

Nghiên cứu

Đánh giá ảnh hưởng của thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng xét nghiệm đến tình trạng bộc lộ HER2 trong ung thư vú

Nguyễn Văn Thịnh^{1,2*}, Tạ Văn Tò², Trần Trung Toàn², Dương Thị Ngọc Ánh²

¹Khoa Kỹ thuật Y học, Trường Đại học Y Hà Nội

²Trung tâm Giải phẫu bệnh và Sinh học phân tử, Bệnh viện K

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): Nguyễn Văn Thịnh; Email: p.nguyenthinh1506@gmail.com

Ngày nhận bài (Received): 02/05/2026; Ngày duyệt đăng (Accepted): 06/05/2026; Ngày xuất bản (Published): 10/08/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.S-2.24

Tóm tắt

Nhuộm hóa mô miễn dịch HER2 trên các mảnh cắt paraffin bảo quản lâu ngày ở nhiệt độ phòng có thể phản ánh không chính xác tình trạng HER2 của bệnh nhân.

Mục tiêu: Đánh giá tình trạng bộc lộ HER2 trên các mảnh cắt paraffin trong ung thư vú được lưu trữ ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20-25°C) sau 1, 2, 4, 8 và 16 tuần.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu 63 trường hợp ung thư vú dương tính với HER2 (3+). Các mảnh cắt paraffin được nhuộm hóa mô miễn dịch sau 1, 2, 4, 8 và 16 tuần bảo quản ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20-25°C). Đánh giá tình trạng bộc lộ HER2 theo cường độ nhuộm và tỷ lệ tế bào u bắt màu hoàn toàn và đậm.

Kết quả: Tình trạng bộc lộ HER2 giảm dần theo thời gian bảo quản mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng. Sau 1 tuần, toàn bộ 63 mẫu (100%) vẫn giữ cường độ 3+. Sau 2 tuần, tỷ lệ mẫu 3+ giảm còn 95,24%, có 4,76% mẫu 2+ ($p = 0,83$). Sau 4 tuần, tỷ lệ 3+ giảm còn 85,71%, có 12,70% mẫu 2+ và 1,59% mẫu 1+ ($p = 0,04$). Sau 8 tuần, có 61,90% mẫu 3+, 33,33% 2+, 4,76% mẫu 1+ ($p < 0,01$). Sau 16 tuần, tỷ lệ 3+ chỉ còn 28,57%, 55,55% mẫu 2+, 14,29% mẫu 1+ và 1,59% mẫu cường độ 0 ($p < 0,01$). Tỷ lệ tế bào u bắt màu hoàn toàn và đậm (tính tương đối so với tuần 0) giảm từ 100% xuống lần lượt 95,03%, 86,24%, 64,69%, 35,12% và 16,34% sau 1, 2, 4, 8 và 16 tuần.

Kết luận: Đây là nghiên cứu đầu tiên về ảnh hưởng của thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin đến tình trạng bộc lộ HER2 trong ung thư vú tại Việt Nam. Các mảnh cắt nên được thực hiện xét nghiệm ngay sau khi cắt mảnh hoặc lưu trữ ≤ 2 tuần ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20 - 25°C).

Từ khóa: Ung thư vú; hóa mô miễn dịch; HER2; mảnh cắt paraffin.

Influence of storage time of paraffin sections at room temperature on HER2 expression in breast cancer

Nguyen Van Thinh^{1,2*}, Ta Van To², Tran Trung Toan², Duong Thi Ngoc Anh²

¹Faculty of Medical Technology, Hanoi Medical University

²Center for Pathology and Molecular Biology, Vietnam National Cancer Hospital

Abstract

Background: Immunohistochemical (IHC) staining for HER2 on paraffin sections stored for prolonged periods at room temperature may inaccurately reflect a patient's HER2 status. This study aims to evaluate HER2 expression on paraffin sections of breast cancer stored at laboratory room temperature (20-25°C) after 1, 2, 4, 8 and 16 weeks.

Materials and Methods: Sixty-three cases of HER2-positive (3+) breast cancer were studied. Paraffin sections were stained for HER2 by IHC after storage at 20-25°C for 1, 2, 4, 8, and 16 weeks. HER2 expression was assessed based on staining intensity and the percentage of tumor cells showing complete and strong membrane staining.

Results: HER2 expression decreased progressively with longer storage time of paraffin sections at room temperature. After 1 week, all 63 samples (100%) remained HER2 3+. After 2 weeks, the proportion of 3+ cases decreased to 95.24%, with 4.76% converting to 2+ ($p = 0.83$). After 4 weeks, 85.71% of samples were 3+, with 12.70% showing 2+ and 1.59% showing 1+ ($p = 0.04$). At 8 weeks, 61.90% were 3+, 33.33% were 2+, and 4.76% were 1+ ($p < 0.01$). After 16 weeks, only 28.57% remained 3+, with 55.55% at 2+, 14.29% at 1+,

and 1.59% at intensity 0 ($p < 0.01$). The mean percentage of tumor cells with complete and strong membrane staining (relative to week 0) decreased from 100% to 95.03%, 86.24%, 64.69%, 35.12% and 16.34% after 1, 2, 4, 8, and 16 weeks, respectively.

