

ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG MẤT BIỂU HIỆN PROTEIN SỬA CHỮA BẮT CẶP SAI (MMRd) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH TRÊN MỘT SỐ BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ NỘI MẠC TỬ CUNG TẠI BỆNH VIỆN K CƠ SỞ QUÁN SỨ NĂM 2021 - 2022

Phạm Thị Hân¹, Lê Hải Giang², Nguyễn Thúy Hương³, Mai Thị Nhung¹, Lương Thị Mỹ Hạnh⁴

¹Khoa Giải phẫu bệnh - Tế bào Quán Sứ, Bệnh viện K

²Bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội

³Khoa Y, trường đại học Phenikaa

⁴Trường ĐH Karolinska, Thụy Điển

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bắt cặp sai (MMRd) trên một số bệnh nhân ung thư biểu mô nội mạc tử cung (UTBMNMTC) bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch tại bệnh viện K năm 2021 và 2022 và ghi nhận một số đặc điểm lâm sàng, bệnh học của các bệnh nhân trong nghiên cứu.

Đối tượng, phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang 20 bệnh nhân chẩn đoán lần đầu là UTBMNMTC, được phẫu thuật cắt toàn bộ tử cung và phần phụ tại khoa Điều trị Yêu Cầu Quán Sứ, Bệnh viện K trong năm 2021 và 2022.

Kết quả: Tỷ lệ bệnh nhân có mất biểu hiện protein sửa chữa bắt cặp sai (MMRd) là 40% (8/20 bệnh nhân). Các protein MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2 có lần lượt 20%, 5%, 5% và 35% số ca mất biểu hiện. MMRd không liên quan đến típmô bệnh học, độ mô học, giai đoạn bệnh.

Kết luận: Tỷ lệ bệnh nhân UTBMNMTC có MMRd là 40%. Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan giữa tình trạng MMRd với típmô bệnh học, độ mô học và giai đoạn bệnh ($p > 0,05$).

Từ khóa: Protein sửa chữa bắt cặp sai (MMR), mất biểu hiện protein sửa chữa bắt cặp sai (MMRd), mất ổn định vi vệ tinh (MSI), ung thư biểu mô nội mạc tử cung (UTBMNMTC), phân loại mô bệnh học, phân loại giai đoạn.

ABSTRACT

DNA MISMATCH REPAIR DEFICIENCY STATUS (MMRd) IN SOME ENDOMETRIAL CARCINOMA PATIENTS AT QUANSU CAMPUS - K HOSPITAL AND SOME RELATED CLINICAL AND PATHOLOGICAL FEATURES

Pham Thi Han¹, Le Hai Giang², Nguyen Thuy Huong³, Mai Thi Nhung¹, Luong Thi My Hanh⁴

Objectives: Evaluation of mismatch repair protein expression status in some endometrial carcinoma patients in K hospital in the years of 2021 and 2022 by immunohistochemical stains and recording some related clinical and pathological characteristics of those patients.

Ngày nhận bài:

10/11/2022

Ngày chỉnh sửa:

2/12/2023

Chấp thuận đăng:

18/12/2022

Tác giả liên hệ:

Phạm Thị Hân

Email:

phamthihan.bvk@gmail.com

SĐT: 0988091635

Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bất cặp sai (MMRd)...

Methods: A cross - sectional study was conducted on 20 patients with endometrial carcinoma were oophorohysterectomy at Quansu High quality treatment Department, K hospital in 2021 and 2022.

Results: Percentage of MMRd was 40% (8/20 patients). The expression of these characteristics of MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2 were 20%, 5%, 5% and 35%, respectively. MMRd was not related to histological subtypes, grades and stages.

Conclusions: The rate endometrial carcinoma with MMRd is 40%. The study did not find a relationship between MMRd status and histopathological type, histological grade and stage of disease ($p > 0.05$).

