

- BYT, ban hành ngày 24/11/2014.
- Nguyễn Thị Thu Hà** (2015), Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến ý định mua thực phẩm chức năng của người tiêu dùng tại Đà Nẵng, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Đà Nẵng.
 - Hiệp hội Thực phẩm chức năng Việt Nam** (2022), Rà soát công tác quản lý thị trường thực phẩm chức năng, [Internet], 24/01/2017, [truy cập ngày 10/6/2022]
 - Nguyễn Phục Hưng** (2023), Đánh giá tác động của một số nhân tố đến ý định mua lặp lại mỹ phẩm chăm sóc da bằng phân tích hồi quy tuyến tính đa biến của người tiêu dùng trên địa bàn thành phố Cần Thơ năm 2022-2023, Tạp chí Y Dược Cần Thơ, pp...
 - Nguyễn Thu Thủy** (2022), Các nhân tố ảnh hưởng tới ý định mua thực phẩm chức năng ngoại nhập, Tạp chí Quản lý và Kinh tế quốc tế, 146(1), tr. 102-120.
 - Huỳnh Thanh Tú, Trần Văn Tuấn** (2021), Các yếu tố ảnh hưởng đến ý định mua lặp lại sản phẩm trị nám của phụ nữ tại thành phố Hồ Chí Minh, HCMCOUJS-Kinh tế và quản trị kinh doanh, 16(2), 17-29. DOI: 10.46223/ HCMCOUJS.econ.vi.16.2.1323.2021
 - Akhter Ali, Dil Bahadur Rahut** (2019), Research Article Healthy Foods as Proxy for Functional Foods: Consumers' Awareness, Perception, and Demand for Natural Functional Foods in Pakistan.
 - Asgarnezhad Nouri Bagher, Farideh Salati and Mohammad Ghaffari** (2018). Factors Affecting Intention to Purchase Organic Food Products Among Iranian Consumers. Academy of Marketing Studies Journal, 22(3).

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT SẮP XẾP DÂY MÔ TRONG NGHIÊN CỨU CÁC DẤU ẤN HÓA MÔ MIỄN DỊCH Ở U LYMPHO TẾ BÀO B LỚN LAN TỎA

Tạ Hồng Hải Đăng¹, Ngô Thúy Hòa², Lê Thị Uyên²

TÓM TẮT

Mục tiêu: So sánh kết quả của một số dấu ấn khi nhuộm hóa mô miễn dịch bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô với kỹ thuật truyền thống tại Khoa giải phẫu bệnh – tế bào, Bệnh viện K cơ sở Quán Sứ. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 30 bệnh nhân ULTBLLT đã được chẩn đoán tại Bệnh viện K. **Kết quả:** Nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô và kỹ thuật truyền thống lần lượt có tỷ lệ bộc lộ với các dấu ấn là tương đương nhau, sự khác biệt rất ít ở dấu ấn CD20 và MUM-1; trong 30 trường hợp u lympho tế bào B lớn lan tỏa, tỉ lệ dưới tip không tâm mầm chiếm tỉ lệ 76,7%. **Kết luận:** Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ bộc lộ dấu ấn CD20, CD79a, CD10, BCL6 và Ki67 giữa kỹ thuật sắp xếp dây mô với kỹ thuật truyền thống ($p > 0,05$). DLBCL – nGCB chiếm tỷ lệ cao tới 76,7% và DLBCL – GCB chiếm 23,3%. Kỹ thuật sắp xếp dây mô có thể xem xét ứng dụng trong các labo Giải phẫu bệnh để thực hiện trong những nghiên cứu mà vẫn đảm bảo tính chính xác của kết quả. **Từ khóa:** sắp xếp dây mô, u lympho tế bào B lớn lan tỏa.

SUMMARY

APPLICATION OF TISSUE MICROARRAY TECHNIQUE FOR RESEARCH IMMUNOHISTOCHEMICAL IN LARGE B-CELL LYMPHASIS

Objective: Comparing the results of some markers when immunohistochemical staining using the tissue microarray technique with traditional techniques at the Department of Pathology, Hospital K Quan Su. **Subject and method:** A descriptive, cross-sectional study has been conducted on 30 patients with DLBCL who were surgically treated and pathologically diagnosed at the K hospital. **Result:** IHC staining using tissue microarray and traditional techniques had similar rates of revealing markers, with very little difference in markers CD20 and MUM-1; in 30 cases of lymphoma. diffuse large B cells, the proportion under the germinal center type is 76.7%. **Conclusion:** There was no statistically significant difference between the rate of expression of CD20, CD79a, CD10, BCL6 and Ki67 markers between the tissue micorarray technique and the traditional technique ($p > 0.05$). DLBCL – nGCB accounts for as high as 76.7% and DLBCL – GCB accounts for 23.3%. Tissue sequencing techniques can be considered for application in pathology laboratories to perform research while still ensuring the accuracy of results.

