

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC**


NGUYỄN THỊ KIM HOA

**NGHIÊN CỨU BIẾN ĐỔI GEN
TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ
BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM
TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HUẾ, 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC


NGUYỄN THỊ KIM HOA

**NGHIÊN CỨU BIẾN ĐỔI GEN
TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ
BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM
TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ**

Ngành: Nhi khoa
Mã số: 9720106

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học
PGS. TS. Phan Hùng Việt
PGS. TS. Trần Kiên Hảo

HUẾ, 2022

LỜI CẢM ƠN

Với tất cả lòng kính trọng và sự biết ơn chân thành, nhân dịp hoàn thành bản luận án này, em xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

PGS.TS. Phan Hùng Việt, Nguyên Trưởng Bộ môn Nhi, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế, Thầy đã trực tiếp hướng dẫn em kiến thức và kinh nghiệm trong quá trình hoàn thiện luận án.

PGS.TS. Trần Kiên Hảo, Giám đốc Sở Y tế tỉnh Thừa Thiên Huế, Giám đốc Trung tâm Nhi, Bệnh viện Trung ương Huế, Thầy đã truyền đạt kinh nghiệm, tổ chức và tạo điều kiện tốt nhất cho em được thực hiện đề tài nghiên cứu.

PGS.TS. Bùi Bình Bảo Sơn, Trưởng Bộ môn Nhi, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế, Thầy đã truyền đạt kinh nghiệm, và luôn nâng đỡ, khích lệ em trong quá trình học tập.

Em cũng xin bày tỏ sự cảm ơn sâu sắc tới:

- Ban Giám đốc Bệnh viện Trung ương Huế, Ban Giám đốc Trung tâm Nhi, và các Khoa, Phòng, Ban liên quan đã tạo mọi điều kiện cho em thực hiện đề tài nghiên cứu.

- Ban Giám hiệu Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế, Phòng Đào tạo Sau đại học, các Nhà khoa học, các Thầy, Cô thuộc Bộ môn Nhi, Bộ môn chuyên ngành liên quan đề tài nghiên cứu đã tạo điều kiện và giúp đỡ em hoàn thiện luận án khoa học.

- Bác sĩ trưởng khoa, cùng các đồng nghiệp, nhân viên khoa Nhi Ung bướu – Huyết học – Ghép tủy, đã tạo những điều kiện tốt nhất để em được thực hiện việc thu thập các số liệu cần thiết cho luận án.

- Cô Watanabe và quý bác sĩ đại học Nagoya, Nhật Bản đã hỗ trợ xét nghiệm cho tôi. Đại học quốc gia Singapore đã giúp em thực hiện xét nghiệm đa hình gen.

Cuối cùng, em xin cảm ơn quý chị em trong Hội Dòng Con Đức Mẹ Vô Nhiễm. Con xin cảm ơn ba mẹ, các anh chị em, đồng nghiệp và bạn bè đã động viên giúp đỡ trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Huế, ngày 10 tháng 12 năm 2022

Nguyễn Thị Kim Hoa

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Nguyễn Thị Kim Hoa**, nghiên cứu sinh, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế, ngành Nhi khoa, xin cam đoan.

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của các Thầy:

- Hướng dẫn 1: PGS.TS. Phan Hùng Việt
- Hướng dẫn 2: PGS.TS. Trần Kiên Hảo

2. Công trình này không trùng lặp với bất cứ nghiên cứu nào khác đã công bố tại Việt Nam và Thế giới.

3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Huế, ngày ... tháng ... năm 2022

Tác giả luận án

NCS. Nguyễn Thị Kim Hoa

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BCC	Bạch cầu cấp
BCCDL	Bạch cầu cấp dòng lympho
BCCDT	Bạch cầu cấp dòng tủy
B-BCCDL	Bạch cầu cấp dòng lympho B
T-BCCDL	Bạch cầu cấp dòng lympho T
TKTW	Hệ thần kinh trung ương
BFM	Berlin Frankfurt Munich
COG	Children's Oncology Group (Nhóm ung thư nhi)
CCG	Children's Cancer Group (Nhóm ung thư nhi)
MRC	Medical Research Council (Hội đồng nghiên cứu y khoa)
POG	Pediatric Oncology Group (Nhóm ung thư trẻ em)
FAB	French-America-British
NCCN	National Comprehensive Cancer Network (Mạng lưới hiểu biết ung thư quốc gia ở Mỹ)
EFS	Event free survival (Thời gian sống không bệnh)
OS	Overall survival (Thời gian sống toàn bộ)
CD	Cluster of Differentiation (cụm biệt hóa)
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization (Lai huỳnh quang tại chỗ)
Hb	Hemoglobin (huyết sắc tố)
LDH	Lactate Dehydrogenase
MPO	Myeloperoxidase
MRD	Minimal residual disease (Bệnh tồn dư tối thiểu)
NST	Nhiễm sắc thể
NUDT15	Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X) type motif 15
PAS	Periodic acid- Schiff
Ph	Philadelphia (Nhiễm sắc thể)

RT-PCR	Reverse Transcriptase-PCR (Phản ứng khuếch đại gen phiên mã ngược)
T	Translocation (chuyển đoạn)
TG	Thioguanine
6-MP	6-Mercaptopurine
TGMP	Thioguanine monophosphate
TGDP	Thioguanine diphosphate
TGTP	Thioguanine triphosphate
TIMP	Thio-inosine monophosphate
TPMT	Thiopurine methyltransferase
WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)
FDA	Food and Drug Administration (Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm)
CTCAE	Common Terminology Criteria For Adverse Events (Tiêu chuẩn thuật ngữ chung cho các sự kiện bất lợi).

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Đại cương về bạch cầu cấp trẻ em	3
1.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp	7
1.3. Các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp	9
1.4. Các yếu tố tiên lượng bệnh bạch cầu cấp	19
1.5. Phân nhóm nguy cơ, chẩn đoán và điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em	23
1.6. Các gen liên quan chuyển hóa thuốc 6-Mercaptopurine	30
1.7. Đánh giá đáp ứng điều trị	36
1.8. Các công trình nghiên cứu các biến đổi gen bạch cầu cấp ở trẻ em	38
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	42
2.1. Đối tượng nghiên cứu	42
2.2. Phương pháp nghiên cứu	43
2.3. Phân tích, xử lý số liệu	59
2.4. Vấn đề y đức trong nghiên cứu	60
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	62
3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp	62
3.2. Xác định các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em	72
3.3. Khảo sát mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em	81
Chương 4. BÀN LUẬN	99
4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp trẻ em	99
4.2. Xác định các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em	111
4.3. Khảo sát mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em	128
KẾT LUẬN	141
KIẾN NGHỊ	143
DANH MỤC CÁC BÀI BÁO VÀ CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	144
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Phân nhóm tiên lượng BCCDL dựa theo các biến đổi di truyền	20
Bảng 1.2. Phân nhóm tiên lượng BCCDT theo các biến đổi di truyền.....	22
Bảng 1.3. Phác đồ điều trị cho nguy cơ thường	25
Bảng 1.4. Phác đồ điều trị cho nguy cơ cao	26
Bảng 1.5. Phân loại hình thái học, lâm sàng và sinh học bạch cầu cấp dòng tủy.....	28
Bảng 1.6. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP đối với các biến thể gen <i>NUDT15</i>	32
Bảng 1.7. Liều gợi ý sử dụng thuốc mercaptopurine dựa trên khả năng chuyển hóa thuốc của <i>NUDT15</i>	33
Bảng 1.8. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP đối với các biến thể gen <i>TPMT</i>	34
Bảng 1.9. Liều gợi ý sử dụng thuốc 6-MP dựa trên khả năng chuyển hóa thuốc của <i>TPMT</i>	35
Bảng 2.1. Các biến số nghiên cứu	46
Bảng 2.2. Mô tả các alen và phương pháp.....	51
Bảng 2.3. Chia nhóm nguy cơ theo biến đổi gen BCCDL theo kết quả kit HemaVision 28N.....	53
Bảng 2.4. Chia nhóm nguy cơ theo biến đổi gen BCCDT.....	53
Bảng 2.5. Điều chỉnh liều 6-MP theo kiểu gen <i>NUDT15</i>	54
Bảng 2.6. Điều chỉnh liều 6-MP theo kiểu gen <i>TPMT</i>	55
Bảng 3.1. Phân bố hai nhóm bệnh theo tuổi.....	62
Bảng 3.2. Phân bố hai nhóm bệnh theo giới tính	63
Bảng 3.3. Phân nhóm nguy cơ bệnh bạch cầu cấp dòng lympho.....	64
Bảng 3.4. Phân bố triệu chứng khởi phát theo nhóm bệnh	65
Bảng 3.5. Thời gian xuất hiện triệu chứng đến lúc nhập viện giữa hai nhóm bệnh....	65
Bảng 3.6. Các biểu hiện lâm sàng thường gặp của bệnh bạch cầu cấp.....	66
Bảng 3.7. Các biểu hiện lâm sàng ít gặp trong bệnh bạch cầu cấp	67
Bảng 3.8. Phân bố đặc điểm công thức máu theo nhóm bệnh.....	68
Bảng 3.9. Tỷ lệ tế bào non ác tính trong máu ngoại vi theo nhóm bệnh	69

Bảng 3.10. Đặc điểm tủy đồ theo nhóm bệnh	70
Bảng 3.11. Các đặc điểm sinh hóa theo nhóm bệnh.....	71
Bảng 3.12. Các biến đổi gen thường gặp trong bệnh BCCDL	72
Bảng 3.13. Các biến đổi gen theo phân nhóm nguy cơ BCCDL	73
Bảng 3.14. Các biến đổi gen theo phân nhóm dấu ấn miễn dịch BCCDL	74
Bảng 3.15. Phân nhóm tiên lượng BCCDL dựa vào các biến đổi gen	74
Bảng 3.16. Các biến đổi gen thường gặp trong bệnh BCCDT	75
Bảng 3.17. Các biến đổi gen theo phân loại dưới nhóm BCCDT	75
Bảng 3.18. Phân nhóm tiên lượng BCCDT dựa vào các biến đổi gen	76
Bảng 3.19. Tỷ lệ biến đổi gen <i>NUDT15</i>	76
Bảng 3.20. Tần suất kiểu alen và kiểu gen <i>NUDT15</i> trên bệnh nhân BCCDL.....	77
Bảng 3.21. Phân nhóm chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên đa hình gen <i>NUDT15</i> ..	78
Bảng 3.22. Tỷ lệ đa hình gen <i>TPMT</i>	78
Bảng 3.23. Tần suất kiểu alen và kiểu gen <i>TPMT</i> trên bệnh nhân BCCDL	79
Bảng 3.24. Phân nhóm chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên đa hình gen <i>TPMT</i>	79
Bảng 3.25. Tỷ lệ biến đổi cả hai gen <i>NUDT15</i> và <i>TPMT</i>	80
Bảng 3.26. Chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên các đa hình gen <i>NUDT15</i> và <i>TPMT</i>	80
Bảng 3.27. Tỷ lệ lui bệnh sau giai đoạn tấn công BCCDL về mặt hình thái học ..	81
Bảng 3.28. Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy	82
Bảng 3.29. Tỷ lệ tái phát bệnh bạch cầu cấp	83
Bảng 3.30. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng thể bệnh bạch cầu cấp.....	85
Bảng 3.31. Tỷ lệ lui bệnh BCCDL theo các phân nhóm nguy cơ biến đổi gen ..	88
Bảng 3.32. Phân bố giá trị MRD theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDL	89
Bảng 3.33. Phân bố tỷ lệ lui bệnh theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDT	89
Bảng 3.34. Tỷ lệ tái phát theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDL	90
Bảng 3.35. Tỷ lệ tái phát theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDT	90
Bảng 3.36. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng phân nhóm biến đổi gen BCCDL...	90
Bảng 3.37. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng phân nhóm biến đổi gen BCCDT	92
Bảng 4.1. So sánh các biểu hiện lâm sàng thường gặp với một số	105

ngiên cứu trên thế giới và Việt Nam.	105
Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp một số gen khảo sát với một số nghiên cứu tại Việt Nam và trên thế giới trong bệnh BCCDL	112
Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp một số gen khảo sát với một số nghiên cứu tại Việt Nam và trên thế giới trong bệnh BCCDT	117
Bảng 4.4. So sánh tần suất các alen <i>NUDT15</i> với các chủng tộc khác trên thế giới	121
Bảng 4.5. So sánh các kiểu gen <i>NUDT15</i> với các dân tộc khác trên thế giới	122

DANH MỤC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Hướng dẫn điều chỉnh liều thuốc 6-MP theo đa hình gen <i>NUDT15</i> và <i>TPMT</i> [143].	56
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ cây nghiên cứu	59
Biểu đồ 3.1. Xếp loại thể bệnh theo dấu ấn miễn dịch	63
Biểu đồ 3.2. Phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy	64
Biểu đồ 3.3. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ bệnh BCC	84
Biểu đồ 3.4. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm BCC	85
Biểu đồ 3.5. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh BCC	86
Biểu đồ 3.6. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm BCC	87
Biểu đồ 3.7. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm biến đổi gen BCCDL	91
Biểu đồ 3.9. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen BCCDL	93
Biểu đồ 3.10. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen BCCDT	94
Biểu đồ 3.11. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen <i>TPMT</i>	95
Biểu đồ 3.12. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo đa hình gen <i>TPMT</i>	96
Biểu đồ 3.13. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen <i>NUDT15</i>	97
Biểu đồ 3.14. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo đa hình gen <i>NUDT15</i>	98

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Phân bố các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho	10
Hình 1.2. Gen <i>TEL</i> , <i>AML1</i> và dung hợp gen <i>TEL/AML1</i>	10
Hình 1.3. Gen <i>E2A</i> , <i>PBX1</i> và dung hợp gen <i>E2A/PBX1</i>	11
Hình 1.4. Gen <i>ABL</i> , <i>BCR</i> và dung hợp gen <i>BCR/ABL1</i>	12
Hình 1.5. Gen <i>MLL</i> , <i>AF4</i> và dung hợp gen <i>MLL/AF4</i>	13
Hình 1.6. Cấu trúc gen <i>MYC</i> , <i>IGH</i> và đột biến dung hợp gen <i>MYC/IGH</i>	15
Hình 1.7. Các biến đổi gen trong bệnh BCCDT [145].	16
Hình 1.8. Gen <i>AML1</i> , <i>ETO</i> và dung hợp gen <i>AML1/ETO</i>	16
Hình 1.9. Gen <i>PML</i> , <i>RARA</i> và dung hợp gen <i>PML/RARA</i>	18
Hình 1.10. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine	31
Hình 1.11. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine nếu không có tác động của enzyme <i>NUDT15</i>	32
Hình 1.12. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-MP nếu không có enzyme <i>TPMT</i>	34

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạch cầu cấp là bệnh ung thư thường gặp nhất ở trẻ em và trẻ vị thành niên, chiếm tỷ lệ 25% trong tất cả các ca ung thư mới được chẩn đoán ở trẻ dưới 15 tuổi. Đây là bệnh của hệ thống tạo máu do sự tăng sinh không kiểm soát được của một hay nhiều dòng tế bào non ác tính. Trong bệnh bạch cầu cấp, bạch cầu cấp dòng lympho chiếm khoảng 75% trường hợp, bạch cầu cấp dòng tủy chiếm khoảng 20% và phần còn lại là bạch cầu cấp chưa xác định được thể hoặc bạch cầu cấp lai giữa hai dòng [65].

Tại Mỹ, hàng năm có khoảng 2500-3000 ca mắc mới bạch cầu cấp dòng lympho và khoảng 500 ca mắc mới bạch cầu cấp dòng tủy ở trẻ em [162]. Tại Bệnh viện Trung ương Huế, hàng năm, có khoảng 30-40 ca mắc mới bạch cầu cấp được chẩn đoán tại trung tâm Nhi, trong đó, bạch cầu cấp dòng lympho chiếm khoảng 77% và bạch cầu cấp dòng tủy chiếm khoảng 23% [115]. Chẩn đoán và phân loại bệnh bạch cầu cấp dựa trên các đặc điểm lâm sàng kết hợp với xét nghiệm tế bào ác tính về hình thái học, nhuộm hóa học tế bào, dấu ấn miễn dịch tế bào và các xét nghiệm về di truyền [41].

Về điều trị bạch cầu cấp trẻ em, việc áp dụng hóa trị liệu theo nhóm nguy cơ và biến đổi di truyền đã cải thiện đáng kể tỷ lệ sống của bệnh nhi, đặc biệt là trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho. Ở những nước phát triển, tỷ lệ sống toàn bộ bệnh bạch cầu cấp dòng lympho từ 10% vào những năm 1960 đã tăng hơn 90% những năm gần đây [54],[69],[86]. Tuy nhiên, tỷ lệ sống lâu dài đối với bạch cầu cấp dòng tủy vẫn còn là thách thức. Mặc dù tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đến 94,6%, nhưng tỷ lệ sống không bệnh sau 5 năm vẫn chiếm tỷ lệ khiêm tốn khoảng 50 - 61,6%, tái phát vẫn duy trì trong khoảng 20% đến 41% [84]. Do đó, việc không ngừng tìm kiếm các phương pháp điều trị tiên bộ là rất cần thiết trong bệnh bạch cầu cấp. Để có được những phương pháp điều trị tiên bộ, việc nghiên cứu đặc điểm di truyền phân tử của bệnh nhi bạch cầu cấp sẽ mở ra cánh cửa để chẩn đoán, phân loại nhóm nguy cơ chính xác và cải tiến điều trị [75],[145].

Trong quá trình điều trị bạch cầu cấp, tính chuyển hóa thuốc trên từng bệnh nhân đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh liều thuốc và lựa chọn loại thuốc thích hợp. Tính đa hình của các gen *NUDT15* và *TPMT* đã được chứng minh có liên quan chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurin (6-MP), một trong những thuốc chính của phác đồ điều trị bạch cầu cấp dòng lympho [143]. Một số bệnh nhân mang các kiểu gen có khả năng chuyển hóa trung gian hoặc chuyển hóa kém thuốc 6-MP, cần điều chỉnh liều thuốc sử dụng. Do vậy, các kiểu gen *NUDT15* và *TPMT* được xem như là yếu tố cần đánh giá để điều chỉnh liều 6-MP, nhằm giảm thiểu tác dụng không mong muốn cho các bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho [143].

Tại Việt Nam, việc thực hiện các xét nghiệm gen trên bệnh nhân bạch cầu cấp được thực hiện tại một số trung tâm lớn, với xét nghiệm phát hiện 4 dung hợp gen thường gặp bằng kỹ thuật RT-PCR. Việc thực hiện các xét nghiệm đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho mới được thực hiện tại một số ít trung tâm.

Trung tâm Nhi Bệnh viện Trung ương Huế được thành lập từ năm 2013 trên cơ sở khoa nhi trước đó. Bệnh nhi bị bệnh ung thư máu được tiến hành điều trị tại Huế từ những năm 2005. Việc thực hiện các xét nghiệm gen được tiến hành từ năm 2012, và phân tích gen dược lý học được thực hiện từ năm 2018. Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu nào thực hiện đồng thời các kỹ thuật multiplex RT-PCR, real-time PCR và giải trình tự gen Sanger để xác định các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp ở trẻ em. Vì thế, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu biến đổi gen trong chẩn đoán và điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em tại Bệnh viện Trung ương Huế”** với ba mục tiêu sau:

1. *Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp ở trẻ em.*
2. *Xác định biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp ở trẻ em.*
3. *Khảo sát mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

1.1.1. Lịch sử bệnh

Năm 1825, Alfred Velpeau mô tả những ca lâm sàng có tăng bạch cầu kéo dài nhưng không có nhiễm trùng [82],[127]. Vào năm 1847, Virchow đã dùng thuật ngữ “bệnh bạch cầu” để mô tả những tình trạng trên.

Vào nửa sau của thế kỷ 19, Ernst Neumann ở Đức đã phân biệt được thể cấp tính và mạn tính của bệnh bạch cầu, cũng như các biến thể mà sau này được nhận ra là dòng tủy và dòng lympho. Vào năm 1900, Otto Naegeli đã phân biệt được nguyên tủy bào và nguyên bào lympho [119].

Vào đầu những năm 1950, thuốc 6-MP và vinblastine đã được ra đời và được FDA chấp nhận. Những thành công này đã khuyến khích Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ thành lập trung tâm phục vụ hóa trị liệu ung thư vào năm 1955.

Vào cuối những năm 1950, James Holland và cộng sự lý luận rằng tế bào ung thư cần kết hợp nhiều loại hóa trị để tránh đột biến và tái phát [52],[54]. Holland, Freireich, Frei, và các đồng nghiệp đã phát triển phác đồ kết hợp POMP (prednisone, vincristine, methotrexate và 6-MP) và đạt được một số ca lui bệnh lâu dài và chữa lành được bệnh bạch cầu dòng lympho ở trẻ em, khởi đầu kỷ nguyên mới của việc kết hợp hóa trị liệu [53].

Từ đó đến nay, các nhà khoa học không ngừng tìm kiếm các biện pháp điều trị tối ưu cho trẻ bị BCC.

1.1.2. Tần suất mắc bệnh

Tỷ lệ mắc bệnh bạch cầu cấp vào khoảng 46,7 ca/1 triệu đối với các trẻ ở Châu Âu, dao động trong khoảng 30-60 ca/1 triệu. Tại các nước thuộc vùng Tây và Đông Âu, có tỷ lệ mắc bệnh thấp hơn. Tần suất này dao động giữa các quốc gia khác nhau. Tần suất mắc bệnh từ 35 ca/1 triệu tại Israel và lên đến 60 ca/1 triệu tại Ý và Malta [13].

Tại các nước Châu Âu, BCCDL chiếm khoảng 80% trong tất cả các bệnh bạch cầu cấp. Tỷ lệ mắc bệnh khoảng 40 ca/1 triệu trẻ tại các nước Tây Âu công nghiệp hóa, và tần suất từ 30-35 ca/1 triệu trẻ tại các nước Đông Âu, nhưng tỷ lệ này thấp hơn, dưới 20 ca/1 triệu trẻ ở các nước Châu Phi cận Sahara [39]. Tần suất này vẫn thấp hơn ở một vài địa điểm ở Nhật Bản, tần suất 21 ca/1 triệu trẻ ở Osaka, và thậm chí 17,1 và 16,4 ca/ 1 triệu trẻ ở Kanagawa và Miyagi [121]. Ở Mỹ, hàng năm có khoảng 2500-3000 ca mắc mới BCCDL, với tỷ lệ khoảng 3,4 ca/100.000. Tỷ lệ mắc khác nhau trên thế giới, và tỷ lệ này bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như: chẩn đoán và báo cáo số liệu bệnh nhân khác nhau [162]. Đỉnh cao thường gặp ở trẻ từ 2-5 tuổi, và có sự khác biệt với bạch cầu cấp dòng tủy, không có đỉnh cao mắc bệnh. Nam mắc bệnh nhiều hơn nữ [176]. Theo một số nghiên cứu, tần suất bị bạch cầu cấp có xu hướng gia tăng. Tỷ lệ mắc tăng từ 25/1 triệu dân vào năm 1975 và tăng cho đến 41 ca/1 triệu dân vào năm 2015 [50].

Đối với BCCDT, chiếm tỷ lệ khoảng 20% trong tất cả các bệnh BCC, với tỷ lệ khoảng 5-9 ca/1 triệu trẻ hàng năm [138], và số lượng thống kê thô khoảng 2 tỷ trẻ em trên thế giới, nên số lượng mắc hàng năm khoảng 16.000 ca. Tỷ lệ mắc hàng năm khác nhau trên thế giới, cũng như có sự khác biệt giữa các chủng tộc và giới tính. Tần suất bị BCCDT cũng khác nhau theo lứa tuổi, với tỷ lệ 18,4 ca trên 1 triệu dân đối với trẻ dưới 1 tuổi, 4,3 trên 1 triệu dân ở trẻ từ 5-9 tuổi, và 7,7 trên 1 triệu dân từ 10-14 tuổi [138].

Tỷ lệ sống toàn bộ sau 5 năm khác nhau rõ rệt giữa BCCDL và BCCDT, cũng như có sự khác nhau giữa các quốc gia trên thế giới. Tỷ lệ sống toàn bộ sau 5 năm đối với BCCDL tại Brazil là 69,8% [101], và tỷ lệ này lên đến 94,3% tại bệnh viện nghiên cứu trẻ em tại St Jude, Mỹ [72]. Đối với BCCDT, tỷ lệ sống không bệnh sau 5 năm khá thấp, chiếm tỷ lệ 37,8% tại Brazil [101], lên đến 50% tại Nhật Bản [145].

Tại Bệnh viện Nhi đồng II, thành phố Hồ Chí Minh, theo ghi nhận của Bùi Thị Mỹ Hương, có 68 bệnh nhân được chẩn đoán bạch cầu cấp dòng tủy từ 1/2011 đến tháng 5/2016. Tuổi trung bình $5,0 \pm 3,9$ tuổi [5].

Tại Bệnh viện Trung ương Huế và bệnh viện Sản Nhi Đà Nẵng, qua nghiên cứu số liệu trong vòng 5,5 năm (2014-2019), cho thấy bệnh BCCDL chiếm tỷ lệ 46,4%, bệnh BCCDT chiếm tỷ lệ 20,1% trong tất cả các bệnh ung thư nhập viện. Tỷ lệ nam/nữ lần lượt là 1,83/1 và 1,61/1 [115]. Tỷ lệ tử vong đối với BCCDL trong 10 năm từ 2008-2018 là 31,1% [89]. Tỷ lệ tái phát đối với BCCDL trong thời gian từ 2012 đến 2018 là 16,7% [170]. Đối với BCCDT, thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh trong vòng 3 năm vẫn đạt tỷ lệ quá thấp, với tỷ lệ lần lượt là 23,2% và 20,2% [90].

1.1.3. Nguyên nhân gây bệnh

Nguyên nhân gây bệnh bạch cầu cấp trẻ em vẫn chưa được xác định một cách chính xác. Có dưới 10% các trường hợp có thể giải thích nguyên nhân gây bệnh, và hơn 90% trường hợp vẫn chưa tìm được nguyên nhân gây bệnh [30]. Các giả thuyết về bệnh sinh bạch cầu cấp tập trung chủ yếu vào hai yếu tố chính là biến đổi di truyền và tác động của môi trường sống.

1.1.3.1. Vai trò của các yếu tố môi trường

• Tiếp xúc với bức xạ ion

Tiếp xúc với bức xạ ion có thể dẫn đến các đột biến DNA, mất đoạn hoặc chuyển đoạn bằng cách gây ra đứt sợi đôi trong các tế bào gốc tạo máu theo cách phụ thuộc vào liều tác động. Bức xạ ion hóa tác động lên bạch cầu đã được xác nhận, nhất là sau các vụ ném bom nguyên tử trong chiến tranh thế giới thứ II [16].

• Tiếp xúc với benzen, thuốc trừ sâu

Phơi nhiễm cá nhân với các tác nhân gây ung thư, như thuốc trừ sâu, các sản phẩm xăng dầu, benzen, các kim loại nặng, được báo cáo làm tăng nguy cơ bị BCCDT [58].

• Lối sống

Bên cạnh việc tiếp xúc với hóa chất, lối sống có thể ảnh hưởng đến nguy cơ phát triển bệnh BCC. Các nghiên cứu cho thấy thừa cân và hút thuốc làm tăng nguy cơ mắc BCC [33],[129]. Nồng độ còn tích lũy của ba mẹ có thể làm tăng nguy cơ phát triển bạch cầu cấp ở trẻ em [155].

• Điều trị hóa chất trước đó

Việc sử dụng hóa chất ở những bệnh nhân ung thư cũng là một trong những nguyên nhân gây nên ung thư thứ phát, trong đó có BCCDT. Đối với BCCDL, chưa có bằng chứng rõ ràng. Nguy cơ và thời gian phát triển BCCDT thứ phát khác nhau tùy thuộc vào loại hóa chất sử dụng. Nhóm ung thư thứ phát BCCDT thường phát triển sau 3-5 năm tiếp xúc với hóa chất, mặc dầu có một số ca được báo cáo 10-12 năm sau đó [22]. Cả liều tích lũy cũng như thời gian tiếp xúc với các hóa chất có mối liên hệ với sự phát triển thứ phát BCCDT [97].

Thêm vào đó, một thành phần quan trọng làm tăng nguy cơ đối với các đột biến ngoại sinh là khả năng của người bị phơi nhiễm để chuyển hóa hoặc giải độc các hợp chất đó dựa trên nền tảng bộ gen của họ [163].

• Nhiễm virus

Một số virus, đặc biệt là nhóm retro-virus, được phát hiện là nguyên nhân gây ung thư ở các động vật thí nghiệm, bao gồm cả bạch cầu cấp [23]. Tuy nhiên, vẫn chưa có chứng minh rõ ràng về retro-virus gây nên bạch cầu cấp dòng tủy ở người.

1.1.3.2. Vai trò của các biến đổi di truyền

Các tổn thương di truyền gây ra các biến đổi ác tính vẫn chưa được hiểu rõ. Việc xác định và làm sáng tỏ các hậu quả chức năng của chuyển đoạn t(15;17) trong bạch cầu cấp tiền tủy bào đã khơi lên niềm hy vọng cho những thể khác của bạch cầu cấp, đặc biệt là những chuyển đoạn như t(8;21) trong bệnh BCCDT hay t(9;22) trong bệnh BCCDL, những tổn thương di truyền tương tự có thể được xác định để giải thích sinh lý bệnh và nhắm mục tiêu cho các điều trị cụ thể [135]. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp, một biến đổi di truyền đơn lẻ không đủ để tiến triển thành bạch cầu cấp, thay vào đó cần có một loạt các biến đổi di truyền. Các biến đổi di truyền này nhằm vào các gen liên quan đến các quá trình tế bào khác nhau [72].

Một số hội chứng di truyền làm tăng tỷ lệ nhiễm BCC. Các hội chứng đó bao gồm: hội chứng Down, hội chứng Klinefelter, hội chứng Patau, hội chứng Shwachman, hội chứng Kostman, hội chứng thất điều-giãn mạch, hội chứng thiếu máu Fanconi, hội chứng Li-Fraumeni, u xơ thần kinh [69].

Chi tiết các biến đổi gen sẽ trình bày ở phần 1.3.

1.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG BỆNH BẠCH CẦU CẤP

1.2.1. Đặc điểm lâm sàng

Các biểu hiện lâm sàng của bệnh bạch cầu cấp liên quan đến ba cơ chế bệnh lý chính: tủy xương bị suy do sự thâm nhiễm quá mức của các tế bào non ác tính (blast), sự thâm nhiễm tế bào non ác tính đến các cơ quan, mô, và các tế bào u giải phóng ra các cytokine gây nên các biểu hiện toàn thân.