Keywords: Mismatch repair protein (MMR), mismatch repair protein deficiency (MMRd), endometrial carcinoma, histopathological classification, tumor staging.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư nội mạc tử cung là 1 trong 10 ung thư phổ biến nhất trên thế giới cũng như tại Việt Nam [1]. Trong các ung thư phụ khoa, ung thư nội mạc tử cung đứng thứ hai sau ung thư cổ tử cung nhưng tỉ lệ tử vong lại đứng đầu.

Nhiều yếu tố bệnh học tác động đến tiên lượng của ung thư thân tử cung. Trong thực hành hiện nay, tiên lượng của UTBMNMTC chủ yếu dựa vào đánh giá giai đoạn theo phân loại của FIGO [2] hay TNM [3]. Bên cạnh giai đoạn bệnh, những yếu tố lâm sàng, bệnh học được kể đến là độ biệt hóa u, sự xâm nhập mạch và tình trạng di căn hạch, di căn xa của u. Sự đánh giá này chỉ mang tính chất hình thái biểu hiện bên ngoài, không phản ánh bản chất phân tử của từng bệnh nhân riêng biệt.

Gần đây, với sự phát triển vượt bậc của lĩnh vực sinh học phân tử, bản chất phân tử của ung thư nội mạc đã được tìm hiểu sâu rộng bằng những dự án lớn trong lĩnh vực hóa mô miễn dịch và đặc biệt là sinh học phân tử [4, 5]. Theo đó, các nhà khoa học đã tập hợp thành một hệ thống phân loại phân tử của UTBMNMTC. UTBMNMTC được phân thành 4 nhóm phân tử bao gồm nhóm đột biến POLEmut có tiên lượng tốt, nhóm mất ổn định vi vệ tinh (MSI - H hoặc MMRd) có tiên lượng trung gian, nhóm không có đột biến p53 và không có các tổn thương đặc biệt p53wt/NSMP có tiên lượng trung gian và nhóm có đột biến p53 (p53abn) có tiên lượng xấu nhất [5].

Trong bốn nhóm tiên lượng phân tử trên, tình trạng mất ổn định vi vệ tinh (MSI) trên các bệnh ung thư đang là vấn đề nóng trên mọi diễn đàn, trong điều trị cũng như chẩn đoán. Ngoài tiên lượng bệnh,

nó còn dự báo nguy cơ liên quan đến các ung thư khác nếu là đột biến dòng mầm (hội chứng Lynch). Đặc biệt, những bệnh nhân có MMRd/MSI được hưởng lợi bởi liệu pháp miễn dịch đang kéo dài sự sống cho hàng ngàn bệnh nhân ung thư. Chính vì lý do đó, chúng tôi tiến hành đề tài này với mục tiêu là: (1) Đánh giá tỉ lệ MMRd trên một số bệnh nhân UTBMNMTC tại bệnh viện K trong thời gian khảo sát; (2) Đánh giá mối liên quan giữa một số yếu tố lâm sàng và bệnh học trên các bệnh nhân đó.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 20 bệnh nhân được chẩn đoán UTBMNMTC và phẫu thuật tại khoa Điều trị yêu cầu Quán Sứ, bệnh viện K từ tháng 1/2021 đến 8/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu là mô tả cắt ngang, tiến cứu. Thiết kế nghiên cứu là mô tả loạt bệnh với cách chọn mẫu là chọn mẫu toàn bộ các đối tượng đủ tiêu chuẩn nghiên cứu. Thu thập tất cả các bệnh nhân phẫu thuật điều trị UTBMNMTC tại Bệnh viện K và lấy khối nền nhuộm hóa mô miễn dịch. Bên cạnh đó, các đặc điểm về hình thái của u như phân loại mô bệnh học, phân độ mô học, tính chất xâm nhập mạch, xâm nhập lympho quanh u và tổn thương lành tính kèm theo cũng được ghi nhận. Nội dung nghiên cứu: (1) Đánh giá tình trạng MMRd: Đánh giá tình trạng mất biểu hiện của MLH1, MSH2, PMS2, MSH6 bằng phương pháp hóa mô miễn dịch. Theo đó, tác giả lựa chọn khối nền nhuộm HMMD: khối nền có tỉ lệ u cao còn sống cao nhất, có độ mô học cao hơn, phản ứng viêm của cơ thể nhiều hơn, tình trạng xâm

Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bất cặp sai (MMRd)...

nhập mạch nhiều hơn. Tiếp đến, cắt 5 lát cắt liên tiếp có độ dày 5µm trên khối nền đã chọn. Nhuộm 4/5 lát cắt với các kháng thể MLH1, MSH2, PMS2, MSH6 của Roche trên hệ thống máy nhuộm hóa mô miễn dịch tự động BechmarkXT của Roche. Nhuộm H&E 1/5 lát cắt còn lại để đánh giá hình thái mô bệnh học và đối chiếu, kiểm tra kết quả nhuộm. Đọc kết quả dựa theo hướng dẫn của hiệp hội giải phẫu bệnh Hoa Kỳ [6]. Theo đó, từ 1 kháng thể trong 4 kháng thể (MLH1, MSH2, PMS2 và MSH6) trở lên âm tính thì đều xếp vào nhóm MMRd. Tác giả ghi nhận tất cả

tình trạng biểu hiện của từng MMR. (2) Đánh giá mối liên quan giữa tình trạng MMRd với típ mô bệnh học (ung thư biểu mô dạng nội mạc - UTBMDNM, ung thư biểu mô thanh dịch - UTBMTD và típ mô học khác), độ mô học (Độ I, II và III) và giai đoạn bệnh theo FIGO (IA, IB, IIA, IIB, III, IV).

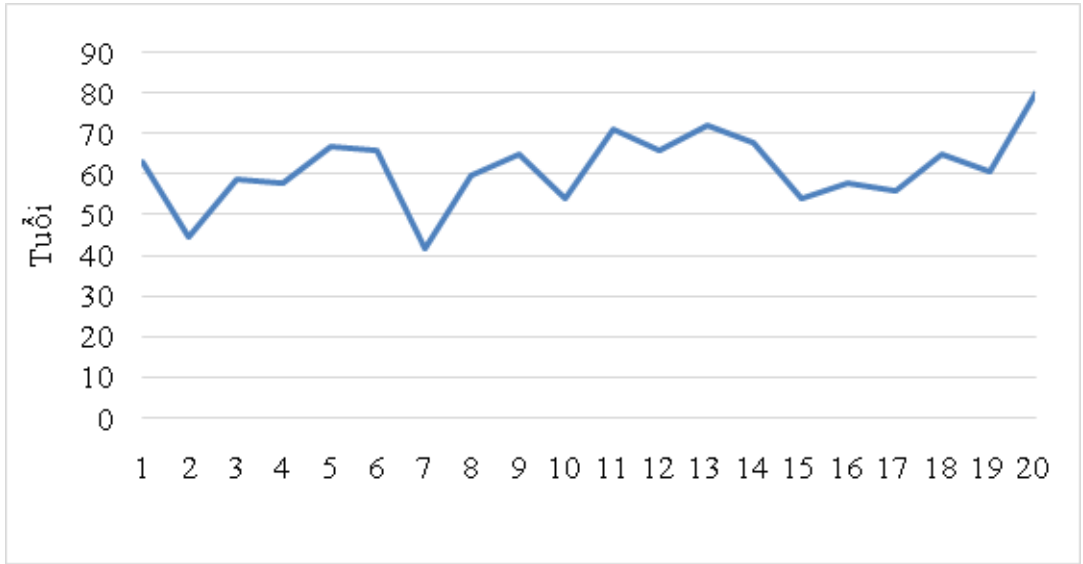
2.3. Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu được phân tích bằng ngôn ngữ thống kê R 4.0.2. Trong đó, tác giả thống kê tần số, tần suất. Các phương pháp kiểm định bao gồm so sánh tỉ lệ, Fisher exact test với mức ý nghĩa thống kê 0,05.