Keywords: tissue microarray, Diffuse Large B Cell Lymphoma – DLBCL

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo phân loại của Tổ chức y tế thế giới (WHO) 2008, u lympho tế bào B lớn lan tỏa là thực thể thường gặp nhất của ULATKH, chiếm tỷ lệ 30-40% toàn bộ bệnh lý này. Tuy nhiên, thực thể này có nhiều biến thể và phân nhóm, trong đó chủ yếu là u lympho tế bào B lớn lan tỏa (ULBLLT) chiếm 80-85% trường hợp; còn lại 15-20% trường hợp là các u lympho tế bào B lớn khác¹. ULBLLT là một chẩn đoán loại trừ, áp dụng cho các u lympho không Hodgkin tế bào

¹Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện K

Chịu trách nhiệm chính: Tạ Hồng Hải Đăng

Email: tahaidang@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 2.2.2024

Ngày phản biện khoa học: 18.3.2024

Ngày duyệt bài: 15.4.2024

lớn lan tỏa mà không xếp được và bất kì một dưới nhóm đặc hiệu nào khác bệnh có thể nguyên phát hoặc chuyển dạng từ các u lympho tế bào độ thấp, biểu hiện tại hạch hoặc ngoài hạch. Sự công nhận và phân loại các phân típ u lympho đã và vẫn còn là vấn đề khó khăn². Việc nhuộm HMMD để định típ chính xác ULTBLLT là vô cùng quan trọng. Các dấu ấn hóa mô miễn dịch được sử dụng phổ biến là: CD20, CD79a (các dấu ấn dòng tế bào B bộc lộ đi kèm sự tăng sinh quần thể lympho bào nhân lớn không có khía và lympho bào chuyển dạng dạng có kích thước bằng hoặc lớn hơn đại thực bào); CD10, BCL-6 và MUM-1 (Sự bộc lộ của 3 kháng nguyên này thay thế cho đặc điểm phân tử đã được sử dụng để phân loại ULTBLLT thành 3 nhóm: nhóm tâm mầm (CD10+ hoặc CD10-, BCL-6+, MUM-1 -) và nhóm không tâm mầm hay nhóm tế bào B hoạt động hay nhóm sau tâm mầm (CD10 -, BCL-6 +/-, MUM-1+); Ki67 (là một kháng nguyên nhân được bộc lộ trong chu kỳ tế bào. Phần trăm các tế bào bộc lộ Ki67 phản ánh tỉ lệ tế bào u có hoạt động phân bào. Ý nghĩ tiên lượng của sự bộc lộ Ki67 được xác định trong nhiều loại u khác nhau)^{3,4}.

Kỹ thuật sắp xếp dãy mô đã được một số nước trên thế giới như Mỹ, Australia,... sử dụng từ nhiều năm trước trong nghiên cứu. Ở Việt Nam, một số cơ sở giải phẫu bệnh tại Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh đã sử dụng kỹ thuật này trong nghiên cứu HMMD nhưng chưa có nghiên cứu nào đánh giá đầy đủ về các yếu tố liên quan và chất lượng của xét nghiệm khi sử dụng kỹ thuật sắp xếp dãy mô trong xét nghiệm đánh giá tình trạng bộc lộ các dấu ấn trong ULTBLLT so với xét nghiệm HMMD truyền thống.

Tại Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu nào đánh giá đầy đủ về các yếu tố liên quan và chất lượng của xét nghiệm khi sử dụng kỹ thuật sắp xếp dãy mô trong xét nghiệm đánh giá các dấu ấn HMMD phân loại ULTBLLT so với xét nghiệm HMMD truyền thống. Để giải đáp những câu hỏi này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: *Xác định tỷ lệ mô đệm/u trong ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng và nhận xét một số mối liên quan giữa tỷ lệ mô đệm/u với một số đặc điểm mô bệnh học.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Nghiên cứu được thực hiện trên 30 trường hợp ULTBLLT đã được chẩn đoán tại Bệnh viện K, thỏa mãn tất cả các tiêu chuẩn lựa chọn và không có tiêu chuẩn loại trừ giai đoạn từ tháng 3/2023 đến tháng 11/2023..

