

VAI TRÒ VÀ NHỮNG CẬP NHẬT CHẨN ĐOÁN VỀ GIẢI PHẪU BỆNH – TẾ BÀO BỆNH HỌC

Đặng Trần Tiến¹, Vũ Sỹ Quân¹

TÓM TẮT

Chẩn đoán giải phẫu bệnh kinh điển và hiện đại rất quan trọng, giúp ích rất nhiều cho các bác sỹ lâm sàng về điều trị tiên lượng bệnh. Song hành cùng những tiến bộ không ngừng về kỹ thuật và cập nhật những chẩn đoán mới, kết hợp với những thuốc điều trị mới nên Giải phẫu bệnh tế bào học đã phát triển không ngừng và ngày càng nở rộ. Đặc biệt dựa trên Mô bệnh học, HMMD và sinh học phân tử.

Từ khóa: Cập nhật chẩn đoán, giải phẫu bệnh, tế bào học.

ABSTRACT

ROLES AND DIAGNOSTIC UPDATES ON THE PATHOLOGY – CYTOLOGY

Dang Tran Tien¹, Vu Sy Quan¹

Diagnosis of classic and modern pathology is very important, helping clinicians to treat, the prognosis of disease. Continuing technical progress and updating new diagnoses, In combination with new therapeutic drugs, pathology and cytology has been ongoing and increasingly flourishing. Based on histopathology, immunohistochemistry and molecular biology

Key words: diagnostic updates, pathology, cytology

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong chẩn đoán các khối u, xét nghiệm tế bào học và mô bệnh học là cực kỳ quan trọng. Đây là tiêu chuẩn “vàng”, có tính cách quyết định nhất, là cơ sở vững chắc không những cho việc chẩn đoán bệnh, định hướng điều trị và xác định tiên lượng bệnh.

II. CÁC PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương pháp chọc hút kim nhỏ

Đây là phương pháp hay sử dụng nhất. Người ta sử dụng kim và bơm tiêm chọc vào khối u hoặc hạch để lấy ra một ít dịch u. nhuộm tế bào học. Để chọc chính xác dựa vào không gian ba chiều dưới hướng dẫn của chẩn đoán hình ảnh như:

- Chọc hút kim nhỏ u vú dưới hướng dẫn chụp vú.

- Chọc u giáp trạng, u gan dưới hướng dẫn của siêu âm có thể phát hiện UT như tuyến giáp dưới 0,5cm còn rất nhỏ hoặc ung thư vú. Việc chẩn đoán dựa vào phân loại theo RAS theo WHO và theo hệ Bethesda

- Chọc u phổi, các khối u sâu trong ổ bụng dưới hướng dẫn của CT. Với những nhà tế bào học có kinh nghiệm, độ chính xác có thể đạt đến 90%.

2.2. Phương pháp áp lam

Phương pháp áp lam được sử dụng trong các trường hợp:

- Bệnh nhân có chảy dịch núm vú

- Các khối u vỡ loét, phương pháp này đơn giản

1. Bệnh viện E Hà Nội

- Ngày nhận bài (received): 31/5/2018; Ngày đăng bài (Accepted): 25/6/2018

- Người phản hồi (Corresponding author): Đặng Trần Tiến

- Email: tien_hangbe@yahoo.com; ĐT: 0913503496

nhưng cho tỷ lệ dương tính thấp. Ví dụ chẩn đoán tế bào học qua áp lam đối với những bệnh nhân ung thư vú qua dịch núm vú chỉ phát hiện được khoảng 40-60% các trường hợp.

- Chẩn đoán áp lam tức thì: Trong trường hợp không có máy cất lạnh, bác sĩ Giải phẫu bệnh cắt u, áp lam kính để chẩn đoán bằng tế bào học. Rất tốt ở những nơi chưa có máy cất lạnh hoặc những u não không thể lấy mẫu lớn được, và vẫn giữ nguyên được hình thái tế bào.

