn chế. Nhiều trường hợp nhiễm HPV chỉ thoáng qua và gây ra rất ít nguy cơ ung thư, làm giảm tính đặc hiệu của xét nghiệm HPV. Các trường hợp HPV dương tính cần được theo dõi tế bào học lặp lại vì độ nhạy của tế bào học tương đối thấp. Do đó, cần có xét nghiệm đặc hiệu hơn để xác định trong số những trường hợp dương tính với sàng lọc cần được quản lý và điều trị thêm. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chứng minh phương pháp tế bào học nhuộm kép với sự kết hợp 2 dấu ấn sinh học p16/Ki-67 có giá trị độ nhạy và độ đặc hiệu cao phát hiện CIN2+ và CIN3+ hơn so với xét nghiệm HPV<sup>2</sup>. Nhuộm kép đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt năm 2020 để phân loại phụ nữ dương tính với HPV, trong sàng lọc HPV đơn thuần hoặc đồng xét nghiệm HPV- tế bào học<sup>3</sup>. Trong bài tổng quan này chúng tôi sẽ thảo luận về tầm quan trọng của phương pháp nhuộm kép p16/Ki-67 và tóm tắt cơ sở ứng dụng của nhuộm kép trong sàng lọc, phân loại tổn thương tiền ung thư cổ tử cung.

## II. SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA TỔN THƯƠNG TIỀN UNG THƯ VÀ UTCTC

Phần lớn UTCTC đều dương tính với HPV. Tuy nhiên, chưa đến 5% tổng số ca nhiễm HPV tiến triển thành tổn thương CIN3<sup>3</sup>. Human papillomavirus (HPV) là một loại vi rút gây u nhú ở người, họ Papillomaviridae, không vỏ, đối xứng xoắn ốc. HPV có vật liệu di truyền là DNA, một mạch đôi không hoàn chỉnh, tồn tại dạng siêu xoắn hình vòng. Bộ gen của vi rút chiếm khoảng 12% trọng lượng của hạt vi rút, chiều dài từ 7800 đến 8000 cặp base. Bộ gen của HPV chia thành 3 vùng: vùng gen sớm gồm 6 gen (E1, E2, E4, E5, E6, E7) và 8 khung đọc mở ORF có chức năng giúp cho quá trình nhân lên của DNA vi rút, gây hiện tượng tăng sinh tế bào và gây biến đổi tế bào, hình thành tế bào bất tử; vùng gen muộn gồm 2 gen tổng hợp protein L1 và L2, là những protein cấu trúc capsid của vi rút; vùng điều hòa URR hay vùng điều hòa dài

LCR chứa DNA không mã hóa, có chức năng điều hòa quá trình sao chép DNA và quá trình phiên mã. HPV xâm nhập vào lớp tế bào đáy của vùng chuyển tiếp, DNA của virus có thể tồn tại ở dạng episome trong thời gian dài. Sau nhiều lần phân chia tế bào, bộ gen của virus có thể tích hợp vào bộ gen của vật chủ. Khi HPV xâm nhập vào nhiễm sắc thể vật chủ gây phá vỡ gen E2 và giải phóng sự kìm chế hoạt động của E6 và E7. Gen E6, E7 gây bất tử tế bào và gây bất ổn định gen tế bào chủ thông qua sự bất hoạt p53 và retinoblastoma (Rb) gây biến đổi chia tách DNA trong quá trình phân chia tế bào<sup>3</sup>.

