

Bài giảng

TỦY ĐỒ

Đối tượng : Y4 -Y6

Mục tiêu :

- 1.- Nắm được khái niệm thủ thuật Tủy Đồ, Sinh Thiết Tủy
- 2.- Hiểu ý nghĩa giá trị của tủy đồ trong chẩn đoán lâm sàng
- 3.- Biết ra chỉ định khi cần thiết có hình ảnh tủy đồ trong lâm sàng
- 4.- Biết kết hợp huyết + tủy đồ cùng các xét nghiệm khác để tiến đến chẩn đoán được bệnh

I.- DẪN NHẬP

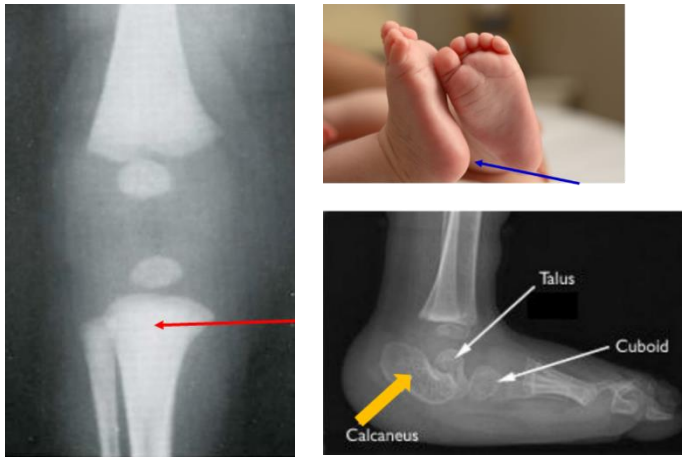
Tủy xương là nơi có hoạt động “náo nhiệt” hàng đầu của cơ thể, nơi tạo máu vĩnh viễn cho cá thể con người sau chào đời. Tủy đồ là một xét nghiệm thăm dò chuyên khoa Huyết học rất quan trọng cho chẩn đoán các bệnh thuộc hệ tạo máu và các bệnh ngoài hệ máu gây xâm lấn hay di căn tủy.

Về thủ thuật, đây là một xét nghiệm rất xâm lấn (invasive) gây đau, sợ hãi cho BN, nhất là BN trẻ em, do vậy việc ra chỉ định phải thật chặt chẽ.

Về bệnh học mô học, đây là một xét nghiệm khó, đòi hỏi kiến thức và kinh nghiệm cao của BS tế bào học, đến mức theo sắp xếp phân công của y-học trên thế giới thì tủy đồ do BS Huyết học đọc và phân tích, ngành GPB không nhận đọc ; một số BS GPB cũng nhận đọc nhưng đã phải qua huấn luyện ở labo Huyết học.