Conclusion: This is the first study in Vietnam on the influence of storage time of paraffin sections on HER2 expression in breast cancer. Sections should be stained immediately after cutting or stored for no longer than 2 weeks at laboratory room temperature (20-25°C).

Keywords: Breast cancer; immunohistochemistry; HER2; paraffin sections.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú (UTV) là một trong những loại ung thư thường gặp nhất và gây tử vong hàng đầu ở phụ nữ trên thế giới cũng như tại Việt Nam [1]. UTV có thể sàng lọc, phát hiện sớm và tiên lượng điều trị tốt nếu được chẩn đoán sớm. Các yếu tố tiên lượng bao gồm: yếu tố kinh điển (kích thước u, típ mô học, độ mô học, tình trạng hạch,...), yếu tố sinh học phân tử (thụ thể nội tiết estrogen-ER, thụ thể progesterone-PR, chỉ số phân bào-Ki67, thụ thể của yếu tố phát triển biểu mô 2 (HER2)). Sự bộc lộ hay khuếch đại HER2 có ý nghĩa quan trọng trong tiên lượng và điều trị, đặc biệt là điều trị đích. Sự biểu hiện quá mức của thụ thể HER2 là yếu tố tiên lượng cho cả các trường hợp đã di căn hoặc chưa, tiên đoán đáp ứng hóa trị liệu và không đáp ứng nội tiết và là chỉ định cho điều trị kháng thể đơn dòng trastuzumab. Vì vậy, xét nghiệm HER2 có vai trò quan trọng, đem lại cho bệnh nhân UTV cơ hội trong điều trị đích [2, 3].

Có nhiều phương pháp để xác định tình trạng HER2. Các kỹ thuật như Southern Blot, xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết men, PCR ngày càng ít được sử dụng do cần mô tươi, có thể cho kết quả không chính xác. Hai phương pháp đang được ưu tiên sử dụng là hóa mô miễn dịch (HMMD) và các kỹ thuật lai tại chỗ (In Situ Hybridization-ISH) [4, 5]. Trong đó HMMD được sử dụng nhiều hơn do dễ thực hiện, chi phí xét nghiệm thấp hơn, có thể tự động hóa và lưu trữ trong thời gian dài.

Xét nghiệm HMMD sử dụng mẫu mô vùi trong paraffin để xác định biểu lộ HER2 trong UTV hiện đang được áp dụng rộng rãi ở các phòng xét nghiệm Giải phẫu bệnh (GPB). Các mẫu mô là nguồn vật liệu sinh học phổ biến nhất trong chẩn đoán mô bệnh học thường quy do khả năng bảo quản lâu dài cấu trúc mô tương đối tốt. Tuy nhiên, trong thực hành tại các phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh ở Việt Nam, đặc biệt trong các nghiên cứu khoa học, các mảnh cắt paraffin sau khi được dán trên lam kính không phải lúc nào cũng được nhuộm HMMD ngay lập tức mà được lưu trữ ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20-25°C) từ một vài ngày đến nhiều tháng trước khi được sử dụng cho các xét nghiệm HMMD trong đó có xét nghiệm HER2 trong UTV.

Ngày càng có nhiều bằng chứng khoa học cảnh

báo về hiện tượng “suy giảm kháng nguyên” trên các mảnh cắt paraffin theo thời gian lưu trữ. Nghiên cứu của He và các cộng sự cho thấy có sự biểu hiện PD-L1 trên các mảnh cắt paraffin được lưu trữ ở 20 - 25°C sau 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 8 tuần... là khác nhau. Các yếu tố như oxy hóa, nhiệt độ, độ ẩm và tiếp xúc với ánh sáng có thể đẩy nhanh quá trình này [6-8].

Tại Việt Nam, cho đến thời điểm hiện tại, chưa có nghiên cứu nào được công bố nhằm đánh giá mối tương quan giữa thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin đến tình trạng bộc lộ HER2 trong UTV. Điều này tạo ra một thách thức đáng kể, một kết quả không chuẩn xác do sự suy giảm kháng nguyên sẽ ảnh hưởng tới điều trị, tiên lượng cho bệnh nhân hoặc sai lệch trong các kết quả nghiên cứu khoa học.

Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: **“Đánh giá ảnh hưởng của thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng xét nghiệm đến tình trạng bộc lộ HER2 trong ung thư vú”** với mục tiêu: Đánh giá tình trạng bộc lộ HER2 trên các mảnh cắt paraffin trong ung thư vú được lưu trữ ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20 - 25°C) sau các khoảng thời gian 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 8 tuần và 16 tuần.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- 63 mẫu khối nén của các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập phẫu thuật có kết quả HMMD HER2 3+ từ 8/2025 đến 10/2025 tại Trung tâm Giải phẫu bệnh và Sinh học phân tử - Bệnh viện K.

* Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Bệnh nhân có hồ sơ lưu trữ đầy đủ.
- Bệnh nhân UTV nguyên phát, chưa điều trị hóa chất/ xạ trị.
- Bệnh nhân có kết quả GPB ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập và HMMD HER2 3+.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

- Mô u còn trên khối nén của bệnh nhân sau quá trình cắt nhuộm thường quy nhỏ, cắt mảnh thêm có nguy cơ mất hết bệnh phẩm u của bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu theo dõi dọc.
- Cỡ mẫu nghiên cứu được chọn theo phương pháp lấy mẫu toàn bộ, có chủ đích với 63 mẫu đủ tiêu chuẩn được chọn tham gia nghiên cứu.

2.3. Quy trình nghiên cứu

- Thu thập thông tin (Số hồ sơ, mã số GPB, kết quả mô bệnh học, kết quả HMMMD).

- Chọn các bệnh nhân có kết quả GPB khẳng định ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập và HMMMD HER2 3+, thu thập tiêu bản HE, HMMMD và khối paraffin của bệnh nhân.

- Thực hiện các lát cắt vi thể với cùng độ dày 4µm trên máy cắt vi thể HM 325 Thermo Scientific™ và cùng dán lên lam kính Epredia™ Superfrost™ Plus.

- Lưu trữ các lam kính trong các hộp đựng tiêu bản tối màu có nắp kín, nhiệt độ phòng duy trì 20-25°C, độ ẩm không khí phòng 50 - 70% trong 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 8 tuần và 16 tuần.

- Dán chứng HER2 có cường độ 0, 1+, 2+, 3+ đã biết trước lên các lam kính lưu trữ và thực hiện nhuộm HMMMD HER2 trên hệ thống máy nhuộm Ventana BenchMark Ultra theo các mốc thời gian.

- Đọc kết quả bởi 2 bác sĩ giải phẫu bệnh của Trung tâm Giải phẫu bệnh và Sinh học phân tử - Bệnh viện K. Các lam kính được làm mù về thời gian lưu trữ. Kết quả cường độ nhuộm HER2 nếu có sự khác biệt cần có sự hội chẩn lại của 2 bác sĩ. Kết quả tỷ lệ (%) tế bào u bắt màu hoàn toàn và đậm lấy giá trị trung bình của 2 bác sĩ.

- Ghi nhận kết quả.

- Phân tích và xử lý kết quả nghiên cứu.

2.4. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

Xác định tình trạng bậc lệ HER2 bằng kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch

- Các mảnh cắt được xử lý trên hệ thống máy nhuộm hóa mô miễn dịch tự động BenchMark Ultra với quy trình nhuộm đã được chuẩn hóa cho marker HER2 (clone 4B5, Ventana).

Đánh giá kết quả HMMMD HER2 theo hướng dẫn của Hiệp hội ung thư lâm sàng Hoa Kỳ (American Society of Clinical Oncology - ASCO) và hiệp hội các

nhà Giải phẫu bệnh Hoa Kỳ (College of American Pathologists - CAP) năm 2023 được chia từ 0 đến 3+:

0: Không nhuộm hoặc nhuộm không hoàn toàn và nhuộm màng mờ/khó nhận thấy ở $\leq 10\%$ tế bào u.

1+: Nhuộm không hoàn toàn và nhuộm màng mờ/khó nhận thấy ở $> 10\%$ tế bào u.

2+: Nhuộm màng hoàn toàn với cường độ yếu - trung bình ở $> 10\%$ tế bào u hoặc nhuộm màng mạnh ở $\leq 10\%$ tế bào u.

3+: Nhuộm màng hoàn toàn và mạnh ở $> 10\%$ tế bào u. Kết quả HER2 3+ được đánh giá là dương tính [9].

2.5. Phân tích và xử lý số liệu

Các thông tin về cường độ nhuộm (thang đo thứ bậc: 0, 1+, 2+, 3+) - tỷ lệ tế bào u bắt màu hoàn toàn và đậm (biến định lượng, dạng phần trăm) được thu thập. Số liệu được lưu trữ vào Excel.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 27.0. Sử dụng kiểm định Friedman test cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong 6 thời điểm (0, 1, 2, 4, 8, 16 tuần) ($p < 0,001$). Sau đó sử dụng kiểm định Wilcoxon Signed Ranks Test để đánh giá sự khác biệt của cường độ nhuộm HER2 giữa các tuần so với 0 tuần. Ngưỡng ý nghĩa thống kê được đặt ở $\alpha = 0,05$, với $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa. Các p-value được báo cáo dưới dạng danh nghĩa, không hiệu chỉnh đa so sánh, vì các so sánh được thực hiện có chủ đích với giả thuyết khoa học cụ thể và số lượng so sánh ít (5 so sánh).