1.2.1.1. Các triệu chứng tủy xương bị suy

- **Hội chứng thiếu máu**

Lâm sàng trẻ mệt mỏi, đau đầu, ăn uống kém, ít tập trung, hay ngủ gà, hoạt động chân tay không hiệu quả.

Thăm khám thấy da xanh xao, niêm mạc mắt nhợt nhạt, lòng bàn tay nhợt hoặc rất nhợt. Nếu trẻ thiếu máu nặng, có thể nghe tiếng thổi tâm thu rõ ở vùng trước tim [65].

- **Hội chứng xuất huyết**

Có thể biểu hiện dưới nhiều hình thái khác nhau: Bầm tím (50%), đốm xuất huyết (42%), xuất huyết dưới da (26%), xuất huyết niêm mạc, chảy máu lợi (25%) [37],[128]. Một số trường hợp xuất hiện xuất huyết tiêu hóa, xuất huyết phổi hay xuất huyết hệ thần kinh trung ương.

- **Sốt và nhiễm khuẩn**

Nhiễm trùng gặp trong 49% trường hợp, trong đó nhiễm trùng đường hô hấp chiếm tỷ lệ 22%, nhiễm trùng đường tiêu hóa chiếm tỷ lệ 20% và đau họng gặp trong 11% [37].

1.2.1.2. Các triệu chứng do tăng sinh ác tính và thâm nhiễm

Tế bào ung thư có thể xâm nhập vào bất cứ cơ quan nào trong cơ thể, gây ra các rối loạn về cấu trúc và chức năng của cơ quan đó và gây ra các triệu chứng lâm sàng liên quan như: Gan, lách, hạch lớn. Đau nhức xương. Thâm nhiễm da, niêm mạc. Thâm nhiễm tinh hoàn, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương, trung thất hay các vị trí khác...[65].

1.2.1.3. Các biểu hiện toàn thân

Bệnh nhân có các biểu hiện da xanh xao (54%), mệt mỏi (46%), cảm giác bất an, khó chịu trong người (31%), suy nhược cơ thể (27%) và phù (15%) [37]. Một số bệnh nhân có biểu hiện về dạ dày ruột như: chán ăn dẫn đến sụt cân, chướng bụng (11%), đau bụng (12%) [37].

1.2.2. Các biến đổi cận lâm sàng

1.2.2.1. Công thức máu

Tăng số lượng bạch cầu ($> 10,000/\text{mm}^3$) xảy ra xấp xỉ khoảng 1/2 bệnh nhân bị bệnh bạch cầu cấp. Khoảng 20% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $> 50.000/\text{mm}^3$ [137]. Giảm bạch cầu hạt thường gặp và dẫn đến nguy cơ nhiễm trùng.

Thiếu máu ($\text{Hb} < 10\text{g/dl}$) xảy ra trong khoảng 80% bệnh nhân tại thời điểm chẩn đoán. Thiếu máu bình sắc [128].

Giảm tiểu cầu: khoảng 75% bệnh nhân có tiểu cầu $< 100.000/\text{mm}^3$ [65].

1.2.2.2. Các biến đổi sinh hóa

Tăng acid uric máu: thường gặp ở những bệnh nhân với gánh nặng tế bào khối u lớn, phản ánh sự đồng hóa và dị hóa của purine [150].

Tăng LDH: phản ánh sự tạo ra và phân hủy một lượng lớn enzyme bởi các tế bào ác tính, hay sự thay đổi chuyển hóa giữa các cơ quan [168].

Tăng enzym gan: có thể gặp tại thời điểm chẩn đoán do tế bào bạch cầu non thâm nhiễm ở gan. Rối loạn chức năng gan thường nhẹ và không liên quan đến mức độ gan lớn [153].

Suy thận: biến chứng suy thận xảy ra liên quan đến một vài yếu tố, bao gồm tế bào blast thâm nhiễm thận, tác dụng phụ liên quan đến điều trị ví dụ như hội chứng ly giải u, độc tính thận do thuốc và nhiễm khuẩn huyết [24].

Rối loạn điện giải đồ: giảm hoặc tăng nồng độ calcium, tăng nồng độ kali và phosphat [128].

1.2.2.3. Chẩn đoán hình ảnh

Đối với những bệnh nhân có biểu hiện xâm lấn ngoài tủy, chẳng hạn như các u lách ở xương, da, mô mềm, u lách hốc mắt, cạnh tủy sống, ngoài màng cứng, cần có các chẩn đoán hình ảnh thích hợp như MRI, CT scan [128].

1.2.2.4. Tủy đồ

Thăm khám tủy xương cho phép kiểm tra được hình thái học, kiểu hình miễn dịch, di truyền tế bào, hay những xét nghiệm phân tử, giúp cho phân loại nguy cơ được chính xác [42].

Hình thái học

Dựa vào hình thái học, có thể phân biệt được BCCDL hay BCCDT. Nguyên bào lympho trong bệnh BCCDL thường có kích thước và hình thức đồng nhất, kích thước thường nhỏ, tỷ lệ nhân so với bào tương cao, chất nhiễm sắc ở nhân mịn và có các hạch nhân. Trong BCCDT, nguyên tủy bào là những tế bào chưa trưởng thành với nhân lớn, hạt nhân nổi bật, một lượng tế bào chất xanh nhạt. Điển hình, các nguyên tủy bào có nhiều tế bào chất hơn so với nguyên bào lympho và có thể có các que Auer [128].

Nhuộm hóa học tế bào:

BCCDL: Periodic acid Schiff (+), Soudan-black (-), Peroxydase (-).

BCCDT: MPO (+), Soudan-black (+), PAS (-) [65].

1.2.2.5. Đếm dòng chảy tế bào

Đặc điểm kiểu hình miễn dịch đối với mỗi dòng tế bào như sau [128]:

Các kháng nguyên dòng lympho: Dòng B: CD19, CD20, CD22, CD79a, PAX5. Dòng T: CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8. Tế bào diệt tự nhiên (CD56) và các chỉ điểm cho dòng lympho chưa trưởng thành (CD10, TdT).

Các kháng nguyên dòng tủy (ví dụ: CD13, CD33, MPO, CD11b, CD64).

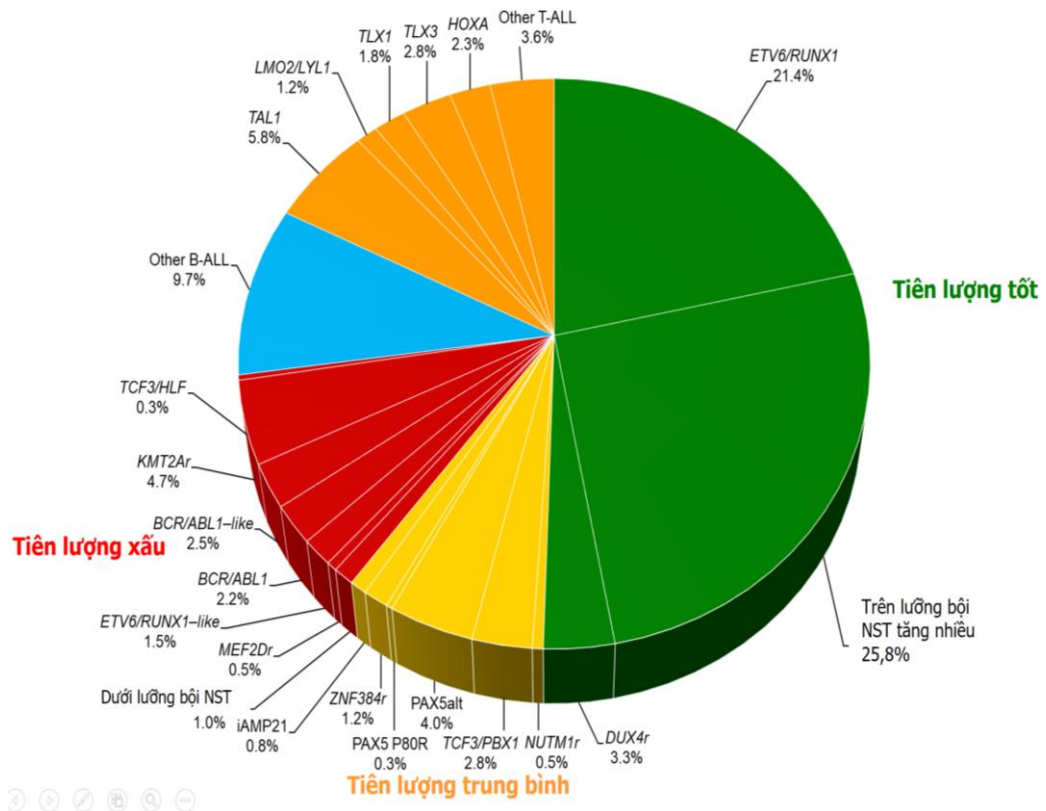
Các kháng nguyên trưởng thành: CD34, CD117, HLA-DR.

Đánh giá bệnh tồn dư tối thiểu (MRD): sử dụng mẫu tủy của bệnh nhân đã qua điều trị theo các phác đồ chuẩn đối với từng nhóm bệnh. Từ đó sẽ khảo sát dấu ấn miễn dịch của bệnh nhi, đối chiếu với cấu hình miễn dịch giai đoạn 1 (thời điểm chẩn đoán), và dựa trên dấu ấn miễn dịch bất thường, lạc dòng sau khi điều trị, để từ đó tính được bệnh tồn dư tối thiểu [128].

1.3. CÁC BIẾN ĐỔI GEN TRONG BỆNH BẠCH CẦU CẤP

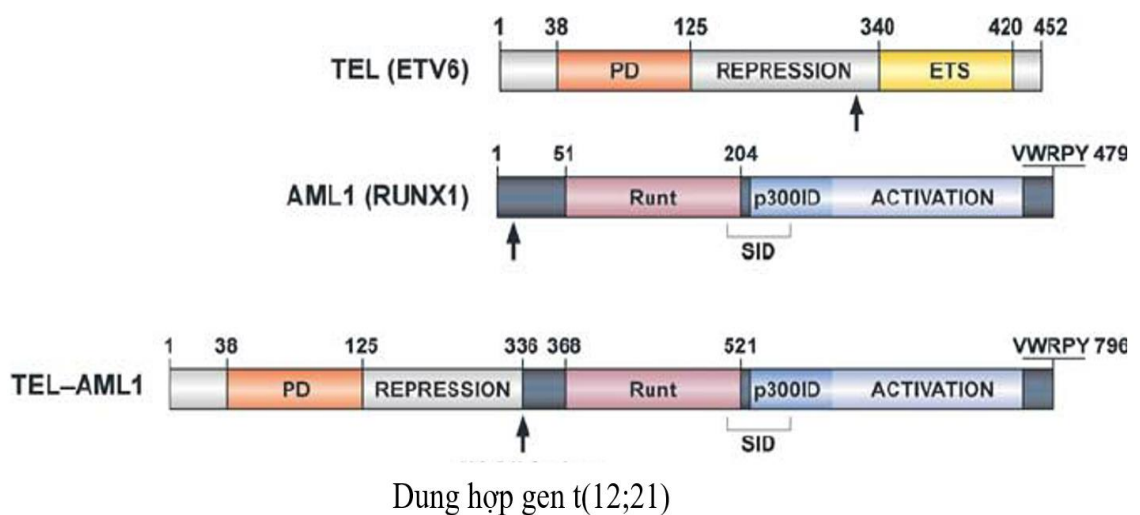
Các bất thường về gen chủ yếu do đột biến cấu trúc NST, có thể gây nên bởi chuyển đoạn NST, mất đoạn, đảo đoạn, cấu trúc lại gen hay đột biến điểm. Trong đó, chuyển đoạn NST thường gặp nhất [128]. Sau đây, chúng tôi xin trình bày những đột biến gen xuất hiện với tần suất khá cao và có ý nghĩa trong việc tiên lượng và điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em.

1.3.1. Những bất thường về gen trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho



Hình 1.1. Phân bố các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho [72].

1.3.1.1. Dung hợp gen TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) do t(12;21)(p13;q22)

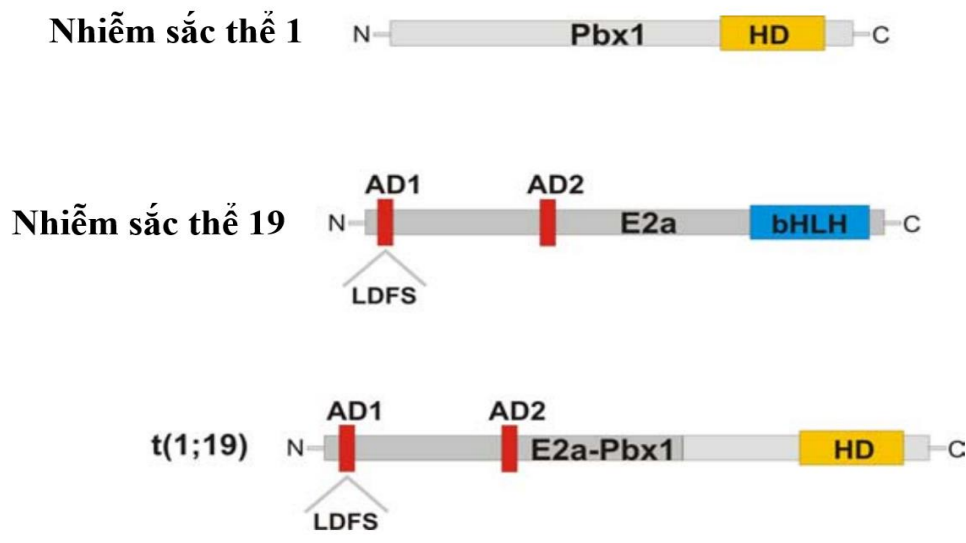


Hình 1.2. Gen TEL, AML1 và dung hợp gen TEL/AML1 [187].

Gen *ETV6* nằm trên nhánh ngắn NST số 12 (12p13), được biết như gen *TEL*, có vai trò trong điều chỉnh quá trình phát triển và tăng trưởng các loại tế bào, đặc biệt là tế bào máu. Gen *RUNX1* nằm trên nhánh dài của NST 21 (21q22), được biết là gen *AML1*, mã hóa cho một protein có vai trò điều chỉnh quá trình biệt hóa từ tế bào gốc tạo máu thành các tế bào máu trưởng thành [166],[187].

Chuyển đoạn t(12;21)(p13;q22) tạo ra dung hợp gen *TEL/AML1*, phá vỡ chức năng bình thường của gen *TEL* và/hoặc tạo ra một yếu tố ức chế phiên mã, làm suy giảm biểu hiện của gen *AML1*. Dung hợp gen *TEL/AML1* thường gặp nhất ở trẻ bị BCCDL, chiếm tỷ lệ từ 15-25%, có liên kết với tiên lượng thuận lợi [25],[135].

1.3.1.2. Dung hợp gen *E2A/PBX1* do t(1;19)(q23;p13)



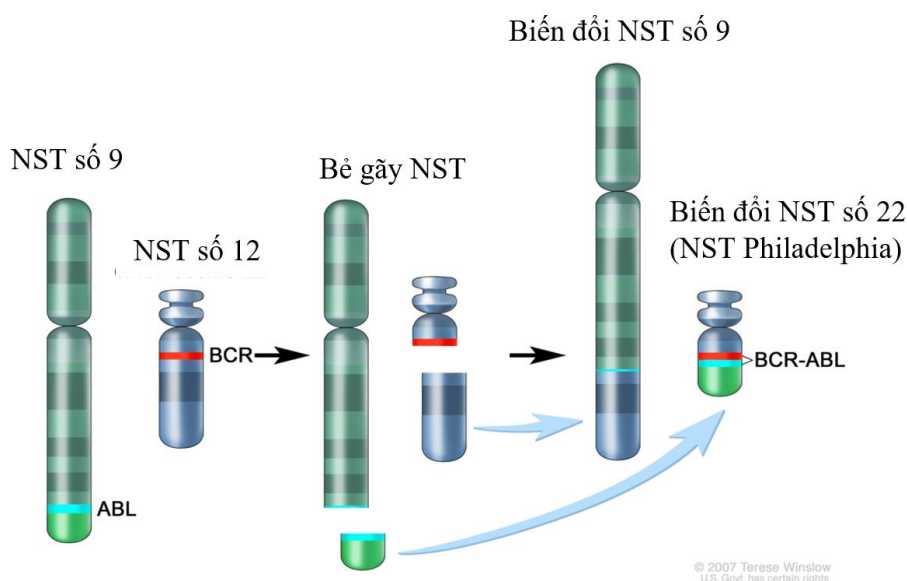
Hình 1.3. Gen *E2A*, *PBX1* và dung hợp gen *E2A/PBX1* [125].

Gen *E2A* nằm trên NST 19p (băng p13.2-p13.3), mã hóa cho những yếu tố tăng cường gắn kết Ig helix-loop-helix E12 và E47. Gen *PBX1* nằm trên nhiễm sắc thể số 1, băng q23, mã hóa cho protein gắn kết DNA, có vai trò trong quá trình tạo xương.

Chuyển đoạn t(1;19)(q23;p13) tạo ra dung hợp gen *E2A/PBX1*, mã hóa cho yếu tố hoạt hóa phiên mã liên tục, còn được gọi là protein gây ung thư với vùng hoạt hóa phiên mã ở đầu N của gen *E2A* gắn với vùng homebox gắn kết DNA đầu C của gen *PBX1*. Từ đó dẫn đến tế bào tăng sinh quá mức không kiểm soát được [20].

Đây là chuyển đoạn đứng hàng thứ hai về các chuyển đoạn nhiễm sắc thể trong bệnh BCCDL trẻ em, xảy ra khoảng 5-6% các trường hợp [72],[99]. Từ những năm 1990, người ta thấy chuyển đoạn này liên quan với tiên lượng xấu, nhưng với các phác đồ điều trị hiện tại, chuyển đoạn này không còn được phân loại vào nhóm tiên lượng xấu [49],[133], ngoại trừ khả năng gia tăng bị tái phát hệ thần kinh trung ương [76], và vì thế chuyển đoạn này không còn dùng để phân tầng nguy cơ trong hầu hết các nhóm hợp tác nghiên cứu.

1.3.1.3. Dung hợp gen *BCR/ABL1* do t(9;22)(q34;q11)



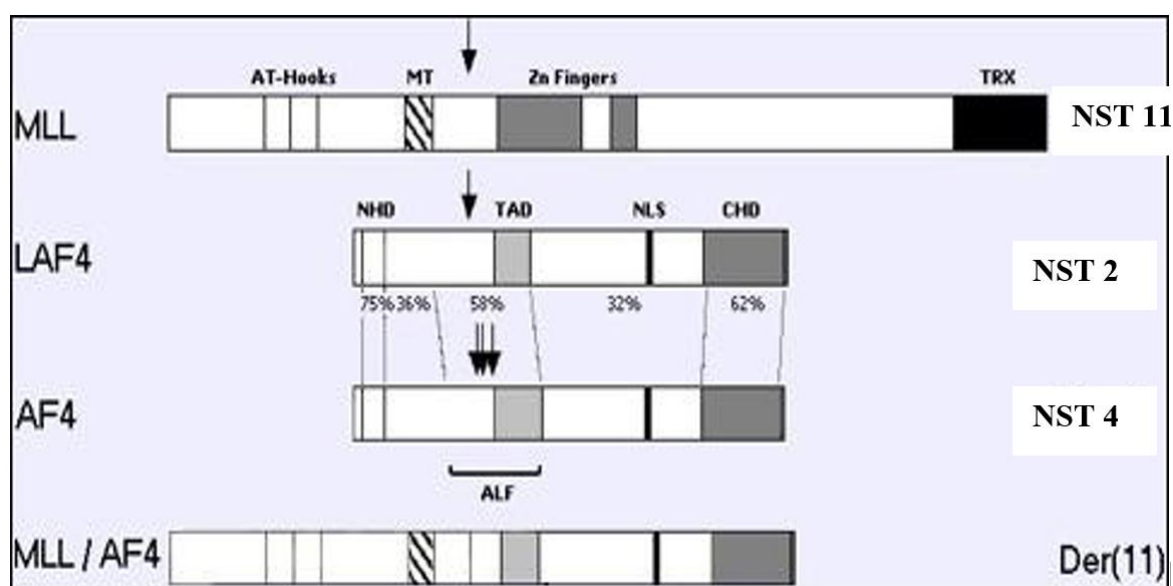
Hình 1.4. Gen *ABL*, *BCR* và dung hợp gen *BCR/ABL1* [104].

Gen *ABL1* nằm trên nhánh dài NST số 9 (9q34), mã hóa cho một protein tyrosine kinase có vai trò trong nhiều tiến trình của các tế bào trong cơ thể, như: biệt hóa, phân chia và bám dính của tế bào. Gen *BCR* nằm trên nhánh dài NST số 22 (22q11), có vai trò cung cấp các chỉ dẫn để tạo ra một protein mà chức năng của nó chưa được hiểu rõ hoàn toàn [62].

Chuyển đoạn t(9;22)(q34;q11) tạo ra đột biến dung hợp gen *BCR/ABL1*, mã hóa cho protein BCR/ABL1 có hoạt tính tyrosine kinase đa miền, đóng vai trò trung tâm trong sự tiến triển bệnh BCCDL, BCMDT mang Ph⁺ và rất ít trong BCCDT [104]. Nhiều con đường tín hiệu đã xác định vai trò trung gian của hoạt tính gen *BCR/ABL1* như: RAS/RAF/MAPK, P13K/AKT/Mtor, JAK/STAT, WNT/ β -Catenin, và con đường JAK/STAT [18]. Tùy thuộc vào vị trí đứt gãy trên NST 22 tại vị trí gen *BCR*, 3 đồng dạng chính yếu của *BCR/ABL1* được tạo ra, mã hóa các protein có trọng lượng phân tử khác nhau: 190 kDa, 210 kDa và 210 kDa. Trong BCCDL, loại protein BCR/ABL1 thường gặp là 190 kDa [18].

Đây là chuyển đoạn thường gặp nhất ở người lớn bị BCCDL, xảy ra khoảng 25% các trường hợp, nhưng ít gặp hơn ở trẻ em bị BCCDL, với tỷ lệ khoảng 2-4% [135]. Cho đến thời điểm hiện tại, đột biến này có tiên lượng xấu. Ngay cả khi sử dụng hóa chất mạnh, những bệnh nhân BCCDL có đột biến Ph (+) cho thấy gia tăng tỷ lệ thất bại sau tấn công, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương và tái phát sớm. Điều trị BCCDL-Ph(+) và BCMDT, Ph(+) đã được cải thiện nhờ vào sự phát triển của thuốc Imatinib, một chất ức chế tyrosine kinase, chống lại dung hợp gen *BCR/ABL1*, giúp cải thiện tỷ lệ sống sót từ 30-40% lên đến 80% [44],[147].

1.3.1.4. Dung hợp gen *MLL/AF4* do t(4;11)(q21;q23)



Hình 1.5. Gen *MLL*, *AF4* và dung hợp gen *MLL/AF4* [179].

Gen *MLL* nằm trên NST 11q23, mã hóa cho protein có khả năng gắn kết DNA và có vai trò quan trọng cho hoạt động phiên mã các gen liên quan đến quá trình biệt hóa. Gen *AF4* nằm trên NST số 4q21, mã hóa cho một protein giàu serine-proline.

Dung hợp gen *MLL/AF4* do chuyển đoạn t(4;11) làm mất tính bình thường của gen *MLL* và sản phẩm protein của nó mất khả năng gắn kết DNA làm cho tế bào không biệt hóa được [46].

Tần suất xuất hiện dung hợp gen *MLL/AF4* từ 1-2%. Những bệnh nhân B-BCCDL với tái sắp xếp gen *MLL* có tiên lượng xấu hơn rõ rệt so với những bệnh nhân không có đột biến, đặc biệt ở trẻ dưới 1 tuổi, nhưng đối với thể T-BCCDL, đột biến này không mang lại một tiên lượng xấu tương tự như dòng tế bào B-BCCDL [135].

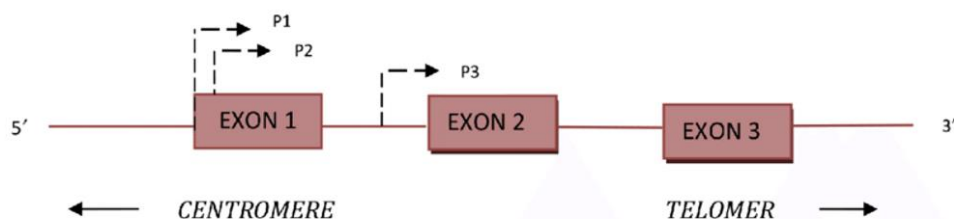
1.3.1.5. Dung hợp gen *SET/NUP214* do t(9;9)(q34;q34)

Gen *SET* được xác định trước đây là *TAF-1* hay *TAF-1 β* , định vị ở 9q34.11, có vai trò mã hóa ức chế quá trình chết tế bào bằng cách gây độc tế bào lympho T. Gen *NUP214* định vị ở nhiễm sắc thể 9q34.13. Dung hợp gen *SET/NUP214* được hình thành từ dung hợp exon 7 của gen *SET* và exon 18 của gen *NUP214*. Dung hợp gen ức chế sự biệt hóa các tế bào gốc tạo máu khác nhau. Dung hợp này thường gặp tần suất cao nhất ở các bệnh nhân T-BCCDL, và góp phần vào sự xuất hiện của T-BCCDL bằng cách tăng cường biểu hiện của cụm gen *HOXA* [189].

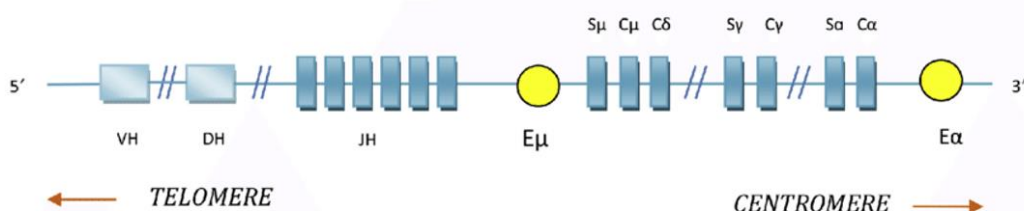
1.3.1.6. Chuyển đoạn t(8;14)(q24;q32)

Gen *MYC* nằm trên NST số 8 (8q24), điều hòa một số chu trình sinh học quan trọng như kiểm soát chu kỳ tế bào, sự phát triển của tế bào, tổng hợp protein, tân tạo mạch và chết theo chương trình. Gen *IGH* nằm trên NST số 14 (14q32), có vai trò nhận biết các kháng thể lạ và đáp ứng với các miễn dịch như thực bào và hệ thống bổ thể. Chuyển đoạn t(8;14)(q24;q32) tạo ra dung hợp gen *MYC/IGH*, ảnh hưởng đến chu kỳ tế bào, biệt hóa tế bào, chuyển hóa, và quá trình chết theo chương trình [88].

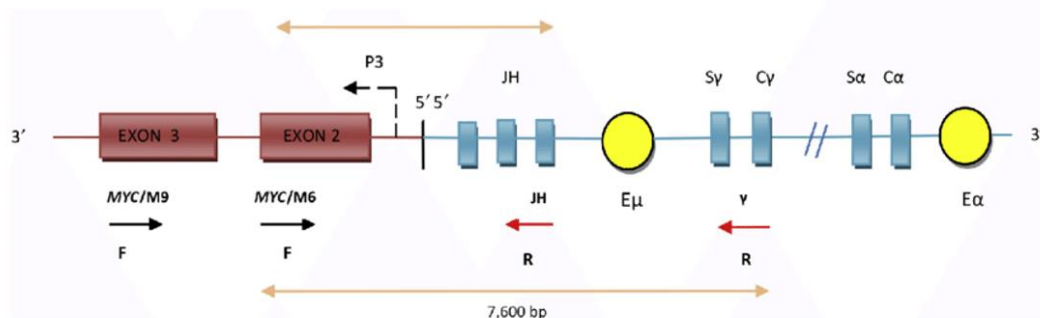
A NST 8q24: gen c-myc



B NST 14q32: locus IGH



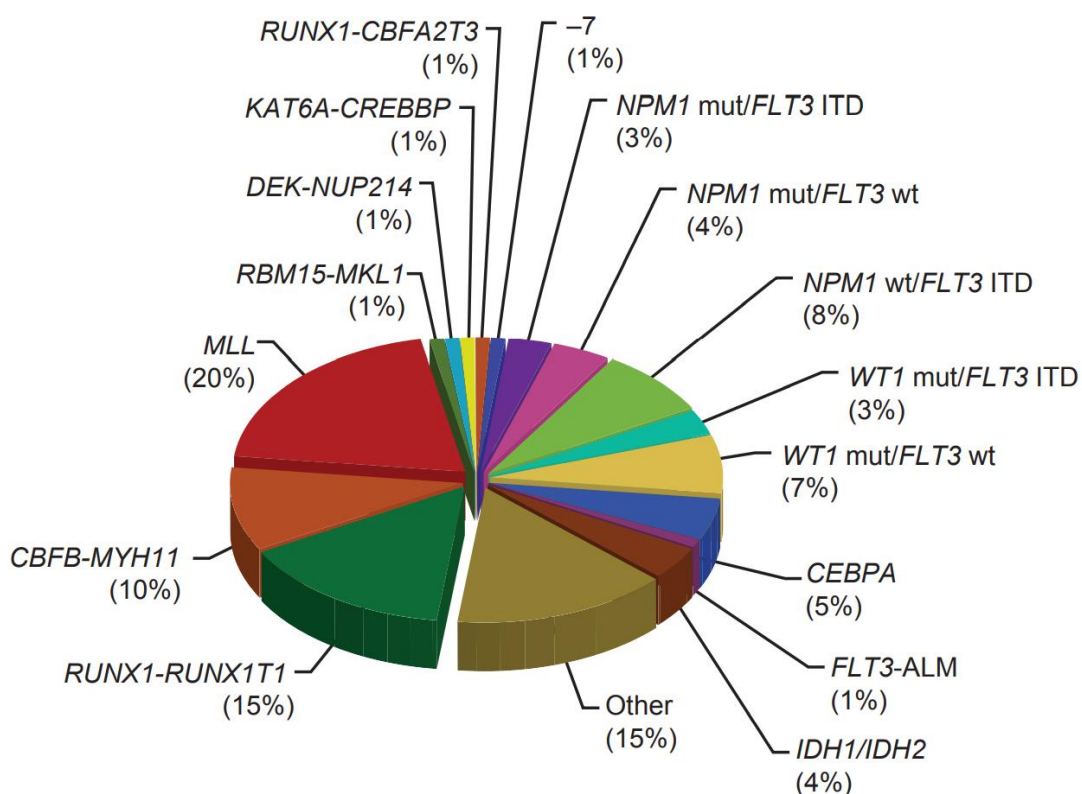
C Chuyển đoạn t(8;14)(q24;q32)



Hình 1.6. Cấu trúc gen *MYC*, *IGH* và đột biến dung hợp gen *MYC/IGH* [88].