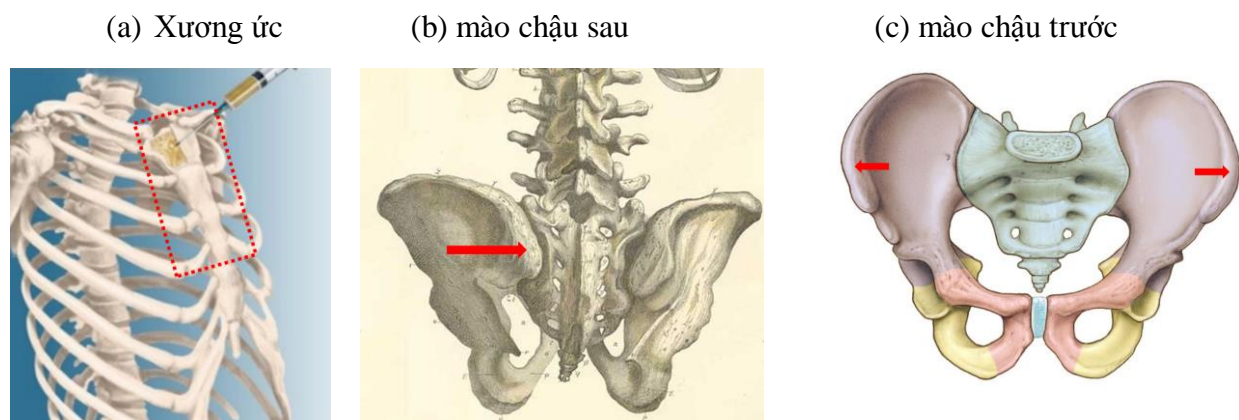
II.- THỦ THUẬT

Vị trí chọc trích mẫu : BN sơ sinh và bệnh nhi < 18 tháng tuổi, tất cả các xương đều tạo máu, do vậy có thể chọc ở bất cứ vị trí nào an toàn và thuận tiện, có 3 vị trí được chọn : mào chậu sau, mặt phẳng trên của xương chày (tibia) và xương gót.



Hình 1 : Các vị trí chọc ở BN nhỏ hơn 18 tháng tuổi

Ở các cháu > 2 tuổi thì chỉ chọn các xương dẹp như BN người lớn : xương ức, gai xương đốt sống, mào chậu sau; nếu BN béo phì nên chọn mào chậu trước.



Hình 2 : Các vị trí chọc tủy có thể chọn

Kỹ thuật vô cảm :

Trẻ em : cho gây mê hoàn toàn,

Người lớn yếu về thể trạng và/hoặc yếu thần kinh & tâm lý (sợ hãi, run rẩy, nhịp tim nhanh, THA,...) chỉ định cho gây mê,

BN có thần kinh rắn rỏi : chỉ cần gây tê tại chỗ,

Đề phòng : cần hỏi tiền căn dị ứng, sốc thuốc tê.

III.- CHỈ ĐỊNH

Nguyên tắc chung khi chỉ định : khi cần chẩn đoán các bệnh thuộc hệ tạo máu, dòng tủy myeloid và dòng lymphô, và các thâm dò tủy trong các bệnh hệ thống, các bệnh gây xâm lấn tủy (lành tính hay ác tính). Ngoài ra, trích tủy có thể được dùng để khảo sát di truyền tế bào học, sinh học phân tử, nuôi cấy vi sinh, virus, vi nấm

Chỉ định tủy đồ :

- 1.- Khi BN có biến động tăng hoặc giảm, một hoặc nhiều dòng huyết cầu trong máu, mà không xác định được nguyên nhân,
- 2.- Khi phát hiện máu có tế bào bất thường,
- 3.- Khi có tăng sinh, phì đại cơ quan lymphô : hạch to, u trung thất, lách to, gan to không rõ nguyên nhân, ...
- 4.- Bệnh xâm lấn : amyloidosis, bệnh Gaucher, Niemann-Pich, bệnh mô bào (histiocytosis), ứ sắt (hemochromatosis), ứ đồng đồng (bệnh Wilson) ...
- 5.- Các bệnh ung thư được biết hay di căn xương và tủy : K vú, u nguyên bào thần kinh (neuroblastoma), sarcoma cơ vân, sarcoma cơ trơn, K tiền liệt tuyến,
- 6.- Sốt kéo dài không rõ nguyên nhân (FUO), nhiễm nấm huyết, nhiễm trùng huyết, lao xương tủy, cần cấy vi sinh, tìm KST sốt rét trong tủy ...
- 7.- Để theo dõi diễn tiến của hành trình điều trị

Chống chỉ định :

- 1.- Rối loạn đông máu nặng
- 2.- Vị trí chọc tủy ức : các BN cao tuổi, bị loãng xương hoặc có b' hủy xương như Kahler.
- 3.- Tình huống đặc biệt của BN : Tăng HA, rối loạn nhịp tim, tiền căn sốc thuốc tê-mê ...

IV.- PHÂN TÍCH TỦY ĐỒ

1.- Nhuộm lam : thông thường, phẩm nhuộm cho phết tủy không phải là H.E. (hematoxyline-eosine) như bệnh phẩm GPB khác; phẩm nhuộm cơ bản là Giemsa, May-Grunwald Giemsa,...