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

Phương pháp chọn mẫu: Lấy mẫu thuận tiện, có chủ đích.

Các chỉ tiêu nghiên cứu:

Tỷ lệ bộc lộ dấu ấn miễn dịch (CD20, CD79a, CD10, BCL-6, MUM-1, Ki-67) trên các tiêu bản sử dụng kỹ thuật sắp xếp dãy mô và trên các tiêu bản nhuộm mẫu mô nguyên vẹn

Quy trình nghiên cứu:

- Thu thập tất cả các mẫu block và tiêu bản HE, HMMD của các bệnh nhân có trong danh sách mẫu đạt tiêu chuẩn lựa chọn.

- Tiến hành kỹ thuật sắp xếp dãy mô với các mẫu bệnh phẩm đã chọn để nghiên cứu. Các mẫu bệnh phẩm được đặt vào các lỗ trên khối nền trắng theo sơ đồ các vị trí đã mã hóa.

- Tiến hành cắt và nhuộm tiêu bản theo quy trình đã được cài đặt sẵn của hãng Ventana:

- Cách tính điểm nhuộm HMMD CD20, CD79a, CD10, BCL-6, MUM-1 từ 0 đến 3(+) dựa vào đậm độ bắt màu trên 10% tế bào ung thư theo tiêu chuẩn sau:

0 : Hoàn toàn không bắt màu

1(+): không có hoặc màng bào tương dương tính dưới 10% tế bào u.

2(+): Toàn bộ màng tế bào bắt màu trung bình từ 10-30 % tế bào u.

3(+): Toàn bộ màng tế bào bắt màu đậm được quan sát thấy trên 30% TB u

Đọc KQ: 0: âm tính; 1(+), 2(+), 3(+): Dương tính

- Tỷ lệ Ki-67 dương tính được tính bằng số tế bào u dương tính với Ki67 trên tổng số tế bào u.

2.3. Phân tích và xử lý số liệu: Xử lý số liệu bằng phần mềm IPSS 22.0

- Áp dụng test χ^2 để so sánh hai hoặc nhiều tỷ lệ, tính giá trị p. Áp dụng Fisher's Exact test cho các trường hợp có tần số mong đợi < 5. Các phép so sánh có p < 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Khi phân tích bệnh phẩm từ 30 bệnh nhân, thu được kết quả sau:

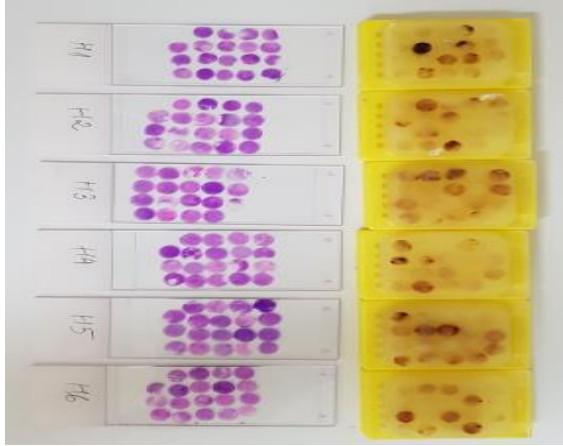
3.1. So sánh kết quả nhuộm HMMD bằng sắp xếp dãy mô và kỹ thuật truyền thống

Bảng 1. So sánh tỷ lệ bộc lộ dấu ấn qua phương pháp nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dãy mô với kỹ thuật truyền thống

STT	Marker (-)	Kỹ thuật truyền thống	Kỹ thuật sắp xếp dãy mô	p
-----	------------	-----------------------	-------------------------	---

		n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %	
1	CD20	30	100	29	96,7	>0.05
2	CD79a	29	96,7	29	96,7	1
3	CD10	6	20	6	20	1
4	BCL-6	14	50	14	50	1
5	MUM-1	22	73	21	70	>0.05

Nhận xét: Nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô và kỹ thuật truyền thống lần lượt có tỷ lệ bộc lộ với các dấu ấn là tương đương nhau, sự khác biệt rất ít ở dấu ấn CD20 và MUM-1, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$