### III. GIÁ TRỊ CỦA NHUỘM KÉP P16/KI-67 TRONG SÀNG LỌC UTCTC

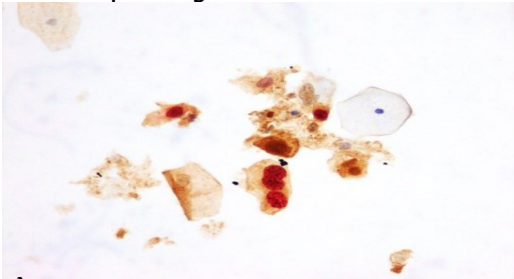
**3.1. Kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch kép p16/Ki-67.** Phương pháp nhuộm HMMD kép là phương pháp nhuộm HMMD gián tiếp giống như nhuộm HMMD thông thường nhưng có sự khác biệt duy nhất là hai kháng thể đồng thời được sử dụng nhằm phát hiện hai loại kháng nguyên khác nhau. Để có thể nhận biết được phức hợp của mỗi loại KN-KT, cần gắn cho mỗi phức hợp này một chất chỉ thị màu khác nhau. Nhờ đó, người ta có thể xác định được sự hiện diện của loại KN nào và/hoặc đồng bội lộ cả hai loại KN cần tìm<sup>4</sup>.

#### **Đánh giá phiên đồ nhuộm kép p16/Ki-67:**

+ Chứng dương: Tổn thương nội biểu mô vảy độ cao HSIL nhuộm màu nâu của bào tương và màu đỏ của nhân (có đối chứng với mô bệnh học). Chứng âm (nội chứng): Tế bào biểu mô vảy bình thường.

+ Dương tính: nếu một hoặc nhiều tế bào biểu mô CTC nhuộm màu nâu của bào tương (p16) và nhân màu đỏ (Ki-67).

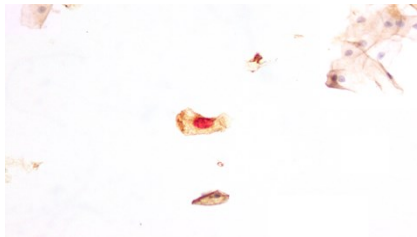
+ Âm tính với nhuộm kép p16/ Ki-67 khi phiên đồ không có bất kỳ tế bào nhuộm cả hai màu nhân và bào tương hoặc chỉ nhuộm dương tính với 1 loại kháng thể.



**Ảnh 1. Đồng bội lộ p16/Ki-67 ở tế bào HSIL x 400<sup>4</sup>**

Dương tính: p16/Ki-67 (+) (Mũi tên đỏ); Âm tính: p16/Ki-67 (-) (Mũi tên xanh)

**3.2. Giá trị của nhuộm kép p16/Ki-67 trong sàng lọc UTCTC.** P16INK4A (p16) là một protein ức chế khối u, còn được gọi là chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin 2A (CDKN2A)<sup>5</sup>. P16 có thể liên kết với CDK4 và CDK6, đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa chu kỳ tế bào. CDK4/6 thường tạo phức hợp protein với cyclin D để phosphoryl hóa pRB. Khi quá trình phosphoryl hóa, pRB tách khỏi yếu tố phiên mã E2F1, dẫn đến chuyển vị E2F1 vào nhân, tại đây E2F1 cảm ứng phiên mã các gen mục tiêu thúc đẩy tế bào chuyển từ pha G1 sang pha S. Do đó, p16 hoạt động như một chất ức chế CDK bằng cách ngăn chặn sự tương tác của nó với cyclin D, do đó ngăn chặn sự tiến triển của chu kỳ tế bào. Trong các tế bào bị nhiễm HPV, protein E7 cạnh tranh để liên kết với protein điều hòa chu kỳ tế bào pRb, dẫn đến việc giải phóng E2F1 từ pRb và kích hoạt chu kỳ tế bào. Sự xáo trộn của con đường pRb-E2F1 bởi E7 gây ra sự biểu hiện quá mức và tích tụ p16 trong các tế bào. Phát hiện p16 bằng nhuộm HMMD đã được sử dụng rộng rãi trong các bệnh lý phụ khoa. Biểu hiện lan tỏa trong bào tương và nhân tế bào của p16 thấy trong ung thư biểu mô vảy của đường sinh dục nữ gắn liền với tình trạng nhiễm HPV nguy cơ cao. Trong các tổn thương của CTC có nhiễm HPV, người ta thấy sự bội lộ p16 rõ rệt ở các tổn thương nhiễm HPV nguy cơ cao, không thấy bội lộ ở nhóm nhiễm HPV nguy cơ thấp<sup>2</sup>. P16 biểu hiện quá mức đã được thấy ở phần lớn các tổn thương tiền ung thư và ung thư cổ tử cung, do đó p16 được coi là dấu ấn đại diện cho nhiễm hrHPV dai dẳng ở cổ tử cung<sup>3</sup>. Tuy nhiên, p16 cũng có bội lộ ở các tế bào dị sản vảy bình thường của cổ tử cung làm hạn chế độ chính xác của xét nghiệm p16 đơn thuần. Ki-67 là một kháng nguyên ung thư, được tìm thấy trong sự tăng sinh và phân chia của tế bào và nhân, hiện diện ở kỳ hoạt động của tế bào (G1, S, G2 và phân bào) và vắng mặt trong kỳ nghỉ ngơi (G0)<sup>5</sup>. Ki-67 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 bội lộ mạnh của Ki-67 cho thấy một tiên lượng tồi, điều trị ít hiệu quả. Xét nghiệm HMMD nhuộm kép dựa trên sự kết hợp của hai dấu ấn sinh học p16 và Ki-67 trong các mẫu xét nghiệm tế bào cổ tử cung đã khắc phục được hạn chế trên. Trong điều kiện sinh lý bình thường, ở những tế bào CTC khỏe mạnh, biểu hiện của Ki-67 và p16 là loại trừ lẫn nhau<sup>2</sup>. Biểu hiện đồng thời của cả hai trong tế bào cổ tử cung cho thấy chu kỳ phân chia tế bào bị rối loạn, biểu hiện của tình trạng nhiễm hrPHV.