Nhìn lam tủy sẽ thấy các tế bào ăn nhuộm hoặc màu xanh kiềm (basophilic) hoặc màu hồng đỏ acid (acidophilic). Các tế bào càng non, ở vị trí đầu dòng, có hoạt động phân bào và biệt hóa mạnh, chứa nhiều acid nhân (DNA và RNA) nên bắt màu kiềm đậm (xanh dương) ; trái lại, các tế bào ở cuối dòng của hành trình biệt hóa có ít acid nhân, nên ít bắt màu xanh hơn ; HC trưởng thành chứa đầy hemoglobin, là chất đệm kiềm mạnh, nên bắt màu acid hoàn toàn (đỏ hồng)

2.- Mật độ tế bào tủy (cellularity) : bình thường số tế bào có nhân ở tủy khoảng 30.000 đến 120.000/ μ L; nhận diện mật độ tủy giàu hay nghèo là mô tả quan trọng đầu tiên để phân định :

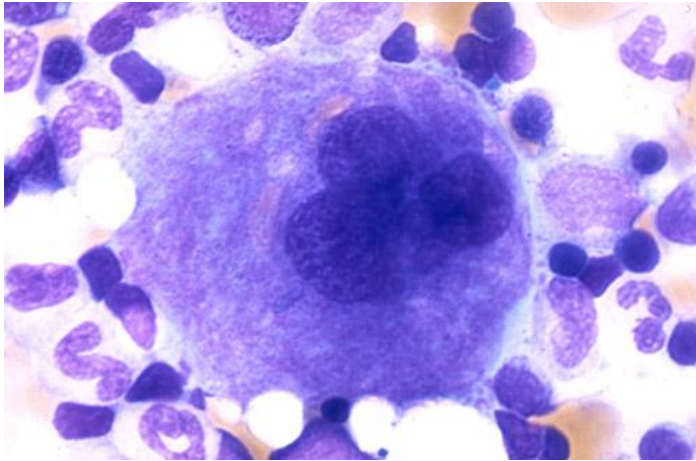
Tủy nghèo : nhóm bệnh giảm sinh tủy (suy tủy ...)

Tủy giàu : nhóm bệnh loạn sinh (dysplasia) hay tăng sinh (hyperplasia)

Mặc dù không phải tất cả các trường hợp bệnh đều đúng theo quy luật ấy, thí dụ : một số hiếm ca Bạch huyết cấp có hình ảnh xuất phát điểm ban đầu như suy tủy, nghĩa là tủy nghèo.

3.- Phân tích các tế bào bình thường của hệ tạo máu

3.1- Dòng mẫu tiểu cầu : đây là các tế bào có kích thước lớn nhất trên phết tủy, nếu có hiện diện, nhìn là dễ thấy ngay



Hình 3 : “Mẫu tiểu cầu”, tế bào rất lớn, nhân có nhiều thùy

Khi nhìn thấy mẫu tiểu cầu có thể đoán chắc là thủ thuật đã trích được đúng mẫu tủy. Ước lượng bình thường trên trộn lam tủy có khoảng 30 tế bào mẫu tiểu cầu.

3.2- Dòng bạch cầu

Nhóm đơn nhân gồm lympho-bào (lymphocyte), BC đơn nhân monocyte, và tương bào (plasma cell) không lưu lại trong tủy lâu sau khi hình thành, mà di chuyển ra các cơ quan lympho ngoại biên, hạch, lách, gan ; monocyte lưu thông trong máu ngắn hạn, mà thâm nhập vào các mô rất sớm ; do vậy, 3 loại tế bào này hiện diện không nhiều trong tủy.