2.6. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên các mẫu bệnh phẩm lưu trữ, không can thiệp vào quá trình chẩn đoán và điều trị người bệnh. Các thông tin cá nhân của người bệnh được mã hóa và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu. Nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Bệnh viện K chấp thuận theo Quyết định số 1317/BVK-HĐĐĐ ngày 06/05/2026.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

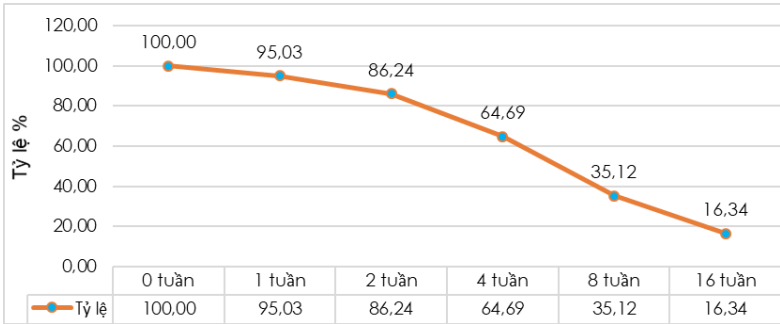
Bảng 1. Kết quả cường độ nhuộm HER2 của các mảnh cắt theo thời gian

Cường độ	Tuần					
	0	1	2	4	8	16
3+	63	63	60	54	39	18
2+	0	0	3	8	21	35
1+	0	0	0	1	3	9
0	0	0	0	0	0	1
p-value*		1	0,83	0,04	< 0,01	< 0,01

* p-value là giá trị do sử dụng kiểm định Wilcoxon Signed Ranks Test để đánh giá sự khác biệt của cường độ nhuộm HER2 giữa các tuần so với 0 tuần.

Cường độ nhuộm HER2 giảm dần theo thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C). Sau 1 tuần, toàn bộ 63 mẫu (100%) vẫn giữ cường độ 3+. Sau 2 tuần, bắt đầu xuất hiện suy giảm: tỷ lệ mẫu 3+ là 95,24%, 4,76% mẫu 2+ ($p = 0,83$). Sau 4 tuần, tỷ lệ 3+ tiếp tục giảm còn 54/63 (85,71%),

xuất hiện 8 mẫu (12,70%) 2+ và 1 mẫu (1,59%) 1+ ($p = 0,04$). Sau 8 tuần, chỉ còn 39/63 (61,90%) mẫu đạt 3+, với 21 mẫu (33,33%) 2+, 3 mẫu (4,76%) 1+ ($p < 0,01$). Sau 16 tuần, tỷ lệ 3+ giảm sâu còn 18/63 (28,57%), với 35 mẫu (55,55%) 2+, 9 mẫu (14,29%) 1+ và 1 mẫu (1,59%) cường độ 0 ($p < 0,01$).



Hình 1. Tỷ lệ tế bào u bất màu hoàn toàn và đậm

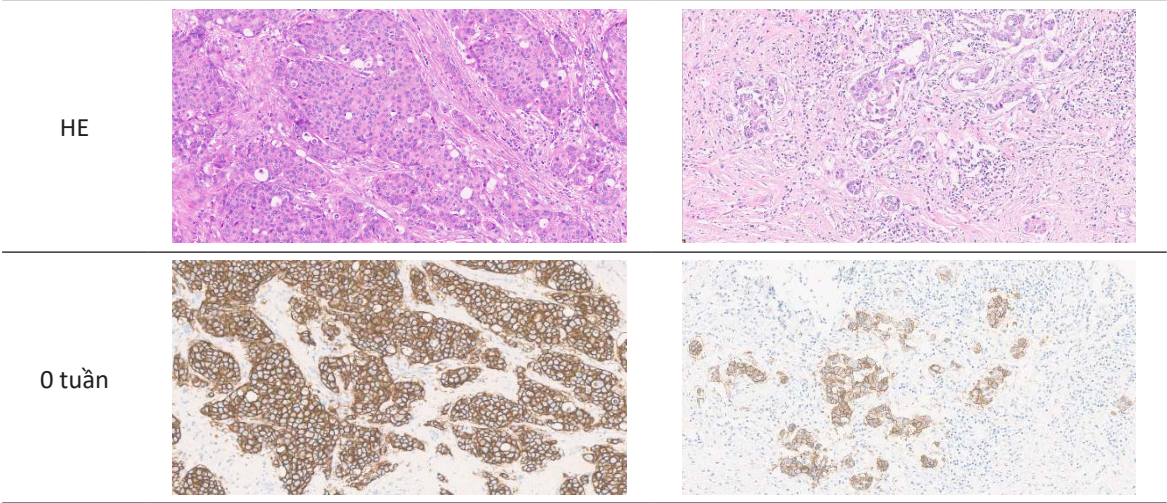
Tỷ lệ tế bào u bất màu hoàn toàn và đậm giảm dần theo thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C). Ở thời điểm 0 tuần (nhuộm ngay sau cắt), tỷ lệ này được coi là 100%. Sau 1 tuần, tỷ lệ giảm nhẹ còn 95,03% so với ban đầu. Sau 2 tuần, tỷ lệ còn 86,24%. Sau 4 tuần, tỷ lệ giảm còn 64,69%. Sau 8 tuần, tỷ lệ chỉ còn 35,12% và sau 16 tuần chỉ còn 16,34% so với tuần 0. Sự suy giảm diễn ra nhanh dần sau 2 tuần và trở nên rất nghiêm trọng sau 8 tuần.