**Ảnh 2. ASC/p16/Ki67 (+)/HPV 12 tip nguy cơ cao (+)**



**Ảnh 3. LSIL/p16/Ki67 (+)/HPV 16 (+)**

**Ảnh 4. ASC-H/p16/Ki67(+)/HPV 16 (+)**

Phương pháp nhuộm kép cho p16 và Ki-67 được phát triển cho phép nhận dạng các tế bào bất thường chỉ đơn giản dựa trên sự đồng bộ của hai dấu ấn trong cùng một tế bào, nó giúp loại bỏ được các tế bào bình thường. Trong nghiên cứu này, các tác giả sử dụng phiên đồ tế bào Thinprep được xử lý trên máy T2000 (Hologic). Mỗi trường hợp được lấy 02 phiên đồ, trong đó 01 phiên đồ cho nhuộm Pap để chẩn đoán tế bào và 01 phiên đồ còn lại nhuộm kép với 2 dấu ấn p16 và Ki-67. Theo kết quả nghiên cứu PALMS được thực hiện tại châu Âu, phương pháp tế bào học nhuộm kép với sự kết hợp 2 dấu ấn sinh học p16/Ki-67 giúp cải thiện khả năng phát hiện các tổn thương tiền UTCTC, đặc biệt ở phụ nữ trẻ<sup>6</sup>. Sự kết hợp 2 test này có thể loại trừ bệnh (giá trị tiên đoán âm) và xác định phụ nữ có tổn thương tiền ung thư (giá trị tiên đoán dương) rất hiệu quả. Đối chiếu với sinh thiết CTC, người ta thấy rằng độ nhạy của phương pháp tế bào học nhuộm kép là 86,7%, cao hơn có ý nghĩa so với Pap (68,5%), độ đặc hiệu (95,2%) tương tự Pap (95,4%). Độ nhạy của nhuộm kép cao hơn có ý nghĩa so với Pap ở cả 2 nhóm (18-29 tuổi và từ 30 tuổi trở lên)<sup>7</sup>. Như vậy xét nghiệm này giúp phân loại tốt các trường hợp có TTCTC để chuyển soi CTC.

