

VAI TRÒ CỦA CÁC “CHỈ THỊ SINH HỌC” TRONG UNG THƯ CỔ TỬ CUNG

Vũ Thị Nhung
Bệnh viện Hùng Vương

1. Đặt vấn đề

Ung thư cổ tử cung (UTCTC) là một vấn đề sức khỏe cộng đồng mang tính toàn cầu nhưng tần suất xuất hiện khác nhau giữa các vùng địa lý trên thế giới. Tỷ lệ mắc bệnh ở khu vực châu Phi, Mỹ La tinh, một phần châu Á và một số nước Đông Âu cao gần mười lần hơn ở các nước công nghiệp hóa¹⁴. Tỷ lệ mắc bệnh thấp này được xem là kết quả của những chương trình tầm soát UTCTC được tiến hành từ khi Pap test do Nicolas Papanicolaou phối hợp với Herbert F. Traut công bố năm 1943 được đưa vào ứng dụng đại trà để tầm soát các bất thường tế bào của cổ tử cung. Mặc dù tính hữu ích của Pap test là hiển nhiên, xét nghiệm này vẫn mang một số nhược điểm như sự phụ thuộc rất lớn của kết quả vào kinh nghiệm của người đọc cũng như chất lượng mẫu bệnh phẩm. Gần đây, một số kỹ thuật tế bào học sử dụng mẫu tế bào nhúng trong dịch lỏng (liquid-based cytology) được phát triển nhằm cải tiến chất lượng của Pap test. Các kỹ thuật này cung cấp mẫu tế bào đồng nhất, ít tạp chất và hình ảnh nhuộm tốt hơn, tạo điều kiện dễ dàng cho người đọc. Dù độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn so với Pap cổ điển nhưng vẫn còn tỷ lệ âm tính giả đến 24%¹ nên vẫn cần đến những phương pháp xét nghiệm khác bổ sung để giúp hiệu quả tầm soát bệnh tốt hơn.

Sự nhiễm các týp HPV (Human Papillomavirus) nguy cơ cao là điều kiện cần cho sự tiến triển đến UTCTC. Ở người nhiễm HPV týp nguy cơ cao, các protein gây u (oncoprotein) E6 và E7 của HPV được sản xuất với lượng lớn và tác động vào chu trình phân bào bình thường của người bị nhiễm. Tác động này dẫn đến sự biểu hiện bất thường của một số gene hoặc bất thường nhiễm sắc thể ở người bệnh. Không phải mọi trường hợp nhiễm HPV týp nguy cơ cao đều diễn tiến thành UTCTC, chỉ 10% CIN1 diễn tiến thành CIN3, 33% CIN3 sẽ thoái triển và chỉ khoảng 12% diễn tiến thành ung thư⁹.

Các tổn thương mức độ thấp thường tiêu biến một cách tự nhiên, không cần can thiệp và chỉ một số ít trường hợp trong số đó phát triển thành những tổn thương mức độ cao và cuối cùng trở

thành ung thư xâm lấn. Như vậy, việc tầm soát UTCTC hiệu quả là khi có thể phát hiện các tổn thương tiền ung thư. Mặt khác, điều trị ngay một tổn thương khi nó có khả năng thoái triển rất lớn sẽ tạo cảm giác bất an cho người bệnh, và tốn hao chi phí không cần thiết. Đó là lý do khiến các “chỉ thị sinh học” (biomarker) được quan tâm nghiên cứu, nhằm vào những mục tiêu như cải tiến chất lượng các phương pháp sàng lọc hiện hữu, giải quyết các kết quả tế bào học không rõ ràng và phát hiện các tổn thương sẽ diễn tiến thành tổn thương mức độ cao¹³.

2. Các chất “chỉ thị sinh học” trong ung thư cổ tử cung

Các chất “chỉ thị sinh học” được phân thành hai nhóm: “chỉ thị sinh học” từ virus và “chỉ thị sinh học” từ tế bào (người bệnh). Các “chỉ thị” từ virus bao gồm DNA HPV, mRNA E6 và E7. “Chỉ thị” từ tế bào bao gồm: p16INK4a, ki67, TERC, MCM và CDC6, ..