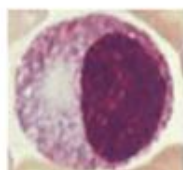
Số lượng BC lớn nhất trong tủy là dòng BC hạt (granulocytic), trải dài từ non đến trưởng thành. Từ giai đoạn tủy bào (myelocyte) các BC được biệt hóa thành trung tính (neutrophil), ưa kiềm (basophil) hoặc ưa acid (eosinophil)



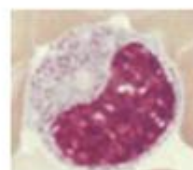
Nguyên tủy bào
(Myeloblast)



Tiền tủy bào
(Promyelocyte)



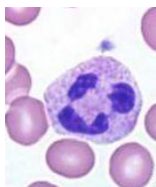
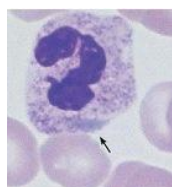
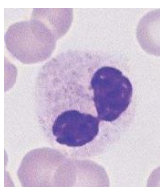
Tủy bào
(Myelocyte)



Hậu tủy bào
(Metamyelocyte)



BC đũa
(Band form)



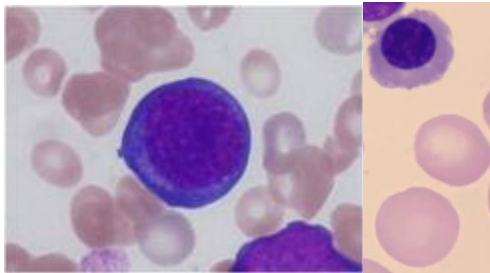
BC đa nhân
(polymorphonuclear)

Hình 4 : BC dòng hạt ở tất cả các giai đoạn biệt hóa nhận diện được ở tủy

3.3- Dòng hồng cầu

Chỉ có các tế bào HC có nhân mới được phân tích; HC trưởng thành, đã xuất mất nhân, sẽ không còn được tính và xét đến trong thành phần tủy.

Biệt hóa của dòng HC cũng từ non đến trưởng thành, càng non thì bắt màu kiềm càng đậm, càng trưởng thành dần thì chuyển sang bắt màu hồng dần.



Hình 5 : Nguyên HC ưa kiềm (erythroblast basophil), gọi là “hồng” cầu nhưng thực ra không bắt màu hồng, vì tế bào chất chưa có hemoglobin; nguyên HC đa sắc (erythroblast polychromatophil), đã tổng hợp hemoglobin dần nên bắt màu hồng dần, gần bên là các HC trưởng thành không còn nhân, bắt màu acid hoàn toàn.

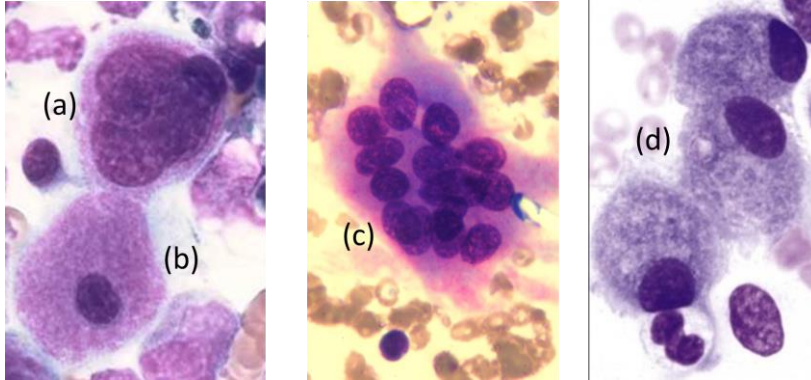
3.4- Công thức tủy dễ nhớ (mnemonics) [quy luật số 16]

Myeloblast	2%
Promyelocyte	2%
Myelocyte	16%
Metamyelocyte	16%
Band form (stab)	32% (2 x 16)
Polymorphonuclear	
Lymphocyte	16%
Monocyte	
Plasma cell	
Proerythroblast	16%
Erythroblast basophil	
Erythroblast polychromatophil	
Erythroblast acidophil	

Để người BS lâm sàng có khái niệm đầy đủ hơn về tương quan dòng HC trong tủy với các tế bào tủy khác, người đọc tủy cung cấp tỷ số HC/Tủy bào (E / M) ; bình thường tỷ số này khoảng 1:4 đến 1:5.