2.3. Dịch phết lam kính

Phương pháp này sử dụng chủ yếu trong làm phiên đồ âm đạo. Bác sĩ phụ khoa dùng dụng cụ lấy

tế bào ở cổ tử cung, phết trên lam kính rồi nhuộm tiêu bản để chẩn đoán tế bào học. Phương pháp này rất quan trọng để phòng bệnh và phát hiện sớm ung cổ tử cung. Qua phiên đồ âm đạo (nhuộm Papanicolaou - PAP), sử dụng hệ thống phân loại Bethesda 2014, các nhà tế bào học có thể phát hiện được các tổn thương viêm không đặc hiệu; các tổn thương viêm đặc hiệu (nấm, trùng roi, liên quan đến nhiễm virus); những bất thường tế bào từ mức độ nhẹ như biến đổi tế bào chưa có ý nghĩa đến các tổn thương nội biểu mô độ thấp (loạn sản nhẹ) cho đến những tổn thương nội biểu mô độ cao (loạn sản vừa, loạn sản nặng, ung thư biểu mô tại chỗ) rồi đến ung thư biểu mô xâm nhập.

Xét nghiệm Pap truyền thống



Cập nhật: dùng phương pháp nhuộm ThinPrep Pap Test cho kết quả hơn hẳn phương pháp PAP do 80% không làm mất mát tế bào, không lẫn chất nhầy nên độ đặc hiệu có thể lên đến 90%. Với xét nghiệm

ThinPrep, hình ảnh tế bào khi soi trên kính hiển vi sẽ rõ ràng, sắc nét nên giúp bác sĩ đọc dễ dàng nhận diện tế bào tổn thương, bất thường, mức độ và cho kết quả chính xác đến 80 - 90%.

The ThinPrep® Pap Test



2.4. Phương pháp Tế bào học

Ưu điểm: Kết quả nhanh, chính xác đơn giản chi phí thấp

Khuyết điểm: có thể có âm tính giả, do chọn

không đúng chỗ u, tế bào u gần giống tế bào lành nên khó chẩn đoán dương tính giả: tế bào sau xạ trị thoái hóa, tế bào không điển hình.

Phân loại của tuyến giáp theo hệ Bethesda[5]

Bethesda class	Diagnostic category	Cancer risk (%)
I	Nondiagnostic	1-4
II	Benign	0-3
III	AUS or FLUS	5-15
IV	FN/SN	15-30
V	SUSP	60-75
VI	Malignant	97-99

AUS: Atypia of undetermined significance, FLUS: Follicular lesion of undetermined significance, FN: Follicular neoplasm, SN: Secondary neoplasm, SUSP: Suspicious for malignancy. Adapted and modified from reference [1]

xiv The 2014 BETHESDA SYSTEM FOR REPORTING CERVICAL CYTOLOGY • Reactive cellular changes associated with: – Inflammation (includes typical repair) • Lymphocytic (follicular) cervicitis – Radiation – Intrauterine contraceptive device (IUD) • Glandular cells status post hysterectomy ORGANISMS • <i>Trichomonas vaginalis</i> • Fungal organisms morphologically consistent with <i>Candida</i> spp. • Shift in flora suggestive of bacterial vaginosis • Bacteria morphologically consistent with <i>Actinomyces</i> spp. • Cellular changes consistent with herpes simplex virus • Cellular changes consistent with cytomegalovirus OTHER • Endometrial cells (<i>in a woman ≥45 years of age</i>) (<i>Specify if “negative for squamous intraepithelial lesion”</i>)	EPITHELIAL CELL ABNORMALITIES SQUAMOUS CELL • Atypical squamous cells – of undetermined significance (ASC-US) – cannot exclude HSIL (ASC-H) • Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) (<i>encompassing: HPV/mild dysplasia/CIN 1</i>) • High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) (<i>encompassing: moderate and severe dysplasia, CIS; CIN 2 and CIN 3</i>) – with features suspicious for invasion (<i>if invasion is suspected</i>) • Squamous cell carcinoma GLANDULAR CELL • Atypical – endocervical cells (<i>NOS or specify in comments</i>) – endometrial cells (<i>NOS or specify in comments</i>) – glandular cells (<i>NOS or specify in comments</i>) • Atypical – endocervical cells, favor neoplastic – glandular cells, favor neoplastic • Endocervical adenocarcinoma in situ • Adenocarcinoma – endocervical – endometrial – extrauterine – not otherwise specified (NOS) OTHER MALIGNANT NEOPLASMS: (<i>specify</i>)
--	---

2.5. Chẩn đoán mô bệnh học

Đây là phương pháp rất quan trọng, là tiếng nói cuối cùng, là chuẩn vàng cho phép chẩn đoán xác định, hướng điều trị, tiên lượng bệnh.

2.5.1. Chẩn đoán xác định

Chẩn đoán xác định lành hay ác. Không cho phép dương tính giả, có thể kiểm tra được kết quả của các phương pháp khác như chẩn đoán lâm sàng, tế bào học, chẩn đoán hình ảnh, các xét nghiệm sinh hoá, huyết học ...