“Chỉ thị sinh học” từ virus

Xét nghiệm HPV DNA đã được hầu hết các cơ quan quản lý sức khỏe trên thế giới đưa vào chương trình tầm soát UTCTC. Hiện nay, thử nghiệm HC2 (Digene), dựa trên kỹ thuật lai phân tử kết hợp với khuếch đại tín hiệu, được Cơ quan Thuốc và Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) công nhận và được sử dụng rộng rãi để phát hiện DNA HPV. Bên cạnh đó, nhiều phương pháp PCR được phát triển dựa trên sự nhân bản những trình tự gene đặc trưng cho HPV. Bên cạnh việc phát hiện sự hiện diện của HPV, các thử nghiệm đều hướng đến việc xác định týp HPV hiện diện trong bệnh phẩm (Roche Amplicor HPV, Roche Linear Array, PapilloCheck (Greiner)). Nhiều nghiên cứu quy mô lớn cho thấy đối với nhóm có kết quả tế bào học ASCUS thì sử dụng test HPV DNA tỏ ra có hiệu quả, trong khi ở nhóm LSIL tests này không có ý nghĩa vì phần lớn đều có HPV (+). Mặt khác, tính về hiệu quả/chi phí thì test HPV DNA không có lợi khi dùng trong sàng lọc bước đầu ở phụ nữ trẻ nhưng lại có lợi khi sử dụng ở phụ nữ trên 30 tuổi. Tổ chức ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical pathology) khuyến cáo lặp tế bào gai bất thường.

Bên cạnh đó, người ta còn thực hiện một số xét nghiệm dùng để phát hiện các phân tử virus đặc biệt khác là mRNA của E6 và E7 (PreText Proofer – NorChip ; APTIMA (GenProbe). Một nghiên cứu trên 520 phụ nữ có sinh thiết âm tính hoặc tổn thương tế bào gai mức độ thấp cho thấy test HPV mRNA có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 89.1 % và 92.5 % và giá trị tiên đoán dương ở phụ nữ trên 40 tuổi là 77.3 % ; tỉ lệ độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương cao so với test tế bào học lần lượt là 1.05 lần, 1.21 lần và 1.49 lần ¹².

“Chỉ thị sinh học” từ tế bào

P16INK: Đây là một protein có tác dụng ức chế enzyme cyclin-dependent kinase, tăng biểu hiện ở mô cổ tử cung tiền ung thư và ung thư. Sự tăng biểu hiện của protein này liên quan chặt chẽ với sự tăng biểu hiện protein E7 của HPV. E7 làm bất hoạt pRB là một protein có tác dụng điều hòa âm đối với sự sinh sản tế bào. Dưới tác động của E7, pRB không kết hợp với yếu tố sao chép E2F, E2F tự do sẽ thúc đẩy sự sinh sản tế bào không kiểm soát. Phức hợp pRB và E2F có tác dụng ức chế sự thể hiện gen p16INK4a. Khi pRB và E2F không kết hợp, sẽ mất sự ngăn trở kích hoạt gen p16INK4a nên tạo ra nhiều p16INK4a. Điều này xảy ra khi có sự biến đổi tế bào nhiễm HPV bởi E7 tăng cao. Chất p16INK4a là chỉ thị sinh học khá chính xác của ung thư CTC hơn là sự hiện diện của HPV nhóm nguy cơ cao và chất này cũng tăng cao không đặc hiệu đối với tít HPV nguy cơ cao nào.

Về cơ bản, mọi trường hợp UTCTC và CIN3, cũng như phần lớn CIN2 cho kết quả hóa mô miễn dịch dương tính với p16INK4a trong khi rất ít trường hợp CIN1 cho kết quả dương tính ¹⁴. Mặt khác, các tổn thương mức độ thấp và dương tính với p16INK4a có nguy cơ diễn tiến thành ung thư cao hơn các trường hợp p16INK4a âm tính ¹⁴. Điều này gợi lên khả năng sử dụng p16INK4a như một “chỉ thị” để nhận biết những tổn thương nguy cơ cao. Phương pháp hóa mô miễn dịch tế bào cũng được phát triển để phát hiện p16INK4a trong tế bào cổ tử cung bong ra. Khi so sánh với kết quả Pap, phương pháp tế bào học với p16INK4a nhận diện được 98 % các trường hợp HSIL, chỉ có 1 % trong các ca bình thường và 10 % ở nhóm LSIL ¹⁴. Nhuộm hóa mô miễn dịch với p16INK4a kết hợp với test HPV DNA cho phép nhận diện các trường hợp ASCUS và LSIL sẽ diễn tiến thành CIN mức độ cao ⁴. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên những phụ nữ có kết quả tế bào học là LSIL và p16INK4a