Hình 1. Tiêu bản nhuộm H&E đôi sánh với tiêu bản HMMD



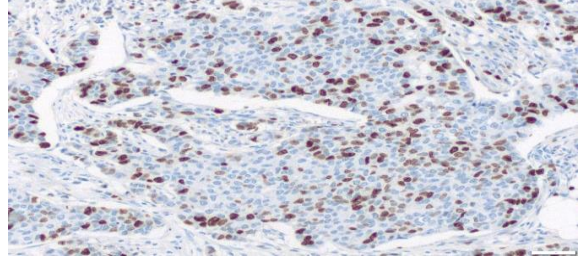
Hình 2. Các mẫu thực hiện bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô

Bảng 2. So sánh mức độ bộc lộ Ki67 qua phương pháp nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô miễn với kỹ thuật truyền thống

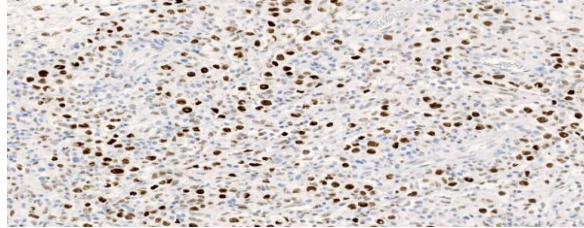
ST T	Ki67	Kỹ thuật truyền thống		Kỹ thuật sắp xếp dây mô		p
		n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %	
1	Ki67 < 70%	7	23,3	7	23,3	1
2	Ki67 ≥ 70%	23	76,7	23	76,7	
Tổng		30	100	30	100	

1	Ki67 < 70%	7	23,3	7	23,3	1
2	Ki67 ≥ 70%	23	76,7	23	76,7	
Tổng		30	100	30	100	

Nhận xét: Ở dấu ấn Ki67, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ bộc lộ khi nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô và kỹ thuật truyền thống.



Hình 3. Hình ảnh Ki67 độ phóng đại x100



Hình 4. Hình ảnh BCL6 độ phóng đại x100

3.2. Phân bố dưới typ theo HMMD

Bảng 3. Phân bố dưới typ theo HMMD

Dưới typ	Số lượng	
	n	Tỷ lệ %
DLBCL-GCB	7	23,3
DLBCL-nGCB	23	76,7

Nhận xét: trong 30 trường hợp u lympho tế bào B lớn lan tỏa, tỉ lệ dưới típ không tâm mầm chiếm tỉ lệ 76,7%

Bảng 4. Sự bộc lộ của các dấu ấn HMMD dưới typ DLBCL – GCB

Marker		N (dương tính)	Tỷ lệ (%)
CD20		7	100
CD79a		7	100
CD10		5	71,4
BCL6		7	100
Mum1		2	42
Ki67	Ki67 < 70%	2	28,5
	Ki67 ≥ 70%	5	71,5

Nhận xét: Trong nghiên cứu của chúng tôi. CD20 và CD79a dương tính ở tất cả trường hợp DLBCL – GCB. CD10 dương tính trong 71,45% trường hợp giúp khẳng định chẩn đoán, âm tính trong 28,6% trường hợp được chẩn đoán DLBCL – GCB. Bcl-6 dương tính trong 100% trong đó MUM-1 âm tính 58% có giá trị chẩn đoán DLBCL

– GCB. 71,5% trường hợp DLBCL – GCB có Ki-67 dương tính > 70%.

Bảng 5. Sự bộc lộ của các dấu ấn HMMD dưới typ DLBCL – nGCB

Marker	N (dương tính)	Tỷ lệ (%)	
CD20	22	95,6	
CD79a	23	100	
CD10	1	5	
BCL6	7	30	
Mum1	19	82,6	
Ki67	Ki67<70%	5	21,7
	Ki67≥70%	18	78,2

Nhận xét: Trong nghiên cứu của chúng tôi. CD20 và CD79a dương tính ở tất cả trường hợp DLBCL – nGCB. CD10 dương tính trong 5. Bcl-6 âm tính trong 70% trường hợp giúp khẳng định chẩn đoán, dương tính trong 30% trường hợp được chẩn đoán DLBCL – nGCB. MUM-1 dương tính 82,6% và Bcl-6 dương tính 30% có giá trị chẩn đoán DLBCL – nGCB. 78,5% trường hợp DLBCL – GCB có Ki-67 dương tính > 70%.