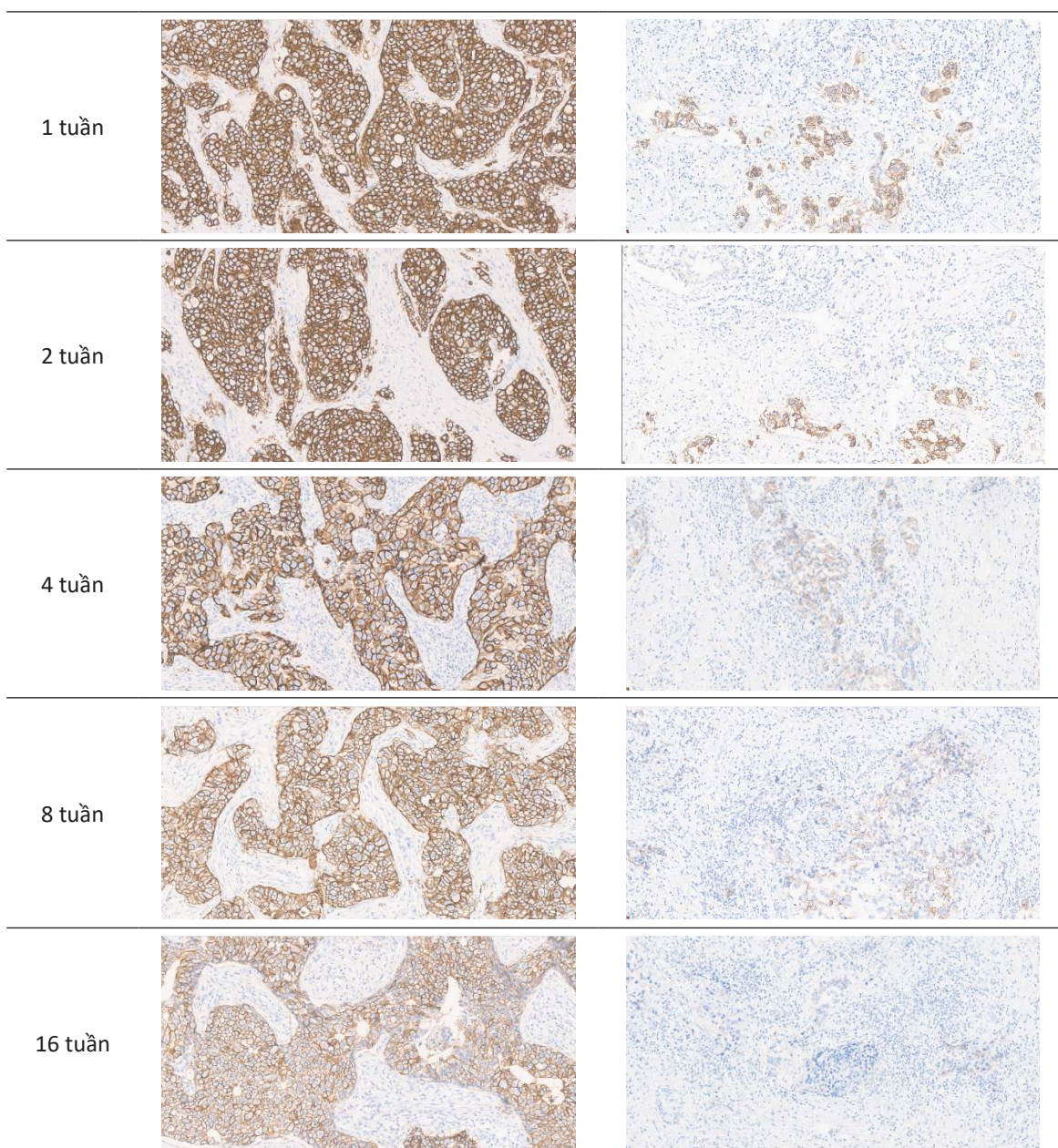


Hình 2. Lưu trữ tiêu bản trong hộp tiêu bản



Hình 3. Nhiệt độ và độ ẩm phòng lưu trữ tiêu bản





Hình 4. Tình trạng bộc lộ HER2 của các mảnh cắt paraffin theo thời gian

4. BÀN LUẬN

Xét nghiệm HMMD HER2 đóng vai trò then chốt trong phân loại phân tử và quyết định điều trị đích ở bệnh nhân UTV. Việc bảo quản mảnh cắt paraffin không nhuộm theo thời gian ở nhiệt độ phòng là thực tế tại nhiều phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh, đặc biệt trong các nghiên cứu y văn tại Việt Nam. Nghiên cứu của chúng tôi là một trong những nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam định lượng ảnh hưởng của thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng (20-25°C) đến tình trạng bộc lộ HER2 trong UTV, với cỡ mẫu 63 trường hợp HER2 dương tính mạnh (3+)

được theo dõi dọc đến 16 tuần.