âm tính, theo đó 86.9 % các trường hợp được theo dõi này đã thoái triển trong vòng 24 tháng ⁸. Điều này cho thấy kết quả tế bào học là dương tính giả hoặc sự nhiễm virus chỉ mang tính tạm thời. Một nghiên cứu đánh giá các test HPV DNA (HC2), hóa mô miễn dịch tế bào với p16INK4a (CINtec) và E6/E7 mRNA (APTIMA) dựa trên test tế bào học (H&E) cho thấy HC2 có độ nhạy cao nhất, tiếp theo là APTIMA và CINtec. Cũng trong nghiên cứu này, độ đặc hiệu trong phát hiện CIN mức độ cao giảm dần theo thứ tự CINtec > APTIMA > HC2 ¹⁰. Di Stefano và cộng sự (2010)⁵ theo dõi các trường hợp CIN và dương tính với p16INK4a nhận thấy tất cả đều diễn tiến xấu đi sau 4 - 8 tháng và cho rằng việc can thiệp tức thời sẽ có lợi cho các bệnh nhân này. Điều thuận lợi là kỹ thuật hóa mô miễn dịch tế bào với p16INK4a có thể được áp dụng trên mẫu tế bào dùng cho xét nghiệm tế bào học nên có thể là một lựa chọn tốt để kiểm tra các kết quả tế bào học không rõ ràng.

Một nhược điểm của xét nghiệm tế bào học là sự không thống nhất kết quả đọc giữa những người đọc khác nhau. Trong một công trình có sự tham gia của 12 nhà giải phẫu bệnh đọc 500 mẫu tế bào nhuộm H&E cho thấy khi so sánh với “chuẩn vàng” được xây dựng từ kết quả thống nhất của 3 chuyên gia, sự kết hợp thêm việc nhuộm hóa mô miễn dịch p16INK4a làm tăng độ chính xác của chẩn đoán, giảm kết quả âm tính giả và tăng một cách đáng kể sự thống nhất của người đọc ^{3,7}.

Gần đây, test ELISA phát hiện p16INK4a cũng được phát triển và bước đầu cho thấy có nhiều thuận lợi như độ nhạy tốt, không phụ thuộc vào đánh giá của người đọc, cho kết quả nhanh ^{2,14}.

Ki67 (MIB-1). Đây là một chỉ thị tăng sinh tế bào được hoạt hóa bởi các protein sinh ung của HPV và có biểu hiện ở mức độ cao trong các tổn thương CIN. Ki67 thường biểu hiện trong lớp tế bào cận đáy của biểu mô lát tầng bình thường. Nhưng trong các tổn thương CIN, ki67 biểu hiện cả trong biểu mô lát tầng và có liên quan chặt chẽ với mức độ tổn thương. Tuy nhiên, biểu hiện của ki67 tự nó không cho phép phân biệt các trường hợp CIN do HPV với tế bào tăng sinh bình thường. Nhiều nghiên cứu quy mô lớn ở châu Âu và Hoa Kỳ gần đây cho thấy test sử dụng hoá mô miễn dịch tế bào kết hợp p16INK4a và ki67 (CINtec plus – mtm Laboratories) cho độ nhạy ngang với test HPV DNA, với độ đặc hiệu cao hơn ⁶.

MCM (Minichromosome Maintenance Protein). Đây là nhóm các protein “chỉ thị” cho sự cảm ứng bất

thường pha S của chu trình phân bào. Chúng cần thiết cho việc khởi đầu sao chép DNA và biểu hiện vượt mức trong ung thư và CIN mức độ cao cổ tử cung. Test hóa mô miễn dịch tế bào ProExC (Becton Dickinson) đã được thương mại hoá nhưng chưa được sử dụng rộng rãi, một phần do các MCM cũng biểu hiện cả trong tế bào lát và tế bào tuyến lành tính. Việc phổ biến test này sẽ phụ thuộc vào kết quả các nghiên cứu quy mô lớn về tương quan với kết quả sinh thiết cũng như diễn tiến lâm sàng ⁶.