III. KẾT QUẢ

3.1. Một số đặc điểm về lâm sàng và giải phẫu bệnh của các bệnh nhân trong nghiên cứu

Theo số liệu nghiên cứu, tuổi trung bình của bệnh nhân là 61,5 ± 12. Tuổi nhỏ nhất là 42 tuổi và tuổi lớn nhất là 80 tuổi. Phân bố tuổi được thể hiện bằng biểu đồ 1 phía dưới:



Biểu đồ 1: Phân bố tuổi của bệnh nhân trong nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm về độ mô học theo típ mô bệnh học của bệnh nhân trong nghiên cứu

	UTBMNDNM (%)	UTBMTD (%)	Tổng
Độ I	4 (20,0)	0 (0,0)	4 (20,0)
Độ II	11 (55,0)	1 (5,0)	12 (60,0)
Độ III	4 (20,0)	0 (0,0)	4 (20,0)
Tổng	19 (95,0)	1 (5,0)	20 (100)

Tỉ lệ UTBMDNM chiếm 95% (19/20 bệnh nhân). Trong đó, u độ I, II, III chiếm lần lượt 20%, 55% và 20% tổng số bệnh nhân. Chỉ có 1 ca UTBMTD và có độ mô học II.

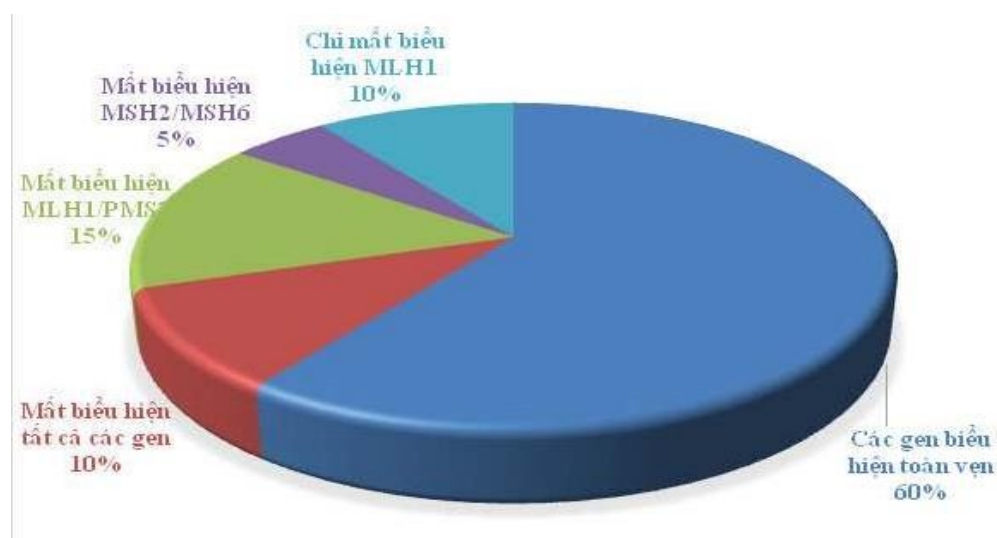
Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bất cặp sai (MMRd)...

Bảng 3: Đặc điểm về giai đoạn bệnh theo típ mô bệnh học của các bệnh nhân trong nghiên cứu

	UTBMNDNM (%)	UTBMTD (%)	TỔNG
GĐ IA	9 (45,0)	0 (0,0)	9 (45,0)
GĐ IB	9 (45,0)	0 (0,0)	9 (45,0)
GĐ II	0 (0,0)	1 (5,0)	1 (5,0)
GĐ III	1 (5,0)	0 (0,0)	1 (5,0)
GĐ IV	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Tổng	19 (95,0)	1 (5,0)	20 (100)