Nghiên cứu hồi cứu của Schmidt D. đã phân tích hiệu quả chẩn đoán của nhuộm kép p16/Ki67 trên mẫu gồm 776 phụ nữ có kết quả tế bào học ASC hoặc LSIL<sup>7</sup>. Đối chiếu kết quả với mô bệnh học, độ nhạy của nhuộm kép để phát hiện CIN2+ là 94,2% ở nhóm LSIL và 92,2% ở nhóm ASC. Độ đặc hiệu trong nhóm LSIL và ASC lần lượt là 68,0% và 80,6%. Những kết quả này tương tự ở các nhóm bệnh nhân trẻ hơn và lớn hơn 30 tuổi. Trong cả hai nhóm tế bào học (ASC và LSIL), nhuộm kép có độ nhạy tương đương với xét nghiệm HPV nhưng độ đặc hiệu cao hơn. Những kết quả này cho thấy xét nghiệm p16/Ki67 làm giảm tỷ lệ chuyển soi cổ tử cung trong quần thể tế bào ASC và LSIL. Thử nghiệm sự hiện diện của các tế bào biểu mô cổ tử cung đồng biểu hiện protein ức chế khối u p16INK4a (p16) và dấu hiệu tăng sinh tế bào Ki-67 sử dụng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch kép p16/Ki-67 đã được trình bày trong một số nghiên cứu hồi cứu thực sự là một công cụ phân loại hiệu quả kết quả xét nghiệm tế bào học bất thường. Xét nghiệm tế bào nhuộm kép được báo cáo làm tăng đáng kể tính đặc hiệu của xét nghiệm HPV, nhưng không làm giảm tỷ lệ phát hiện của CIN2 + ở phụ nữ có kết quả tế bào học ASC-US và LSIL.

Khoảng 3-7% phụ nữ có xét nghiệm tế bào Pap bình thường và hrHPV dương tính có CIN độ cao. Theo nghiên cứu của Ulrich Petry tại Đức<sup>8</sup>, phương pháp nhuộm kép p16/Ki-67 được sử dụng để phân loại những bệnh nhân HPV dương tính có tế bào học bình thường, trong số 425 trường hợp HPV (+)/TBH bình thường, tỷ lệ p16/Ki-67 dương tính là 25,4% (108 trường hợp). Độ nhạy phát hiện CIN2 + và CIN3 + tương ứng là 91,9% (34/37) và 96,4% (27/28), trong khi độ đặc hiệu là 82,1% và 76,9%. Các tác giả kết luận rằng nhuộm kép là một công cụ hỗ trợ hữu ích cho việc phân loại quần thể tế bào học Pap âm tính/HPV dương tính. Như vậy, nhuộm kép có khả năng phát hiện những trường hợp bệnh bị bỏ sót bởi xét nghiệm tế bào học.

Kết quả nghiên cứu của Ordi và Cs (2014)<sup>9</sup> cho biết: Độ nhạy (Se) và độ đặc hiệu (Sp) của nhuộm kép p16/Ki-67 cho HSIL là 90,9% (CI = 87,9-93,9, khoảng tin cậy 95%) và của UTCTC là 72,1 (95% CI = 68,7-75,4). Nghiên cứu của Nicolas Wentzensen<sup>2</sup> tiến hành đánh giá nhuộm kép p16/Ki-67 trên kết quả bất thường tế bào chuyển soi cổ tử cung ở Mỹ. Các tác giả thấy rằng p16/Ki-67 đồng dương tính trong 59%, với độ nhạy 86% cho CIN2+ và 93% cho CIN3+. Sự phân tầng theo độ tuổi và tình trạng nhiễm

HPV16 cho thấy nhuộm kép có độ nhạy 100% để phát hiện các tổn thương HPV 16 dương tính ở phụ nữ 30 tuổi trở lên, trong khi tỷ lệ thấp nhất được quan sát thấy ở phụ nữ <30 tuổi không nhiễm HPV16 (78%). Tỷ lệ dương tính với CIN2+ được phát hiện bằng phương pháp nhuộm kép p16/Ki-67 là 92,7%, cao hơn nhiều khi xét nghiệm HPV 16/18. Tất cả các bệnh nhân bị ung thư cổ tử cung đều dương tính với nhuộm kép p16/Ki-67. So với xét nghiệm HPV, phương pháp nhuộm kép p16/Ki-67 có độ đặc hiệu cao hơn trong việc phát hiện CIN2 + và có thể làm giảm tới 50% số bệnh nhân soi cổ tử cung, đặc biệt đối với phụ nữ trẻ có tỷ lệ nhiễm HPV cao.