TERC. Đặc trưng của UTCTC là mức độ bất ổn định nhiễm sắc thể rất cao. Nhiều bất thường nhiễm sắc thể được nhận biết ở các trường hợp tiền ung thư và ung thư, trong đó quan trọng nhất là sự nhân đoạn vùng 3q. Sự nhân đoạn này ảnh hưởng đến một gene khu trú trong vùng 3q là gene TERC, mã hóa cho tiểu phần RNA của telomerase. Sự nhân bản gene TERC là bước cần thiết trong diễn tiến ung thư. Nghiên cứu sử dụng mẫu dò (probe) 3q trên phết tế bào cho phép phát hiện các trường hợp CIN1/2 diễn tiến thành CIN3 với độ nhạy là 100 % ; trong khi đó 70 % các trường hợp thoái triển đều âm tính với sự nhân bản 3q ¹³. Một nghiên cứu

đa trung tâm ở Trung Quốc cho thấy sự nhân bản TERC có thể được sử dụng cho các trường hợp HPV DNA dương tính với kết quả tế bào học là ASCUS hay LSIL ¹¹.

Nhiều “chỉ thị sinh học” khác như MCM5 và CDC6, MYC, các cyclin, p53 và pRb, tình trạng methyl hóa DNA ở người bệnh hay DNA virus,... cũng được nghiên cứu nhưng chưa cho thấy tác dụng rõ ràng trong sàng lọc, tiên lượng, chẩn đoán UTCTC.

Việc sử dụng test HPV DNA cho sàng lọc UTCTC đã được chứng minh là có hiệu quả kinh tế vì cho phép kéo dài thời gian giữa các lần sàng lọc nếu kết quả test ban đầu là HPV âm tính. Các “chỉ thị” đặc hiệu như p16INK4a, E6/E7 HPV và một số khác có thể được sử dụng tiếp đó để nhận diện những trường hợp HPV dương tính có khả năng diễn tiến xấu đi và cần sự can thiệp tức thời ¹¹. Việc phát triển các “chỉ thị sinh học” có giá trị tiên lượng cũng có ý nghĩa quan trọng cho quyết định điều trị. Trong vài năm tới, người ta hy vọng sẽ có nhiều chương trình phòng ngừa UTCTC dựa trên sự kết hợp các phương pháp hiện có, đặc biệt là test HPV DNA với các “chỉ thị sinh học” đặc hiệu cho bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abulafia O, Pezzullo JC, Sherer DM. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. *Gynecol Oncol*. 2003 Jul;90(1):137-44.
2. Balasubramanian A, Hughes J, Mao C, Ridder R, Herkert M, Kiviat NB, Koutsky LA. Evaluation of an ELISA for p16INK4a as a screening test for cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009, 18:3008-3017.
3. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, Trunk MJ, Keller T, Ridder R. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2010, 133:395-406.
4. Carozzi FM. Combined analysis of HPV DNA and p16INK4a expression to predict prognosis in ASCUS and LSIL Pap smears. *Coll. Antropol* 2007, suppl 2:103-106.
5. Di Stefano L, Accurti V, Coletti G, D'Alfonso A, Carta G. p16INK4a and low-grade cervical intraepithelial neoplasia. Diagnostic and therapeutic implications. *Eur J Gynaecol Oncol* 2010, 31:411-414.
6. Hwang SJ & Shroyer KR. Biomarkers of cervical dysplasia and carcinoma. *J Oncol* 2012, ID 507286, doi:10.1155/2012/507286.
7. Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, Kurman RJ, Schmidt D, Stler M, von Knebel Doeberitz M. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002, 26:1389-1399.
8. Kurshumliu F, Thorns C, Gashi-Luci L. p16INK4A in routine practice as a marker of cervical epithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2009, 115:127-131.
9. Ostor AG: Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993, 12(2):186-192.
10. Reuschenbach M, Clad A, von Knebel Doeberitz C, Wentzensen N, Rahmsdorf J, Schaffrath F, Griesser H, Freudenberg N, von Knebel Doeberitz M. Performance of p16INK4a-cytology, HPV mRNA, and HPV DNA testing to identify high grade cervical dysplasia in women with abnormal screening results. *Gynecol Oncol* 2010, 119:98-105.
11. Sahasrabudhe VV, Luhn P, Wentzensen N. Human Papillomavirus and cervical cancer. Biomarkers for improved prevention efforts. *Future Microbiol* 2011, 6:1083-1098.
12. Sorbye SW, Arbyn M, Fisman S, Gutteberg TJ, Mortensen ES. HPV E6/E7 mRNA testing is more specific than cytology in post-colposcopy follow-up of women with negative cervical biopsy. *PLoS ONE* 2011, 6(10):e26022.doi
13. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Molecular markers of cervical squamous cell cancer precursor lesions. *CME J Gynecol Oncol* 2006, 11:30-40.
14. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers* 2007, 23:315-330.