4.- Các tế bào bình thường khác, không thuộc hệ tạo máu

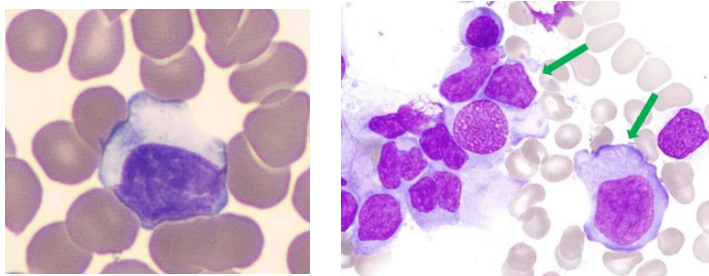
Một số tế bào không thuộc hệ tạo máu, nhưng thỉnh thoảng tình cờ có thể thấy hiện diện trong tủy : đại thực bào-mô bào (histiocyte - macrophage), nguyên bào xương (osteoblast), hủy cốt bào (osteoclast)... . Mẫu tiểu cầu có 1 nhân chia nhiều thùy, trong khi Hủy cốt bào là tế bào có nhiều nhân (cấu trúc syncytium)



Hình 6 : (a) Mẫu tiểu cầu, (b) Đại thực bào, (c) Hủy cốt bào và (d) Nguyên bào xương (Tạo cốt bào – Osteoblast)

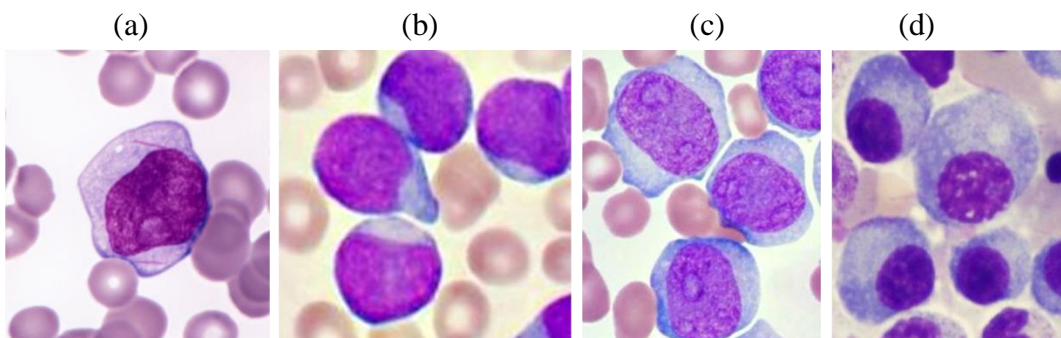
5.- Các tế bào bất thường thuộc hệ tạo máu

5.1- Các nguyên bào miễn dịch (immunoblast), đó là các lympho phản ứng, có thể gặp trong các phản ứng viêm miễn dịch khi nhiễm virus, như virus EBV, ... hay lympho ác tính trong các lymphoma



Hình 7 : các immunoblast

5.2- Các tế bào ung thư : Bạch huyết myeloblast, lymphoblast, monoblast, tương bào ác tính trong bệnh Kahler (đa u tủy)

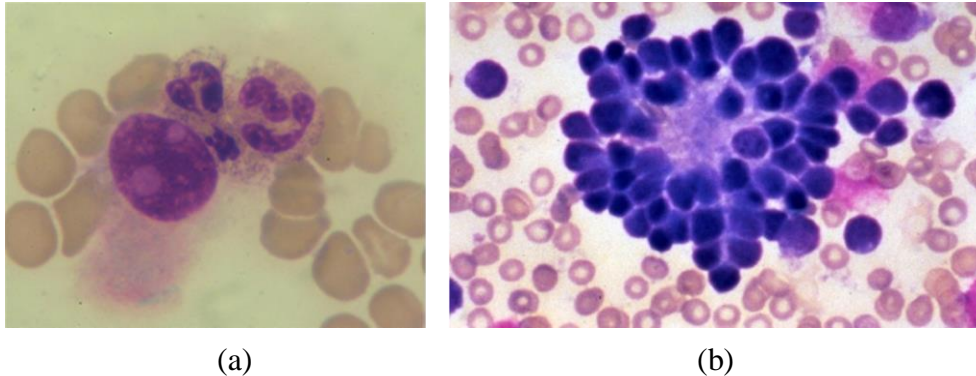


Hình 8 : (a) Myeloblast, có que Auer, (b) Lymphoblast, (c) Monoblast, (d) Tương bào

Tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất (N/C) là một thông số cần thiết mô tả đặc điểm riêng của nhóm tế bào đang quan tâm, giúp người BS lâm sàng ước đoán mức độ trưởng thành của tế bào bệnh, tế bào càng non thì N/C càng lớn.

6.- Các tế bào ung thư di căn tủy

Không phải tất cả các bệnh ung thư đều di căn tủy, nhưng một số bệnh rất hay di căn tủy, do vậy có thể thấy được trong tủy khi khảo sát tủy đồ và sinh thiết tủy : u nguyên bào thần kinh (neuroblastoma), các carcinoma như carcinoma vú, phổi, ống tiêu hóa, tiền liệt tuyến ...



Hình 9 : (a) Carcinoma vú, (b) U nguyên bào TK (neuroblastoma) di căn tủy

V.- ĐÁNH DẤU ĐẶC BIỆT

Hầu hết các trường hợp bệnh đều có thể được nhận diện và chẩn đoán tế bào học theo hình thái học (morphology) kinh điển này. Tuy nhiên, ngày nay, nhất là đối với các ca không rõ ràng điển hình, phải có các tiêu chuẩn khách quan hơn mới đoan chắc được chẩn đoán và phân loại, xếp cấp độ nguy cơ và định tiên lượng.

V.1- Nhuộm hóa mô (histochemistry)

Nhuộm peroxidase và sudan black : để xác nhận dòng tủy (myeloid)

Nhuộm P.A.S. : dương tính trong khoảng 2/3 số ca Bạch huyết cấp dòng lympho và hầu hết các ca AML-M6 (Erythroleukemia)

Nhuộm Esterase : dương tính trong hầu hết các ca M4 và nhất là M5

V.2- Định các dấu ấn miễn dịch (immunologic markers)

Thông thường, các dấu ấn có thể được nhận diện bằng 2 cách : nhuộm trên lame với kỹ thuật phosphatase kiềm APAAP.

Ngày nay dựa chủ yếu vào Flow cytometry. Trong các ca mà hình thái học khó phân biệt, các markers CD sau đây sẽ giúp quyết định chẩn đoán dòng chắc chắn hơn.

CD Markers

➤ Most commonly used markers (CD = cluster designation)

▪ B-cell – CD10, CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD79b, CD103, Pax-5, kappa, lambda, CD200, cytoplasmic kappa, cytoplasmic lambda

▪ T-cell – CD1, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, TCR α - β , TCR γ - δ , cytoplasmic CD3

▪ Myeloid/monocyte – CD11b, CD13, CD14, CD14, CD15, CD33, CD64, CD117, myeloperoxidase

▪ Miscellaneous – CD11c, CD16, CD25, CD30, CD34, CD38, CD41, CD42b, CD45, CD56, CD57, CD61, HLA-DR, glycophorin, TdT, bcl-2

--ooOoo--

Chẩn đoán tủy đồ là một khâu then chốt, không thể thiếu trong chẩn đoán lâm sàng Huyết học, rất khó, và có nhiều chi tiết gây nhầm lẫn, đòi hỏi trình độ huấn luyện, kiến thức rộng rãi, kiên nhẫn, và kinh nghiệm đối với người đọc và chẩn đoán. Dựa vào tủy đồ và các kỹ thuật xác định dòng tế bào hiện đại, BN được chẩn đoán chính xác đến các subtypes của bệnh và nhờ đó được hiệu chỉnh điều trị rất phù hợp bệnh.