**Bảng 1. Giá trị của nhuộm kép p16/Ki67 trong phát hiện tổn thương nội biểu mô vảy độ cao HSIL**

Nghiên cứu		Se	Sp
Ikenberg et al <sup>6</sup>	CIN 2	86,7	95,2
	CIN 3	87,4	94,8
White et al <sup>10</sup>	CIN 2	75,4	88,3
	CIN 3	79,2	75,2
Ordi et al <sup>9</sup>	HSIL	88,9	72,9
Petry et al <sup>8</sup>	CIN 2	91,9	82,1
	CIN 3	96,4	76,9
Wentzensen et al <sup>2</sup>	CIN 2	70,7	70,8
	CIN 3	81,3	69,6

(Se: độ nhạy; Sp: độ đặc hiệu)

Phụ nữ được chẩn đoán là ASC và LSIL có nguy cơ mắc CIN3 + trong 5 năm tương ứng là 2,6% và 5,2%<sup>3</sup>. Phương pháp nhuộm kép p16 / Ki-67 cũng cho giá trị dự báo dương tính cao đối với CIN độ cao ở các trường hợp tế bào ASC và LSIL, đặc biệt ở phụ nữ dưới 30 tuổi, có thể làm giảm số lần chuyển viện soi cổ tử cung không cần thiết<sup>7</sup>. Nhiều nghiên cứu đều khẳng định độ nhạy và độ đặc hiệu cao của nhuộm kép trong phát hiện CIN 2/3. Độ đặc hiệu của nhuộm kép tăng đáng kể so với xét nghiệm HPV trong phát hiện CIN độ cao. Nhuộm kép giúp phân tầng hiệu quả các tổn thương tế bào ASC và LSIL.

**3.2. Theo dõi sự tái phát sau điều trị.** Sự kết hợp giữa nhuộm kép p16/Ki-67 và xét nghiệm hrHPV được sử dụng để theo dõi sự tái phát của những bệnh nhân có CIN độ cao (rCIN2 +). Các nghiên cứu theo dõi thời gian dài cho thấy một số tái phát ở bệnh nhân CIN2 và CIN3 và cần được theo dõi chặt chẽ. Xét nghiệm cotesting tế bào học và hrHPV đã được khuyến cáo như một chiến lược theo dõi cho những bệnh nhân đã điều trị CIN độ cao<sup>3</sup>. Tuy nhiên, tính đặc hiệu của xét nghiệm tế bào học hoặc xét nghiệm cotesting HPV/Pap còn hạn chế. Nghiên cứu ở 364 phụ nữ sau điều trị CIN2/3

được theo dõi bằng xét nghiệm tế bào học, HPV và nhuộm kép p16/Ki-67, độ nhạy cho rCIN2 + của ba xét nghiệm lần lượt là 82,1%, 84,6% và 69,2%, nhưng độ đặc hiệu của p16/Ki-67 là 90,4%, cao hơn đáng kể so với 70,8% của tế bào học và 76,2% với xét nghiệm hrHPV. Độ nhạy khi kết hợp p16/Ki-67 và hrHPV tương tự như đồng phát hiện tế bào học và hrHPV (87,2% so với 89,7%), nhưng độ đặc hiệu được cải thiện đáng kể (74,2% so với 58,1%), dẫn đến giá trị dự đoán dương tính cao hơn và giảm đáng kể tỷ lệ soi cổ tử cung<sup>3</sup>. Do đó, khi được xem xét kết hợp với hrHPV, p16/Ki-67 có thể là một phương pháp hấp dẫn để giám sát phụ nữ được điều trị CIN độ cao.