Cơ chế gây mất kháng nguyên trên mảnh cắt paraffin có liên quan nhiều yếu tố: quá trình oxy hóa do tiếp xúc với không khí, độ ẩm, nhiệt độ và ánh sáng [10, 11]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các lam kính được lưu trữ cùng trong hộp tối màu, kín, nhiệt độ phòng duy trì 20 - 25°C, độ ẩm 50 - 70% và đánh giá theo thời gian lưu trữ.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy cả cường độ nhuộm HER2 (thang điểm 0 - 3+) và tỷ lệ tế bào bắt màu hoàn toàn và đậm đều suy giảm theo thời gian lưu trữ mảnh cắt paraffin ở nhiệt độ phòng.

Cường độ nhuộm giảm dần từ mức 3+ xuống 2+, 1+ hoặc 0, với ý nghĩa thống kê bắt đầu sau 4 tuần ($p = 0,04$). Điều này cho thấy sự thay đổi tình trạng bộc lộ HER2 do protein màng bị oxy hóa hoặc thủy phân. Sau 4 tuần, có 12,70% mẫu chuyển từ 3+ xuống 2+; nếu chỉ dựa vào cường độ, các mẫu này vẫn được xếp vào nhóm nghi ngờ và bắt buộc phải làm xét nghiệm ISH. Tuy nhiên, việc chuyển từ 3+ xuống 2+ đã làm thay đổi quy trình xét nghiệm (từ miễn làm ISH sang bắt buộc làm ISH), gây chậm trễ và tăng chi phí xét nghiệm. Nghiệm trọng hơn, ở tuần 8 và 16, xuất hiện các mẫu từ 3+ chuyển thành 1+ hoặc 0, khi đó bệnh nhân có thể bị từ chối điều trị đích nếu chỉ dựa vào kết quả nhuộm trên mảnh cắt lưu trữ.

Tỷ lệ tế bào bắt màu hoàn toàn và đậm cũng giảm theo thời gian. Từ 100% xuống 64,69% ở tuần 4, còn 35,12% ở tuần 8 và 16,34% ở tuần 16. Điều này phản ánh mức độ đồng nhất của biểu hiện kháng nguyên trong quần thể tế bào u. Ngay cả được đánh giá cùng cường độ HER2 3+ nhưng tỷ lệ tế bào bắt màu hoàn toàn và đậm giảm đi, làm tăng nguy cơ sai lệch trong phân loại HER2. Điều này đặc biệt nguy hiểm trong các trường hợp u có biểu hiện HER2 không đồng nhất vốn đã khó đánh giá. Nghiên cứu của chúng tôi lần đầu tiên định lượng được tốc độ mất dần tỷ lệ tế bào bắt màu theo thời gian trên cùng một mẫu, cho thấy chỉ sau 4 tuần, hơn 1/3 trong tổng số tế bào đã không còn khả năng bắt màu hoàn toàn và đậm.

Xu hướng suy giảm kháng nguyên trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các báo cáo quốc tế gần đây. Kim và cộng sự (2023) đã phân tích có hệ thống ảnh hưởng của độ ẩm lên khả năng miễn dịch của HER-2 trên mảnh cắt paraffin. Kết quả cho thấy, trong điều kiện bảo quản khô, cường độ HER-2 giảm 12,60% sau 1 tháng; tuy nhiên, trong điều kiện ẩm ướt (94-95% độ ẩm tương đối), mức giảm lên tới 28,90% chỉ sau 1 tháng và 36,70% sau 3 tháng [10]. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện ở độ ẩm 50-70% (mức trung bình của phòng xét nghiệm tại Việt Nam), do đó tốc độ suy giảm HER2 nằm giữa hai mức cực đoan này, với tỷ lệ mẫu 3+ giảm từ 100% xuống 85,71% ở tuần 4 (tương đương 14,29% sau 1 tháng).

Nghiên cứu của He và cộng sự (2023) trên dấu ấn PD-L1 (SP142) cũng ghi nhận sự suy giảm rõ rệt trên mảnh cắt bảo quản ở nhiệt độ phòng: tỷ lệ dương tính giảm từ 97,00% (tuần 1) xuống còn 61,97% sau 8 tuần. Kết quả này tương tự với xu hướng suy giảm của HER2 trong nghiên cứu của chúng tôi, khi tỷ lệ mẫu 3+ giảm từ 100% xuống 61,90% ở tuần 8 [8]. Sự tương đồng về tốc độ và mức độ suy giảm giữa hai dấu ấn màng tế bào (HER2 và PD-L1) củng cố nhận định rằng các protein màng đặc biệt nhạy cảm với quá

trình oxy hóa và thủy phân khi bảo quản mảnh cắt ở nhiệt độ phòng, bất kể loại kháng thể được sử dụng.