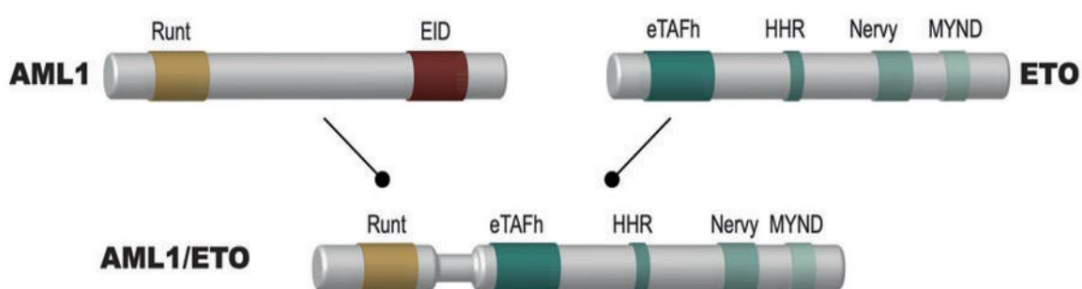
Ngoài những dung hợp gen trên, những biến đổi gen trong T-BCCDL chưa đủ bằng chứng rõ ràng trong tiên lượng bệnh và do đó, không được dùng để hướng dẫn phân nhóm nguy cơ trong điều trị. Biến đổi gen thường gặp nhất trong T-BCCDL là kích hoạt đột biến NOTCH1 trong gần 60% trường hợp và mất đoạn vị trí gen *CDKN2A* ở nhiễm sắc thể nhánh 9p21 trong hơn 70% trường hợp. Chuyển đoạn cũng thường gặp trong T-BCCDL, thường liên quan đến yếu tố sao chép gen được đặt dưới sự kiểm soát của vùng mở rộng TCR ở vị trí gen *TCRB* (7q34) hay *TCRA-TCRD* (14q11).

1.3.2. Những bất thường về gen trong bệnh bạch cầu cấp dòng tủy



Hình 1.7. Các biến đổi gen trong bệnh BCCDT [145].

1.3.2.1. Dung hợp gen AML1/ETO do t(8,21)(q22;q22)



Hình 1.8. Gen AML1, ETO và dung hợp gen AML1/ETO [142].

Gen *RUNX1* (được biết như *AML1*) trên nhiễm sắc thể 21, bình thường mã hóa protein có vai trò trong hoạt hóa phiên mã làm tế bào phân chia và biệt hóa. Gen *RUNX1T1* (được biết như *ETO*) nằm trên nhiễm sắc thể số 8, mã hóa cho một protein gắn kết với kẽm, được đặt tên là CBFA2T1, một protein hạt nhân có chức năng đồng ức chế phiên mã [142].

Chuyển đoạn t(8,21)(q22;q22) tạo ra dung hợp gen *AML1/ETO*, không những không có chức năng của protein AML1 mà còn ức chế protein AML1 bình thường, dẫn đến tế bào bị ung thư.

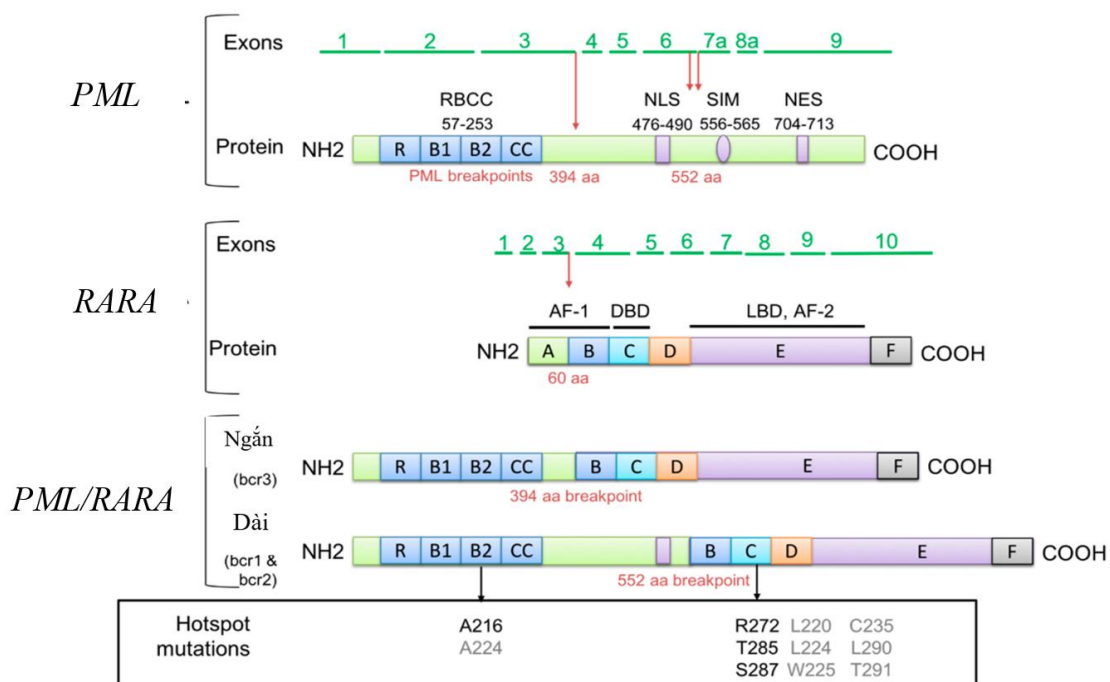
Sự hiện diện chuyển đoạn t(8;21) có giá trị để chẩn đoán BCCDT cho dù tế bào blast ở trong tủy xương dưới 20%. Biến đổi này, được tìm thấy trong khoảng 10-20% bệnh nhi bị BCCDT, và thường kết hợp với BCCDT-M2, các sarcoma u hạt, và thường liên quan với tiên lượng thuận lợi, với thời gian sống toàn bộ trong vòng 5 năm dao động từ 80-90% [130].

1.3.2.2. Dung hợp gen *PML/RARA* do t(15;17)(q22;q21)

Gen *RARA* (RAR-alpha) trên nhiễm sắc thể số 17, có chức năng hoạt hóa quá trình phiên mã của các gen có vai trò giúp tế bào trưởng thành. Cấu trúc của protein này có phần gắn vào deoxyribonucleic acid và một phần tương tác với dẫn xuất của acid retinoic. Gen *PML* trên nhiễm sắc thể 15, có vai trò chính yếu trong việc ức chế khối u và bất ổn định hệ gen. *PML* có thể tham gia vào một số con đường chức năng, bao gồm quá trình chết và lão hóa phụ thuộc hay không phụ thuộc vào p53, tự đổi mới tế bào gốc [102].

Chuyển đoạn t(15;17) tạo ra dung hợp gen *PML/RARA*, mã hóa protein mới, protein mới này không những không hoạt hóa phiên mã mà còn ức chế chức năng của *RARA* bình thường, do đó, tế bào không tổng hợp được protein, quá trình trưởng thành tế bào dừng lại ở giai đoạn tiền tủy bào.

Chuyển đoạn t(15;17) gặp trong 5-12% ở trẻ bị BCCDT [103]. Những bệnh nhân bạch cầu cấp tiền nguyên tủy bào có thể đạt được kết quả rất tốt nếu được điều trị phác đồ thích hợp. Dùng ATRA và arsenic trioxide nhằm vào đích là gen *PML*, như là liệu pháp ban đầu.



Hình 1.9. Gen *PML*, *RARA* và dung hợp gen *PML/RARA* [102].

1.3.2.3. Đảo đoạn nhiễm sắc thể 16, *inv(16)(p13;q22)*, *CBFβ/MYH11*

Bất thường này thường xảy ra ở bệnh bạch cầu cấp dòng nguyên tủy bào đơn nhân (BCCDT-M4). Giống như chuyển đoạn t(8;21), sự hiện diện đảo ngược nhiễm sắc thể có giá trị để chẩn đoán BCCDT ngay cả khi tủy đồ có dưới 20% blast.

Gen *CBFβ* nằm trên NST 16q22. Cấu trúc của gen vẫn chưa được biết đầy đủ, sản phẩm của gen là protein *CBFβ*, là một yếu tố phiên mã. Gen *MYH11* nằm trên NST 16p13. Sự đảo ngược nhiễm sắc tạo ra dung hợp gen *CBFβ/MYH11*. Dung hợp gen này có sản phẩm là một protein khảm. Sản phẩm này ngăn quá trình biệt hóa các tế bào thông qua vai trò của *CBFα2* trong bào tương. Hoạt động của sản phẩm protein khảm tuy thế cũng chưa đủ gây nên bạch cầu cấp mà cần có phối hợp thêm một số biến dị khác.

Dung hợp gen xảy ra khoảng 7-9% ở trẻ em, và thường kết hợp với tiên lượng tốt, với thời gian sống toàn bộ trong 5 năm từ 75 -85% [135].

1.3.2.4. Dung hợp gen *MLL/AF6* do t(6;11) (q27;q23)

Gen *MLL* nằm trên NST 11 gắn kết với gen *AF6* trên NST 6 tạo thành dung hợp gen *MLL/AF6*. Chuyển đoạn t(6;11)(q27;q23) không hiếm gặp

trong BCCDT trẻ em và được chứng minh có tiên lượng xấu hơn so với các dạng sắp xếp khác của *MLL*. *AF6* là một protein và được thấy trong tế bào chất của những tế bào tủy xương khỏe mạnh. Trái lại, trong những tế bào tái sắp xếp *MLL/AF6*, *AF6* được tìm thấy khu trú trong nhân, dẫn đến hoạt hóa sai lầm con đường RAS và các mục tiêu theo hướng của nó. Bất hoạt dung hợp gen *MLL/AF6*, chúng ta phục hồi lại vị trí của *AF6* trong các tế bào chất, vì vậy làm giảm đáng kể mức RAS-GTP [106]. Điều này càng khẳng định rõ hơn dung hợp gen *MLL/AF6* và một phần của dung hợp, *AF6* đóng vai trò trong việc phát triển BCCDT.

1.3.2.5. Dung hợp gen *KMT2A/MLLT10* do *t(10;11)(p12;q23)*

Tái sắp xếp gen *KMT2A*, trước đây là *MLL* liên kết với nhiều rối loạn bệnh lý máu khác nhau. Hầu hết các bệnh nhân bị BCCDT hay BCCDL, chỉ một số nhỏ lai giữa hai dòng. Dung hợp gen *KMT2A/MLLT10* là kết quả từ nhiều lần bẻ gãy ở cả hai locus gen. *MLLT10* là đồng yếu tố của methyl hóa histone H3K79 (*DOT1L*) và làm trung gian cho sự tương tác của *AFF1*, *MLLT1* và *MLLT3* với *DOT1L*. Dung hợp gen *KMT2A/MLLT10* là một dấu hiệu của sự gia tăng và mở rộng methyl hóa H3K79, là một đòi hỏi cho sự duy trì sao chép RNA. Thuốc ức chế *DOT1L* là một thuốc hứa hẹn cho điều trị lâm sàng hiện đang được đánh giá [124].

1.4. CÁC YẾU TỐ TIÊN LƯỢNG BỆNH BẠCH CẦU CẤP

1.4.1. Các yếu tố tiên lượng trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho

Những yếu tố tiên lượng bao gồm: tuổi, giới, chủng tộc, các biến đổi di truyền, số lượng bạch cầu ban đầu, kiểu hình, tình trạng dinh dưỡng, cũng như đáp ứng với điều trị.

1.4.1.1. Tuổi

Tiêu chuẩn của viện ung thư quốc gia Mỹ, Ý xác nhận ngưỡng dưới 1 tuổi và hoặc ≥ 10 tuổi có tiên lượng xấu hơn so với nhóm tuổi trong độ tuổi 1-9 tuổi. Đối với những trẻ dưới 1 tuổi, tiên lượng xấu nhất cho những trẻ dưới 3 tháng tuổi, tiên lượng trung bình ở nhóm tuổi từ 3-6 tháng, và tiên lượng tốt nhất ở nhóm tuổi từ 6-12 tháng [126].

1.4.1.2. Giới

Trẻ gái có tiên lượng tốt hơn trẻ trai, với tỷ lệ sống nhiều hơn 1,1% cho trẻ gái theo các thử nghiệm phác đồ ung thư nhi (COG) hiện nay [68]. Có thể giải thích khả năng do trẻ trai có nguy cơ bị tái phát tinh hoàn, tần suất cao hơn bị T-BCCDL và tỷ lệ thấp hơn bị đa bội ở trẻ nam so với trẻ gái, và khả năng những yếu tố sinh học, nội tiết và chuyển hóa khác chưa giải thích được [128].

1.4.1.3. Chứng tộc

Điều cơ bản trong sự khác biệt về chứng tộc trong tiên lượng bệnh BCCDL được xem như là đa nhân tố, ảnh hưởng bởi sự khác biệt về tình trạng kinh tế xã hội, tiếp cận với chăm sóc y tế, sự tuân thủ điều trị [67], cũng như sự khác biệt về mặt sinh học trong nhạy cảm với hóa chất của các tế bào ung thư và những yếu tố về động học của bệnh nhân ảnh hưởng bởi hóa chất điều trị [181].

1.4.1.4. Biến đổi di truyền

Có những biến đổi di truyền đem lại tiên lượng tốt, nhưng ngược lại, có những biến đổi di truyền mang đến tiên lượng xấu hay tiên lượng trung bình. Dựa vào các biến đổi di truyền giúp nhà lâm sàng tiên lượng được cho bệnh nhân và có những phương pháp điều trị phù hợp [75].

Bảng 1.1. Phân nhóm tiên lượng BCCDL dựa theo các biến đổi di truyền [71]

Tiên lượng	Các biến đổi di truyền
Tốt	- t(8;21)(q22;q23), <i>RUNX1/RUNX1T1-AML1/ETO</i> - Tái sắp xếp <i>NUMT1</i> - Trên lưỡng bội tăng nhiều NST (51-65 NST)
Xấu	- t(9;22)(q34;q11), <i>BCR/ABL1</i> . - t(17;19)(q22;p13), <i>TCF3/HLF</i> - <i>BCR/ABL1</i> -like (Ph-like). - <i>ETV6/RUNX1</i> -like. - t(4;11)(q21;q23), <i>KMT2A/AFF1-MLL/AF4</i> - Tái sắp xếp <i>KMT2A</i> với t(v;11q23.3). - Tái sắp xếp <i>BCL2/MYC</i>

	- Tái sắp xếp <i>MEF2D</i> - Dưới ngưỡng bội NST (< 44 NST)
Trung bình	- Các đột biến gen không thuộc hai nhóm trên (trong đó có các dung hợp gen như - t(1;19)(q23;p13), <i>TCF3/PBX1</i> - t(9;9)(q34;q34), <i>SET/NUP214</i>

1.4.1.5. Số lượng bạch cầu

Những bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50.000/\text{mm}^3$ được xếp vào nhóm nguy cơ cao, còn những bệnh nhân có số lượng bạch cầu $< 50.000/\text{mm}^3$ được xếp nguy cơ thường [68]. Có một mối liên hệ giữa số lượng bạch cầu ban đầu và tiên lượng đối với các bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho B, những trẻ có số lượng bạch cầu cao cho tiên lượng xấu hơn, mặc dầu sự khác biệt này không thấy đối với các bạch cầu dòng lympho T [64].

1.4.1.6. Kiểu hình miễn dịch

Khả năng sống sót duy trì tốt hơn ở trẻ bị B-BCCDL so với trẻ bị T-BCCDL, mặc dầu sự khác biệt đã được thu hẹp đáng kể. Có khoảng 10% chênh lệch thời gian sống sót cho những bệnh nhân điều trị theo phác đồ COG thử nghiệm trong khoảng thời gian từ 2000-2005 [68].

1.4.1.7. Tình trạng dinh dưỡng

Cả tình trạng suy dinh dưỡng hay béo phì tại thời điểm biểu hiện bệnh cũng như tình trạng dinh dưỡng kém trong suốt một vài tháng điều trị hóa chất tăng cường sau giai đoạn tấn công được xem là yếu tố ảnh hưởng đến tiên lượng trong một vài nghiên cứu [38],[117]. Béo phì tại thời điểm chẩn đoán có mối liên hệ với khả năng sống sót thấp và gia tăng tỷ lệ tái phát, đặc biệt ở những bệnh nhân trên 10 tuổi [32].

1.4.2. Các yếu tố tiên lượng trong bệnh bạch cầu cấp dòng tủy

1.4.2.1. Các biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng

Bạch cầu tại thời điểm chẩn đoán có mối liên hệ với kết quả điều trị. Ví dụ, theo các phác đồ điều trị của hội đồng nghiên cứu y khoa (MRC), nhóm ung thư trẻ em (CCG, POG), nếu bạch cầu $< 20 \times 10^9/\text{l}$, có kết quả điều trị tốt

hơn, ngược lại, bạch cầu $> 100 \times 10^9/l$ có tiên lượng xấu. Theo phác đồ CCG-2891, nếu bạch cầu $> 330 \times 10^9/l$, có mối liên hệ với thời gian sống không bệnh khoảng 7%, trước tiên là liên quan đến độc tính tử vong sớm, thất bại giai đoạn cảm ứng, và tái phát [177].

Việc thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương không có ảnh hưởng nhiều đến tiên lượng của bệnh nhân vừa được chẩn đoán BCCDT [79]. Tuy nhiên, những u lực ở hệ thần kinh trung ương và hốc mắt có liên quan với cải thiện kết quả điều trị, trong khi những u lực ở da có kết quả điều trị kém hơn, có khả năng phụ thuộc vào sinh học cơ bản của những tổn thương này [78]. Tuy nhiên, cả hai biểu hiện lâm sàng này đều không được sử dụng để đưa vào phân loại bệnh nhân theo các nhóm nguy cơ khác nhau, mặc dù biện pháp tăng cường bơm nội tủy được khuyến cáo dùng cho những bệnh nhân có bằng chứng thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương.

Với sự loại trừ FAB M3 hoặc bạch cầu cấp dòng tiền tủy bào, hình thái học không ảnh hưởng nhiều đến điều trị BCCDT.

1.4.2.2. *Biến đổi di truyền*

Bạch cầu cấp dòng tủy có nhiều rối loạn khác nhau về mức độ tế bào và mức độ phân tử. Tuy nhiên, nhiều thay đổi không liên quan rõ ràng đến tiên lượng dựa vào các điều trị hiện nay. Mặc dầu vậy, việc xác định những bất thường nào là chủ lực trong bệnh BCCDT, cũng như những yếu tố điều chỉnh đáp ứng thuốc đơn lẻ hoặc kết hợp vẫn là một thách thức lớn [128]. Bảng dưới đây mô tả các biến đổi di truyền theo nhóm tiên lượng.

Bảng 1.2. Phân nhóm tiên lượng BCCDT theo các biến đổi di truyền [139]

Tiên lượng	Đột biến gen
Tốt	- t(15;17)(q24;q21), <i>PML/RARA</i> - t(8;21)(q22;q23), <i>AML1/ETO</i> - inv(16)(p13;q22), hoặc t(16;16)(p13;q22), <i>CBFβ/MYH11</i> - t(1;11)(q21;q23), <i>KMT2A/MLLT1</i> - Đột biến <i>NPM1</i>, đột biến <i>CEBFA</i>

Xấu	- t(6;11)(q27;q23), <i>KMT2A/AFDN- MLL/AF6</i>. - t(9;11)(p22;q23), <i>KMT2A/MLLT3</i>. - t(6;9)(q23;q34), <i>DEK/NUP214</i>. - t(4;11)(q21;q23), <i>KMT2A/AFF1- MLL/AF4</i> - t(10;11)(p12;q23), <i>KMT2A/MLLT10</i> - t(5;11)(q35;p13), <i>NUP98/NSD1</i> - t(7;12)(q36;p13), <i>ETV6 (TEL); HLXB9 (MNX1)</i> - t(9;22)(q34;q11), <i>BCR/ABL1</i> - Mất đoạn 5/5q- - Mất đoạn 7/7q- - Đảo ngược nhiễm sắc thể số 3.
Trung bình	- Bất thường khác không được liệt vào tiên lượng tốt, tiên lượng xấu và không có đột biến ở mức độ phân tử.

1.5. PHÂN NHÓM NGUY CƠ, CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

1.5.1. Phân nhóm nguy cơ, chẩn đoán và điều trị BCCDL

1.5.1.1. Phân nhóm nguy cơ

Áp dụng theo tiêu chuẩn phân loại của viện ung thư quốc gia Hoa Kỳ [68].

- Nguy cơ thường: tuổi từ 1- <10 tuổi, và số lượng bạch cầu $<50 \times 10^9/l$.
- Nguy cơ cao: tuổi ≥ 10 tuổi, hoặc < 1 tuổi, và/hoặc số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$.
- Đối với trẻ < 1 tuổi: được xếp vào nhóm BCCDL nhũ nhi.

1.5.1.2. Chẩn đoán

Tiêu chuẩn lâm sàng

- Triệu chứng toàn thân: sốt, mệt mỏi, ăn kém. Thiếu máu, xuất huyết dưới da hoặc niêm mạc.
- Triệu chứng thâm nhiễm ngoài tủy xương: gan, lách, hạch lớn, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương, thâm nhiễm trung thất, hay thâm nhiễm tinh hoàn [65],[128].

Các xét nghiệm

Công thức máu ngoại vi

Có hemoglobin (Hb) thường giảm, số lượng bạch cầu có thể tăng, bình thường hay giảm, nhưng thường có bạch cầu đa nhân trung tính giảm nặng, có thể nhìn thấy bạch cầu non ra máu ngoại vi hoặc không. Số lượng tiểu cầu thường giảm [128].

Tủy đồ

Nếu trong tủy xương thấy tế bào non ác tính dòng lympho $\geq 20\%$ thì được chẩn đoán bạch cầu cấp, đây là tiêu chuẩn vàng.

Hóa học tế bào: có PAS (+), Soudan-black (-), Peroxydase (-).

Miễn dịch tế bào

Dòng tế bào B: CD19 dương tính mạnh với ≥ 1 chỉ điểm dương tính mạnh với: CD79a, CD22, CD10 hoặc CD19 yếu với ≥ 2 chỉ điểm dương tính mạnh như: CD79a, CD22, CD10.

Dòng tế bào T: CD3 dương tính và tối thiểu một trong các chỉ điểm như CD2, 5, 7, hoặc 8 [86].

1.5.1.3. Điều trị bạch cầu cấp dòng lympho

Hiện tại, chúng tôi áp dụng phác đồ CCG 1881 hiệu chỉnh cho nguy cơ thường và phác đồ CCG 1882 hiệu chỉnh cho nguy cơ cao [70],[112]. Trước khi bắt đầu điều trị cho các bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho, chúng tôi có cơ hội thảo luận với các chuyên gia nước ngoài trong việc áp dụng phác đồ điều trị. Chúng tôi có hiệu chỉnh đôi chút về thời điểm cho thuốc để phù hợp với hoàn cảnh thực tế tại địa phương, nhưng vẫn áp dụng dựa trên cơ sở chính của phác đồ đã có. Mục đích của liệu pháp điều trị là đem đến một sự lui bệnh về mặt hình thái học cũng như lâm sàng lâu dài cho bệnh nhân. Điều trị được phân thành các giai đoạn như bảng tóm tắt sau.

Bảng 1.3. Phác đồ điều trị cho nguy cơ thường
(Hiệu chỉnh phác đồ CCG 1881) [70]

1. Tấn công: (1 tháng)

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa -2mg) - Ngày 0, 7, 14 và 21
DEX 6,0 mg/m ² /ngày – Ngày 0-27
L-Asp 6,000 IU/m ² 9 liều (3 lần hàng tuần) bắt đầu từ ngày thứ 3-5
Bơm nội tủy MTX tuổi 1 đến nhỏ hơn 2 tuổi, 8 mg
2 tuổi- nhỏ hơn 3 tuổi, 10 mg
Lớn hơn 3 tuổi, 12 mg - Ngày 0, 7*, 14, 21*, 28

* Bệnh nhân có thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương tại thời điểm chẩn đoán.

1.2. củng cố: (1 tháng)

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2 mg) – Ngày 0
6-MP 75 mg/m ² /ngày – Ngày 0-27
Bơm nội tủy MTX vào các ngày 7, 14**, 21**

** Những bệnh nhân thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương không nhận mũi nội tủy vào ngày 14 và 21

1.3. Duy trì tạm thời:

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2mg) - Ngày 0, 10, 20, 30, 40
MTX 100 mg/m ² liều khởi đầu- Ngày 0, 10, 20, 30, 40 (liều tăng lên 50 mg/m ² mỗi 10 ngày tùy vào số lượng bạch cầu hạt)
Bơm nội tủy MTX vào ngày 0 và 30

1.4. Tích cực muộn: (49 ngày)

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2 mg) - Ngày 0, 7 và 14
DEX 10 mg/m ² - Ngày 0-6 và 14-20
L-Asp 6.000 UI/m ² mỗi 6 liều x 2 lần (Ngày 3, 42)
DXR 25 mg/m ² – Ngày 0, 7 và 14
CPM 1.000 mg/m ² - Ngày 28
6-MP 75 mg/m ² /ngày – Ngày 28-41
Ara-C 75 mg/m ² /ngày - Ngày 28-31 và 35-38
Bơm nội tủy MTX vào ngày 0 và 28

1.5. Duy trì: (84 ngày mỗi vòng; 20 tháng)

VCR 1,5 mg/m² (tối đa 2mg) mỗi 28 ngày, vào ngày 0, 28, 56

DEX 6 mg/m² - ngày 0-4, 28-32, và 56-60

6-MP 75 mg/m²/ngày - ngày 0-83

MTX 20 mg/m² vào ngày 7,14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77.

Bơm nội tủy MTX vào ngày 0

Chú ý: VCR: Vincristine, DEX: Dexamethasone, L-asp: L-asparaginase; MTX: methotrexate; 6-MP: 6-Mercaptopurin; DXR: Doxorubicine; CPM: Cyclophosphamide; Ara-C: Cytarabine.

Bảng 1.4. Phác đồ điều trị cho nguy cơ cao (hiệu chỉnh phác đồ CCG 1882) [112]

2.1. Tấn công:

VCR 1,5 mg/m² (tối đa 2 mg) - Ngày 0, 7, 14 và 21

PSL 60 mg/m²/ngày – Ngày 0-27

L-Asp 6.000 IU/m² 9 liều (3 lần hàng tuần) bắt đầu từ ngày 3-5

DNR 25 mg/m²/ngày – ngày 0, 7, 14 và 21

Bơm nội tủy MTX tuổi 1 – nhỏ hơn 2 tuổi, 8 mg

Tuổi 2 đến nhỏ hơn 3 years, 10 mg

Lớn hơn 3 tuổi, 12 mg - Ngày 0, 7*, 14, 21*, 28

* Chỉ dành cho bệnh nhân thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương.

2.2. Củng cố: (9 tuần)

CPM 1.000 mg/m² - Ngày 0 và 28

6-MP 75 mg/m² – ngày 0-27

Ara-C 75mg/m²/ngày x 16 liều - Ngày 1-4, 8-11, 15-18, 22-25

VCR 1,5 mg/m² (tối đa 2mg) - Ngày 14, 21, 42 và 49

L-Asp 6.000 IU/m² x 12 liều (thứ hai, thứ tư, thứ 6) – bắt đầu ngày 14 (±1 ngày) và ngày 42 (±1 ngày)

Bơm nội tủy MTX vào các ngày 0, 7, 14*, 21*

* Bệnh nhân thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương không nhận mũi nội tủy vào ngày 14 và 21.

2.3. Duy trì tạm thời: (2 tháng) (lặp lại 2 lần)

MTX 100 mg/m ² - Ngày 0, 10, 20, 30, 40 VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2 mg) - Ngày 0, 10, 20, 30, 40 L-Asp 15.000 IU/m ² – Ngày 1, 11, 21, 31, 41 IT MTX – Ngày 0, 20 và 40
--

2.4. Tích cực muộn: (2 tháng) (lặp lại 2 lần)

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2mg) – Các ngày 0, 7, 14, 42, 49 DEX 10 mg/m ² /ngày - Ngày 0-20 L-Asp 6.000IU/m ² x 6 liều - (Thứ hai, thứ tư, thứ sáu) Ngày 3-14, và (thứ hai-thứ sáu) Ngày 42-53. DXR 25 mg/m ² - ngày 0, 7 và 14 CPM 1.000 mg/m ² - Ngày 28 6-MP 75 mg/m ² /ngày - Ngày 28-41 Ara-C 75 mg/m ² /ngày – ngày 29-32 và 36-39 Bơm nội tủy MTX - Ngày 29 và 36
--

2.5. Duy trì: (84 ngày mỗi vòng, thời gian 3 năm từ duy trì tạm thời 1)

VCR 1,5 mg/m ² (tối đa 2mg) - ngày 0, 28, 56. PSL 40 mg/m ² /ngày - ngày 0-4, 28-32, 56-60. MTX 20 mg/m ² /tuần - Ngày 7,14,21,28,35,42,49,56,63,70,77. 6-MP 75 mg/m ² /ngày - Ngày 0-83. Bơm nội tủy MTX- ngày 0 mỗi vòng
--

Chú ý: PLS: Prednisolone

1.5.2. Phân nhóm nguy cơ, chẩn đoán và điều trị BCCDT

1.5.2.1. Chẩn đoán bệnh bạch cầu cấp dòng tủy

Chẩn đoán bệnh dựa vào những tiêu chuẩn sau [65].

Triệu chứng lâm sàng gợi ý:

Thiếu máu, sốt, nhiễm trùng, xuất huyết, thâm nhiễm bên ngoài tủy: gan, lách, hạch to, phì đại nước.

Công thức máu: Thiếu máu, giảm tiểu cầu và kết hợp với tăng số lượng bạch cầu.

Chức năng đông máu: thường rối loạn trong bạch cầu cấp tiền tủy bào.

Tủy đồ: $\geq 20\%$ tế bào non ác tính dòng tủy.