2.5.2. Phân loại mô học

Đối với mỗi khối u đều có rất nhiều thể mô bệnh học khác nhau, mức độ ác tính khác nhau. Việc phân loại mô học có ý nghĩa quan trọng trong tiên lượng và điều trị.

Phân loại phụ thuộc hình thái tế bào, kích thước, số nhân chia, Hoại tử u và theo phân loại của WHO, Bethedas,...

Xếp giai đoạn sau phẫu thuật (pTNM). Dựa vào bệnh phẩm sau phẫu thuật, các nhà giải phẫu bệnh đánh giá kích thước u, mức độ xâm lấn, tình trạng di căn từ đó phân được giai đoạn bệnh chuẩn xác hơn so với giai đoạn lâm sàng (TNM) giúp các nhà lâm sàng lập kế hoạch điều trị theo phác đồ tối ưu.

- pT: Kích thước u sau phẫu thuật bao gồm kích thước đo được trên đại thể + kích thước xâm lấn trên vi thể.

- pN: Số hạch di căn trên vi thể

- pM: Di căn xa. Như vậy phân loại pTNM chuẩn xác hơn so với TNM (trước phẫu thuật).

2.6. Sinh thiết tức thì giúp chẩn đoán trong lúc mổ

- Chẩn đoán xác định trong lúc mổ: Khi chẩn đoán lâm sàng, tế bào học, chẩn đoán hình ảnh và các xét nghiệm khác chưa rõ ràng, bệnh nhân sẽ được chỉ định làm sinh thiết tức thì trong lúc mổ. Phẫu thuật viên gây tê tại chỗ, lấy một phần hoặc toàn bộ u chuyển đến khoa giải phẫu bệnh. Các Bác sĩ Giải phẫu bệnh tiến hành cắt bệnh phẩm trên máy cắt lạnh để làm tiêu bản. Dựa vào tiêu bản này, các Bác sĩ Giải phẫu bệnh có thể xác định được u lành

hay ác, loại mô học. Quy trình này được thực hiện trong vòng 10-15 phút, giúp cho phẫu thuật viên có thể xử lý các bước tiếp theo. Bệnh nhân không phải 2 lần phẫu thuật.

- Chẩn đoán tình trạng di căn để đánh giá giai đoạn.

- Kiểm tra diện cắt xem còn tế bào ung thư không. Xét nghiệm để biết diện cắt còn tế bào ung thư trên vi thể rất quan trọng đặc biệt trong phẫu thuật bảo tồn. Ví dụ: Phát hiện có di căn hạch cửa trong ung thư vú để có thể vét hạch nách hay không.

Áp lam tức thì cũng rất quan trọng: giúp chẩn đoán chính xác, ít âm tính giả do tế bào không bị biến đổi, và nhất là u não tế bào tức thì là ưu thế vì ta không thể lấy u với kích thước lớn được. Hiện nay có xu thế quay lại tế bào học áp lam.

2.7. Hoá mô miễn dịch

Sử dụng nguyên lý việc kết hợp kháng nguyên với kháng thể đặc hiệu nhằm:

- Xác định nguồn gốc các khối u kém biệt hoá, không biệt hóa hoặc sarcome

- Xác định các dòng tế bào hệ lymphô: tế bào T, tế bào B vvv..

- Chẩn đoán phân biệt giữa các tủy mô học: Sử dụng cho một số trường hợp khó phân biệt loại mô học.

- Xác định một số yếu tố liên quan đến điều trị nội tiết như thụ thể nội tiết (estrogen, progesteron); một số yếu tố tiên lượng: Her-2/neu, p53, Ki-67 giúp điều trị và tiên lượng

Phân loại phân tử u vú

Trong chiến lược nâng cao chất lượng sống cho bệnh nhân ung thư vú.

HMMD ngày càng được quan tâm nghiên cứu sâu hơn để khẳng định vai trò then chốt của nó trong việc dự đoán đáp ứng điều trị, xác định các liệu pháp điều trị hỗ trợ hệ thống thích hợp cho từng bệnh nhân ung thư vú cũng như đánh giá và chứng minh vai trò của một số đặc điểm sinh học như là các yếu tố tiên lượng bệnh có giá trị: thụ thể nội tiết, HER2, Ki67, p53. Ngoài ra cùng với thụ thể nội tiết, HER2, một số dấu ấn quan trọng khác được sử dụng để phân typ phân tử ung thư biểu mô tuyến vú.