Theo kết quả của chúng tôi, thời gian bảo quản mảnh cắt ở nhiệt độ phòng không nên quá 2 tuần. Điều này sớm hơn hướng dẫn ASCO/CAP năm 2013 và khuyến nghị của các chuyên gia quốc tế năm 2026 cho phép đến 6 tuần [12, 13]. Hướng dẫn của ASCO/CAP trong nhiều năm gần đây không đưa ra hướng dẫn cụ thể về điều kiện bảo quản mảnh cắt paraffin mà yêu cầu mỗi phòng xét nghiệm tự kiểm chứng quy trình thực tế của mình. Nghiệm cứu của chúng tôi cung cấp bằng chứng ban đầu cho thấy trong bối cảnh tại Việt Nam mức an toàn chỉ là 2 tuần. Nguyên nhân sự khác biệt trên có thể do chất lượng khối paraffin ban đầu: các tiêu chuẩn quốc tế yêu cầu thời gian thiếu máu lạnh ≤ 1 giờ, cố định formalin 6 - 72 giờ và nhiệt độ đúc paraffin dưới 60°C. Nếu các khâu này không được kiểm soát chặt chẽ (phổ biến trong thực hành thường quy tại Việt Nam), cấu trúc kháng nguyên HER2 có thể bị ảnh hưởng ngay từ đầu. Hơn nữa, điều kiện môi trường: khuyến cáo 6 tuần được xây dựng trong điều kiện bảo quản lý tưởng, khí hậu khô ráo của các nước ôn đới; trong khi nghiệm cứu của chúng tôi thực hiện ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C), độ ẩm 50-70%, mức ẩm điển hình ở các phòng xét nghiệm tại Việt Nam, cùng với ánh sáng tán xạ đã thúc đẩy oxy hóa và quá trình thủy phân protein.

Theo hướng dẫn ASCO/CAP 2023, chỉ HER2 3+ mới được điều trị trastuzumab mà không cần ISH, 2+ bắt buộc phải làm ISH, 1+ hoặc 0 không được điều trị đích [9]. Nếu mảnh cắt HER2 3+ được nhuộm sau 2 tuần lưu trữ, kết quả có thể chỉ còn 2+ hoặc thấp hơn, làm tăng chi phí xét nghiệm do phải thực hiện thêm ISH, bệnh nhân chậm trễ quá trình điều trị, hoặc tệ hơn là từ chối điều trị đích.

Nghiệm cứu của chúng tôi có một số hạn chế. Thứ nhất, chỉ tiến hành trên các mẫu HER2 3+ (dương tính mạnh) để dễ dàng nhận biết sự thay đổi, do đó chưa đánh giá được tác động lên các mức cường độ thấp hơn (2+, 1+) vốn đã nhạy cảm hơn với sự mất kháng nguyên. Thứ hai, nghiệm cứu với cỡ mẫu 63, mặc dù đủ để phát hiện sự khác biệt có ý nghĩa, nhưng chưa đại diện cho mọi tip mô học. Thứ ba, chúng tôi chỉ khảo sát nhiệt độ phòng, chưa so sánh với các điều kiện bảo quản khác (có thể 4°C, -20°C, -80°C, phủ paraffin, môi trường chân không...). Các nghiệm cứu tiếp theo nên mở rộng đánh giá các điều kiện bảo quản tối ưu cho HER2, kết hợp với kỹ thuật ISH để xác định xem sự suy giảm HMMD có tương ứng với mất bản sao gen hay không. Cuối cùng, cần có những nghiệm cứu đa trung tâm với thời gian theo dõi dài hơn (≥ 6 tháng) để xây dựng hướng dẫn thực hành thống nhất.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 63 trường hợp ung thư vú dương tính HER2 (3+), theo dõi tình trạng bộc lộ HER2 trên các mảnh cắt paraffin được lưu trữ ở nhiệt độ phòng xét nghiệm (20 - 25°C) sau các khoảng thời gian 1, 2, 4, 8 và 16 tuần, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

- Có sự suy giảm tình trạng bộc lộ HER2 theo thời gian lưu trữ: Cường độ nhuộm và tỷ lệ tế bào u bắt màu hoàn toàn, đậm giảm dần theo thời gian bảo quản mảnh cắt paraffin.

- Tại Việt Nam, để đảm bảo kết quả xét nghiệm HER2 chính xác, mảnh cắt paraffin không nên lưu trữ ở nhiệt độ phòng quá 2 tuần trước khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

6. KIẾN NGHỊ

Dựa trên kết quả nghiên cứu, chúng tôi đưa ra một số kiến nghị sau:

- * Đối với các phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh tại Việt Nam:

Thực hiện nhuộm hóa mô miễn dịch HER2 ngay sau khi cắt mảnh hoặc bảo quản ≤ 2 tuần nếu bảo quản ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C) hoặc thực hiện trên mảnh cắt mới khác.