Hóa học tế bào: Thường dương tính với MPO, Sudan - Black, âm tính với PAS

Kiểu hình miễn dịch: Chủ yếu MPO, CD13, CD33, CD117, $\pm$ CD14, CD15

Các biến đổi về di truyền học tế bào và sinh học phân tử

Phân loại hình thái học của bạch cầu cấp dòng tủy dựa trên hệ thống phân loại Pháp-Mỹ-Anh, từ M0 đến M7 [65].

Bảng 1.5. Phân loại hình thái học, lâm sàng và sinh học bạch cầu cấp dòng tủy [65].

BCCDT	Týp phụ	Đặc điểm lâm sàng/sinh học
M0	Bệnh bạch cầu không biệt hóa	- Các tế bào non ác tính khó phân biệt, không có que Auer. - MPO âm tính và CD13, 33, 117: dương tính.
M1	Bệnh bạch cầu cấp dòng nguyên tủy bào không biệt hóa	- Tế bào non ác tính chiếm trên 90%, với kích thước lớn, bào tương xanh xám, nhân lớn. - MPO dương tính bằng nhuộm đặc biệt/đếm tế bào theo dòng.
M2	Bệnh bạch cầu dòng nguyên tủy bào có biệt hóa	- Tế bào non ác tính có thể có hoặc không có que Auer. - Chuyển đoạn t(8;21), có chloroma, tiên lượng tốt.
M3	Bệnh bạch cầu cấp dòng tiền nguyên tủy bào	- Có que Auer. - Rối loạn đông máu, chảy máu, chuyển đoạn t(15;17). - Tiên lượng tốt đối với điều trị ATRA.
M4	Bệnh bạch cầu cấp dòng nguyên tủy bào đơn nhân	- Chiếm tỷ lệ 21%. - Nguyên tủy bào hỗn hợp (20%), và nguyên tủy bào đơn nhân, nhiều bạch cầu đơn nhân trong máu ngoại vi.
M5	Bệnh bạch cầu đơn nhân to	- $\geq 80\%$ tế bào không thuộc dòng hồng cầu tủy xương là bạch cầu đơn nhân to. - <i>MLL</i> (11q23): tái sắp xếp ở trẻ sơ sinh. Bệnh ở hệ thần kinh trung ương phổ biến hơn, chloroma, tăng sản ở lách.
M6	Bệnh tăng sinh nguyên hồng cầu	- Hiếm gặp ở trẻ em.
M7	Bệnh bạch cầu cấp dòng mẫu tiểu cầu	- Thường thấy trong hội chứng Down có đột biến GATA1. Tiên lượng tốt. Hiếm gặp ở bệnh nhân không có hội chứng Down. Nếu có t(1;22): tiên lượng xấu.

1.5.2.2. Điều trị bạch cầu cấp dòng tủy

Đối với BCCDT, chúng tôi áp dụng phác đồ A7D3, riêng đối với bạch cầu cấp tiền tủy bào, chúng tôi áp dụng phác đồ riêng, dựa trên phác đồ của Bộ Y tế Việt Nam [2].

Phác đồ A7D3 cho BCCDT [2]:

Điều trị tấn công

- Daunorubicine 45 mg/m² pha 50 ml dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9%, truyền tĩnh mạch 30 phút, trong 3 ngày liên tiếp.

- Cytarabine 100 mg/m²/ngày pha trong dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9%, truyền tĩnh mạch liên tục trong 24 giờ, trong 7 ngày liên tiếp.

Đánh giá tủy đồ ngày 14:

- Nếu số lượng tế bào non ác tính còn nhiều > 20%, thay đổi điều trị bằng phác đồ Cytarabine liều cao: Cytarabine 2000 mg/m²/12 giờ pha trong dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9% truyền tĩnh mạch trong 2 giờ x 6 ngày.

- Nếu số lượng tế bào giảm nhiều nhưng không suy tủy (5-20% tế bào non ác tính): điều trị thêm phác đồ 7&3.

Điều trị tăng cường 1:

- Cytarabine 1.000 mg/m²/12 giờ pha trong dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9% truyền tĩnh mạch trong 2 giờ x 4 ngày.

- Daunorubicine 45 mg/m² pha 50 ml dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9%, truyền tĩnh mạch 30 phút, trong 3 ngày liên tiếp.

Điều trị tăng cường 2:

- Cytarabine 1.000 mg/m²/12 giờ pha trong dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9% truyền tĩnh mạch trong 2 giờ x 4 ngày.

- Etoposide 100 mg/m²/ngày pha trong 250ml dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9% truyền tĩnh mạch trong 2 giờ x 4 ngày.

Điều trị tăng cường 3:

- Lặp lại tăng cường 1 hoặc,

- Cytarabine 3.000 mg/m²/12 giờ pha trong dung dịch Glucose 5% hoặc Natriclorua 0,9% truyền tĩnh mạch trong 3 giờ x 3 ngày (Ngày 1, 3, 5).

Đối với bạch cầu cấp tiền tủy bào [2]:

Giai đoạn tấn công:

- ATRA: 25 mg/m²/ngày chia 2 lần uống. ATRA được dùng đến khi lui bệnh hoặc tối đa 90 ngày.
- Daunorubicine: 45 mg/m²/ngày, truyền tĩnh mạch 30 phút x 3 ngày.

Giai đoạn củng cố: 2-3 đợt

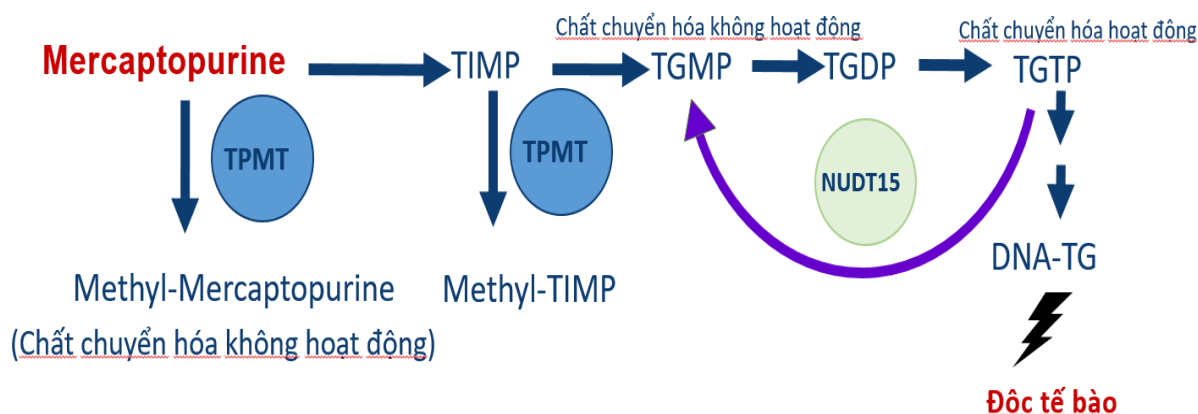
- Daunorubicine: 45 mg/m²/ngày, truyền tĩnh mạch 30 phút x 3 ngày.
- Cytarabine 1.000 mg/m²/12 giờ, truyền tĩnh mạch trong 1 giờ x 4 ngày.

Điều trị duy trì: Kéo dài 2 năm

- ATRA: 25 mg/m²/ngày chia 2 lần uống x 15 ngày đầu mỗi 3 tháng.
- MTX: 15 mg/m²/tuần uống.
- Purinethol: 75 mg/m²/ngày uống.

1.6. CÁC GEN LIÊN QUAN CHUYỂN HÓA THUỐC 6-MERCAPTOPURINE

Trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho, bệnh nhân phải sử dụng 6-mercaptopurine hàng ngày trong vòng 2-3 năm để đạt được sự lui bệnh lâu dài. Thiopurines là những tiền chất đòi hỏi các enzyme chuyển đổi thành nucleotide thioguanine (TGN), sau đó sẽ kết hợp vào DNA (tạo thành DNA-TG) để gây ra quá trình chết tế bào [85]. Vì thế, các chất chuyển hóa có hoạt tính của thiopurine (ví dụ như TGN và DNA-TG) được giả thuyết là các yếu tố được lý học quyết định hiệu lực và độc tính của thuốc. Nhiều hoạt động chuyển hóa khác nhau của thiopurine đã được biết, và các trẻ em dùng liều giống nhau về thiopurine, nhưng có các độc tính khác nhau [96]. Những nghiên cứu gần đây đã cho thấy độc tính của thiopurine có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều gen di truyền *TPMT* và *NUDT15*, mã hóa các enzyme chính liên quan đến chuyển hóa thiopurine, đặc biệt trong sự hình thành TGN và DNA-TG [143],[183].

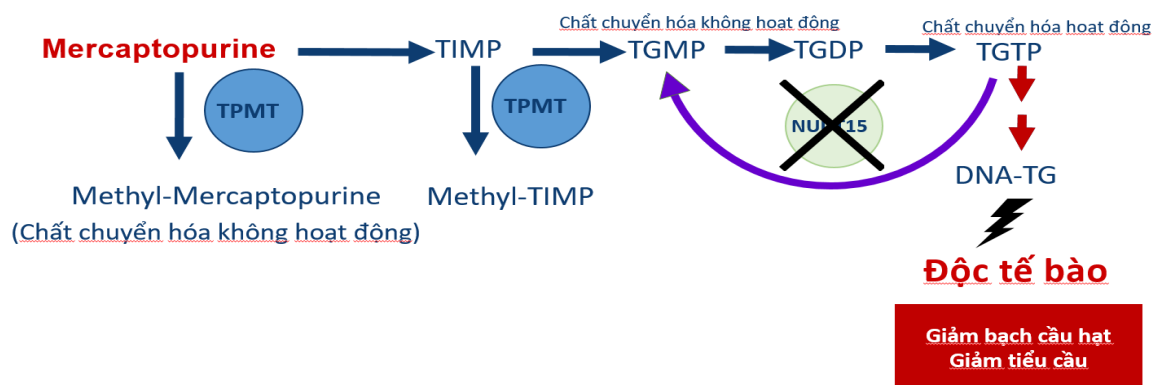


Hình 1.10. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine (trích từ Zaza, 2010) [186].

1.6.1. Gen *NUDT15*

Gen *NUDT15* còn được gọi là *MTH2*, nằm trên nhiễm sắc thể 13, vị trí 14.2 của nhánh dài, mã hóa cho một enzyme thuộc họ nudix hydroxylase, xúc tác sự thủy phân của nucleoside diphosphatase [140],[171], liên quan đến sự loại bỏ các dNTP bị oxy hóa [159]. Nó gồm 164 acid amin và tạo thành homodimer hoạt động chức năng. Cấu trúc protein của *NUDT15* cấu tạo NUDIX gấp với cấu trúc xoắn α , cấu trúc phẳng β và xoắn α .

Gần đây, các đột biến của gen *NUDT15* trong dòng tế bào mầm được xác định là một nguyên nhân di truyền chính, tác động đến chuyển hóa thuốc 6-MP, và ngày nay, người ta thường kiểm tra kiểu gen *NUDT15* để hướng dẫn liều sử dụng 6-MP trên lâm sàng [110]. *NUDT15* là một enzyme chính trong chuyển hóa thiopurine và làm dịu đi hoạt tính của thuốc thiopurine bằng cách thủy phân thioguanine triphosphate thành thioguanine diphosphate, và ngăn chặn sự kết hợp của chúng vào DNA, do đó làm giảm tác dụng gây độc tế bào của 6-MP.



Hình 1.11. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine nếu không có tác động của enzyme NUDT15 (trích từ Zaza, 2010) [186].

Dựa vào kiểu alen của *NUDT15*, các bệnh nhân được phân thành các nhóm chuyển hóa thuốc khác nhau.

Bảng 1.6. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP đối với các biến thể gen *NUDT15* [143].

Chuyển hóa bình thường	Cá nhân mang hai alen với chức năng bình thường	*1/*1
Chuyển hóa trung gian	Cá nhân mang 1 alen bình thường và một alen mất chức năng	*1/*2, *1/*3
Có khả năng chuyển hóa trung gian	Cá nhân mang 1 alen có chức năng không rõ ràng và một alen mất chức năng	*2/*5, *3/*6, *3/*5
Chuyển hóa kém	Cá nhân mang hai alen không có chức năng	*2/*2, *2/*3, *3/*3
Không xác định	Một alen chức năng bình thường với một alen chức năng không rõ ràng, hoặc hai alen chức năng không rõ ràng	*1/*4, *1/*5, *4/*5, *5/*6.

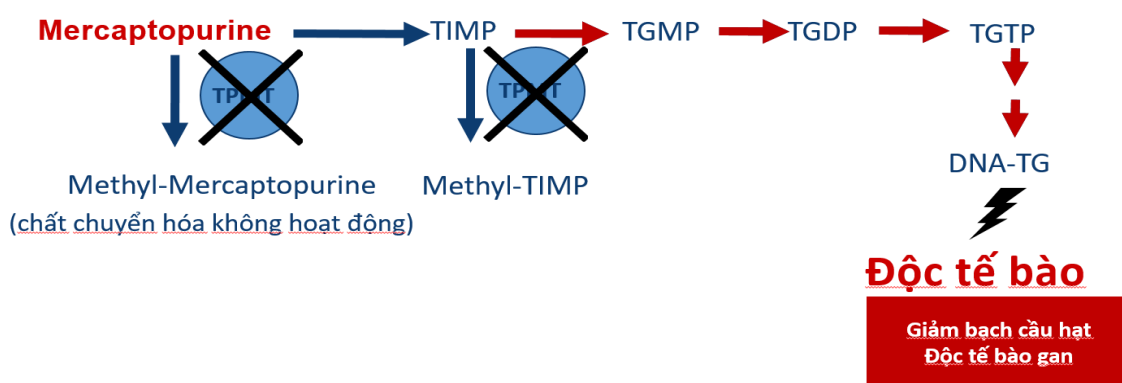
Và từ những nhóm chuyển hóa thuốc khác nhau, tác giả Relling đã đề nghị liều thuốc mercaptopurine cho từng nhóm bệnh nhân.

Bảng 1.7. Liều gợi ý sử dụng thuốc mercaptopurine dựa trên khả năng chuyển hóa thuốc của NUDT15 [143]

Kiểu hình <i>NUDT15</i>	Nguy cơ chuyển hóa thuốc	Liều lượng mercaptopurine khuyến cáo sử dụng
Khả năng chuyển hóa <i>NUDT15</i> bình thường	Không có nguy cơ liên quan đến việc sử dụng thiopurine dẫn đến giảm bạch cầu hạt, sốt giảm bạch cầu hạt hay suy tủy	-Khởi đầu liều bình thường, 75mg/m ² /ngày và điều chỉnh liều nếu có biểu hiện suy tủy, nhưng không cần chú trọng đặc biệt đến mercaptopurine so với các thuốc khác. Cần tối thiểu 2 tuần để đạt được mức liều ổn định sau mỗi lần điều chỉnh.
<i>NUDT15</i> chuyển hóa trung gian hoặc có khả năng chuyển hóa trung gian	Tăng nguy cơ giảm bạch cầu, sốt giảm bạch cầu hạt và suy tủy	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường) nếu liều bình thường $\geq$ 75 mg/m ² /ngày, và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
<i>NUDT15</i> có khả năng chuyển hóa kém	Tăng nguy cơ rõ ràng liên quan đến các độc tính của thuốc mercaptopurine	-Khởi đầu với liều thấp, 10mg/m ² /ngày và điều chỉnh dựa vào tình trạng suy tủy. Để cho thời gian 4-6 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh.

1.6.2. Gen *TPMT*

Gen *TPMT* nằm trên nhiễm sắc thể số 6, vị trí 22.3 nhánh ngắn, dài 34 kb và chứa 10 exon. Gen *TPMT* mã hóa một trong những enzym quan trọng, thiopurine methyltransferase, giúp chuyển mercaptopurine thành methyl-mercaptopurine, một chất chuyển hóa không hoạt động, cũng như chuyển hóa thành thio-inosine monophosphate. Từ đó, giảm tạo thành sản phẩm DNA-thioguanine gây độc tế bào. Như vậy, *TPMT* hoạt động như một lá chắn chống lại tác dụng có hại của thuốc mercaptopurine.



Hình 1.12. Sơ đồ chuyển hóa thuốc 6-MP nếu không có enzyme TPMT
(trích từ Zaza, 2010) [186].

Tương tự như kiểu gen của *NUDT15*, tác giả cũng phân chia các mức độ chuyển hóa 6-MP của kiểu gen *TPMT* [143].

Bảng 1.8. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP đối với các biến thể gen *TPMT* [143]

Chuyển hóa bình thường	Cá nhân mang hai alen với chức năng bình thường	*1/*1
Chuyển hóa trung gian	Cá nhân mang 1 alen bình thường và một alen mất chức năng	*1/*2, *1/*3A, *1/*3B, *1/*3C, *1/*4
Có khả năng chuyển hóa trung gian	Cá nhân mang 1 alen có chức năng không rõ ràng và một alen mất chức năng	*2/*8, *3A/*7
Chuyển hóa kém	Cá nhân mang hai alen không có chức năng	*3A/*3A, *2/*3A, *3A/*3C, *3C/*4, *2/*3C, *3A/*4
Không xác định	Một alen chức năng bình thường với một alen chức năng không rõ ràng, hoặc hai alen chức năng không rõ ràng	*6/*8, *1/*8

Bảng 1.9. Liều gợi ý sử dụng thuốc 6-MP dựa trên khả năng chuyển hóa thuốc của *TPMT* [143]

Kiểu hình <i>TPMT</i>	Nguy cơ chuyển hóa thuốc	Liều lượng mercaptopurine khuyến cáo sử dụng
Khả năng chuyển hóa <i>TPMT</i> bình thường	Không có nguy cơ liên quan đến việc sử dụng thiopurine dẫn đến giảm bạch cầu hạt, sốt giảm bạch cầu hạt hay suy tủy	- Khởi đầu liều bình thường, 75mg/m ² /ngày và điều chỉnh liều nếu có biểu hiện suy tủy, nhưng không cần chú trọng đặc biệt đến mercaptopurine so với các thuốc khác. Cần tối thiểu 2 tuần để đạt được mức liều ổn định sau mỗi lần điều chỉnh.
<i>TPMT</i> chuyển hóa trung gian hoặc có khả năng chuyển hóa trung gian	Tăng nguy cơ giảm bạch cầu, sốt giảm bạch cầu hạt và suy tủy	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường) nếu liều bình thường $\geq$ 75 mg/m ² /ngày, và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. -Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
<i>TPMT</i> có khả năng chuyển hóa kém	Tăng nguy cơ rõ ràng liên quan đến các độc tính của thuốc mercaptopurine	-Giảm liều mạnh (giảm xuống 10 lần và giảm tần suất sử dụng, có thể cho 3 lần hàng tuần, ví dụ dùng liều 10mg/m ² /ngày và cho 3 ngày trong tuần) và điều chỉnh dựa vào tình trạng suy tủy. -Để cho thời gian 4-6 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.

1.7. ĐÁNH GIÁ ĐÁP ỨNG ĐIỀU TRỊ

Mục tiêu của điều trị hóa chất trong bệnh bạch cầu cấp là đạt được lui bệnh hoàn toàn về huyết học ngay sau điều trị tấn công và tiếp tục duy trì tình trạng lui bệnh lâu dài. Vì thế, đánh giá lui bệnh sau tấn công không những giúp tiên lượng bệnh mà còn giúp chọn lựa biện pháp điều trị tiếp theo. Trước đây, đánh giá lui bệnh chỉ dựa vào hình thái học tế bào. Ngày nay, nhờ sự phát triển của khoa học kỹ thuật, bệnh nhân còn được đánh giá bệnh tồn dư tối thiểu (MRD) dựa vào phương pháp đếm dòng chảy tế bào.

Dựa vào hình thái học [29].

- Lui bệnh hoàn toàn:
 - Số lượng bạch cầu hạt $> 1,5 \times 10^9/l$, số lượng tiểu cầu $> 100.000 \times 10^9/l$.
 - Tủy đồ bình thường, có mật độ tế bào trung bình hoặc giảm, $< 5\%$ tế bào non ác tính.
 - Không tái phát trong vòng 4 tuần.
- Không lui bệnh: tủy đồ còn hiện diện $\geq 20\%$ tế bào non ác tính.
- Lui bệnh một phần: tủy đồ còn hiện diện 5-20% tế bào non ác tính.

Đo lường bệnh tồn dư tối thiểu (MRD) [128].

Nguyên lý: Kỹ thuật đếm dòng chảy tế bào là phương pháp xét nghiệm hiện đại, dựa trên khả năng tương tác của các kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên của từng loại tế bào trong cơ thể. Đây là kỹ thuật giúp chẩn đoán cũng như theo dõi đánh giá các tế bào tồn lưu (MRD) sau điều trị trong bệnh bạch cầu cấp.

Bệnh tồn dư tối thiểu là sự tồn tại của các tế bào máu ác tính trong tủy. Phương pháp đo lường tồn lưu tế bào ác tính tối thiểu giúp đánh giá số lượng tế bào ác tính còn tồn tại dai dẳng và là phương pháp có độ tin cậy, độ nhạy cao gấp 100 lần xét nghiệm tủy đồ. Đánh giá tồn lưu tế bào ác tính vào cuối giai đoạn tấn công có giá trị tiên đoán dự hậu cho bệnh nhân [92].

Đối với bạch cầu cấp dòng lympho

Đáp ứng nhanh chóng với điều trị là một chỉ điểm rất quan trọng trong tiên lượng. Thất bại để đạt được lui bệnh hoàn toàn sau 4-6 tuần giai đoạn tấn công, là một yếu tố tiên lượng xấu, có tỷ lệ bị tái phát và thời gian sống sót

ngắn. Nhiều nhóm nghiên cứu đã chỉ ra yếu tố tiên lượng quan trọng là sự làm sạch nhanh chóng tế bào non ác tính trong máu ngoại biên và tủy xương trong giai đoạn tấn công, được đo lường sau 1-2 tuần sau điều trị [27],[137].

Những năm gần đây, việc đo lường bệnh tồn dư tối thiểu bằng phương pháp đếm dòng chảy tế bào hoặc khuếch đại PCR đã thay thế việc đánh giá sớm hình thái học của tủy xương và tăng tầm quan trọng trong việc phân tầng nguy cơ [34]. Thông thường, một bệnh nhân đáp ứng càng nhanh và đưa về MRD âm tính, thì tiên lượng càng tốt. Nồng độ MRD không phát hiện được hoặc dưới ngưỡng 10^{-4} vào cuối giai đoạn tấn công, có tiên lượng tốt nhất. Tồn tại hoặc gia tăng giá trị MRD sau giai đoạn tấn công có tiên lượng xấu cho cả hai nhóm: nhóm BCCDL mới chẩn đoán hoặc bệnh tái phát được điều trị hóa chất hay ghép tủy [34],[56].

Đối với bạch cầu cấp dòng tủy

Đáp ứng ban đầu với điều trị tấn công là một giá trị tiên lượng chính về kết quả điều trị tiếp theo của bệnh nhân. Thất bại với đạt lui bệnh sau giai đoạn tấn công dự đoán chắc chắn một tiên lượng xấu, cho dù những biện pháp tiếp theo giúp bệnh nhân đạt lui bệnh. 15% tế bào non ác tính sau giai đoạn tấn công, là ngưỡng để xác định tế bào bạch cầu kháng trị tiên phát [107].

Ngoài ra, người ta còn dựa vào việc đo lường bệnh tồn dư tối thiểu (MRD) để đánh giá. Phát hiện MRD vào lúc tủy phục hồi sau giai đoạn tấn công có nguy cơ gấp gần 5 lần tỷ lệ tái phát và khoảng 3 lần tử vong do bệnh [156].

Nghiên cứu này đã chứng minh thêm rằng những bệnh nhân nhóm nguy cơ thuận lợi có MRD dương tính sau giai đoạn tấn công, không ảnh hưởng đến tiên lượng, đặc biệt là những bệnh nhân có chuyển đoạn t(8;21), đảo ngược nhiễm sắc thể 16 (inv(16)) hay đột biến *NPM*, *CEBPA*. Điều này giúp khẳng định nhóm nguy cơ thuận lợi, không nên dựa vào giá trị MRD sau tấn công để đánh giá nguy cơ cao. Nghiên cứu cũng chỉ thêm rằng nhóm nguy cơ cao có kết cục xấu ngay cả khi không phát hiện MRD sau giai đoạn tấn công.

1.8. CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CÁC BIẾN ĐỔI GEN BẠCH CẦU CẤP Ở TRẺ EM

1.8.1. Các công trình nghiên cứu trên thế giới

Trên thế giới, các nghiên cứu riêng biệt về từng nhóm bệnh BCCDL hay BCCDT tương đối nhiều, nhưng không có quá nhiều nghiên cứu chung cho nhóm bệnh bạch cầu cấp.

Elia và cộng sự (2003) đã tiến hành ứng dụng kỹ thuật khuếch đại gen để phát hiện các đột biến gen trên 170 bệnh nhân BCCDL, trong đó có 70 trẻ em. Kết quả cho thấy 38,5% bệnh nhân có các biến đổi gen, với 11,4% bệnh nhân có mang dung hợp gen *TEL/AML1*, 7,1% bệnh nhân có dung hợp gen *E2A/PBX1*, 5,7% bệnh nhân có dung hợp gen *MLL/AF4*, 4,2% bệnh nhân có dung hợp gen *SIL/TAL*, 2,8% bệnh nhân có dung hợp gen *MLL/ENL*, 2,8% bệnh nhân có dung hợp gen p190 *BCR/ABL1* và 4,2% bệnh nhân có dung hợp gen p190/p210 *BCR/ABL1* [45].

Kolb và cộng sự (2015) cho thấy những đột biến tái diễn ở trẻ bị BCCDT giúp xác định các mục tiêu tiềm năng cho các chiến lược điều trị mới. Bạch cầu cấp tiền tủy bào thường đặc trưng bởi 1 dung hợp giữa gen *PML* và gen *RARA*, và sẽ được điều trị lần lượt với arsenic và retinoic acid. Đột biến *GATA1*, thường gặp trong BCCDT ở những bệnh nhân có hội chứng Down, các tế bào thường nhạy cảm hơn với cytarabine và anthracyclines, vì thế cho phép giảm liều để vừa giảm độc tính vừa duy trì tỷ lệ sống tối ưu. Ở những bệnh nhân khác, đột biến con đường RAS, KMT2A và đột biến khác methyltransferase, đột biến FLT3, và đột biến KIT là những đột biến thường gặp trong trẻ BCCDT [93].

Aldrich và cộng sự (2016), phân tích các biến đổi di truyền tế bào trên 543 trẻ BCCDL, trong đó có 42% trẻ Mỹ gốc Tây Ban Nha và 41% trẻ da trắng không phải Mỹ gốc Tây Ban Nha, và tác giả tiến hành so sánh các biến đổi di truyền tế bào trên hai nhóm. Không có sự khác biệt về tái sắp xếp *11q23/MLL* giữa hai nhóm. Đối với B-BCCDL, tỷ lệ chuyển đoạn *TEL/AML1* thấp hơn nhiều ở nhóm người Mỹ gốc Tây Ban Nha (13%) so với nhóm trẻ không phải người Mỹ gốc Tây Ban Nha (24%), với $p=0,01$ [15].

Quessada (2021) nghiên cứu về di truyền tế bào ở trẻ bị BCCDL đã cho thấy di truyền tế bào là một yếu tố quan trọng trong chẩn đoán và chỉ dẫn tiên lượng. Những bất thường chính về di truyền tế bào có liên quan đến phân loại của tổ chức y tế thế giới về bạch cầu cấp dòng tủy, và theo đó sẽ có những chỉ dẫn về liệu pháp điều trị theo nguy cơ. Tác giả đã nêu lên được những bất thường nhiễm sắc thể chính yếu, tần suất theo tuổi và theo từng phân nhóm bệnh, cũng như tiên lượng với những phác đồ điều trị hiện nay [139].

Đối với bệnh lý BCCDL, quá trình điều trị có sử dụng thuốc 6-MP trong thời gian kéo dài và có thể gây nên các độc tính cho cơ thể. Vì thế, thời gian gần đây, có nhiều nghiên cứu về hệ gen dược lý học, giúp phát hiện được khả năng chuyển hóa thuốc của từng bệnh nhân. Từ đó, điều chỉnh liều lượng thuốc phù hợp và tránh các độc tính.

Báo cáo đầu tiên về sự ức chế tủy trong quá trình sử dụng thuốc 6-MP trong BCCDL do đa hình gen *NUDT15* được công bố vào năm 2015 bởi Yang và cộng sự. Trong nghiên cứu hệ gen thường gặp (GWAS) của mình, nhóm tác giả ghi nhận hai tổ hợp alen quan trọng trong gen rs116855232 (c.415C>T) *NUDT15* liên quan đến cường độ liều 6MP nghĩa là TC/TT thay vì CC. Những bệnh nhân BCCDL có kiểu gen TT của rs116855232 rất nhạy với 6-MP. Họ cũng chỉ ra rằng biến thể này đặc biệt hiếm thấy ở người châu Âu (0,2%) và không quan sát thấy ở người châu Phi. Từ nghiên cứu này, một số nghiên cứu đã được tiến hành ở các quốc gia khác nhau chủ yếu là châu Á, đưa ra dữ liệu quan trọng xác nhận vai trò *NUDT15* với mức độ độc tính 6-MP ở bệnh nhân BCCDL [182].

Sanjeev (2018) tìm hiểu về tần suất gen *TPMT*, *ITPA* và *NUDT15* và mối liên quan với độc tính 6-MP trên trẻ em miền Bắc Ấn Độ bị BCCDL. Qua tiến hành phân tích gen 63 bệnh nhân cho thấy có 18 bệnh nhân (28,6%) có đa hình chính yếu, trong đó 17 bệnh nhân có dị hợp tử. *ITPA* gặp trong 11 bệnh nhân (17,5%), *NUDT15* gặp trong 6 bệnh nhân (9,5%) và *TPMT*3C* gặp trong 2 bệnh nhân (3,1%). Đa hình với *ITPA*, *NUDT15* gặp ở tần suất cao ở trẻ em Bắc Ấn Độ và những bệnh nhân có đa hình nucleotide đơn hấp thu liều thuốc 6-MP thấp hơn [87].

1.8.2. Các công trình nghiên cứu trong nước

Cho đến thời điểm hiện tại, có một số công trình nghiên cứu về biến đổi gen trên bệnh nhân BCCDL, rất ít công trình nghiên cứu trên BCCDT. Và các xét nghiệm gen hầu hết được làm với kỹ thuật RT-PCR, phát hiện 4 gen cơ bản. Và việc đánh giá mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị chỉ dừng lại tại thời điểm sau tấn công hoặc trong vòng 12 tháng, chưa có nghiên cứu về lâu dài. Và chưa có nghiên cứu nào báo cáo bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* ảnh hưởng đến sự hấp thu thuốc 6-MP ở trẻ bị BCCDL.