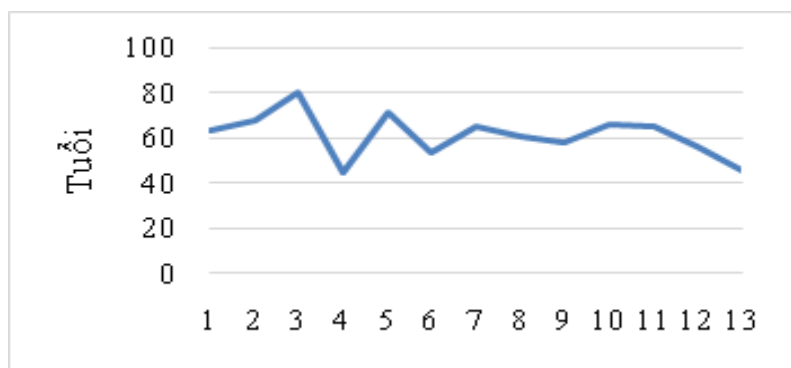
Tỉ lệ ung thư ở giai đoạn I (IA, IB) chiếm tỉ lệ cao nhất, đều chiếm 45% số ca. 1/1 trường hợp UTBMTD phát hiện bệnh ở giai đoạn II. Tỉ lệ bệnh nhân ở giai đoạn III chỉ chiếm 5% (1/20 ca).

3.2. Đặc điểm về tình trạng MMRd



Biểu đồ 2: Tỉ lệ biến đổi MMR

Tỉ lệ mất biểu hiện protein sửa chữa bất cặp sai (MMRd) chiếm 40% (8/20) số trường hợp. Trong số đó, tỉ lệ mất biểu hiện toàn bộ 4 gen là 10%. Đồng mất biểu hiện MLH1/PMS2 là 15%. Chỉ mất biểu hiện MLH1 là 10%.



Biểu đồ 3: Tuổi của các bệnh nhân MMRd

Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bắt cặp sai (MMRd)...

Theo biểu đồ 3.3, tuổi của những bệnh nhân có bất thường MMRd nằm trong độ tuổi từ 46 đến 80 tuổi với tuổi trung bình là $61,3 \pm 15$ tuổi.

Bảng 3: Mối liên quan giữa tình trạng MMRd với độ mô học

	MSS (%)	MMRd (%)	Tổng
Độ I	3 (15,0)	1 (5,0)	4 (20,0)
Độ II	7 (35,0)	5 (25,0)	12 (60,0)
Độ III	2 (10,0)	2 (10,0)	4 (20,0)
Tổng	12 (60,0)	8 (40,0)	20 (100)

Nhóm độ mô học trung gian (độ II) có tỉ lệ mất biểu hiện protein (MMRd) cao nhất với 25%. Tuy nhiên, sự khác biệt về tình trạng MMRd giữa các độ mô học khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 4: Mối liên quan giữa tình trạng MMRd với giai đoạn bệnh

	MSS (%)	MMRd (%)	Tổng
GĐ IA	4 (20,0)	5 (25,5)	9 (45,0)
GĐ IB	6 (30,0)	3 (15,0)	9 (45,0)
GĐ II	1 (5,0)	0 (0,0)	1 (5,0)
GĐ III	1 (5,0)	0 (0,0)	1 (5,0)
Tổng	12 (60,0)	8 (40,0)	20 (100)

Tình trạng MMRd chủ yếu xuất hiện trong giai đoạn IA và IB. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Phân loại hình thái ung thư nội mạc tử cung, đặc biệt là các u độ cao không đáng tin cậy, kể cả trong những trường hợp được các chuyên gia chẩn đoán và có hóa mô miễn dịch hỗ trợ [7]. Sự tương đồng về chẩn đoán nguy cơ về mặt hình thái học giữa các bác sĩ giải phẫu bệnh như độ mô học và xâm nhập mạch là kém ($K \frac{1}{4} 0,35$ và $0,23$, theo thứ tự). Phân típ mô bệnh học cũng chỉ đạt được mức đồng thuận ở mức trung bình ($K \frac{1}{4} 0,58$).