- * Đối với các nghiên cứu khoa học:

- Khi thiết kế nghiên cứu sử dụng các lam nhuộm HMMD, cần ghi nhận thời gian lưu trữ hoặc chỉ chọn các mảnh cắt paraffin có thời gian lưu trữ ≤ 2 tuần ở nhiệt độ phòng 20 - 25°C để đảm bảo độ chính xác.

- Cần mở rộng đánh giá trên các mẫu có cường độ HER2 2+, 1+ để xác định mức độ ảnh hưởng của thời gian lưu trữ lên các ngưỡng cận dương tính.

- Nên so sánh các điều kiện bảo quản khác nhau (nhiệt độ phòng, 4°C, -20°C, -80°C, phủ paraffin, môi trường chân không...) nhằm tìm ra phương pháp bảo quản tối ưu cho mảnh cắt HER2.

- Cần thực hiện các nghiên cứu đa trung tâm với thời gian theo dõi dài hơn (≥ 6 tháng) để xây dựng hướng dẫn hành thống nhất trên toàn quốc.

Tuyên bố về xung đột lợi ích: Các tác giả khẳng định không có xung đột lợi ích đối với các nghiên cứu, tác giả và xuất bản bài báo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Filho AM, Laversanne M, Ferlay J, Colombet M, Piñeros M, Znaor A, et al. The GLOBOCAN 2022 cancer estimates: Data sources, methods, and a snapshot of the cancer burden worldwide. *Int J Cancer*. 2025 Apr 1;156(7):1336–46. doi:10.1002/ijc.35278.

2. Swain SM, Shastry M, Hamilton E. Targeting HER2-positive breast cancer: advances and future directions. *Nat Rev Drug Discov*. 2023 Feb;22(2):101–26. doi:10.1038/s41573-022-00579-0.

3. von Arx C, De Placido P, Caltavitturo A, Di Rienzo R, Buonaiuto R, De Laurentiis M, et al. The evolving therapeutic landscape of trastuzumab-drug conjugates: Future perspectives beyond HER2-positive breast cancer. *Cancer Treat Rev*. 2023 Feb;113:102500. doi:10.1016/j.ctrv.2022.102500.

4. Shanmugalingam A, Hitos K, Pathmanathan N, Edirimane S, Hughes TM, Ngui NK. Comparison of breast cancer HER-2 receptor testing with immunohistochemistry and in situ hybridization. *Breast Cancer Res Treat*. 2023 Feb;198(1):143–8. doi:10.1007/s10549-023-06860-z.

5. Rakha EA, Tan PH, Quinn C, Provenzano E, Shaaban AM, Deb R, et al. UK recommendations for HER2 assessment in breast cancer: an update. *J Clin Pathol*. 2023 Apr;76(4):217–27. doi:10.1136/jcp-2022-208632.

6. Wester K, Wahlund E, Sundström C, Ranefall P, Bengtsson E, Russell PJ, et al. Paraffin section storage and immunohistochemistry. Effects of time, temperature, fixation, and retrieval protocol with emphasis on p53 protein and MIB1 antigen. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2000 Mar;8(1):61–70.

7. Jacobs TW, Prioleau JE, Stillman IE, Schnitt SJ. Loss of tumor marker-immunostaining intensity on stored paraffin slides of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1996 Aug 7;88(15):1054–9. doi:10.1093/jnci/88.15.1054.

8. He J, Wang X, Cai L, Jia Z, Liu C, Sun X, et al. Effect of storage time of paraffin sections on the expression of PD-L1 (SP142) in invasive breast cancer. *Diagn Pathol*. 2023 Dec 5;18:131. doi:10.1186/s13000-023-01423-8.

9. Wolff AC, Somerfield MR, Dowsett M, Hammond MEH, Hayes DF, McShane LM, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *J Clin Oncol*. 2023 Aug 1;41(22):3867–72. doi:10.1200/JCO.22.02864.

10. Kim K, Ylaya K, Perry C, Lee MY, Kim JW, Chung JY, et al. Quality Assessment of Proteins and RNA Following Storage in Archival Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Human Breast Cancer Tissue Microarray Sections. *Biopreserv Biobank*. 2023 Oct 1;21(5):493–503. doi:10.1089/bio.2022.0090.

11. Blind C, Koepfenik A, Pacyna-Gengelbach M, Fernahl G, Deutschmann N, Dietel M, et al. Antigenicity testing by immunohistochemistry after tissue oxidation. *Journal of Clinical Pathology*. 2008 Jan 1;61(1):79–83. doi:10.1136/jcp.2007.047340.

12. Rakha EA, Tan PH, Bockstal MRV, Allison KH, Brogi E, Callagy G, et al. International Expert Consensus Recommendations for HER2 Reporting in Breast Cancer: Focus on HER2-Low and Ultralow Categories. *Modern Pathology*. 2026 Jan 1;39(1). doi:10.1016/j.modpat.2025.100925

13. Pennacchia I, Carbone A, Di Cerbo A, Vecchio FM, Arena V. 2013 ASCO/CAP updated guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: Impact on routine practice. *The Breast*. 2015 Jun 1;24(3):285–6. doi:10.1016/j.breast.2015.01.014.