Năm 2009, Vũ Minh Phương nghiên cứu một số biến đổi gen đặc trưng và đáp ứng điều trị tấn công ở bệnh nhân BCCDT. Kết quả cho thấy chỉ phát hiện được 3 dung hợp gen: dung hợp gen *PML/RARA* chỉ gặp ở bệnh nhân BCCDT thể M3, có tỷ lệ ở thể M3 là 76%. Dung hợp gen *PML/RARA* đáp ứng tốt với điều trị, có tỷ lệ lui bệnh cao 84%; dung hợp gen *AML1/ETO* chiếm tỷ lệ 22%, đáp ứng tốt với điều trị hóa chất, có tỷ lệ lui bệnh 77%; và dung hợp gen *CBFB/MYH11* chiếm tỷ lệ 6,4%, có tỷ lệ lui bệnh lên đến 85,7% [8].

Năm 2013, Phan Nguyễn Thanh Vân thực hiện nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật khuếch đại gen khảo sát các tổ hợp gen thường gặp trong bệnh lý bạch cầu cấp. Kết quả cho thấy, trong nhóm BCCDT có 11,7% bệnh nhân có dung hợp gen *AML1/ETO*, 6,8% bệnh nhân có dung hợp gen *PML/RARA*, 4,3% bệnh nhân có dung hợp gen *CBFB/MYH11* và 2,5% bệnh nhân có dung hợp gen *MLL/AF9*. Nhóm bệnh BCCDL có 9,5% bệnh nhân có dung hợp gen *TEL/AML1*, 8,9% bệnh nhân có dung hợp gen *BCR/ABL1*, 2,8% bệnh nhân có dung hợp gen *MLL/AF4* và 4,5% bệnh nhân có dung hợp gen *E2A/PBX1* [12].

Năm 2020, Hoàng Thị Hồng qua nghiên cứu 288 bệnh nhi bị BCCDL được điều trị bằng phác đồ FRALLE 2000 tại Viện Huyết học-Truyền máu Trung ương cho thấy 28,1% bệnh nhi có mang đột biến dung hợp gen, với tỷ lệ lần lượt như sau: *TEL/AML1* (13,5%), *BCR/ABL1* (8,3%), *E2A/PBX1* (3,5%) và *MLL/AF4* (2,8%). Có sự khác biệt về kết quả đáp ứng sớm, đáp ứng sau

điều trị tấn công, thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh giữa các nhóm nguy cơ theo biến đổi di truyền B-BCCDL: nhóm nguy cơ cao có thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh thấp nhất trong các nhóm, bệnh nhi có đột biến gen *BCR/ABL1* có thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh thấp hơn bệnh nhi khác trong cùng phân nhóm của phác đồ [3].

Năm 2019, Huỳnh Hữu Thân qua nghiên cứu các biến thể *NUDT15* và *TPMT* trên 70 bệnh nhi bị BCCDL được điều trị bằng phác đồ FRALLE 2000 tại Viện Huyết học-Truyền máu Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả cho thấy 4 kiểu biến thể *NUDT15* được ghi nhận, chiếm tỷ lệ 32,86%, 1 kiểu biến thể mới p.R11Q được ghi nhận, và 1 biến thể *TPMT* được ghi nhận, chiếm tỷ lệ 2,13%. Bệnh nhân có kiểu biến thể *NUDT15**T có tổng số tuần điều trị dài hơn, số tuần ngưng thuốc do giảm bạch cầu hạt nhiều hơn, tỷ lệ có giảm bạch cầu hạt cao hơn, mức giảm bạch cầu hạt sâu hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân có *NUDT15* thể hoang dại tại thời điểm hoàn tất 3, 6, 12 tháng điều trị duy trì. Tuy nhiên, nghiên cứu này không thực hiện xét nghiệm gen *NUDT15* và *TPMT* cùng một thời điểm, chỉ tiến hành xét nghiệm *TPMT* trên những bệnh nhân không có đột biến gen *NUDT15* [9].

Năm 2020, Đào Thị Tú Anh nghiên cứu về đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* trên 80 bệnh nhi BCCDL đang điều trị tại Viện nhi Trung ương. Kết quả cho thấy có 22,5% bệnh nhân có đa hình gen. Đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* làm tăng mức độ nặng, tần suất số đợt dừng thuốc hóa chất, do giảm bạch cầu hạt nặng, và mức độ nặng do tăng men gan GOT và/hoặc GPT [1].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu là 118 bệnh nhi được chẩn đoán BCCDL và BCCDT, điều trị tại khoa nhi Ung bướu - Huyết học - Ghép tủy, Trung tâm Nhi khoa- Bệnh viện Trung ương Huế, từ 11/2017 đến 5/2022.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhi

- Bệnh nhi được chẩn đoán xác định là BCCDL hay BCCDT lần đầu.
- Tuổi < 16 tuổi.
- Tất cả bệnh nhân được làm phân tích biến đổi gen phương pháp multiplex RT- PCR, với kit Hemavision 28N, phát hiện được 28 đột biến gen cơ bản trong bệnh BCC.

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDL trẻ em: Theo tiêu chuẩn của mạng lưới ung thư quốc gia Mỹ (NCCN) 2.2020 [29].

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCC:

Lâm sàng:

- Triệu chứng toàn thân: sốt, mệt mỏi, ăn kém. Thiếu máu, xuất huyết dưới da hoặc niêm mạc.
- Triệu chứng thâm nhiễm ngoài tủy xương: gan, lách, hạch lớn, phì đại nước, sần lục dưới da, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương, thâm nhiễm trung thất, hay thâm nhiễm tinh hoàn [65],[128].

Công thức máu ngoại vi

Có hemoglobin (Hb) thường giảm, số lượng bạch cầu có thể tăng, bình thường hay giảm, nhưng thường có bạch cầu đa nhân trung tính giảm nặng, có thể nhìn thấy bạch cầu non ra máu ngoại vi hoặc không. Số lượng tiểu cầu thường giảm [128].

Tủy đồ

- Tế bào non ác tính trong tủy $\geq 20\%$. Đây là tiêu chuẩn vàng.
- Hình thái học tế bào được đánh giá dựa trên nhuộm giemsa lam tế bào chọc hút tủy xương hoặc nhuộm mô học mẫu sinh thiết lõi.

- Tế bào tủy được nhuộm hóa học tế bào.
- Miễn dịch tế bào với phương pháp đếm dòng chảy tế bào cho thấy các dấu ấn miễn dịch phù hợp với từng thể BCC.

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDL trẻ em

- Hóa học tế bào: có PAS (+), Soudan-black (-), Peroxydase (-).
- Tiêu chuẩn chẩn đoán dựa trên các CD màng tế bào [86]

Dòng tế bào B: CD19 dương tính mạnh với ≥ 1 chỉ điểm dương tính mạnh với: CD79a, CD22, CD10 hoặc CD19 yếu với ≥ 2 chỉ điểm dương tính mạnh như: CD79a, CD22, CD10.

Dòng tế bào T: CD3 dương tính và tối thiểu một trong các chỉ điểm như CD2, 5, 7, hoặc 8.

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDT trẻ em

- Hóa học tế bào: Thường dương tính với MPO, Soudan - Black, âm tính với PAS.
- Các dấu ấn miễn dịch phù hợp với BCCDT: MPO, CD13, CD33, CD117, $\pm$ CD14. CD15 [65].

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhi bị BCC thứ phát hay tái phát.
- Trẻ và người đại diện chăm sóc không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

- Nghiên cứu mô tả, tiến cứu có theo dõi dọc. Thời gian theo dõi dọc đến khi kết thúc nghiên cứu là 31/05/2022.

2.2.2. Phương pháp chọn mẫu

- Cỡ mẫu thuận tiện: Tất cả bệnh nhi mới, được chẩn đoán BCCDL hay BCCDT nhập viện trong thời gian nghiên cứu.

2.2.3. Nội dung và các biến số nghiên cứu

2.2.3.1. Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp trẻ em.

- + Đặc điểm chung nhóm nghiên cứu: Tuổi, giới, địa dư, xếp loại thể

bệnh theo miễn dịch, xếp loại dưới nhóm và phân loại nhóm nguy cơ.

+ Mô tả các đặc điểm lâm sàng: triệu chứng khởi phát, thời gian từ lúc khởi phát đến lúc nhập viện, các biểu hiện lâm sàng thường gặp và ít gặp trong bệnh BCC.

+ Mô tả các đặc điểm cận lâm sàng: công thức máu (bạch cầu, bạch cầu hạt, tiểu cầu, hemoglobin), bạch cầu non trong máu ngoại vi. Các biến đổi về tủy đồ. Các biến đổi về sinh hóa: LDH, acid uric, CRP, chức năng gan, chức năng thận.

- **Các biến số nghiên cứu**

+ Thông tin hành chính: tuổi, giới, địa dư.

+ Thông số lâm sàng: Thiếu máu, xuất huyết, sốt, gan to, lách to, hạch to, đau nhức xương, thâm nhiễm tinh hoàn, phì đại nước, sản lực, ho, phổi nghe rales, đau bụng, nôn, tiêu chảy.

+ Công thức máu (số lượng bạch cầu, bạch cầu hạt, tiểu cầu và hemoglobin).

+ Các giá trị sinh hóa máu: giá trị LDH, acid uric, SGOT, SGPT, ure, creatinine, CRP.

+ Đếm tế bào dịch não tủy và tìm tế bào blast trong dịch não tủy.

+ Các CD màng tế bào để xếp loại thể bệnh theo dấu ấn miễn dịch.

2.2.3.2. Xác định các biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em.

+ Xác định tỷ lệ một số đột biến dung hợp gen có ý nghĩa trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em. Dựa trên 118 bệnh nhi được thực hiện xét nghiệm multiplex-RT-PCR (kit có khả năng phát hiện 28 đột biến gen). Phát hiện các đột biến gen trong mỗi nhóm bệnh và phân chia các đột biến gen theo chẩn đoán, phân loại dưới nhóm.

+ Xác định các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* trong 72 bệnh nhân BCCDL.

+ Phân tích tần suất các alen và kiểu gen của đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*.

- **Các biến số nghiên cứu**

+ Chỉ số xét nghiệm sinh học phân tử:

Các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* với các kiểu alen, kiểu gen.

Các đột biến dung hợp gen từ kết quả phân tích multiplex-RT-PCR.

2.2.3.3. Khảo sát mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em.

+ Xác định tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp ở trẻ nghiên cứu.

- Tiến hành xác định các tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát trong mỗi nhóm BCCDL và BCCDT.

- Tính xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong mỗi nhóm BCCDL và BCCDT trong thời gian 3 năm.

+ Tìm mối liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị:

- Liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị sau tấn công.

- Tìm mối liên quan giữa các đột biến gen với tình trạng tái phát trong mỗi nhóm bệnh.

- Tìm mối liên quan giữa các đột biến gen với xác suất sống toàn bộ, sống không bệnh trong mỗi nhóm bệnh.

- Tìm hiểu mối liên quan giữa các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* với xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong nhóm BCCDL.

• Biến số nghiên cứu

+ Tỷ lệ đáp ứng sau điều trị tấn công về mặt hình thái học: Lui bệnh hoàn toàn, lui bệnh một phần và không lui bệnh.

+ Đánh giá bệnh tồn lưu tối thiểu (MRD) bằng phương pháp đếm dòng chảy tế bào sau giai đoạn tấn công: chia làm hai mức: $MRD < 10^{-4}$, $MRD \geq 10^{-4}$.

+ Tỷ lệ tử vong trong giai đoạn tấn công.

+ Tỷ lệ tái phát sau điều trị: Đánh giá tái phát sau khi bệnh nhi đạt lui bệnh. Ghi nhận các biến cố: tái phát tủy xương (có/không), tái phát hệ thần kinh trung ương (có/không), tái phát tủy phổi hợp hệ thần kinh trung ương (có/không), tái phát hệ thần kinh trung ương (có/không).

+ Xác suất sống toàn bộ (OS) và thời gian sống không bệnh (EFS): tính đến thời điểm bệnh nhân tử vong hoặc đến thời điểm kết thúc nghiên cứu tháng 5/2022.

Bảng 2.1. Các biến số nghiên cứu

STT	Tên biến số	Loại biến	Giá trị biến
1	Tuổi	Định lượng	Tính theo tháng tuổi đối với trẻ < 60 tháng, và năm tuổi đối với trẻ ≥ 60 tháng.
2	Giới tính	Nhị phân	Nam, nữ.
3	Gan lớn	Nhị phân	Có, không
4	Lách lớn	Nhị phân	Có, không
5	Hạch lớn	Nhị phân	Có, không
6	Sốt	Nhị phân	Có, không
7	Đau nhức xương	Nhị phân	Có, không
8	Thâm nhiễm tinh hoàn	Nhị phân	Có, không
9	Thâm nhiễm TKTW theo dịch não tủy	Nhị phân	Có, không
10	Phân độ thâm nhiễm TKTW theo dịch não tủy	Định danh	Thâm nhiễm TKTW độ 1 Thâm nhiễm TKTW độ 2 Thâm nhiễm TKTW độ 3
11	Phì đại nước	Nhị phân	Có, không
12	Sản lỵ	Nhị phân	Có, không
13	Đau bụng	Nhị phân	Có, không
14	Ho	Nhị phân	Có, không
15	Thiếu máu	Nhị phân	Có, không
16	Xuất huyết	Nhị phân	Có, không
17	Số lượng bạch cầu	Định lượng	Đơn vị tính ($\times 10^9/l$)
18	Số lượng bạch cầu hạt	Định lượng	Đơn vị tính ($/\mu l$)
19	Số lượng tiểu cầu	Định lượng	Đơn vị tính ($\times 10^9/l$)
20	Nồng độ hemoglobin	Định lượng	Đơn vị tính (g/dl)
21	Giá trị LDH	Định lượng	Đơn vị tính (u/l)
22	Giá trị CRP	Định lượng	Đơn vị tính (mg/dl)
23	Acid uric	Định lượng	Đơn vị tính ($\mu\text{mol/l}$)
24	SGOT (AST)	Định lượng	Đơn vị tính (UI/l)
25	SGPT (ALT)	Định lượng	Đơn vị tính (UI/l)
26	Creatinine	Định lượng	Đơn vị tính ($\mu\text{mol/l}$)
27	Ure	Định lượng	Đơn vị tính (mmol/l)

STT	Tên biến số	Loại biến	Giá trị biến
28	Số lượng tế bào dịch não tủy	Định lượng	Đơn vị tính (số tế bào).
29	Tế bào blast dịch não tủy	Nhị phân	Có/không
29	Các CD màng tế bào	Nhị phân	Dương tính/ âm tính
30	Tế bào blast máu ngoại vi	Định lượng	Tính theo %
31	Tế bào blast tủy xương	Định lượng	Tính theo %
32	Số lượng tế bào tủy	Định lượng	Đơn vị tính ($\times 10^9/l$)
33	Bệnh tồn dư tối thiểu (MRD)	Định danh	$< 0,01\%$ hay $\geq 0,01\%$
34	Gen <i>NUDT15</i>	Nhị phân	Đa hình/không đa hình
35	Kiểu alen <i>NUDT15</i>	Định danh	<i>NUDT15</i> *1,*2,*3, *5, *6.
36	Kiểu gen <i>NUDT15</i>	Định danh	<i>NUDT15</i> *1/*1: Bình thường. <i>NUDT15</i> *1/*3: Đa hình. <i>NUDT15</i> *1/*6: Đa hình. <i>NUDT15</i> *1/*2: Đa hình. <i>NUDT15</i> *3/*5: Đa hình.
37	Gen <i>TPMT</i>	Định danh	Đa hình/không đa hình
38	Kiểu alen <i>TPMT</i>	Định danh	<i>TPMT</i> *1, *3C
39	Kiểu gen <i>TPMT</i>	Định danh	<i>TPMT</i> *1/*1: Bình thường. <i>TPMT</i> *1/*3C: Đa hình.
40	Các biến đổi gen	Định danh	<i>TEL/AML1</i> , <i>BCR/ABL1</i> , <i>E2A/PBX1</i> , <i>MLL/AF4</i> , <i>SET/NUP214</i> , <i>AML1/ETO</i> , <i>PML/RARA</i> , <i>MLL/AF6</i> , <i>KMT2A/MLLT10</i>
41	Lui bệnh sau tấn công	Định danh	Lui bệnh hoàn toàn, lui bệnh một phần, không lui bệnh.
42	Tỷ lệ tử vong	Nhị phân	Có/không
43	Tái phát	Định danh	Tái phát tủy, tái phát hệ thần kinh trung ương, tái phát tinh hoàn.
44	Thời gian sống toàn bộ	Định lượng	Đơn vị tính (tháng)
45	Thời gian sống không bệnh	Định lượng	Đơn vị tính (tháng)

2.2.4. Xét nghiệm và kỹ thuật nghiên cứu

2.2.4.1. *Huyết tủy đồ*

Huyết đồ: được lấy từ máu ngoại vi.

+ 1 ml máu tĩnh mạch chống đông EDTA K3 để đếm các chỉ số huyết học máu ngoại vi, bằng máy tự động Sysmen 1000, tại Khoa huyết học xét nghiệm, Bệnh viện Trung ương Huế.

+ Kéo hai tiêu bản trên lam, nhuộm giemsa và đọc dưới kính hiển vi quang học, để đọc các dòng tế bào máu, và đánh giá tình trạng hồng cầu non ra máu ngoại vi.

Tủy đồ:

- Dịch hút tủy xương: chọc hút tủy xương ở gai chậu sau hoặc gai chậu trước trên của bệnh nhi.

+ 0,5 ml dịch tủy có chống đông bằng EDTA K3 để làm xét nghiệm huyết tủy đồ, nhuộm hóa học tế bào.

2.2.4.2. *Đếm dòng chảy tế bào*

Sau khi chọc hút tủy xương, sẽ lấy 1ml dịch tủy có chống đông bằng EDTA K3 để làm xếp loại miễn dịch bằng kỹ thuật đếm dòng chảy tế bào. Kỹ thuật này được thực hiện trên máy đếm dòng chảy tế bào BD FACS Canto™, tại Khoa huyết học xét nghiệm, Bệnh viện Trung ương Huế.

Sử dụng phương pháp đếm dòng chảy tế bào, phân tích các CD với 8 màu.

Giai đoạn 1 (chẩn đoán):

- Vòng 1 (sàng lọc): Các mẫu tủy được nhuộm cùng một bộ thuốc thử gồm 19 CD để chẩn đoán sơ bộ và gợi ý dòng của quần thể tế bào non. CD45, CD34, CD3, CD7, CDcy3, MPO, CDcy79a, CD19, CD117. CD13. CD33, CD36, CD71. HLA-DR.

- Vòng 2 (chẩn đoán): Dựa vào gợi ý của vòng 1 để hướng đến dòng nào, tiếp tục thiết kế thêm một số ống để xác định chính xác. CD2, CD5, CD10, CD20, CD22, Tdt, CD1a, CD99. CC38. CD41, CD61, CD11b, CD16, CD56, CD14, CD56, CD14, CD64, CD57, CD66C.

Phương pháp đếm dòng chảy tế bào còn được dùng để đánh giá bệnh tồn dư tối thiểu (MRD). Sử dụng mẫu tủy của bệnh nhân đã qua điều trị. Từ đó sẽ khảo sát dấu ấn miễn dịch của bệnh nhi, đối chiếu với cấu hình miễn dịch giai đoạn 1 (thời điểm chẩn đoán), và dựa trên dấu ấn miễn dịch bất thường, lạc dòng sau khi điều trị, để từ đó tính được bệnh tồn dư tối thiểu. Kỹ thuật này cũng được thực hiện trên máy BD FACS Canto™, tại Khoa huyết học xét nghiệm, Bệnh viện Trung ương Huế.

2.2.4.3. Các xét nghiệm sinh hóa

Lấy 2 ml máu ống serum, hoặc lấy 2ml máu trong ống chống đông bằng heparine để làm các xét nghiệm sinh hóa. Xét nghiệm LDH bằng kỹ thuật động học tử ngoại, SGOT, SGPT bằng kỹ thuật động học enzyme, ure bằng kỹ thuật động học, creatinine bằng kỹ thuật động học màu trên máy AU5800, tại khoa sinh hóa, Bệnh viện Trung ương Huế.

2.2.4.4. Xét nghiệm gen

Kỹ thuật đánh giá các dung hợp gen bằng phương pháp multiplex- RT-PCR với kit sử dụng HemaVision 28N. Đây là một kit có độ nhạy (>99%) và độ đặc hiệu (>99%) [91],[160]. Xét nghiệm được thực hiện tại phòng sinh học phân tử, trung tâm Huyết học Truyền máu, Bệnh viện Trung ương Huế.

Kít sử dụng: Sử dụng bộ kít HemaVision Full Kit (DNA Technology A/S, Đan Mạch). Và kít tách chiết QIAamp®RNA blood- Qiagene.

Bệnh phẩm: Lấy 4ml máu tĩnh mạch ngoại vi, sử dụng chất chống đông EDTA, citrate.

Nguyên lý:

- Tách chiết RNA.
- Tổng hợp cDNA.
- Multiplex PCR: hai phản ứng multiplex (Master PCR-1 và Master PCR-2 được thực hiện nối tiếp nhau).
- Đánh giá kết quả dựa vào các band DNA tương ứng với các chuyển đoạn.
- Xác định các biến thể gen: Split-out PCR: dựa vào kết quả chuyển đoạn

từ hai phản ứng multiplex-PCR để thực hiện các phản ứng Split-out PCR phù hợp. (Split-out PCR 1, 2 nối tiếp nhau).

Khi một mẫu được xét nghiệm dương tính với sự chuyển đoạn trong Master PCR-II, sự chuyển đoạn và điểm đứt gãy trong gen tổng hợp có thể được xác định bằng cách kiểm tra cDNA còn lại trong phản ứng Split-out PCR.

Chuẩn bị Split-out Mix PCR-1 bằng thuốc thử HemaVision Cat. No.HV06-RMP. Trộn và spin down trong 10 giây.

- Đánh giá kết quả theo hướng dẫn protocol. Kít HemaVision sẽ phát hiện 28 chuyển đoạn như sau:

Chuyển đoạn	Dung hợp gen	Chuyển đoạn	Dung hợp gen
Del1(p32)	<i>STIL/TAL1</i>	t(9;12)(q34;p13)	<i>ETV6/ABL1</i>
t(1;11)(p32;q23)	<i>KMT2A/EP35</i>	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR/ABL1</i>
t(1;11)(q21;q23)	<i>KMT2A/MLLT11</i>	t(10;11)(p12;q23)	<i>KMT2A/MLLT10</i>
t(1;19)(q23;p13)	<i>TCF3/PBX1</i>	t(11;17)(q23;q21)	<i>KMT2A/MLLT6</i>
t(3;5)(q25;q34)	<i>NPM1/MLF1</i>	t(11;17)(q23;q21)	<i>ZBTB16/RARA</i>
t(3;21)(q25;q34)	<i>RUNX1/MECOM</i>	t(11;19)(q23;p13.1)	<i>KMT2A/ELL</i>
t(4;11)(q21;q23)	<i>KMT2A/AFF1-MLL/AF4</i>	t(11;19)(q23;p13.3)	<i>KMT2A/MLLT1</i>
t(5;12)(q33;p13)	<i>ETV6/PDGFRB</i>	t(12;21)(p13;q22)	<i>ETV6/RUNX1-TEL/AML1</i>
t(5;17)(q35;q21)	<i>NPM1/RARA</i>	t(12;22)(p13;q11)	<i>ETV6/MN1</i>
t(6;9)(q23;q34)	<i>DEK/NUP214</i>	t(15;17)(q24;q21)	<i>PML/RARA</i>
t(6;11)(q27;q23)	<i>KMT2A/AFDN-MLL/AF6</i>	inv(16)(p13;q22)	<i>CBFB/MYH11</i>
t(8;21)(q22;q23)	<i>RUNX1/RUNX1T1-AML1/ETO</i>	t(16;21)(p11;q22)	<i>FUS/ERG</i>
t(9;9)(q34;q34)	<i>SET/NUP214</i>	t(17;19)(q22;p13)	<i>TCF3/HLF</i>
t(9;11)(p22;q23)	<i>KMT2A/MLLT3</i>	t(X;11)(q13;q23)	<i>KMT2A/FOXO4</i>

Chi tiết quy trình kèm ở phần phụ lục.

2.2.4.5. Xét nghiệm đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*

Bệnh phẩm: Lấy 5 ml máu ngoại biên của bệnh nhân, chống đông bằng EDTA. Loại bỏ huyết tương, sau đó nhỏ toàn bộ lượng máu lên 2 thẻ FTA. Để cho thẻ khô hoàn toàn, sau đó gửi thẻ đến Phòng xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Quốc gia Singapore để tiến hành làm xét nghiệm.

Phương pháp:

- Tại Singapore, từ các thẻ FTA, sẽ được ly trích DNA, làm real-time PCR đặc hiệu cho từng alen, hoặc bằng kỹ thuật giải trình tự bằng phương pháp Sanger.

Bảng 2.2. Mô tả các alen và phương pháp

Gen	Các biến thể gen	Phương pháp
<i>TPMT</i>	<i>TPMT</i> *3B rs1800460 c.460G>A	Real time PCR
<i>TPMT</i>	<i>TPMT</i> *3C rs1142345 c.719A>G	Real time PCR
<i>TPMT</i>	<i>TPMT</i> *6 rs75543815 c.539A>T	Real time PCR
<i>NUDT15</i>	rs746071566 c.38_43GAGTCG	Giải trình tự gen
<i>NUDT15</i>	rs186364861 c.52G>A	Giải trình tự gen
<i>NUDT15</i>	rs116855232 c.415C>T	Real time PCR

Đọc kết quả

Các kết quả giải trình tự được trích xuất dưới dạng file đuôi seq và abi. Kết quả sẽ được đọc trên phần mềm bioedit 7.2, được so sánh với trình tự tham chiếu genbank.

2.2.5. Các tiêu chuẩn xếp loại và đánh giá đáp ứng

Các triệu chứng lâm sàng được thăm khám và nhận định bởi các bác sĩ khoa nhi UB-HH-GT, Trung tâm Nhi, Bệnh viện Trung ương Huế.

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDL trẻ em: Theo NCCN 2.2020 [29]:

- Tế bào non ác tính trong tủy xương $\geq 20\%$.
- Hình thái học tế bào được đánh giá dựa trên nhuộm giemsa lam tế bào chọc hút tủy xương hoặc nhuộm mô học mẫu sinh thiết lõi.
- Miễn dịch tế bào với phương pháp đếm dòng chảy tế bào cho thấy các dấu ấn miễn dịch phù hợp với BCCDL.

- **Tiêu chuẩn chẩn đoán dựa trên các CD màng tế bào** [86]:

Dòng tế bào B: CD19 dương tính mạnh với ≥ 1 chỉ điểm dương tính mạnh với: CD79a, CD22, CD10 hoặc CD19 yếu với ≥ 2 chỉ điểm dương tính mạnh như: CD79a, CD22, CD10.

Dòng tế bào T: CD3 dương tính và tối thiểu một trong các chỉ điểm như CD2, 5, 7, hoặc 8.

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDT trẻ em, cũng tương tự như tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDL trẻ em ở trên [65]:

- Tế bào non ác tính trong tủy xương $\geq 20\%$.
- Hình thái học tế bào được đánh giá dựa trên nhuộm giemsa lam tế bào chọc hút tủy xương hoặc nhuộm mô học mẫu sinh thiết lõi.
- Miễn dịch tế bào với phương pháp đếm dòng chảy tế bào cho thấy các dấu ấn miễn dịch phù hợp với BCCDT: MPO, CD13, CD33, CD117, $\pm$ CD14, CD15.

Tiêu chuẩn chẩn đoán men gan tăng: ALT (SGPT) ngưỡng bình thường: 29-38 U/L, nếu ALT (SGPT) > 38 U/L được gọi là tăng. AST (SGOT) ngưỡng bình thường: 24-32 U/L, nếu AST (SGOT) > 32 U/L được gọi là tăng [31].

Tiêu chuẩn chẩn đoán LDH tăng: Theo ngưỡng tại phòng xét nghiệm sinh hóa Bệnh viện Trung ương Huế: ngưỡng bình thường từ 135-222 u/l, tăng nếu giá trị LDH > 222 u/l.

Tiêu chuẩn chẩn đoán acid uric tăng: Theo ngưỡng tại phòng xét nghiệm sinh hóa Bệnh viện Trung ương Huế: ngưỡng bình thường từ 0-422 $\mu\text{mol/l}$, tăng nếu giá trị acid uric > 422 $\mu\text{mol/l}$.

Tiêu chuẩn chẩn đoán CRP tăng: Theo ngưỡng tại phòng xét nghiệm sinh hóa Bệnh viện Trung ương Huế: ngưỡng bình thường từ 0-8 mg/l, tăng nếu

giá trị CRP > 8 mg/l.

Tiêu chuẩn phân chia nhóm nguy cơ theo biến đổi gen bệnh bạch cầu cấp

Bảng 2.3. Chia nhóm nguy cơ theo biến đổi gen BCCDL theo kết quả kit HemaVision 28N [71]

Tiêu lượng	Đột biến gen
Tốt	- t(8;21)(q22;q23), <i>RUNX1/RUNX1T1- AML1/ETO</i>
Xấu	- t(9;22)(q34;q11), <i>BCR/ABL1</i> . - t(17;19)(q22;p13), <i>TCF3/HLF</i> - <i>BCR-ABL1</i> -like (Ph-like). - <i>ETV6/RUNX1</i> -like. - t(4;11)(q21;q23), <i>KMT2A/AFF1- MLL/AF4</i> - Tái sắp xếp <i>KMT2A</i> với t(v;11q23.3).
Trung bình	- Các đột biến gen không thuộc hai nhóm trên (trong đó có các dung hợp gen như - t(1;19)(q23;p13), <i>TCF3/PBX1</i> - t(9;9)(q34;q34), <i>SET/NUP214</i>

Bảng 2.4. Chia nhóm nguy cơ theo biến đổi gen BCCDT [139]

Tiêu lượng	Đột biến gen
Tốt	- t(15;17)(q24;q21), <i>PML/RARA</i> - t(8;21)(q22;q23), <i>AML1/ETO</i> - inv(16)(p13;q22), hoặc t(16;16)(p13;q22), <i>CBFβ/MYH11</i> - t(1;11)(q21;q23), <i>KMT2A/MLLT11</i>
Xấu	- t(6;11)(q27;q23), <i>KMT2A/AFDN- MLL/AF6</i> . - t(9;11)(p22;q23), <i>KMT2A/MLLT3</i> . - t(6;9)(q23;q34), <i>DEK/NUP214</i> . - t(9;22)(q34;q11), <i>BCR/ABL1</i> - t(4;11)(q21;q23), <i>KMT2A/AFF1- MLL/AF4</i> - t(10;11)(p12;q23), <i>KMT2A/MLLT10</i> - t(5;11)(q35;p13), <i>NUP98/NSD1</i> - t(7;12)(q36;p13), <i>ETV6 (TEL); HLXB9 (MNX1)</i>

Trung bình	- Bất thường khác không được liệt vào tiên lượng tốt, tiên lượng xấu và không có đột biến ở mức độ phân tử.
------------	---

Tiêu chuẩn chẩn đoán BCCDL nguy cơ cao và nguy cơ thường trong nghiên cứu của chúng tôi dựa vào tiêu chuẩn của Viện Ung Thư Quốc Gia Hoa Kỳ (NCI), và chúng tôi có điều chỉnh lại cho phù hợp với tình hình hiện tại, chúng tôi chưa có phác đồ riêng cho trẻ dưới 1 tuổi [65]

Nguy cơ thường: tuổi >1 đến < 10 tuổi và SLBC ban đầu < 50x10⁹/l.