Trong thời đại y học chính xác lên ngôi như hiện nay, việc tìm kiếm một hệ thống phân loại đáng tin cậy hơn trong việc quyết định phương pháp điều trị và hiệu quả điều trị là rất cần thiết. Xác định các đột biến của UTBMNMTTC cho thấy nhiều tiềm năng trong ứng dụng điều trị. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu rất tốn kém và phức tạp. Trong số đó, phân loại

phân tử dựa trên dự án xác định bản đồ gen (TCGA) được cho là hiệu quả và dễ thực hiện hơn cả [5].

Theo phân loại này, u được phân thành 4 nhóm dựa trên những kết quả xét nghiệm di truyền và phân tử, không đánh giá những yếu tố chủ quan khác. Bốn nhóm gồm nhóm tăng đột biến gen POLE có tiên lượng tốt. Nhóm mất ổn định vi vệ tinh (MSI) và nhóm số lượng bản sao thấp (không có đột biến TP 53) có tiên lượng trung gian. Nhóm số lượng bản sao cao (có đột biến TP 53) có tiên lượng xấu nhất. Trong số đó, nhóm MSI chiếm khoảng 26 đến 30% số ca UTBMNMTTC [5].

Đột biến trong các gen sửa chữa bắt cặp sai (MMR) dẫn đến tình trạng mất ổn định vi vệ tinh (MSI). Các phương pháp đánh giá các đột biến trên bao gồm xét nghiệm gen bằng giải trình tự gen (sequencing) hoặc dùng phản ứng khuếch đại chuỗi gen (PCR -

Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bất cặp sai (MMRd)...

polymerase chain reaction amplification) và phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch. Người ta chứng minh được rằng giá trị chẩn đoán của xét nghiệm đột biến gen và hóa mô miễn dịch là tương tự nhau [4].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ MMRd là 40%. Như vậy tỉ lệ này cao hơn so với các báo cáo khác trong y văn [5, 8]. Các nghiên cứu đã nêu thường được thực hiện trên người Châu Âu, Mỹ. Tuy nhiên, nghiên cứu của Hashmi[8] trên 126 bệnh nhân tại Pakistan, một đất nước Châu Á, thì tỉ lệ bất thường các gen MMR là 44%. Trong nghiên cứu này, tác giả đã loại hết những trường hợp UTBMNMTC không liên quan đến lạc nội mạc do y văn cho thấy rằng tình trạng lạc nội mạc có liên quan đến MMRd. Như vậy, đây cũng là một kết quả đáng chú ý về mối liên quan giữa MMRd với tình trạng lạc nội mạc tử cung.

Tuổi của bệnh nhân trong nghiên cứu trung bình là $61,5 \pm 12$ tuổi. Trong đó, tuổi trung bình của bệnh nhân có MMRd là $61,3 \pm 15$ tuổi. Như vậy, độ tuổi có biểu hiện MMRd không khác biệt so với độ tuổi chung của nghiên cứu. Nghiên cứu này cũng tương tự nghiên cứu của Hashmi[8] và Timmerman [9].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa típmô bệnh học, độ mô học và giai đoạn bệnh với tình trạng MMRd. Cũng như nhiều nghiên cứu khác trong y văn, các tác giả cũng không thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa những bệnh nhân MMRd và MSS sau khi chuẩn hóa giai đoạn, típmô học và độ mô học trong phân tích đa biến. Ngoài ra, tác giả Hashmi [8] cũng thấy rằng những đặc điểm của MSI cao ung thư đại trực tràng như độ mô học cao, kém biệt hóa, xâm nhập lympho trong u và quanh u không có ý nghĩa trong UTBMNMTC.