Typ phân tử	ER	PR	HER2	KI67	CK5/6 HOẶC EGFR
Lòng ống A	+	và/hoặc +	-	<15%	
Lòng ống B Her2 (-)	+	và/hoặc +	-	≥15%	
Lòng ống B-HER2+	+	và/hoặc +	+		
HER2	-	-	+		
Dạng đáy	-	-	-		và/hoặc +
Bộ 5 âm tính	-	-	-		-

Năm 2013, Engström và cs sử dụng các dấu ấn HMMD: ER, PR, HER2, Ki67, CK5/6 và EGFR để phân loại phân tử ung thư vú với các tiêu chuẩn như sau: [1]

- Xác định tình trạng vi di căn mà trên các tiêu bản nhuộm thường quy không phát hiện được (Ví dụ sử dụng kháng thể kháng keratin (CK) phát hiện vi di căn của ung thư biểu mô vào hạch).

- Phân biệt u lành và u ác: Vai trò của hoá mô miễn dịch trong việc xác định u lành và u ác còn khiêm tốn. Tuy nhiên trong một số trường hợp, hoá mô miễn dịch cũng giúp các nhà giải phẫu bệnh phân biệt u lành và u ác. Ví dụ phân biệt hạch viêm quá sản với u lymphô thể nang, người ta sử dụng các kháng thể Bcl-2 (dương là Lympho, âm là quá sản nang lympho CD3(Dòng T), CD20 (Dòng B), Kappa (+) Lamda(-): U lympho.

Ung thư tuyến giáp sử dụng dấu ấn HMMD Galectin -3 (Nhân và NSC) Dương là ác tính. Dấu ấn CEA, P53 âm là tuyến lành, dương là ung thư.

2.8. Sinh học phân tử

- Song song với HMMD, các kỹ thuật sinh học phân tử và di truyền học hiện đại cũng góp phần không nhỏ, giúp các nhà giải phẫu bệnh có thể chẩn đoán sâu hơn, chính xác hơn trong một số ung thư và bệnh gây ra đột biến. Nhằm điều trị đích, không dừng lại ở phẫu thuật, hóa trị, xạ trị, nội tiết. Ví dụ HER2NEU cho k vú, dạ dày EGFR cho ung thư

phổi, Kras cho ung thư đại tràng, Ckit cho GIST, ALK cho ung thư biểu mô không tế bào nhỏ. Đặc biệt từ năm 1998 đến nay, nhiều loại thuốc mới là kháng thể đơn dòng đuôi -mab hoặc phân tử nhỏ đuôi -nib, trong liệu pháp đích phân tử (Molecularly Targeted therapy) loại đầu tiên được sử dụng là Trastuzumab điều trị ung thư vú và Glivec (Imatinib) trong GIST kit(+).

- **Trên nhiễm thể đồ, lai tại chỗ ISH (in situ hybridization):** Gắn huỳnh quang (FISH), gắn màu (CISH), gắn bạc (SISH).

FISH: Dùng môi dò DNA gắn huỳnh quang để phát hiện khuếch đại gen HER2..

CISH: Dùng môi dò DNA đánh dấu digoxigenin phát hiện bởi chất màu (DAB signal) để phát hiện khuếch đại gen, trong Ung thư vú HER2 ..

SISH: DNA đánh dấu dinitro-phenol (DNP) phát hiện bởi chất màu bạc(silver)

Kỹ thuật FISH: Sử dụng môi DNA có gắn huỳnh quang, ví dụ trong ung thư vú, dạ dày phát hiện khuếch đại gen HER2NEU, cho CEP17, đọc KQ trên kính hiển vi huỳnh quang: 20 TB vùng xâm nhập, 60 TB trong trường hợp khuếch đại yếu.