**IV. KẾT LUẬN**

Phương pháp tế bào học nhuộm kép p16/Ki-67 có ý nghĩa lớn trong việc tầm soát và phân tầng các tổn thương tiền ung thư và ung thư cổ tử cung hiệu quả. Nhuộm kép giúp tăng khả năng phát hiện tân sản nội biểu mô độ cao ở tất cả các lứa tuổi. Hóa mô miễn dịch nhuộm kép đồng bội p16/Ki-67 trên các các mẫu tế bào cổ tử cung giúp phân tầng các phụ nữ có tổn thương tế bào ASC và LSIL hiệu quả và đối với phụ nữ nhiễm HPV được xác định bằng kết quả tế bào học. Sự kết hợp giữa nhuộm kép p16/Ki-67 và phát hiện hrHPV được khuyến nghị như một chiến lược để theo dõi phụ nữ sau điều trị CIN độ cao. Như vậy, phương pháp nhuộm kép có khả năng phát hiện sớm những tổn thương CTC bị bỏ sót bởi xét nghiệm tế bào học, làm giảm tỷ lệ soi cổ tử cung không cần thiết và do đó giảm chi phí điều trị quá mức.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Wright CT, Stoler HM, Behrens M C, et al.** (2015), Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: End of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecologic Oncology*, 136(2), 189-197.
2. **Nicolas Wentzensen, Barbara Fetterman, Philip E. Castle, et al** (2015), p16/Ki-67 dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women. *Natl Cancer Inst.*107(12), 257.
3. **Andraž Dohnik, Alenka Repše Fokter** (2023), The Role of p16/Ki67 Dual Staining in Cervical Cancer Screening. *Curr Issues Mol Biol.*45(10), 8476-8491.
4. **Phạm Thị Mây, Lê Trung Thọ, Lê Hoài Chương, et al** (2019), Giá trị nhuộm kép p16/ Ki-67 trong phân loại các trường hợp bất thường tế bào ASC, LSIL. *Tạp chí Phụ sản.*16(3), p. 6-8.
5. **Wentzensen N., von Knebel Doeberitz M** (2007), Biomarkers in cervical cancer screening, *Dis Markers.*23, 315-330.
6. **Hans Ikenberg, Christine Bergeron, Dietmar Schmidt, et al** (2013), Screening for cervical

- cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results of the PALMS study. JNCI J Natl Cancer Inst. 105(20), 1550-1557.
7. Schmidt D., Bergeron C., Denton K.J., Ridder R. (2011), p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: Results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathol. 119:158-166.
  8. K.Ulrich Petry, Dietmar Schmidt, Sarah Scherbring et al (2011), Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecologic Oncology.121(3), 505-509.
  9. Ordi J., Sagasta A., Munmany M., Rodriguez CL., et al (2014), Usefulness of p16/Ki67 immunostaining in the triage of women referred to colposcopy. Cancer Cytopathology. 122(3):227-35.
  10. White C, Bakhiet S, Bates M, Keegan H, Pilkington L, Ruttle C. et al. (2016) Triage of LSIL/ASC-US with p16/Ki-67 dual staining and human papillomavirus testing: a 2-year prospective study. Cytopathology. 27:269–76.

## HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM, KHÁNG ĐỘNG VẬT NGUYÊN SINH CỦA CAM THẢO NAM (SCOPARIA DULCIS)

Phạm Thị Nhật Trinh<sup>1</sup>, Lê Tiến Dũng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thùy Trang<sup>3</sup>,  
Nguyễn Cửu Khoa<sup>2</sup>, Hoàng Ngọc Anh<sup>2</sup>, Alexey Osipov<sup>4</sup>,  
Elena Cheremnykh<sup>5</sup>, Yuri Utkin<sup>4</sup>