Xét nghiệm MMRd có tầm quan trọng trong việc chẩn đoán và tiên lượng bệnh. Đột biến dòng mầm một trong các gen MMR là nguyên nhân cho những bất thường biểu hiện gen MMR trên những bệnh nhân hội chứng Lynch [5]. Những bệnh nhân mắc hội chứng Lynch có khả năng mắc UTBMNMTC khoảng 20 - 60%. Tuy nhiên, phần lớn các bệnh nhân mắc UTBMNMTC là ngẫu nhiên và mang tính chất cá thể. Trong những trường hợp này, phần

lớn các ca MSI là do hiện tượng metyl hóa. Một nghiên cứu cho thấy, khoảng 77% các trường hợp MSI trong ung thư là do metyl hóa MLH1.

Một ứng dụng nữa của xét nghiệm MSI là lợi ích với liệu pháp kháng PDL-1. Người ta thấy rằng những bệnh nhân UTBMNMTC có MSI-H có khả năng đáp ứng tốt hơn với liệu pháp miễn dịch kháng PDL-1 so với những bệnh nhân ổn định vi vệ tinh [10].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng còn có hạn chế. Chúng tôi không sử dụng xét nghiệm sinh học phân tử trong nghiên cứu này và số liệu bệnh nhân chưa đủ lớn để có thể nội suy. Tuy nhiên, những kết quả nghiên cứu này có thể tương ứng với lâm sàng và mở ra một xu hướng mới trong ứng dụng chẩn đoán các trường hợp mất ổn định vi vệ tinh trên bệnh nhân ung thư nội mạc tử cung tại Việt Nam nhằm tiên lượng và đánh giá đáp ứng với liệu pháp miễn dịch. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng gợi ra những câu hỏi cho những nghiên cứu về sinh học phân tử sâu hơn nhằm tìm hiểu rõ những đột biến gen và di truyền ngoại gen.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi thấy tỉ lệ bệnh nhân UTBMNMTC có MMRd là 40%. Tuổi phân bố MMRd không khác so với tuổi của quần thể trong nghiên cứu. Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan giữa tình trạng MMRd với típmô bệnh học, độ mô học và giai đoạn bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cancer Iafro. Global cancer observatory, cancer fact sheet. 2020.
2. (AJCC) AJCoC, AJCCC cancer staging manual 8th Edition. AJCCC cancer staging manual. Vol. Corpus uteri. 2017. 11.
3. (UICC) Uficc. TNM classification of malignant tumours 8th edition. TNM classification of malignant tumours. Vol. Uterus - Endometrium. 2017.
4. Talhouk A , McAlpine J. New classification of endometrial cancers: the development and potential applications of genomic-based classification in research and clinical care. Gynecologic oncology research and practice. 2016;3:1-12.
5. Kandoth C, Schultz N, Cherniack A, Akbani R, Liu Y, Shen

Đánh giá tình trạng mất biểu hiện protein sửa chữa bắt cặp sai (MMRd)...

- H, et al. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. Nature. 2013;497:67-73.
6. (CAP) CoAP, Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Endometrium. 2019.
7. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. The American journal of surgical pathology. 2013;37:874-881.
8. Hashmi AA, Mudassir G, Hashmi RN, Irfan M, Asif H, Khan EY, et al. Microsatellite instability in endometrial carcinoma by immunohistochemistry, association with clinical and histopathologic parameters. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP. 2019;20:2601.
9. Timmerman S, Van Rompuy A, Van Gorp T, Bempt IV, Brems H, Van Nieuwenhuysen E, et al. Analysis of 108 patients with endometrial carcinoma using the PROMISE classification and additional genetic analyses for MMR-D. Gynecologic Oncology. 2020;157:245-251.
10. Howitt BE, Shukla SA, Sholl LM, Ritterhouse LL, Watkins JC, Rodig S, et al. Association of polymerase ϵ -mutated and microsatellite-unstable endometrial cancers with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes, and expression of PD-1 and PD-L1. JAMA oncology. 2015;1:1319-1323.