Tỷ số HER2/CEP17>2,2 khuếch đại FISH, 1,8 không khuếch đại, 1,8-2,2 không rõ ràng nên để người khác đếm lại .HER2NEU, HER2NEU: dấu hiệu màu cam. CEP17, CEP17: dấu hiệu màu xanh

- Kỹ thuật Dual-ISH(In situ hybridization)

(Kỹ thuật xét nghiệm lai tại chỗ nhiễm sắc thể gắn 2 màu) có hai ưu điểm nổi bật hơn so với kỹ thuật FISH: một là cho phép quan sát kết quả dưới kính hiển vi quang học thông thường mà không cần kính hiển vi huỳnh quang với những filter và nguồn sáng chuyên dụng như FISH; tín hiệu bền vững, không bị phai dần theo thời gian như với FISH, nên có thể bảo quản tiêu bản lâu dài để khi cần thiết có thể xem lại (như tiêu bản nhuộm Hematoxylin - Eosin (HE)). Gần đây, FDA đã cấp phép sử dụng kỹ thuật xét nghiệm Dual-ISH để xác định tình trạng khuếch đại của gene HER2 trong UTBMTV và UTBMDD.

- **Trên DNA Southern blot(DNA)[6]:** phát hiện những thay đổi cấu trúc DNA (mất đoạn, thêm đoạn). Có thể phát hiện đột biến điểm nếu đột biến điểm làm thay đổi điểm cắt của enzyme giới hạn (restricted enzyme) Sequencing, R PCR gồm: Thu thập mẫu, chuẩn bị mẫu xem xét GPB, tách chiết DNA, kiểm tra chất lượng, xét nghiệm đột biến.

- Chẩn đoán sự hiện diện gen gây bệnh: ALK: ung thư vú đại tràng, ung thư phổi, APC: ung thư đại tràng, gen RBI : u nguyên bào võng mạc, u xương.

Chẩn đoán nguy cơ ung thư: chẩn đoán một số đột biến gen giúp xác định nguy cơ ung thư để có chương trình tầm soát phát hiện sớm UT. Vì thường có 5% ung thư mang tính di truyền nằm trên nhiễm sắc thể thường. Phụ nữ có mang đột biến BRCA1 có 82%

nguy cơ UT vú và 54% nguy cơ UT buồng trứng.

- Chẩn đoán xác định sự di căn; xác định biểu hiện mRNA của cytotetratin trong mô hạch được coi là dấu hiệu của di căn hạch. Trong ung thư phổi chẩn đoán di căn hạch nhờ phát hiện đột biến gen p53 và K-RAS. Đột biến gen EGFR xảy ra ở 4 exon (từ 18 đến 21) mã hóa cho Tyrosin kinase, thường gặp là mất đoạn hoặc đột biến điểm L858R tại exon21.

2.9. Bộ gen ung thư

2003 hoàn tất bản đồ gen người, xác định được gen của một số ung thư, hy vọng cải thiện chẩn đoán, điều trị, phòng ngừa ung thư [2,4,6]

Xét nghiệm máu tìm dấu ấn u (biomarker) đã được sử dụng để phát hiện ung thư tiền liệt tuyến., Đang tìm thêm các dấu ấn đối với ung thư phổi, gan vú, cổ tử cung.

- Sinh thiết lỏng tìm DNA và mRNA du hành trong máu giúp theo dõi đánh giá hiệu quả điều trị bệnh.

- Kỹ thuật Nano sản xuất những phần tử cực nhỏ vận chuyển thuốc đến tế bào ung thư.

- Thiết bị “MasSpec Pen” công bố vào ngày 6/9/2017, dự kiến được dùng trong năm 2018, cho biết khối u không chỉ trong 10 giây, phát minh bởi trường Đại học Texas. Bút đưa vào mô 1/5 giọt nước, sau đó hút dịch trở vào bút vài giây cho kết quả ung thư hay không giúp phẫu thuật viên xử trí thích hợp ngay chính xác 96%[4].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Chủ (2016), *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 Chấn Hùng. Cập nhật thông tin về liệu pháp trúng đích trong điều trị ung thư. Tạp chí Y Dược học lâm sàng 108, tập 9 số đặc biệt tháng 8/2014.
3. Tạ Văn Tờ. Vai trò giải phẫu bệnh trong xét nghiệm sinh học phân tử ung thư.
4. Tạp chí Hội nghị: MEDLATEC 7/2014.
5. Nguyễn Sào Trung. Vai trò giải phẫu bệnh trong phòng chống ung thư. Tạp chí Y học Việt Nam, tháng 12, số đặc biệt, 2017
6. Ritu Nayara David C. Wilbur. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective, Acta Cytologica 2017;61:359–372
7. Dương Thị Thúy Vy, Hứa Thị Ngọc Hà. Tổng quan về u thần kinh nội tiết: Cập nhật chẩn đoán, Tạp chí Y học Việt Nam, tháng 12 số đặc biệt, 2017.