Nguy cơ cao: tuổi <1 hoặc ≥ 10 tuổi hoặc SLBC ban đầu ≥ 50x10⁹/l.

Tiêu chuẩn chẩn đoán thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương [29]

Thâm nhiễm TKTW độ 1: dịch não tủy không có blast.

Thâm nhiễm TKTW độ 2: dịch não tủy có < 5 bạch cầu/ μL và blast (+).

Thâm nhiễm TKTW độ 3: dịch não tủy có ≥ 5 bạch cầu/ μL và blast (+).

Tiêu chuẩn chẩn đoán thâm nhiễm tinh hoàn tại thời điểm chẩn đoán [114]

Tinh hoàn tăng kích thước, căng phồng bất thường, và/hoặc sờ thấy một khối chắc, cố định ở tinh hoàn.

Siêu âm màu cho thấy tinh hoàn lớn một hoặc hai bên, với tín hiệu giảm âm khuếch tán hoặc khu trú, và siêu âm mạch máu cho thấy tăng dòng chảy tưới máu ở vùng tổn thương liên quan đến thâm nhiễm tinh hoàn.

Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-MP theo đa hình gen *NUDT15* và hướng dẫn liều sử dụng [143]

Bảng 2.5. Điều chỉnh liều 6-MP theo kiểu gen *NUDT15*

Kiểu gen <i>NUDT15</i>	Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP	Liều lượng mercaptopurine khuyến cáo sử dụng
*1/*1	Bình thường	- Khởi đầu liều bình thường, 75mg/m ² /ngày và điều chỉnh liều nếu có biểu hiện suy tủy, nhưng không cần chú trọng đặc biệt đến mercaptopurine so với các thuốc khác. Cần tối thiểu 2 tuần để đạt được mức liều ổn định sau mỗi lần điều chỉnh.
*1/*2, *1/*3	Chuyển hóa trung gian	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường), và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn

		định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
*2/*5, *3/*6, *3/*5	Có khả năng chuyển hóa trung gian	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường), và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
*2/*2, *2/*3, *3/*3	Khả năng chuyển hóa kém	-Khởi đầu với liều thấp, 10mg/m ² /ngày và điều chỉnh dựa vào tình trạng suy tủy. Để cho thời gian 4-6 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh.

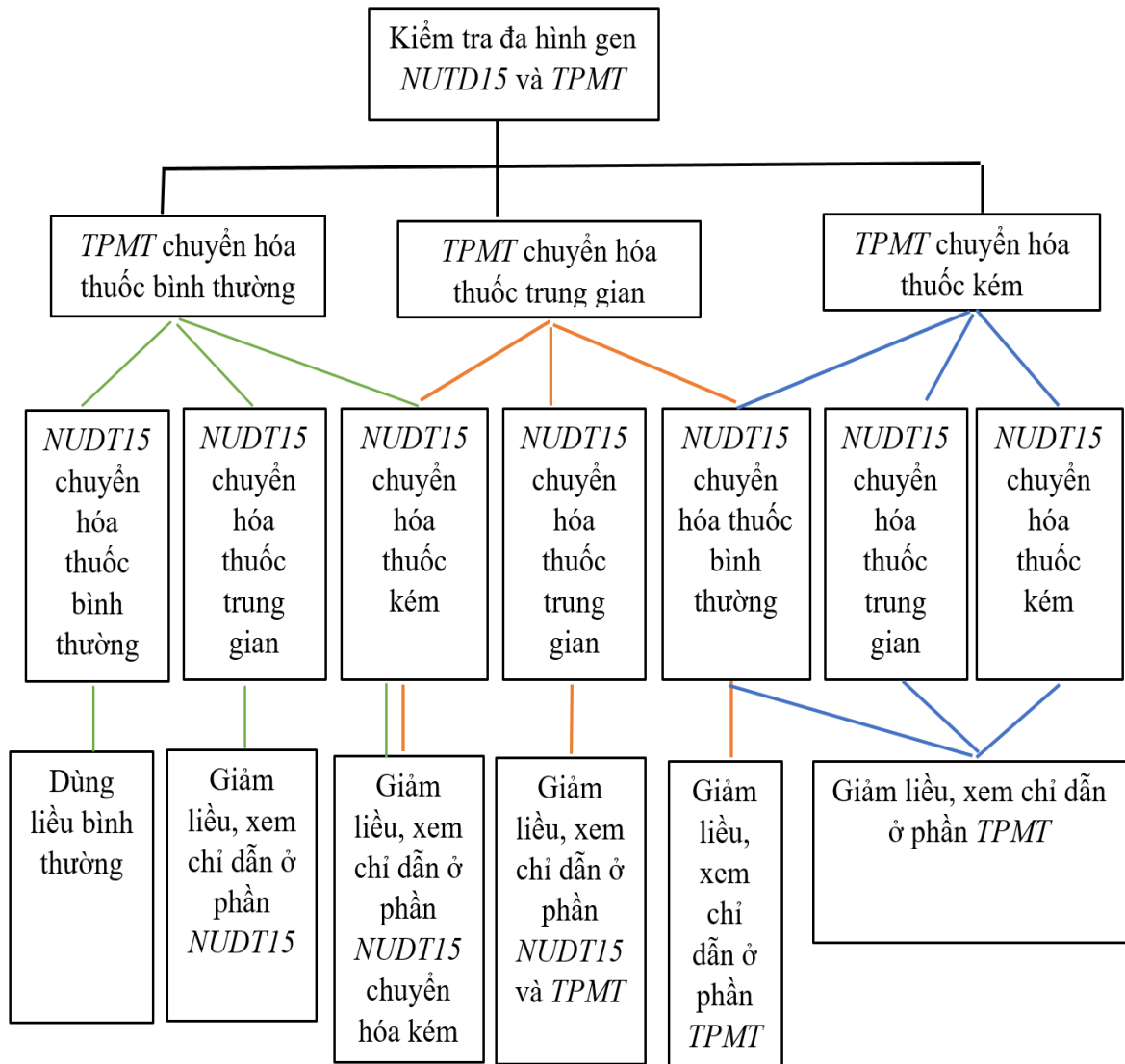
Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-MP theo đa hình gen *TPMT* và hướng dẫn liều sử dụng [143]

Bảng 2.6. Điều chỉnh liều 6-MP theo kiểu gen *TPMT* [143]

Kiểu gen <i>TPMT</i>	Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP	Liều lượng mercaptopurine khuyến cáo sử dụng
*1/*1	Bình thường	-Khởi đầu liều bình thường, 75mg/m ² /ngày và điều chỉnh liều nếu có biểu hiện suy tủy, nhưng không cần chú trọng đặc biệt đến mercaptopurine so với các thuốc khác. Cần tối thiểu 2 tuần để đạt được mức liều ổn định sau mỗi lần điều chỉnh.
*1/*2, *1/*3A, *1/*3B, *1/*3C, *1/*4	Chuyển hóa trung gian	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường), và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
*2/*8, *3A/*7	Có khả năng chuyển hóa trung gian	-Khởi đầu giảm liều (30-80% liều bình thường), và điều chỉnh liều dựa vào mức độ suy tủy. Để cho thời gian từ 2-4 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh liều. -Nếu suy tủy xảy ra, chú ý giảm liều mercaptopurine so với các thuốc khác.
*3A/*3A,	Khả năng	-Khởi đầu với liều thấp, 10mg/m ² /ngày và điều

*2/*3A, *3A/*3C, *3C/*4, *2/*3C, *3A/*4	chuyển hóa kém	chỉnh dựa vào tình trạng suy tủy. Để cho thời gian 4-6 tuần để đạt được mức độ ổn định liều sau mỗi lần hiệu chỉnh.
--	-------------------	---

Hướng dẫn sử dụng liều thuốc 6MP trong những trường hợp bệnh nhân có cả hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* [143]



Sơ đồ 2.1. Hướng dẫn điều chỉnh liều thuốc 6-MP theo đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* [143].

Đánh giá lui bệnh sau tấn công trong bệnh BCC [29]

• Lui bệnh hoàn toàn:

- Số lượng bạch cầu hạt $> 1,5 \times 10^9/l$, số lượng tiểu cầu $> 100.000 \times 10^9/l$.

- Tủy đồ bình thường, có mật độ tế bào trung bình hoặc giảm, < 5% tế bào non ác tính.

- Không tái phát trong vòng 4 tuần.

- Không lui bệnh: tủy đồ còn hiện diện $\geq 20\%$ tế bào non ác tính.
- Lui bệnh một phần: tủy đồ còn hiện diện 5-20% tế bào non ác tính.

Phân loại giá trị MRD sau tấn công trong bệnh BCCDL [34]

- MRD < 10^{-4} : tiên lượng tốt
- MRD $\geq 10^{-4}$: tiên lượng không tốt.

Tiêu chuẩn tái phát bệnh [29]:

• Tái phát tủy: sau khi đạt lui bệnh trên 4 tuần, bệnh nhi xuất hiện thiếu máu, sốt, gan lách hạch to. Chọc tủy có $\geq 20\%$ tế bào non ác tính.

• Tái phát hệ thần kinh trung ương: có hoặc không có đau đầu, buồn nôn. Dịch não tủy cho thấy có trên 5 bạch cầu/mm³, và có tế bào blast, hoặc có các u nội sọ, tổn thương các dây thần kinh sọ.

• Tái phát tinh hoàn: tinh hoàn sưng to, đau, chọc sinh thiết tinh hoàn bằng kim nhỏ cho thấy có tế bào blast.

Thời gian sống còn:

- Thời gian tử vong: tính từ khi bắt đầu điều trị đến khi tử vong.
- Thời gian sống thêm toàn bộ (OS): thời gian từ khi bệnh nhi được chẩn đoán bệnh đến khi bệnh nhân tử vong hay kết thúc nghiên cứu.
- Thời gian sống không bệnh: thời gian từ khi bệnh nhi đạt lui bệnh hoàn toàn đến khi bệnh nhi gặp biến cố (tái phát, tử vong) hay thời điểm kết thúc theo dõi.

2.2.6. Các bước nghiên cứu

Bước 1: Chọn đối tượng đủ tiêu chuẩn đưa vào nghiên cứu.

Bước 2: Thăm khám lâm sàng, làm các xét nghiệm công thức máu, huyết đồ, sinh hóa máu: chức năng gan, thận, acid uric, LDH, CRP.

Bước 3: Chọc tủy đồ và tiến hành làm các xét nghiệm hình thái học, hóa học tế bào và đếm dòng chảy tế bào, để chẩn đoán xác định thể bệnh bạch cầu cấp.

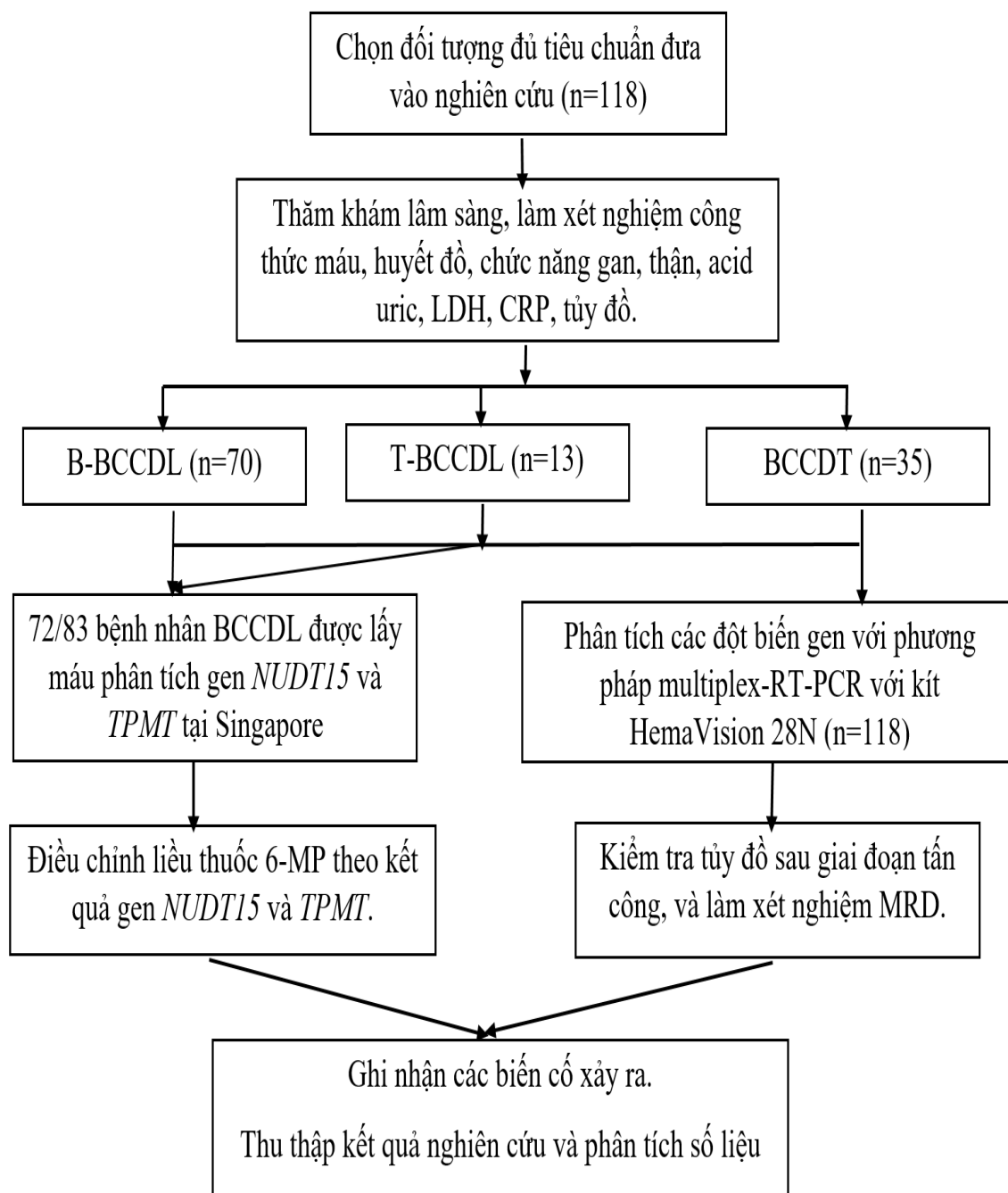
Bước 4: Phân tích đột biến gen với phương pháp multiplex RT-PCR với kit HemaVision 28N.

Bước 5: Chọn 72/83 bệnh nhân BCCDL, tiến hành lấy máu và gửi mẫu máu đến Đại học quốc gia Singapore để phân tích hai gen đa hình *NUDT15* và *TPMT*.

Bước 6: Sau giai đoạn tấn công, tiến hành chọc tủy đồ và làm xét nghiệm MRD.

Bước 7: Đối với các trẻ BCCDL, điều chỉnh liều thuốc dựa vào các biến đổi đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*.

Bước 8: Ghi nhận các biến cố xảy ra trong quá trình điều trị. Thu thập kết quả nghiên cứu và phân tích số liệu.



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ cây nghiên cứu

2.3. PHÂN TÍCH, XỬ LÝ SỐ LIỆU

Nhập và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y học bằng phần mềm SPSS 19 của tập đoàn IBM và phần mềm Microsoft Excel 2013 của tập đoàn Microsoft. Giá trị các biến số được tính làm tròn đến một chữ số sau dấu phẩy.

Các biến định tính như: giới tính, địa phương, đặc điểm lâm sàng được trình bày bằng tần suất, tỷ lệ phần trăm.

Các biến định lượng như tuổi, tỷ lệ bạch cầu non, số lượng bạch cầu, bạch cầu trung tính, tiểu cầu, nồng độ huyết sắc tố, giá trị LDH.. Nếu phân phối là chuẩn sẽ được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Đối với phân phối không chuẩn, kết quả được trình bày bằng trung vị và tứ phân vị (giá trị ở vị trí 25% và 75%).

Dùng phương pháp kiểm định T-student để so sánh giá trị trung bình giữa hai nhóm độc lập.

Sử dụng test Anova một chiều để so sánh nhiều hơn hai giá trị trung bình của các nhóm độc lập khi thỏa mãn hai điều kiện: Các nhóm định lượng phân phối theo luật chuẩn, và có sự đồng nhất phương sai của các nhóm.

Đối với phân phối không chuẩn: trường hợp hai biến dùng test: Mann Whitney test, và nhiều hơn hai biến, dùng test: Kruskal- Wallis test.

So sánh sự khác biệt của các tỷ lệ bằng phép kiểm định Chi bình phương: giá trị $p < 0,05$ được xem có ý nghĩa thống kê. Đối với các bảng có số liệu < 5 , với số ô lớn hơn 20%, sử dụng phép kiểm Fisher's exact test.

Sử dụng ước tính Kaplan-Meier để phân tích đường cong biểu thị thời gian sống thêm toàn bộ, xác suất sống thêm toàn bộ, sống thêm không sự kiện tại thời điểm 12 tháng, 24 tháng, 36 tháng và cho đến thời điểm kết thúc nghiên cứu. So sánh Log-rank được sử dụng để phân tích mối liên quan giữa các nhóm đột biến gen, các gen đa hình đến xác suất sống thêm toàn bộ, sống thêm không sự kiện.

Trong tất cả các phương pháp kiểm định, đều lấy giá trị $p < 0,05$ là có ý nghĩa thống kê.

2.4. VẤN ĐỀ Y ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện với sự đồng thuận của bố mẹ hoặc người đại diện hợp pháp của bệnh nhân. Nghiên cứu không sử dụng các biện pháp xâm nhập hoặc gây tổn hại sức khỏe của bệnh nhân. Các mẫu xét nghiệm được sử dụng là mẫu máu xét nghiệm thường qui phục vụ cho việc điều trị và theo dõi điều trị. Bên cạnh đó, còn có các xét nghiệm để tìm hiểu sâu hơn

những biến đổi di truyền tế bào và di truyền phân tử, phục vụ cho việc tiên lượng và hướng dẫn điều trị cho bệnh nhân.

Nghiên cứu nhằm nâng cao chất lượng điều trị cho bệnh nhân và đã được sự chấp thuận của hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Trường Đại học Y dược Huế, số H2018/14.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG BỆNH BẠCH CẦU CẤP

3.1.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu

3.1.1.1. Đặc điểm lứa tuổi

Bảng 3.1. Phân bố hai nhóm bệnh theo tuổi

Chẩn đoán Tuổi		BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		P
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
1-9 tuổi	< 1 tuổi	5	6,0	2	5,8	7	5,9	0,03
	1-5 tuổi	48	57,8	11	31,4	59	50,0	
	6- 9 tuổi	18	21,7	10	28,6	28	23,8	
≥ 10 tuổi		12	14,5	12	34,2	24	20,3	
Tổng cộng		83	100,0	35	100,0	118	100,0	-
Tuổi trung bình ± Độ lệch chuẩn		5,2 ± 3,5		7,3 ± 4,9		5,8 ± 4,0		0,003

Nhận xét: Bảng 3.1 cho thấy bệnh bạch cầu cấp gặp ở lứa tuổi 1- 9 tuổi nhiều nhất, với tỷ lệ lần lượt là 79,7% cho nhóm chung BCC, 85,5% cho nhóm BCCDL và 65,8% đối với BCCDT.

Đối với bạch cầu cấp dòng lympho, lứa tuổi từ 1-5 tuổi chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 57,8%. Trái lại, đối với bạch cầu cấp dòng tủy, trẻ ≥ 10 tuổi vẫn có tỷ lệ mắc bệnh cao (34,2%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tuổi và nhóm bệnh ($p < 0,05$).

Tuổi trung bình của nhóm BCCDL thấp hơn nhóm BCCDT ($5,2 \pm 3,5$ tuổi, so với $7,3 \pm 4,9$ tuổi), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

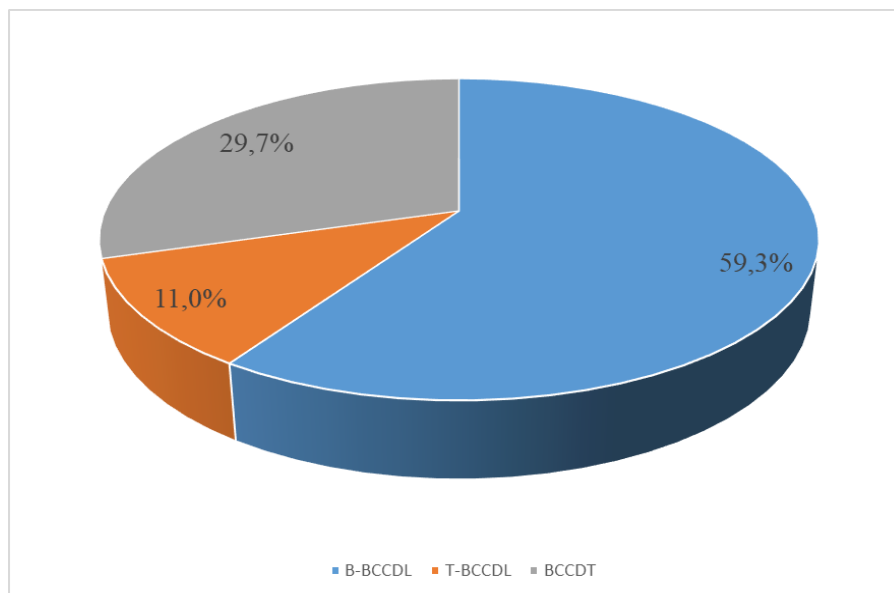
3.1.1.2. Đặc điểm giới tính

Bảng 3.2. Phân bố hai nhóm bệnh theo giới tính

Chẩn đoán Giới tính	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Nam	48	57,8	23	65,7	71	60,2	0,42
Nữ	35	42,2	12	34,3	47	39,8	
Tổng	83	100,0	35	100,0	118	100,0	-

Nhận xét: Tỷ lệ nam/nữ trong nhóm BCCDL và BCCDT lần lượt là 1,37/1 và 1,92/1, và tỷ lệ chung nam/nữ trong nhóm bệnh BCC là 1,51/1. Sự khác biệt về giới giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

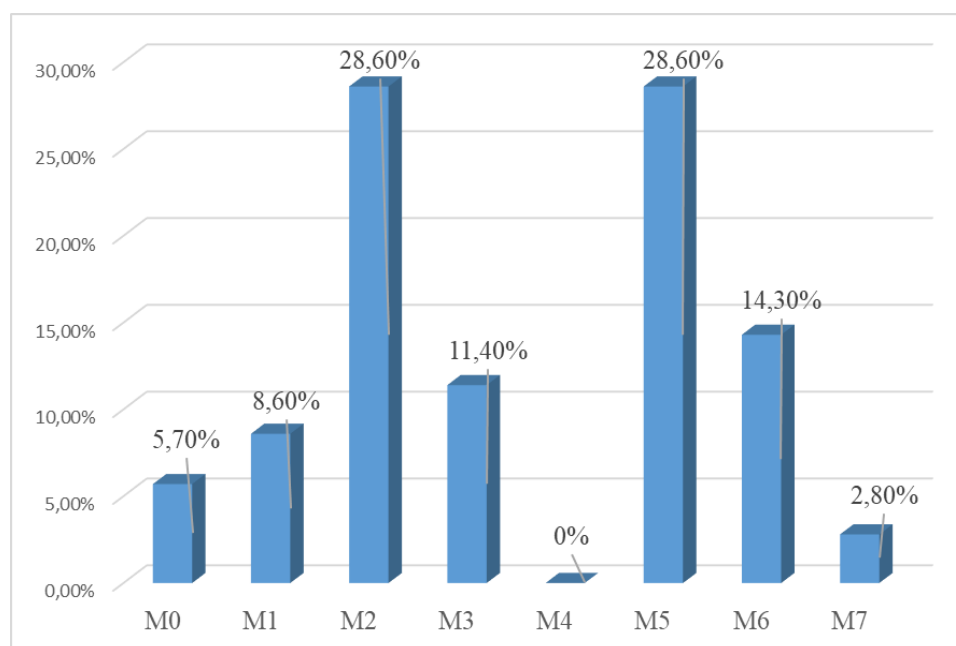
3.1.1.3. Đặc điểm xếp loại thể bệnh theo dấu ấn miễn dịch



Biểu đồ 3.1. Xếp loại thể bệnh theo dấu ấn miễn dịch

Nhận xét: Bạch cầu cấp dòng lympho chiếm tỷ lệ cao nhất 70,3%, so với bạch cầu cấp dòng tủy là 29,7%. Trong tỷ lệ 70,3% của dòng lympho, dòng lympho B chiếm ưu thế, với tỷ lệ 59,3%.

3.1.1.4. Phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy



Biểu đồ 3.2. Phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy

Nhận xét: Trong bệnh BCCDT, nhóm bệnh M2 và M5 chiếm tỷ lệ cao nhất, 28,6% cho mỗi nhóm. Trong nhóm nghiên cứu, chưa gặp bệnh nhân nào nhóm M4.

3.1.1.5. Phân nhóm nguy cơ bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.3. Phân nhóm nguy cơ bệnh bạch cầu cấp dòng lympho

Bạch cầu cấp dòng lympho	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Nguy cơ thường	51	61,4
Nguy cơ cao	32	38,6
Tổng cộng	83	100,0

Nhận xét: Trong bệnh BCCDL, nguy cơ thường chiếm ưu thế hơn so với nguy cơ cao, 61,4% so với 38,6% tương ứng.

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh bạch cầu cấp

3.1.2.1. Triệu chứng khởi phát

Bảng 3.4. Phân bố triệu chứng khởi phát theo nhóm bệnh

Chẩn đoán Triệu chứng	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Sốt	48	57,8	20	57,1	68	57,6	0,94
Da xanh xao	29	34,9	9	25,7	38	32,2	0,32
Xuất huyết	15	18,1	10	28,6	25	21,2	0,20
Nổi hạch	17	20,5	5	14,3	22	18,6	0,43
Đau khớp	17	20,5	1	2,9	18	15,3	0,01
Các triệu chứng khác	16	19,3	10	28,6	26	22,0	0,27

Nhận xét: Triệu chứng khởi phát ở bệnh nhân BCC bao gồm: sốt (57,6%), da xanh xao 32,2%, xuất huyết 21,2%, nổi hạch 18,6%, đau khớp 15,3%. Các lý do này chiếm tỷ lệ khác nhau giữa hai nhóm bệnh BCCDL và BCCDT, nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ngoại trừ triệu chứng đau khớp gặp nhiều hơn ở nhóm bệnh BCCDL so với BCCDT, 20,5% so với 2,9% tương ứng, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.2.2. Thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đến lúc nhập viện

Bảng 3.5. Thời gian xuất hiện triệu chứng đến lúc nhập viện giữa hai nhóm bệnh

Chẩn đoán Thời gian	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
1- 10 ngày	38	45,8	18	51,4	56	47,5	0,57
11 – 20 ngày	13	15,7	7	20,0	20	16,9	
>20 ngày	32	38,5	10	28,6	42	35,6	
Tổng cộng	83	100,0	35	100,0	118	100,0	-
Trung vị	14,0		10,0		14,0		>0,05
Khoảng tứ phân vị	7,0 - 30,0		4,0 - 30,0		6,75 - 30,0		

Nhận xét: 52,5% bệnh nhân BCC có thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên đến lúc nhập viện từ 11 ngày trở lên. Nhóm BCCDL và BCCDT cũng có tỷ lệ tương tự, 54,2% và 48,6% tương ứng.

Trung vị thời gian xuất hiện triệu chứng đầu tiên đến lúc nhập viện của nhóm bệnh bạch cầu cấp là 14 ngày. Trung vị thời gian của nhóm BCCDL và nhóm BCCDT lần lượt là 14,0 và 10,0 ngày. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2.3. Các biểu hiện lâm sàng của bệnh bạch cầu cấp tại thời điểm chẩn đoán

Bảng 3.6. Các biểu hiện lâm sàng thường gặp của bệnh bạch cầu cấp

Chẩn đoán Biểu hiện	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Thiếu máu	70	84,3	33	97,1	103	87,3	0,22
Gan lớn	44	53,0	13	37,1	57	48,3	0,14
Hạch lớn	38	45,8	15	42,9	53	44,9	0,77
Sốt	37	44,6	16	45,7	53	44,9	0,9
Lách lớn	38	45,8	11	31,4	49	41,5	0,15
Xuất huyết	29	34,9	18	51,4	47	39,8	0,09
Đau xương khớp	22	26,5	3	8,6	25	21,2	0,03

Nhận xét: Biểu hiện lâm sàng thường gặp nhất trong bệnh BCC là thiếu máu, gan, hạch lớn, sốt, lách lớn, xuất huyết và đau xương khớp. Biểu hiện đau xương khớp gặp nhiều ở nhóm BCCDL so với nhóm BCCDT, 26,5% và 8,6% tương ứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tỷ lệ mắc các triệu chứng còn lại khác nhau giữa hai nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.7. Các biểu hiện lâm sàng ít gặp trong bệnh bạch cầu cấp

Triệu chứng	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Ho	18	15,3
Sụt cân	9	7,6
Đau bụng	7	5,9
Nghe rales ở phổi	6	5,1
Thở nhanh	4	3,4
Thâm nhiễm tinh hoàn	2/71 trẻ trai	2,8
Tiêu chảy	2	1,7
Phì đại nước	2	1,7
Sản lực	1	0,8
Nôn	1	0,8
Thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương	0	0,0

Nhận xét: Tỷ lệ thâm nhiễm tinh hoàn chiếm tỷ lệ nhỏ 2,8%, và không có trường hợp nào thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương. Biểu hiện phì đại nước gặp ở một bệnh nhân bạch cầu cấp dòng tủy. Một số bệnh nhân vào viện có các biểu hiện sụt cân, ho, tổn thương phổi hay có biểu hiện đau bụng.