IV. BÀN LUẬN

Có thể thấy rằng, các quy trình kỹ thuật để thực hiện được phương pháp nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô cũng như kỹ thuật thông thường trong nghiên cứu này đã được thực hiện bài bản, đảm bảo các yêu cầu, tiêu chuẩn kỹ thuật để có thể đáp ứng được mục đích cuối cùng là đưa ra được nhận định kết quả chính xác nhất cho người bệnh.

Thực tế trong quy trình thực hiện kỹ thuật sắp xếp dây mô hiện nay, việc chiết các lõi mô hình trụ từ các khối bệnh phẩm hiện đang được kỹ thuật viên thực hiện bằng tay do chưa trang bị được trang thiết bị đảm bảo yêu cầu. Điều này là một nét khác nhất so với kỹ thuật sắp xếp dây mô đang được thực hiện trên thế giới. Trên thế giới, để tiến hành thực hiện kỹ thuật sắp xếp dây mô chính xác nhất thiết cần các trang thiết bị để lấy mẫu mô, tập trung trên một khối nền. Thiết bị thường được sử dụng là máy lấy mẫu mô (Tissue arrayer). Thiết bị này cho phép lấy lõi mẫu mô với nhiều kích thước khác nhau: 0,6mm, 1mm, 1,5mm, 2mm, 3mm, 4mm. Tùy thuộc vào kích thước lõi mẫu mô cần lấy mà ta sử dụng đầu lấy mẫu mô cho phù hợp. Do vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi mới đang tiến hành lấy được đầu sinh thiết da có đường kính 0,5cm và trên một tiêu bản hiện chỉ đặt được 20 mẫu. Trong khi, một nghiên cứu khác trên thế giới đã chỉ ra, họ đã thường xuyên sử dụng sinh thiết lõi đường kính chỉ có 0,6mm và khoảng cách giữa

các lõi trong tiêu bản chỉ là 0,8mm. Với sự sắp xếp như vậy, trong một khu vực tiêu bản có kích thước 45x25mm, có thể sắp đặt được tối đa lên tới 1000 lõi, nhưng các tác giả hiện chỉ thường đặt từ 400-800 lõi. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, việc sử dụng đầu chiết lớn hơn có thể gây ảnh hưởng xấu đến các khối mô ban đầu và đồng thời, làm giảm đáng kể số lượng mẫu vật có thể sắp xếp: chỉ có khoảng 100-150 lõi có đường kính 2mm có thể đặt được trong một khối TMA. Ngược lại, việc giảm kích thước xuống khoảng 0,4mm có thể cho phép sắp xếp được lên tới khoảng 2500 mẫu trong một khối TMA³. Đây cũng là một hạn chế mà bản thân nghiên cứu mắc phải trong quá trình thực hiện, tuy nhiên, hạn chế này khó khắc phục được do chưa có máy lấy mẫu phù hợp.

Ngoài ra, trong quá trình thực hiện, nhận thấy phương pháp HMMD có tồn tại song song cả ưu điểm và nhược điểm. Ưu điểm của phương pháp này là, có thể làm nhiều mẫu bệnh phẩm cùng 1 lúc, cùng 1 điều kiện làm xét nghiệm nên sẽ đánh giá được chính xác kết quả khi so sánh các mẫu với nhau. Ngoài ra, nó còn có thể giúp tiết kiệm hóa chất, vật tư tiêu hao khi làm xét nghiệm (lam kính,, lamén,...): trong đề tài: sử dụng lõi 5mm, 19 mẫu xét nghiệm trong 1 block sắp xếp dây mô nên sẽ tiết kiệm được hóa chất nhuộm là 1/19 lần so với làm bình thường. Từ đây có thể giúp giảm bớt một phần, tuy là rất nhỏ về gánh nặng tổng chi phí điều trị của bệnh nhân ung thư. Do thực tế, chúng ta đều biết, để điều trị các loại bệnh tật nói chung và đặc biệt ung thư nói riêng, người bệnh phải tốn chi phí rất lớn bởi vì đây là bệnh cần có thời gian điều trị dài và phí dành cho hóa chất, các phương pháp điều trị lại khá đắt đỏ. Một con số chỉ ra, chỉ sau khoảng 12 tháng điều trị, có đến 34% bệnh nhân không đủ tiền mua thuốc điều trị sau 12 tháng phát hiện bệnh, 22% không thể thanh toán chi phí đi lại, 24% không đủ khả năng chi trả chi phí thường xuyên trong gia đình. 41% người bệnh sống sót sau một năm điều trị phải đối mặt với hệ lụy tài chính nặng nề. Bởi vậy, ưu điểm của phương pháp nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dây mô có thể đem lại ý nghĩa nhân văn rất lớn với người bệnh. Ngoài ra, một số nghiên cứu tại nước ngoài khác cũng đã chỉ ra, TMA có ưu điểm có thể khảo sát nhiều mẫu cùng một thời điểm, tiết kiệm thời gian và chi phí, do đó, kỹ thuật này có tiềm năng lớn trong xác định, phát hiện các gen và protein, là công cụ sàng lọc đối với một số bệnh hoặc để định type cụ thể trong bệnh. Nishizuka và cộng sự đã