### TÓM TẮT

Bài báo này tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm và kháng động vật nguyên sinh của cao chiết ethanol 30%, ethanol 96% và 1 số chất phân lập được từ toàn cây cam thảo nam thu hái tại Vĩnh Long. Kết quả cho thấy, cao ethanol 96% ức chế sản sinh nitric oxide ở nồng độ dưới 100µg/ml trên mô hình tế bào RAW264.7 gây viêm bởi LPS. Trên mô hình thực nghiệm gây viêm cấp tính bằng carrageenan 1% ở chuột nhắt trắng, lô điều trị bằng cao chiết 96% liều 500 mg/kg có độ sưng phù thấp hơn (chưa có ý nghĩa thống kê) so với lô chứng bệnh ở tất cả các thời điểm khảo sát. Lô điều trị bằng cao chiết 30% liều 500 mg/kg có độ sưng phù thấp hơn (có ý nghĩa thống kê) so với lô chứng bệnh ở các thời điểm 1 giờ, 5 giờ và 24 giờ. So với lô chứng dương (điều trị bằng diclofenac liều 5mg/kg), chuột được điều trị với cao chiết 30%, liều 500 mg/kg có độ sưng phù khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng dương ở hầu hết các thời điểm khảo sát (V1, V3, V5). Những kết quả trên cho thấy cao chiết với ethanol 30% có tác động kháng viêm tốt hơn cao ethanol 96%, sau 24 giờ khảo sát. Ngoài ra, cao ethanol 30% và ethanol 96% có tác động kháng động vật nguyên sinh *Tetrahymena pyriformis* sau 24 giờ ủ với cao chiết ở nồng độ 25 mg/ml. Sử dụng các phương pháp sắc ký,

đã phân lập và xác định cấu trúc 5 hợp chất từ cao ethanol 96% (1-5), thử nghiệm chống động vật nguyên sinh với 3 chất (1-3) cho thấy cả 3 chất đều có hoạt tính chống động vật nguyên sinh ở mức trung bình. **Từ khóa:** cam thảo nam, kháng viêm, kháng động vật nguyên sinh, *Tetrahymena pyriformis*

### SUMMARY

#### ANTI-INFLAMMATORY, ANTI-PROTOZOAL ACTIVITIES OF SCOPARIA DULCIS

This study was designed to evaluate the anti-inflammatory and antiprotozoal activities of 30% and 96% ethanolic extracts and isolated compounds from the whole plant of *Scoparia dulcis* collected in Vinh Long. The results showed that 96% ethanolic extract inhibited nitric oxide production at concentrations below 100 µg/ml in the LPS-induced RAW 264.7 macrophages. In the model of carrageenan-induced paw edema in mice, the group treated with 96% ethanolic extract at a dose of 500 mg/kg indicated lower swelling (not statistically significant) than the negative control group at all time points of the experiment. The group treated with 30% ethanolic extract at a dose of 500 mg/kg showed lower swelling (statistically significant) compared with the negative control group at time point of 1h, 5h and 24h. Compared with the positive control group (treated with diclofenac at a dose of 5mg/kg), mice treated with 30% ethanolic extract, at a dose of 500 mg/kg showed no statistically significant difference in swelling compared with the positive control group in time point of 1h, 3h and 5h. The above results proved that the 30% ethanolic extract possessed a better anti-inflammatory effect than the 96% ethanolic extract, after 24 hours of experiment. In addition, 30% and 96% ethanolic extracts had antiprotozoal activity against *Tetrahymena pyriformis* after 24 hours of incubation with two these extracts at a concentration of 25 mg/ml. Using chromatographic techniques, 5 compounds were isolated and structurally determined from extract with 96% alcohol

<sup>1</sup>Đại học Tiền Giang, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng (VAST), Việt Nam

<sup>3</sup>Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam

<sup>4</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow 117997, Nga

<sup>5</sup>Mental Health Research Centre, Moscow 115522, Nga

Chịu trách nhiệm chính:

Email:

Ngày nhận bài: 3.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 18.12.2023

Ngày duyệt bài: 5.01.2024