3.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

3.1.3.1. Đặc điểm công thức máu

Bảng 3.8. Phân bố đặc điểm công thức máu theo nhóm bệnh

Chẩn đoán Công thức máu	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Số lượng bạch cầu (x10 ⁹ /l)							
< 10	36	43,4	14	40,0	50	42,4	0,68
10 - < 50	22	26,5	12	34,3	34	28,8	
≥ 50	25	30,1	9	25,7	34	28,8	
Số lượng bạch cầu trung tính (/μl)							
< 500	39	47,0	12	34,3	51	43,2	0,2
≥500	44	53,0	23	65,7	67	56,8	
Nồng độ hemoglobin (g/dl)							
< 7,0	26	31,3	9	25,7	35	29,7	0,30
7,0 - 11,0	49	59,0	25	71,4	74	62,7	
>11,0	8	9,7	1	2,9	9	7,6	
Số lượng tiểu cầu (x10 ⁹ /l)							
< 20	18	21,7	11	31,4	29	24,6	0,49
20 - <100	43	51,8	17	48,6	60	50,8	
≥ 100	22	26,5	7	20,0	29	24,6	
Tổng cộng	83	100,0	35	100,0	118	100,0	

Nhận xét: Đối với BCC, có 28,8% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$, trong đó có 43,2% bệnh nhân có số lượng bạch cầu trung tính < $500/\mu l$. Nồng độ Hb trong khoảng 7-11 g/dl chiếm tỷ lệ cao nhất, 62,7%. Tiểu cầu < $20 \times 10^9/l$ chiếm tỷ lệ 24,6%.

Tỷ lệ các mức số lượng bạch cầu, bạch cầu trung tính, nồng độ Hb cũng như số lượng tiểu cầu giữa hai nhóm bệnh khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.3.2. Tỷ lệ tế bào non ác tính trong máu ngoại vi

Bảng 3.9. Tỷ lệ tế bào non ác tính trong máu ngoại vi theo nhóm bệnh

Chẩn đoán Tỷ lệ tế bào non ác tính	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Không có	15	18,1	9	25,7	24	20,3	0,25
1 - <25	22	26,5	13	37,2	35	29,7	
25 - 50	21	25,3	4	11,4	25	21,2	
>50	25	30,1	9	25,7	34	28,8	
Tổng cộng	83	100,0	35	100,0	118	100,0	

Nhận xét: Có 20,3% bệnh nhân BCC không có sự hiện diện tế bào non ác tính trong máu ngoại vi, 29,7% bệnh nhân có tỷ lệ tế bào non ác tính từ 1-<25%, 21,2% bệnh nhân có tỷ lệ tế bào non ác tính máu ngoại vi từ 25-50% và 28,8% bệnh nhân có tỷ lệ tế bào non ác tính trong máu ngoại vi > 50%.

Sự khác biệt về tỷ lệ phân bố tế bào non ác tính máu ngoại vi giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

3.1.3.3. Đặc điểm tủy đồ trong bạch cầu cấp

Bảng 3.10. Đặc điểm tủy đồ theo nhóm bệnh

Chẩn đoán Tủy đồ	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Tỷ lệ tế bào non ác tính (%)							
20 - < 50	17	20,5	24	68,6	41	34,7	0,001
≥ 50	66	79,5	11	31,4	77	65,3	
Số lượng tế bào tủy (x10 ⁹ /l)							
< 30	4	4,8	1	2,9	5	4,2	0,72
30 - 100	48	57,8	23	65,7	71	60,2	
>100	31	37,4	11	31,4	42	35,6	
Tổng cộng	83	100,0	35	100,0	118	100,0	
Trung vị	100,0		60,0		100,0		0,08
25 th – 75 th	69,2 – 150,0		40,0 – 132,2		54,5 – 150,0		

Nhận xét: 65,3% bệnh nhân BCC có số lượng tế bào non ác tính trong tủy đồ $\geq 50\%$, và 34,7% bệnh nhân có số lượng tế bào non ác tính từ 20 - <50%.

Đối với BCCDL có đến 79,5% bệnh nhân có số lượng tế bào non ác tính trong tủy $\geq 50\%$, trong khi tỷ lệ này chỉ có 31,4% ở nhóm BCCDT. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trong nhóm BCC, có 35,6% bệnh nhân có số lượng tế bào tủy $> 100 \times 10^9/l$, 4,2% có số lượng tế bào tủy $< 30 \times 10^9/l$ và 60,2% bệnh nhân có số lượng tế bào tủy trong khoảng $30-100 \times 10^9/l$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng tế bào tủy giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT ($p > 0,05$).

Giá trị trung vị tế bào tủy của nhóm BCC, BCCDL và BCCDT lần lượt là $100,0 \times 10^9/l$, $100,0 \times 10^9/l$ và $60,0 \times 10^9/l$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm BCCDL và BCCDT ($p > 0,05$).

3.1.3.4. Các đặc điểm sinh hóa trong bệnh bạch cầu cấp

Các xét nghiệm sinh hóa, có một số bệnh nhân không được làm đầy đủ các xét nghiệm. Đối với xét nghiệm LDH, acid uric, có 113 bệnh nhân được làm xét nghiệm. Đối với xét nghiệm CRP, có 100 bệnh nhân được làm xét nghiệm và đối với xét nghiệm men gan, có 115 bệnh nhân được làm.

Bảng 3.11. Các đặc điểm sinh hóa theo nhóm bệnh

Chẩn đoán Xét nghiệm	BCCDL (n=83)		BCCDT (n=35)		Tổng cộng		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Giá trị LDH (u/l) (n=113)							
135 - 222	9	11,4	3	8,8	12	10,6	1,0*
>222	70	88,6	31	91,2	101	89,4	
Nồng độ acid uric (μmol/l) (n=113)							
0-422	63	79,7	31	91,2	94	83,2	0,14
> 422	16	20,3	3	8,8	19	16,8	
Men gan (n=115)							
Bình thường	48	60,0	26	74,3	74	64,3	0,14
Tăng	32	40,0	9	25,7	41	35,7	
Chức năng thận (n=117)							
Bình thường	81	98,8	35	0	116	99,1	1,0
Suy thận	1	1,2	0	100	1	0,9	
Giá trị CRP (mg/dl) (n=100)							
0 - 8	51	72,9	24	80,0	75	75,0	0,45
>8	19	27,1	6	20,0	25	25,0	

*: Kiểm định Fisher's exact test.

Nhận xét: 113 bệnh nhân có làm xét nghiệm LDH, trong đó có đến 89,4% bệnh nhân tăng LDH.

Có 113 bệnh nhân làm xét nghiệm acid uric, và tỷ lệ tăng acid uric máu là 16,8%.

Xét nghiệm men gan được làm trên 115 bệnh nhân, tỷ lệ men gan tăng là 35,7%. Chức năng thận được đánh giá trên 117 bệnh nhân, với tỷ lệ suy thận thấp 0,9%. Giá trị CRP được định lượng trong 100 bệnh nhân, và có đến 25% bệnh nhân có biểu hiện tăng CRP.

3.2. XÁC ĐỊNH CÁC BIẾN ĐỔI GEN TRONG BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

3.2.1. Các biến đổi gen trong bạch cầu cấp dòng lympho

3.2.1.1. Các biến đổi gen thường gặp trong bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.12. Các biến đổi gen thường gặp trong bệnh BCCDL

Dung hợp gen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>TEL/AML1</i> - t(12;21)(p13;q22)	10	12,1
<i>BCR/ABL</i> - t(9;22)(q34;q11)	4	4,8
<i>E2A/PBX1</i> – t(1;19)(q23;p13)	3	3,6
<i>MLL/AF4</i> - t(4;11)(q21;q23)	2	2,4
<i>SET/NUP214</i> - t(9;9)(p34;q34)	1	1,2
Không biểu hiện	63	75,9
Tổng cộng	83	100,0

Nhận xét: Qua khảo sát gen trên 83 bệnh nhân BCCDL, có 10 bệnh nhân có dung hợp gen *TEL/AML1* (12,1%), 4 bệnh nhân có dung hợp gen *BCR/ABL1* (4,8%), 3 bệnh nhân có dung hợp gen *E2A/PBX1* (3,6%), 2 bệnh nhân có dung hợp gen *MLL/AF4* (2,4%) và 1 bệnh nhân có dung hợp gen *SET/NUP214* (1,2%).

3.2.1.2. Các biến đổi gen theo phân nhóm nguy cơ bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.13. Các biến đổi gen theo phân nhóm nguy cơ BCCDL

Phân nhóm Dung hợp gen	Nguy cơ thường (n=51)		Nguy cơ cao (n=32)		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<i>TEL/AML1</i> - t(12;21)(p13;q22)	8	15,7	2	6,3	0,2
<i>BCR/ABL1</i> - t(9;22)(q34;q11)	1	1,9	3	9,4	
<i>E2A/PBX1</i> – t(1;19)(q23;p13)	2	3,9	1	3,1	
<i>MLL/AF4</i> - t(4;11)(q21;q23)	2	3,9	0	0,0	
<i>SET/NUP214</i> - t(9;9)(p34;q34)	0	0,0	1	3,1	
Không biểu hiện	38	74,6	25	78,1	
Tổng cộng	51	100,0	32	100,0	

Nhận xét: Dung hợp gen *TEL/AML1* gặp tỷ lệ 15,7% ở nhóm nguy cơ thường, 6,3% ở nhóm nguy cơ cao. Dung hợp gen *BCR/ABL1* gặp 1,9% ở nhóm nguy cơ thường và 9,4% ở nhóm nguy cơ cao. Dung hợp gen *SET/NUP214* không hiện diện ở nguy cơ thường, nhưng gặp 3,1% ở nhóm nguy cơ cao. Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ phân bố dung hợp gen giữa hai nhóm nguy cơ không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

3.2.1.3. Các biến đổi gen theo phân nhóm dấu ấn miễn dịch bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.14. Các biến đổi gen theo phân nhóm dấu ấn miễn dịch BCCDL

Phân nhóm Dung hợp gen	B-BCCDL (n=70)		T-BCCDL (n=13)		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<i>TEL/AML1</i> - t(12;21)(p13;q22)	10	14,3	0	0	0,1
<i>BCR/ABL1</i> - t(9;22)(q34;q11)	4	5,7	0	0	
<i>E2A/PBX1</i> – t(1;19)(q23;p13)	2	2,9	1	7,7	
<i>MLL/AF4</i> - t(4;11)(q21;q23)	2	2,9	0	0,0	
<i>SET/NUP214</i> - t(9;9)(p34;q34)	0	0,0	1	7,7	
Không biểu hiện	52	74,2	11	84,6	
Tổng cộng	70	100,0	13	100,0	

Nhận xét: Đa phần các đột biến gen xảy ra ở nhóm B-BCCDL, ngoài trừ dung hợp gen *SET/NUP214* và *E2A/PBX1*. Sự khác biệt trong phân bố các dung hợp gen trong hai nhóm B-BCCDL và T-BCCDL không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

3.2.1.4. Các biến đổi gen theo phân nhóm tiên lượng bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.15. Phân nhóm tiên lượng BCCDL dựa vào các biến đổi gen

Phân nhóm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Tiên lượng xấu	6	7,2
Tiên lượng trung bình	67	80,7
Tiên lượng tốt	10	12,1
Tổng cộng	83	100,0

Nhận xét: Nhóm tiên lượng tốt chiếm tỷ lệ 12,1%, nhóm tiên lượng xấu chiếm tỷ lệ 7,2% và nhóm tiên lượng trung bình chiếm tỷ lệ 80,7%.

3.2.2. Các biến đổi gen trong bạch cầu cấp dòng tủy

3.2.2.1. Các biến đổi gen thường gặp trong chẩn đoán bệnh bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.16. Các biến đổi gen thường gặp trong bệnh BCCDT

Dung hợp gen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>AML1/ETO</i> – t(8;21)(q22;q22)	5	14,2
<i>AML1/ETO</i> + <i>BCR/ABL1</i>	1	2,9
<i>PML/RARA</i> – t(15;17)(q22; q22)	3	8,6
<i>MLL/AF6</i> - t(6;11)(q27;q23)	2	5,7
<i>KMT2A/MLLT10</i> – t(10;11)(p12;q23)	1	2,9
Không biểu hiện	23	65,7
Tổng cộng	35	100,0

Nhận xét: Trong nhóm BCCDT, dung hợp gen *AML1/ETO* chiếm tỷ lệ cao nhất 14,2%, tiếp đến là dung hợp gen *PML/RARA* 8,6%. Dung hợp gen *MLL/AF6* và dung hợp gen *KMT2A/MLLT10* chiếm tỷ lệ thấp, 5,7% và 2,9% tương ứng cho mỗi dung hợp. Có 65,7% bệnh nhân không phát hiện có biến đổi gen. Và có một điểm đặc biệt trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi, có 1 ca có mang hai dung hợp gen *AML1/ETO* và *BCR/ABL1*, chiếm tỷ lệ 2,9%.

3.2.2.2. Các biến đổi gen theo phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.17. Các biến đổi gen theo phân loại dưới nhóm BCCDT

Phân nhóm Dung hợp gen	Thể bệnh						
	M0	M1	M2	M3	M5	M6	M7
<i>AML1/ETO</i> – t(8;21)(q22;q22)	-	-	4	-	-	1	-
<i>PML/RARA</i> – t(15;17)(q22; q22)	-	-	-	3	-	-	-
<i>MLL/AF6</i> - t(6;11)(q27;q23)	1	-	1	-	-	-	-
<i>AML1/ETO</i> + <i>BCR/ABL1</i>	-	-	1	-	-	-	-
<i>KMT2A/MLLT10</i> – t(10;11)(p12;q23)	-	-	-	-	1	-	-
Không biểu hiện	1	3	4	1	9	4	1
Tổng cộng	2	3	10	4	10	5	1

Nhận xét: Các gen dung hợp có vai trò trong phân loại dưới nhóm BCCDT. Những bệnh nhân có dung hợp gen *PML/RARA* với t(15;17)(q22; q22) được phân nhóm M3. Những bệnh nhân có dung hợp gen *AML1/ETO* – t(8;21)(q22;q22) đa phần thuộc nhóm M2 và những bệnh nhân có *KMT2A/MLLT10* – t(10;11)(p12;q23) thuộc nhóm M5.

3.2.2.3. Phân nhóm tiên lượng bạch cầu cấp dòng tủy theo các biến đổi gen

Bảng 3.18. Phân nhóm tiên lượng BCCDT dựa vào các biến đổi gen

Phân nhóm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Tiên lượng xấu	4	11,4
Tiên lượng trung bình	23	65,7
Tiên lượng tốt	8	22,9
Tổng cộng	35	100,0

Nhận xét: Nhóm tiên lượng tốt chiếm tỷ lệ 22,9%, tiên lượng xấu chiếm tỷ lệ 11,4% và nhóm trung bình chiếm tỷ lệ 65,7%.

3.2.3. Các biến đổi gen được lý học trong quá trình điều trị bạch cầu cấp dòng lympho

3.2.3.1. Biến đổi gen *NUDT15* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.19. Tỷ lệ biến đổi gen *NUDT15*

Gen <i>NUDT15</i>	B-BCCDL		T-BCCDL		BCCDL		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Đa hình	12	20,0	1	8,3	13	18,1	0,68
Không đa hình	48	80,0	11	91,7	59	81,9	
Tổng cộng	60	100,0	12	100	72	100,0	

Nhận xét: Có 72 bệnh nhân BCCDL được làm xét nghiệm *NUDT15*, trong đó có 18,1% bệnh nhân phát hiện đa hình gen *NUDT15*. Tỷ lệ phát hiện đa hình gen *NUDT15* trong hai nhóm B-BCCDL và T-BCCDL lần lượt là 20,0% và 8,3%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3.2. Tần suất alen và kiểu gen *NUDT15* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.20. Tần suất kiểu alen và kiểu gen *NUDT15* trên bệnh nhân BCCDL

Kiểu alen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
*1	130	90,2
*2	1	0,7
*3	9	6,3
*6	3	2,1
*5	1	0,7
Tổng cộng	144	100,0
Kiểu gen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>NUDT15</i> *1/*1	59	81,9
<i>NUDT15</i> 1/*3	8	11,1
<i>NUDT15</i> *1/*6	3	4,2
<i>NUDT15</i> *1/*2	1	1,4
<i>NUDT15</i> *3/*5	1	1,4
Tổng cộng	72	100,0

Nhận xét: Alen *NUDT15* *1 (thuộc nhóm hoang dại) chiếm đa số trong bệnh nhân BCCDL. Xét về tần suất các alen đa hình, trong nghiên cứu cho thấy tỷ lệ alen *NUDT15**3 chiếm tỷ lệ cao nhất, 6,3%, tiếp đến alen *NUDT15* *6 với tỷ lệ 2,1%. Alen *NUDT15**2 và *NUDT15**5 chiếm tỷ lệ thấp nhất 0,7%.

Ngoài kiểu gen *NUDT15**1/*1 (kiểu gen hoang dại) chiếm tỷ lệ ưu thế, chúng tôi còn gặp các đa hình gen *NUDT15*. Trong đó, tỉ lệ kiểu gen *NUDT15**1/*3 chiếm tỷ lệ nhiều nhất 11,1%, tiếp đến tỷ lệ kiểu gen *NUDT15* *1/*6 (4,2%), *NUDT15**1/*2 và *NUDT15**3/*5 có tỷ lệ bằng nhau, 1,4% tương ứng với mỗi kiểu gen.

3.2.3.3. Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine theo đa hình gen *NUDT15*

Bảng 3.21. Phân nhóm chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên đa hình gen *NUDT15*

Chuyển hóa thuốc 6-MP	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Chuyển hóa bình thường	59	81,9
Chuyển hóa trung gian	9	12,5
Có khả năng chuyển hóa trung gian	1	1,4
Không xác định	3	4,2
Tổng cộng	72	100

Nhận xét: Có 81,9% bệnh nhân có chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường, 12,5% bệnh nhân có chuyển hóa thuốc 6-MP trung gian, 1,4% bệnh nhân có khả năng chuyển hóa trung gian và 4,2% bệnh nhân không xác định được khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP.

3.2.3.4. Biến đổi gen *TPMT* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.22. Tỷ lệ đa hình gen *TPMT*

Gen <i>TPMT</i>	B-BCCDL		T-BCCDL		BCCDL		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Đa hình	2	3,3	3	25,0	5	6,9	0,03
Không đa hình	58	96,7	9	75,0	67	93,1	
Tổng cộng	60	100,0	12	100	72	100,0	

Nhận xét: Có 72 bệnh nhân BCCDL được làm xét nghiệm *TPMT*, tỷ lệ đa hình gen *TPMT* là 6,9%. Tỷ lệ đa hình gen *TPMT* gặp nhiều hơn trong nhóm T-BCCDL, với tỷ lệ lần lượt trong hai nhóm B-BCCDL và T-BCCDL là 3,3% và 25,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2.3.5. Tần suất alen và kiểu gen TPMT trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.23. Tần suất kiểu alen và kiểu gen TPMT trên bệnh nhân BCCDL

Kiểu alen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
*1	139	96,5
*3C	5	3,5
Tổng cộng	144	100,0
Kiểu gen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
TPMT*1/*1	67	93,1
TPMT 1/*3C	5	6,9
Tổng cộng	72	100,0

Nhận xét: Alen TPMT *1 chiếm đa số trong bệnh nhân BCCDL (96,5%). Xét về alen đa hình, trong nghiên cứu chỉ gặp một loại alen TPMT *3C, chiếm tỷ lệ 3,5%. Đối với kiểu gen TPMT, trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi chỉ gặp một loại kiểu gen TPMT *1/*3C, chiếm tỷ lệ 6,9%.

3.2.3.6. Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine theo đa hình gen TPMT

Bảng 3.24. Phân nhóm chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên đa hình gen TPMT

Chuyển hóa thuốc 6-MP	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Chuyển hóa bình thường	67	93,1
Chuyển hóa trung gian	5	6,9
Tổng cộng	72	100,0

Nhận xét: Có 93,1% bệnh nhân có khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường, 6,9% bệnh nhân chuyển hóa thuốc 6-MP mức độ trung gian.

3.2.3.7. Biến đổi gen *NUDT15* và *TPMT*

Bảng 3.25. Tỷ lệ biến đổi cả hai gen *NUDT15* và *TPMT*

<i>NUDT15</i> \ <i>TPMT</i>	*1/*1	*1/*3C	p
*1/*1	55	4	0,67
*1/*2	1	0	
*1/*3	7	1	
*1/*6	3	0	
*3/*5	1	0	
Tổng cộng	67	5	

Nhận xét: Trong 72 bệnh nhân được làm xét nghiệm *NUDT15* và *TPMT*, chỉ có 1 bệnh nhân (1,4%) có mang đồng thời đa hình gen *NUDT15* và *TPMP*, với kiểu gen *NUDT15**1/*3 và *TPMT**1/*3C.

3.2.3.8. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*

Bảng 3.26. Chuyển hóa thuốc 6-MP dựa trên các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*

Chuyển hóa thuốc 6-MP	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Chuyển hóa bình thường	55	76,4
Chuyển hóa trung gian dựa trên 1 đa hình gen	12	16,6
Có khả năng chuyển hóa trung gian dựa trên 1 đa hình gen	1	1,4
Chuyển hóa trung gian dựa trên hai đa hình gen	1	1,4
Không xác định	3	4,2
Tổng cộng	72	100

Nhận xét: Có 76,4% bệnh nhân chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường, có 4,2% bệnh nhân chưa xác định được khả năng chuyển hóa. 16,6% bệnh nhân chuyển hóa trung gian thuốc 6-MP dựa trên đa hình 1 gen, 1,4% bệnh nhân có khả năng chuyển hóa trung gian thuốc 6-MP dựa trên đa hình 1 gen và có 1,4% bệnh nhân chuyển hóa trung gian thuốc 6-MP dựa trên hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*.

3.3. KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC BIẾN ĐỔI GEN VỚI KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

3.3.1. Xác định tỷ lệ lui bệnh, tái phát, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp ở trẻ em

3.3.1.1. Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bệnh bạch cầu cấp dòng lympho

- Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.27. Tỷ lệ lui bệnh sau giai đoạn tấn công BCCDL về mặt hình thái học

Nhóm nguy cơ Tình trạng lui bệnh	Nguy cơ thường		Nguy cơ cao		BCCDL		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Lui bệnh hoàn toàn	50	100,0	26	86,7	76	95,0	0,02
Lui bệnh một phần	0	0,0	3	10,0	3	3,8	
Không lui bệnh	0	0,0	1	3,3	1	1,2	
Tổng số	50	100,0	30	100,0	80	100,0	

Nhận xét: Nhóm BCCDL có 83 bệnh nhân, nhưng có 3 bệnh nhân tử vong (3,6%) trong giai đoạn tấn công, được tính vào tỷ lệ tử vong sớm, còn 80 bệnh nhân được đánh giá sau giai đoạn tấn công, kết quả cho thấy 95% bệnh nhân BCCDL lui bệnh dựa theo số lượng tế bào non ác tính < 5% sau tấn công. Tỷ lệ lui bệnh đối với nhóm nguy cơ thường là 100%, trong khi ở nhóm nguy cơ cao là 86,7%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- **Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy**

Bảng 3.28. Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy

Tình trạng tủy sau tấn công	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Lui bệnh hoàn toàn	19	73,1
Lui bệnh một phần	4	15,4
Không lui bệnh	3	11,5
Tổng cộng	26	100,0

Nhận xét: Trong nhóm nghiên cứu có 35 bệnh nhân bị bệnh bạch cầu cấp dòng tủy. Tuy nhiên, 9 bệnh nhân tử vong trong giai đoạn tấn công, chiếm tỷ lệ khá cao (25,7%), được tính vào tỷ lệ tử vong sớm, nên chỉ còn 26 bệnh nhân được đánh giá tủy đồ sau tấn công. Kết quả có 73,1% bệnh nhân đạt lui bệnh, 15,4% bệnh nhân lui bệnh một phần và 11,5% bệnh nhân không lui bệnh.

3.3.1.2. Tỷ lệ tái phát bệnh bạch cầu cấp trẻ em

Nhóm BCCDL có 80 bệnh nhân được đánh giá sau giai đoạn tấn công, có 4 bệnh nhân không lui bệnh, nhưng sau đó điều trị tiếp và đã lui bệnh, có một bệnh nhân tử vong trong giai đoạn củng cố, vì thế, chỉ có 79 bệnh nhân được đánh giá tỷ lệ tái phát. Nhóm BCCDT có 26 bệnh nhân được đánh giá sau giai đoạn tấn công, có 7 bệnh nhân không lui bệnh, nhưng sau đó được tiếp tục điều trị, và chỉ còn 3 bệnh nhân kháng trị, như vậy có 22 bệnh nhân được đánh giá tình trạng tái phát. Do đó, có tất cả 101 bệnh nhân được theo dõi và ghi nhận tái phát.

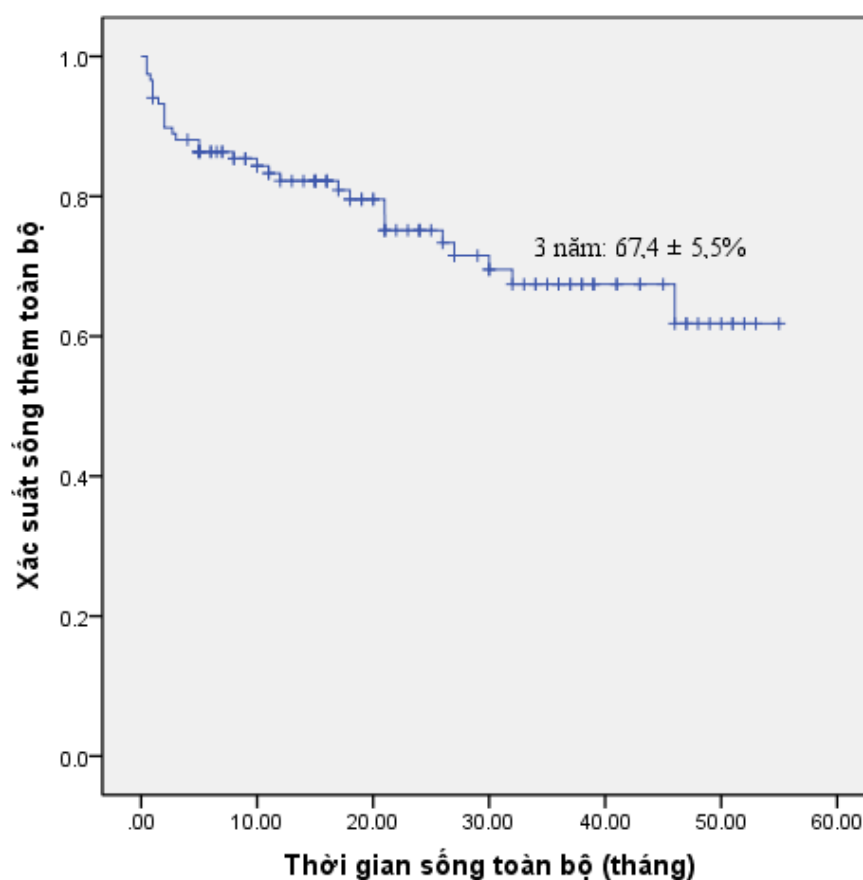
Bảng 3.29. Tỷ lệ tái phát bệnh bạch cầu cấp

Chẩn đoán Loại tái phát	BCCDL		BCCDT		Tổng cộng		P
	n	%	n	%	n	%	
Không tái phát	68	86,0	13	59,1	81	80,1	0,000
Tái phát tủy	4	5,1	8	36,4	12	11,9	
Tái phát hệ thần kinh trung ương	6	7,6	0	0,0	6	6,0	
Tái phát tủy + Hệ thần kinh trung ương	1	1,3	0	0,0	1	1,0	
Tái phát mô mềm	0	0,0	1	4,5	1	1,0	
Tổng cộng	79	100,0	22	100,0	101	100,0	

Nhận xét: Tỷ lệ tái phát chung trong nhóm bệnh bạch cầu cấp là 19,9%, trong đó tái phát tủy chiếm tỷ lệ 11,9%, tái phát hệ thần kinh trung ương là 6,0%, tái phát kết hợp giữa hệ thần kinh trung ương và tủy là 1,0%, và tái phát mô mềm là 1,0%. Có sự khác biệt về tỷ lệ tái phát giữa hai nhóm. Nhóm BCCDT có tỷ lệ tái phát chung cao, 40,9%, so với nhóm BCCDL là 14,0%. BCCDT có tỷ lệ tái phát tủy cao hơn BCCDL, 36,4% so với 5,1%. Nhóm BCCDL có tỷ lệ tái phát hệ thần kinh trung ương cao hơn BCCDT, 7,6% so với 0%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3.1.3. Xác suất sống toàn bộ trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

- Xác suất sống toàn bộ bệnh bạch cầu cấp trẻ em

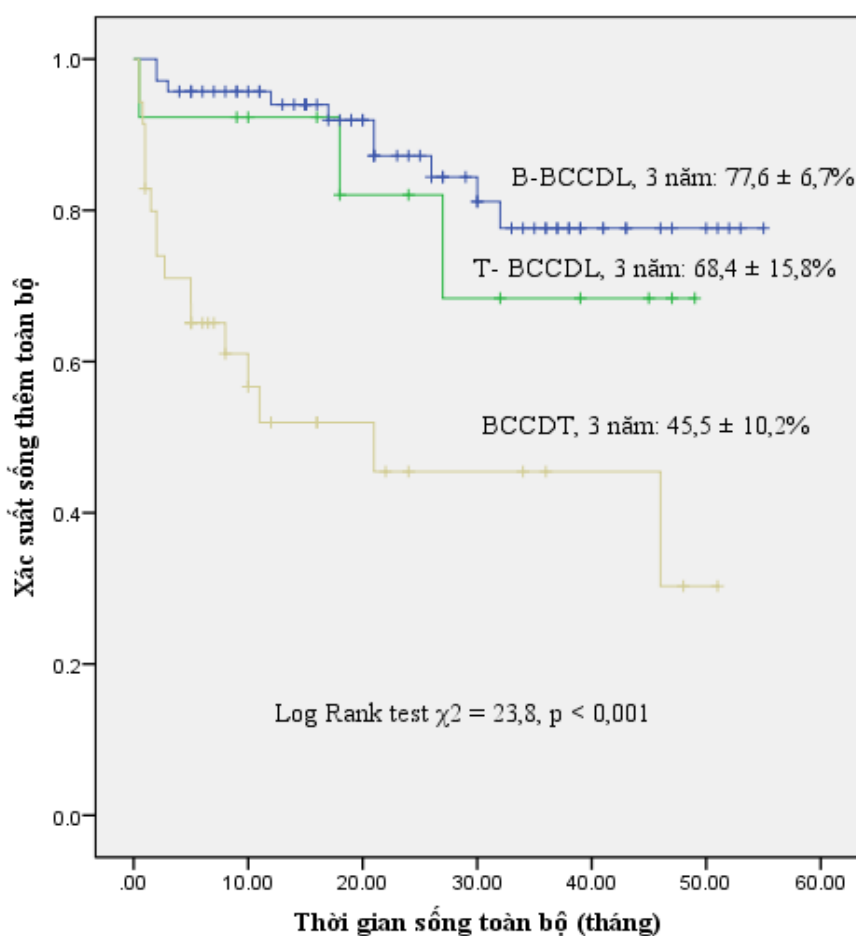


	1 năm	2 năm	3 năm
Xác suất sống	82,2 ± 3,6%	75,1 ± 4,5%	67,4 ± 5,5%

Biểu đồ 3.3. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ bệnh BCC

Nhận xét: Trong tổng số 118 bệnh nhân, có đến 30 bệnh nhân đã tử vong trong thời gian nghiên cứu. Số bệnh nhân còn sống là 88, chiếm tỷ lệ 74,6%. Thời gian sống toàn bộ trung bình trong thời gian theo dõi là $40,8 \pm 2,1$ tháng. Tại thời điểm 1 năm, 2 năm và 3 năm, xác suất sống toàn bộ của bệnh nhân lần lượt là $82,2 \pm 3,6\%$, $75,1 \pm 4,5\%$, và $67,4 \pm 5,5\%$.