sàng lọc các dòng tế bào sử dụng TMA để xác định gen Villin và Moesin có thể sử dụng để phân biệt đại tràng với Adenocarcinoma ở buồng trứng. Việc xác định các dấu ấn sinh học bằng kỹ thuật TMA còn có ý nghĩa trong tiên lượng bệnh, như tác giả Khanna và cộng sự đã chứng minh được sự biểu hiện Ezrin cao có liên quan đến di căn sớm và tiên lượng kém. Cũng như vậy, Fong và cộng sự đã sử dụng TMA trong nghiên cứu sự biểu hiện của TROP2 trong ung thư biểu mô tế bào vảy của khoang miệng cho thấy sự biểu hiện quá mức của TROP2 có ý nghĩa đáng kể với thời gian sống thêm của bệnh nhân ⁶

Nhược điểm thực tế của kỹ thuật này đó là sự không đáng tin cậy của nhuộm hóa mô miễn dịch. Thực chất, HMMD là xét nghiệm có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, tuy vậy phụ thuộc rất nhiều các yếu tố xung quanh. Từ hóa chất, sinh phẩm, cho tới kỹ thuật viên đều đòi hỏi sự trọn vẹn. Trong quá trình nhuộm, kỹ thuật viên phải nắm vững kiến thức về nhuộm HMMD để kiểm soát được tất cả yếu tố ảnh hưởng đến quá trình kỹ thuật để đảm bảo chất lượng của tiêu bản nhuộm. Trong quá trình thực hiện, có một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến phương pháp nhuộm HMMD bằng kỹ thuật sắp xếp dãy mô, đó là: lấy bệnh phẩm không đạt yêu cầu; cố định bệnh phẩm chưa đúng kỹ thuật (bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy, chất cố định không thích hợp, bệnh phẩm pha quá dày, làm giập nát bệnh phẩm, thời gian cố định chưa đảm bảo); Bộc lộ kháng nguyên chưa đúng kỹ thuật (dung dịch bộc lộ không đảm bảo do không đúng tỷ lệ, hết hạn sử dụng, thời gian bộc lộ quá ngắn gây dương tính yếu hay âm tính giả hoặc quá dài gây tiêu bản bị nền, nhiệt độ bộc lộ không phù hợp); Nhuộm nhân quá nhạt không có sự tương phản màu hoặc quá đậm làm che lấp mất một số kháng nguyên dương tính yếu...⁶

U lympho tế bào lớn lan tỏa là mộtтип u lympho tế bào tiến triển nhanh đặc trưng mô học bởi sự tăng sinh các tế bào u có nguồn gốc từ tế bào, kích thước nhân lớn hoặc bằng mô bào, phát triển lan tỏa, làтип mô học thường gặp nhất trong u lympho, chiếm khoảng 30-40% u lympho không Hodgkin ở người lớn trên toàn thế giới¹, Nghiên cứu của Sharon và cộng sự trên 160 trường hợp cho thấy tỉ lệ dướiтип tâm mầm chiếm 45%, dướiтип không tâm mầm chiếm 55%. Nghiên cứu của Hans và cộng sự trên 152 bệnh nhân cho thấy tỉ lệ dưới nhóm không tâm mầm là 58% cao hơn so với dưới nhóm tâm mầm là 42%⁸ các nghiên cứu này đều có kết quả phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi. Trước

một trường hợp tổn thương nghi ngờ u lympho tế bào lớn, việc định dòng tế bào hết sức quan trọng để xác định tế bào thuộc dòng B chúng tôi sử dụng 2 dấu ấn miễn dịch là CD20 và CD79a, Hầu hết các trường hợp ULTBLLT đều bộc lộ dấu ấn CD20 tuy nhiên có một tỉ lệ nhỏ âm tính, các trường hợp này đều bộc lộ dấu ấn CD79a; bộ 3 dấu ấn dùng để định dướiтип tâm mầm và không tâm mầm của ULTBLLT theo sơ đồ Hans là CD10 và BCL6 là các dấu ấn dòng tâm mầm, bộc lộ đồng thời trong u lympho Burkitt và dương tính với một số trường hợp ULTBLLT(CD10 dương tính khoảng 20-30%; BCL6 dương tính khoảng 50-70% khi sử dụng cut-off là 30% tế bào u dương tính. MUM1 là một yếu tố phiên mã biểu hiện trong bước cuối cùng của quá trình biệt hóa tế bào trong tâm mầm và trong tế bào hậu tâm mầm, bộc lộ ở tương bào và nhóm nhỏ tập con tế bào tâm mầm. Ki67 là một kháng nguyên nhân được bộc lộ trong chu kỳ tế bào. Phần trăm các tế bào bộc lộ Ki67 phản ánh tỉ lệ tế bào u có hoạt động phân bào. Ý nghĩa tiên lượng của sự bộc lộ Ki67 được xác định trong nhiều loại u khác nhau, tuy nhiên trong ULTBLLT thì còn đang được tranh luận. Một số nghiên cứu cho thấy bộc lộ Ki-67 cao là yếu tố tiên lượng xấu trong khi đó một số khác thấy mối liên quan giữa chỉ số Ki-67 thấp và hiệu quả điều trị xấu hơn; một số khác không tìm thấy mối liên quan giữa chỉ số Ki-67 và tiên lượng bệnh.

V. KẾT LUẬN

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỉ lệ bộc lộ dấu ấn CD20, CD79a, CD10, BCL6 và Ki67 giữa kỹ thuật sắp xếp dãy mô với kỹ thuật truyền thống ($p > 0,05$);

- Sử dụng công thức của Hans, DLBCL – nGCB chiếm tỉ lệ cao tới 76,7% và DLBCL – GCB chiếm 23,3%

- Kỹ thuật sắp xếp dãy mô có thể xem xét ứng dụng trong các labo Giải phẫu bệnh để thực hiện trong những nghiên cứu mà vẫn đảm bảo tính chính xác của kết quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Global Cancer Statistics 2020:** GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries - Sung - 2021 - CA: A Cancer Journal for Clinicians - Wiley Online Library.
2. **Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., et al.** (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. International journal of cancer, 136 (5), E359-E386.
3. **Phạm Văn Tuyển, Đoàn Minh Khuy, Nguyễn Văn Hưng, Lê Đình Roanh,** Nghiên cứu đặc điểm hóa mô miễn dịch trong u lympho không

hodgkin lan tỏa tế bào lớn Tạp chí Y học Việt Nam, tháng 12-2017 ập 461, số đặc biệt: 160-166.

4. **Phạm Văn Tuyên**, Nghiên cứu phân loại u lympho ác tính không Hodgkin tế bào B theo WHO 2008, luận án tiến sĩ, Trường Đại Học Y Hà Nội. Published online 2021.

5. **Fisher SG, Fisher RI**. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma Oncogene. 2004;23 (38):6524-6534. doi:10.1038/sj.onc.1207843.

6. **Nguyễn Thị Thu Hương**, Ứng dụng kỹ thuật sắp xếp dây mô trong nghiên cứu các dấu ấn ER, PR, Her2, Ki67 ở bệnh nhân ung thư vú, Luận văn thạc sĩ, Đại học Y Hà Nội. Published online 2019.

THIẾT LẬP QUY TRÌNH ASO-PCR PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN TRÊN VÙNG KHỞI ĐỘNG GEN TERT Ở BỆNH NHÂN U THẦN KINH ĐỆM

Lương Bắc An¹, Dương Bích Trâm¹, Hoàng Anh Vũ¹

TÓM TẮT

Mở đầu: U thần kinh đệm là nhóm bệnh lí thường gặp trong u não ác tính nguyên phát tại hệ thần kinh trung tâm, chiếm khoảng 75% tổng số trường hợp u não ác tính nguyên phát. Những biến đổi di truyền trên vùng khởi động gen TERT xảy ra ở 70% - 80% bệnh nhân u thần kinh đệm, cho thấy vai trò then chốt của gen TERT trong quá trình phát sinh ung thư. Xác định đột biến trên gen TERT rất cần thiết và đang được tích hợp vào trong qui trình chẩn đoán phân loại u thần kinh đệm. **Mục tiêu:** Nghiên cứu quy trình ASO-PCR SYBR Green phát hiện đột biến c.-146C>T từ mẫu DNA của bệnh nhân u thần kinh đệm. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang. Thiết kế cặp mồi và thiết lập điều kiện phản ứng ASO-PCR SYBR Green phát hiện đột biến c.-146C>T. Giá trị của phương pháp được so sánh với phương pháp giải trình tự Sanger. **Kết quả:** Thiết kế cặp mồi và thiết lập được điều kiện tối ưu cho phản ứng ASO-PCR SYBR Green phát hiện đột biến c.-146C>T. Kết quả đột biến được kiểm chứng lại bằng phương pháp giải trình tự Sanger có sự tương đồng là 100%. **Kết luận:** Nghiên cứu thiết lập thành công qui trình ASO-PCR SYBR Green xác định đột biến c.-146C>T. **Từ khóa:** U thần kinh đệm, TERT, c.-146C>T, ASO-PCR.

SUMMARY

ESTABLISHMENT OF THE DETECTION OF TERT PROMOTER MUTATIONS IN GLIOMAS BY USING ASO-PCR

Introduction: Gliomas is one of the most frequent types of primary malignant tumors in the central nervous system (CNS), accounting for 75% of all primary malignant brain tumors. The alterations in the TERT promoter have been reported in 70% to 80% of gliomas, suggesting a pivotal role in oncogenesis. The identification of TERT mutations is essential and is currently integrated into gliomas diagnostic procedures. **Objective:** To study the ASO-SYBR Green PCR procedure for detecting the c.-

146C>T mutation in DNA obtained from patients with gliomas. **Methods:** A cross-sectional descriptive study. Designing specific primers and optimizing the ASO-PCR conditions to detect c.-146C>T mutation. The procedure were validated by the Sanger sequencing. **Results:** Successfully designed primers and optimized the ASO- SYBR Green PCR procedure to detect c.-146C>T mutation. The c.-146C>T mutation results showed 100% concordance with Sanger sequencing results. **Conclusion:** The successful optimization of the c.-146C>T mutation detection approach by ASO- SYBR Green PCR. **Keywords:** Glioblastoma, TERT, c.-146C>T, ASO-PCR.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U thần kinh đệm (gliomas) đứng thứ 3 trong các nguyên nhân ung thư gây tử vong ở lứa tuổi trung niên và là nguyên nhân gây tử vong thứ 2 ở trẻ em. Khối u não ác tính nguyên phát chiếm khoảng 2% ung thư các cơ quan khác nhưng để lại hậu quả rất lớn như di chứng nặng, tử vong cao. Tỷ lệ mắc u thần kinh đệm trong các khối u não là 2 – 3/100.000 người trưởng thành, và chiếm khoảng 52% tất cả các khối u não nguyên phát [1]. U thần kinh đệm có thể gặp ở mọi lứa tuổi, tuy nhiên 75% bệnh nhân được chẩn đoán bệnh dưới 20 tuổi (một số nghiên cứu có ngưỡng là 16 tuổi), tỷ lệ mắc bệnh cao nhất nằm ở độ tuổi từ 5 đến 9 tuổi. Thời gian sống thêm của bệnh nhân nếu không điều trị thường chỉ vài tháng kể từ khi chẩn đoán. Nếu được điều trị thích hợp thì 37% bệnh nhân sống sót sau 1 năm, 20% sống sót sau 2 năm và 13% sau 3 năm [2].

Những đột biến vùng khởi động gen TERT xảy ra chủ yếu ở vị trí -124 bp và -146 bp từ ATG tại vùng đầu của vùng khởi động gen TERT, tạo các liên kết với các yếu tố phiên mã gồm EST1/2, GABP, P52 (Nfkb2), dẫn đến tăng biểu hiện telomerase, có thể do sự sao chép các yếu tố di truyền [3]. Đột biến vùng khởi động gen TERT chiếm tỷ lệ cao trong u thần kinh đệm và trên nhiều loại ung thư, cho thấy vai trò quan trọng của telomerase trong sự phát triển của khối u và

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Lương Bắc An

Email: luongbacan1991@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.2.2024

Ngày phản biện khoa học: 20.3.2024

Ngày duyệt bài: 10.4.2024