- **Xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm bệnh bạch cầu cấp trẻ em**



	1 năm	2 năm	3 năm
B-BCCDL	94,0 ± 2,9%	87,2 ± 4,7%	77,6 ± 6,7%
T-BCCDL	92,3 ± 7,4%	82,1 ± 11,7%	68,4 ± 15,8%
BCCDT	52,0 ± 9,4%	45,5 ± 10,2%	45,5 ± 10,2%

Biểu đồ 3.4. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm BCC

Nhận xét: Thời gian sống còn toàn bộ trung bình của bệnh nhân nhóm B-BCCDL là cao nhất: $47,1 \pm 2,2$ tháng, tiếp đến là nhóm T-BCCDL với thời gian là $39,0 \pm 4,9$ tháng, và thấp nhất là nhóm BCCDT ($25,7 \pm 4,3$ tháng). Vào thời điểm 1 năm, xác suất sống toàn bộ của 3 nhóm bệnh nhân B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT lần lượt là $94,0 \pm 2,9\%$, $92,3 \pm 7,4\%$, và $52,0 \pm 9,4\%$. Vào thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của 3 nhóm bệnh trên lần lượt là: $77,6 \pm 6,7\%$, $68,4 \pm 15,8\%$, và $45,5 \pm 10,2\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

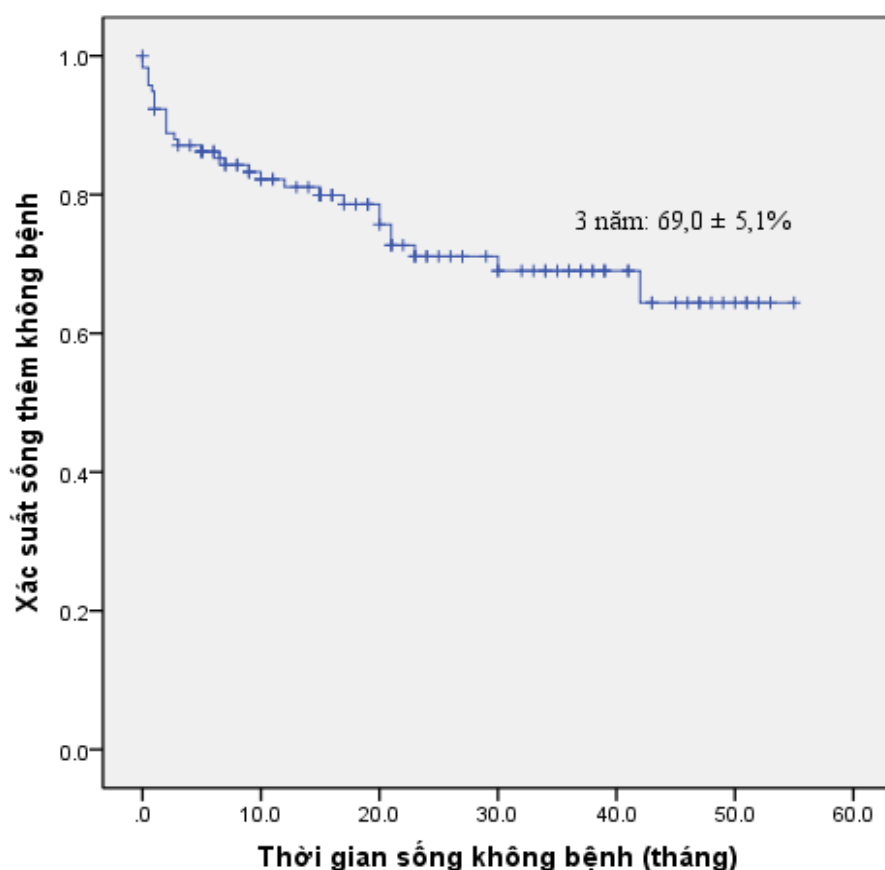
Bảng 3.30. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng thể bệnh bạch cầu cấp

Chẩn đoán	Tổng số	Tử vong	Còn sống	Tỷ lệ sống (%)
B-BCCDL	70	10	60	85,7
T-BCCDL	13	3	10	76,9
BCCDT	35	17	18	51,4
Tổng cộng	118	30	88	74,6

Nhận xét: Bảng 3.31 đã cho thấy được số lượng bệnh nhân tử vong trong từng nhóm bệnh trong thời gian nghiên cứu. Nhóm BCCDT có số lượng tử vong nhiều nhất, tiếp đến là nhóm T-BCCDL, thấp nhất là nhóm B-BCCDL.

3.3.1.4. Xác suất sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

- Xác suất sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

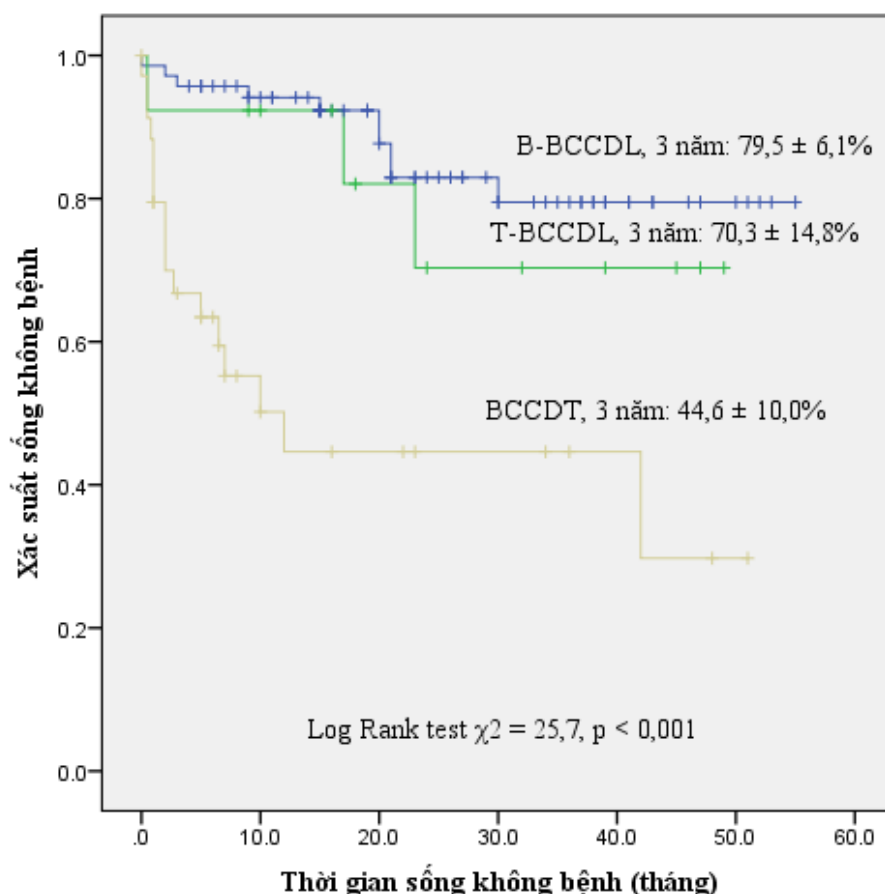


	1 năm	2 năm	3 năm
Xác suất sống	81,1 ± 3,7%	71,1 ± 4,8%	69,0 ± 5,1%

Biểu đồ 3.5. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh BCC

Nhận xét: Thời gian sống không bệnh trung bình của bệnh nhân trong thời gian theo dõi là: $40,6 \pm 2,2$ tháng. Tại thời điểm 1 năm, 2 năm và 30 tháng, xác suất sống không bệnh của bệnh nhân lần lượt là $81,1 \pm 3,7\%$, $71,1 \pm 4,8\%$, và $69,0 \pm 5,1\%$.

- **Xác suất sống không bệnh theo phân nhóm BCC**



	1 năm	2 năm	3 năm
B-BCCDL	$94,1 \pm 2,9\%$	$83,0 \pm 5,3\%$	$79,5 \pm 6,1\%$
T-BCCDL	$92,3 \pm 7,4\%$	$70,3 \pm 14,8\%$	$70,3 \pm 14,8\%$
BCCDT	$44,6 \pm 10,0\%$	$44,6 \pm 10,0\%$	$44,6 \pm 10,0\%$

Biểu đồ 3.6. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm BCC

Nhận xét: Thời gian sống còn không bệnh trung bình của bệnh nhân nhóm B-BCCDL là cao nhất: $47,1 \pm 2,2$ tháng, tiếp đến là nhóm T-BCCDL với thời gian là $38,9 \pm 4,9$ tháng, và thấp nhất là nhóm BCCDT ($23,7 \pm 4,4$

tháng). Tại thời điểm 1 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm bệnh B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT lần lượt là $94,2 \pm 2,9\%$, $92,3 \pm 7,4\%$ và $44,6 \pm 10,0\%$. Tại thời điểm 3 năm, tỷ lệ trên lần lượt là $79,5 \pm 6,1\%$, $70,3 \pm 14,8\%$ và $44,6 \pm 10,0\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

3.3.2. Mối liên quan giữa đột biến gen với tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

3.3.2.1. Liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng lympho

- Đánh giá lui bệnh dựa vào hình thái học

Bảng 3.31. Tỷ lệ lui bệnh BCCDL theo các phân nhóm nguy cơ biến đổi gen

Phân nhóm Lui bệnh	Tiên lượng xấu		Tiên lượng trung bình		Tiên lượng tốt		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Lui bệnh	4	66,6	63	98,4	9	90,0	0,02
Lui bệnh một phần	1	16,7	1	1,6	1	10,0	
Không lui bệnh	1	16,7	0	0,0	0	0,0	
Tổng cộng	6	100,0	64	100,0	10	100,0	

Nhận xét: Tỷ lệ lui bệnh khác nhau giữa các nhóm, trong đó nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ lui bệnh thấp nhất (66,6%), nhóm tiên lượng trung bình là 98,4%, và nhóm tiên lượng thuận lợi có tỷ lệ lui bệnh là 90,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- **Đánh giá lui bệnh dựa vào bệnh tồn dư tối thiểu**

Bảng 3.32. Phân bố giá trị MRD theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDL

Giá trị MRD \ Phân nhóm	Tiên lượng xấu		Tiên lượng trung bình		Tiên lượng tốt		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
MRD < 10 ⁻⁴	3	50,0	59	92,2	8	88,9	0,02
MRD ≥ 10 ⁻⁴	3	50,0	5	7,8	1	11,1	
Tổng cộng	6	100,0	64	100,0	9	100,0	

Nhận xét: Trong số 80 bệnh nhân BCCDL được đánh giá sau giai đoạn tấn công, có 1 bệnh nhân không được làm MRD. Vì thế, chỉ còn 79 bệnh nhân được đánh giá phân bố lui bệnh theo các biến đổi gen. Nhóm tiên lượng thuận lợi và tiên lượng trung bình có tỷ lệ MRD < 10⁻⁴ sau tấn công lần lượt là 88,9% và 92,2%, trong khi tỷ lệ này chỉ 50% ở nhóm có đột biến xấu. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,02).

3.3.2.2. Liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.33. Phân bố tỷ lệ lui bệnh theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDT

Tình trạng lui bệnh	Tiên lượng xấu		Tiên lượng trung bình		Tiên lượng tốt		p
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Lui bệnh	1	33,3	10	66,7	8	100	0,16
Lui bệnh một phần	2	66,7	2	13,3	0	0,0	
Không lui bệnh	0	0,0	3	20,0	0	0,0	
Tổng cộng	3	100,0	15	100,0	8	100,0	

Nhận xét: Nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ lui bệnh là 33,3%. Tỷ lệ này xuất hiện ở nhóm có tiên lượng trung bình và tiên lượng tốt lượt là: 66,7% và 100%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

3.3.2.3. Đánh giá tình trạng tái phát bạch cầu cấp dòng lympho theo phân nhóm đột biến gen

Bảng 3.34. Tỷ lệ tái phát theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDL

Phân nhóm Tái phát	Tiên lượng xấu		Tiên lượng trung bình		Tiên lượng tốt		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Không tái phát	2	33,3	56	88,9	10	100	0,003
Tái phát	4	66,7	7	11,1	0	0,0	
Tổng	6	100,0	63	100,0	10	100,0	-

Nhận xét: Tỷ lệ tái phát khác nhau giữa các nhóm đột biến gen, trong đó nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ tái phát cao nhất (66,7%), tiếp theo là nhóm tiên lượng trung bình (11,1%), và nhóm tiên lượng thuận lợi chưa có biểu hiện tái phát. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

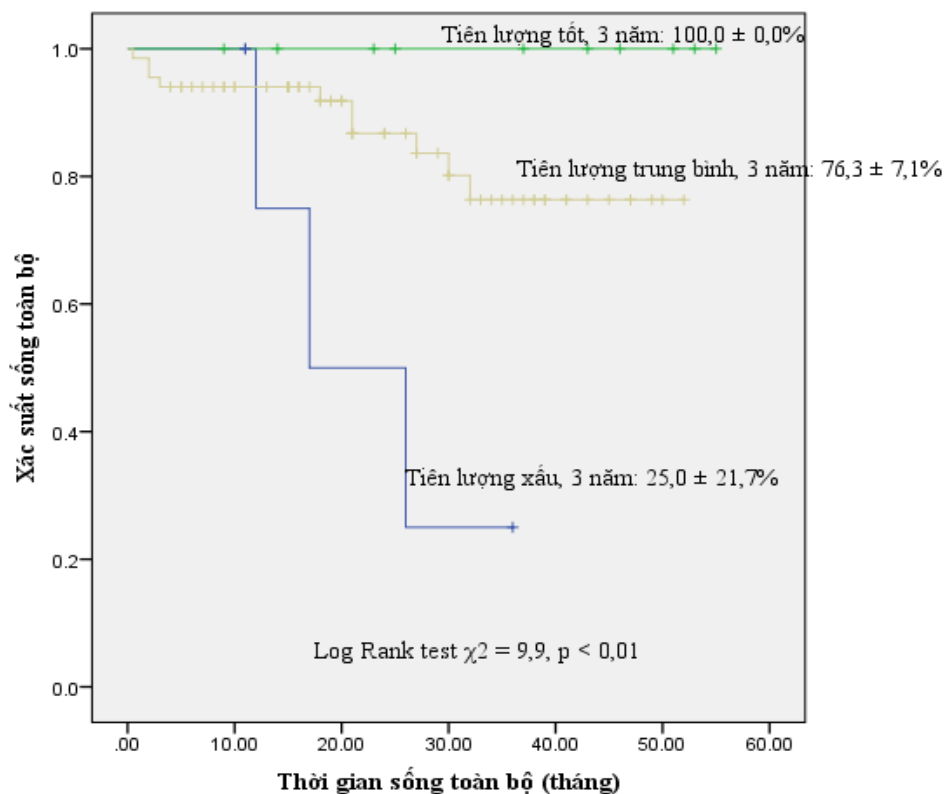
3.3.2.4. Đánh giá tình trạng tái phát bạch cầu cấp dòng tủy theo phân nhóm đột biến gen

Bảng 3.35. Tỷ lệ tái phát theo các phân nhóm biến đổi gen BCCDT

Tình trạng tái phát	Tiên lượng xấu		Tiên lượng trung bình		Tiên lượng tốt		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Không tái phát	1	33,3	7	58,3	5	71,4	0,8
Tái phát	2	66,7	5	41,7	2	28,6	
Tổng cộng	3	100,0	12	100,0	7	100,0	

Nhận xét: Tỷ lệ tái phát khác nhau giữa các nhóm đột biến gen. Nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ tái phát cao 66,7%. Nhóm tiên lượng trung bình và tiên lượng tốt có tỷ lệ tái phát lần lượt là 41,7% và 28,6%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2.5. Xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm biến đổi gen bạch cầu cấp dòng lympho



	Biến cố	1 năm	2 năm	3 năm
Tiên lượng xấu (6)	3	75,0 ± 21,7%	50,0 ± 25,0%	25,0 ± 21,7%
Tiên lượng trung bình (67)	10	94,0 ± 2,9%	86,7 ± 4,9%	76,3 ± 7,1%
Tiên lượng tốt (10)	0	100,0 ± 0,0%	100,0 ± 0,0%	100,0 ± 0,0%

Biểu đồ 3.7. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm biến đổi gen BCCDL

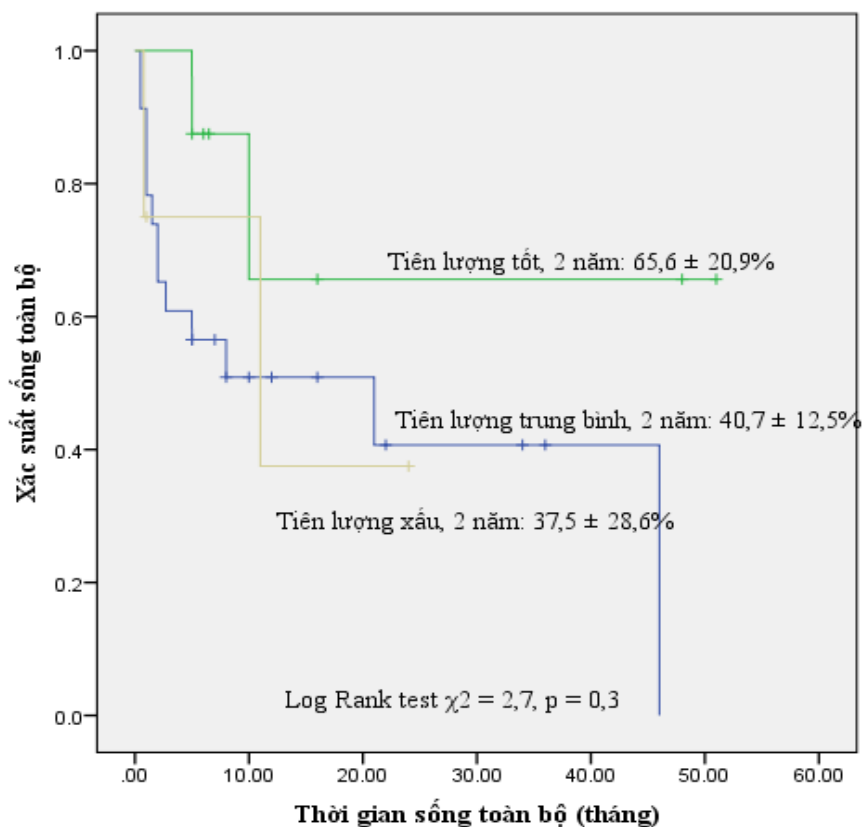
Bảng 3.36. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng phân nhóm biến đổi gen BCCDL

Phân nhóm tiên lượng	Tổng số	Tử vong	Còn sống	Tỷ lệ sống (%)
Xấu	6	3	3	50,0
Trung bình	67	10	57	85,1
Tốt	10	0	10	100
Tổng cộng	83	13	70	84,3

Nhận xét: Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, trong tổng số 83 bệnh nhân BCCDL, có 13 bệnh nhân tử vong, trong đó 3/6 bệnh nhân thuộc nhóm đột biến gen tiên lượng xấu, 10/67 bệnh nhân thuộc nhóm tiên lượng trung bình và chưa có bệnh nhân nào ở nhóm tiên lượng tốt tử vong. Số bệnh nhân còn sống là 70

bệnh nhân, chiếm tỷ lệ 84,3%. Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm tiên lượng tốt, trung bình và xấu lần lượt là $100,0 \pm 0,0\%$, $76,3 \pm 7,1\%$, và $25,0 \pm 21,7\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3.2.6. Xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm đột biến gen bạch cầu cấp dòng tủy



	1 năm	2 năm	3 năm
Tiên lượng xấu	$37,5 \pm 28,6\%$	$37,5 \pm 28,6\%$	-
Tiên lượng trung bình	$56,5 \pm 10,3\%$	$40,7 \pm 12,5\%$	$40,7 \pm 12,5\%$
Tiên lượng tốt	$65,6 \pm 20,9\%$	$65,6 \pm 20,9\%$	$65,6 \pm 20,9\%$

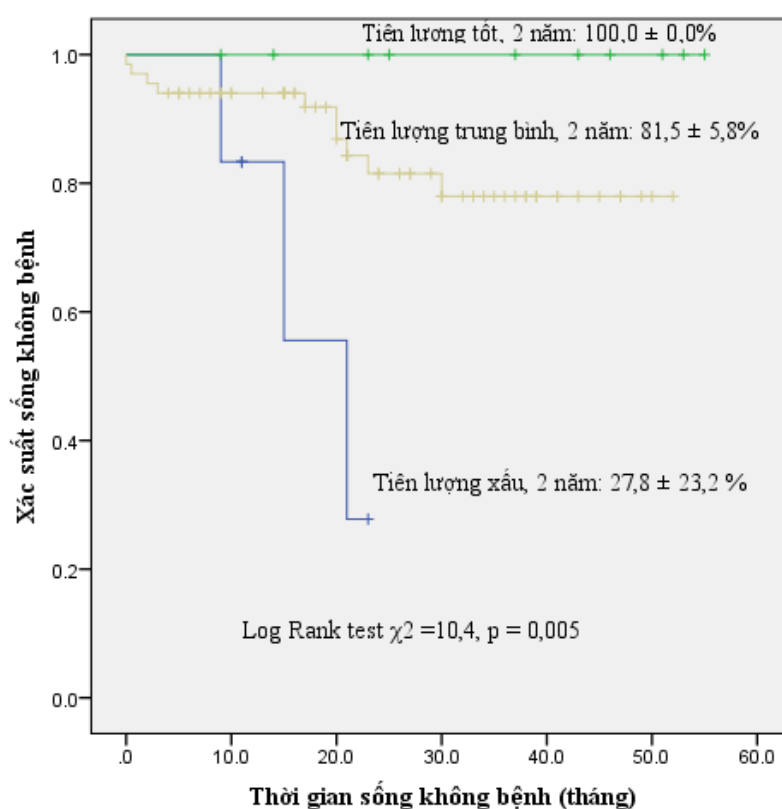
Biểu đồ 3.8. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm đột biến gen BCCDT

Bảng 3.37. Mô tả các biến cố xảy ra trong từng phân nhóm biến đổi gen BCCDT

Phân nhóm tiên lượng	Tổng số	Tử vong	Còn sống	Tỷ lệ sống (%)
Xấu	4	2	2	50,0
Trung bình	23	13	10	43,5
Tốt	8	2	6	75,0
Tổng cộng	35	17	18	51,4

Nhận xét: Tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, trong tổng số 35 bệnh nhân BCCDT, có 17 bệnh nhân tử vong. Số bệnh nhân còn sống là 18 bệnh nhân, chiếm tỷ lệ 51,4%. Tại thời điểm 2 năm, nhóm đột biến tiên lượng xấu có tỷ lệ sống toàn bộ là $37,5 \pm 28,6\%$, nhóm tiên lượng trung bình có tỷ lệ sống toàn bộ là $40,7 \pm 12,5\%$ và nhóm tiên lượng tốt là $65,6 \pm 20,9\%$. Tại thời điểm 3 năm, tỷ lệ sống toàn bộ của nhóm tiên lượng trung bình là $40,7 \pm 12,5\%$, và nhóm tiên lượng tốt là $65,6 \pm 20,9\%$. Nhóm tiên lượng xấu chưa có bệnh nhân nào sống đến thời điểm 3 năm. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2.7. Xác suất sống không bệnh theo phân nhóm biến đổi gen bạch cầu cấp dòng lympho

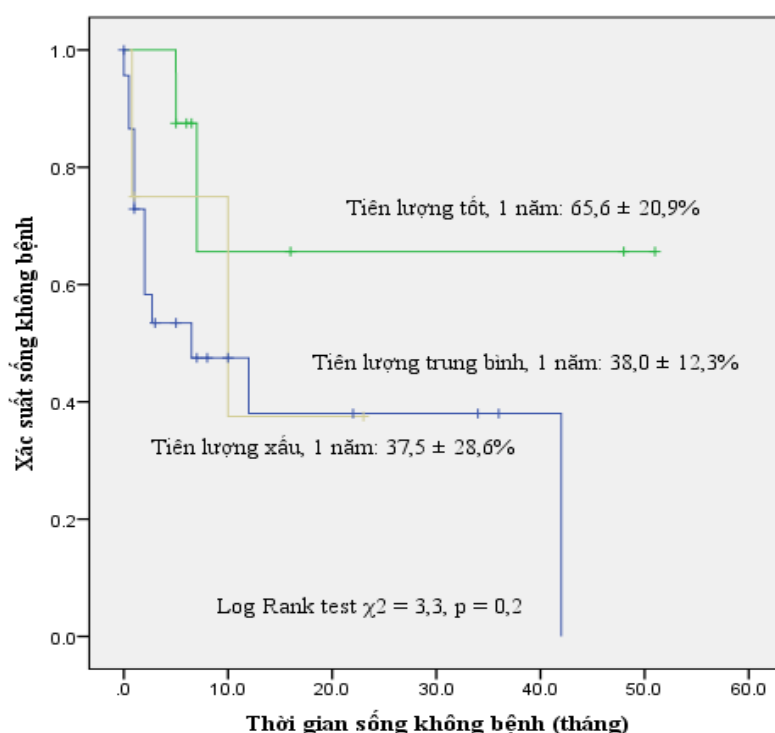


	1 năm	2 năm	3 năm
Tiên lượng xấu	$83,3 \pm 15,2\%$	$27,8 \pm 23,2\%$	-
Tiên lượng trung bình	$94,0 \pm 2,9\%$	$81,5 \pm 5,8\%$	$78,0 \pm 6,6\%$
Tiên lượng tốt	$100 \pm 0,0\%$	$100 \pm 0,0\%$	$100 \pm 0,0\%$

Biểu đồ 3.9. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen BCCDL

Nhận xét: Xác suất sống không bệnh khác biệt rõ giữa các nhóm. Tại thời điểm 2 năm, xác suất sống không bệnh ở các nhóm tiên lượng tốt, trung bình và xấu lần lượt là: $100 \pm 0,0\%$, $81,5 \pm 5,8\%$, và $27,8 \pm 23,2\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3.2.8. Xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen bạch cầu cấp dòng tủy



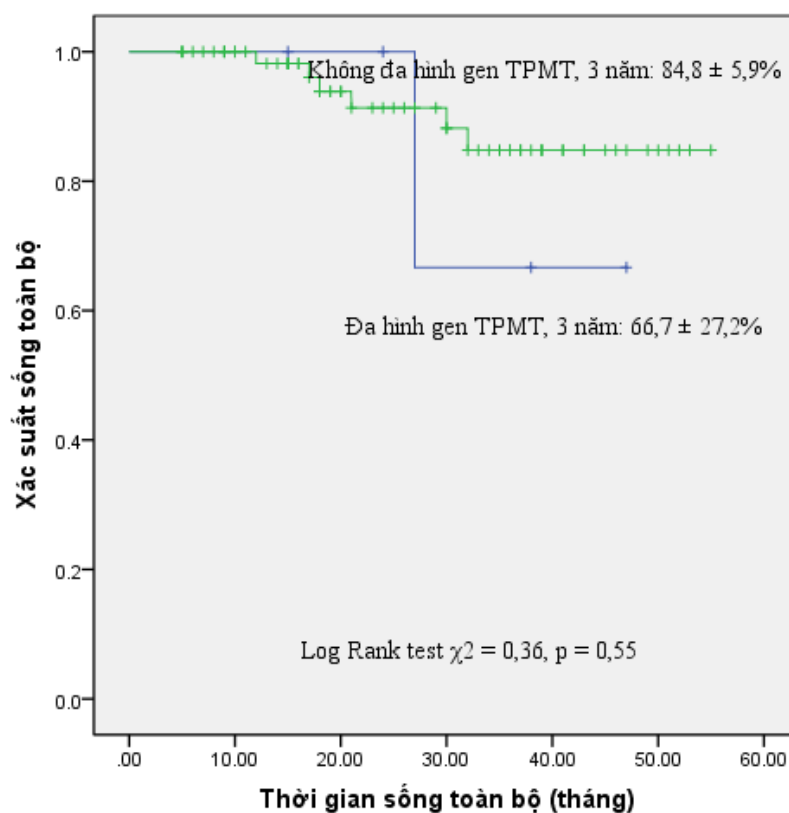
	1 năm	2 năm	3 năm
Tiên lượng xấu	37,5 ± 28,6%	-	-
Tiên lượng trung bình	38,0 ± 12,3%	38,0 ± 12,3%	38,0 ± 12,3%
Tiên lượng tốt	65,6 ± 20,9%	65,6 ± 20,9%	65,6 ± 20,9%

Biểu đồ 3.10. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen BCCDT

Nhận xét: Thời gian sống còn không bệnh trung bình của bệnh nhân BCCDT có đột biến gen tiên lượng tốt là cao nhất: $35,6 \pm 9,3$ tháng, tiếp đến là nhóm tiên lượng trung bình: $18,1 \pm 4,7$ tháng, và thấp nhất là nhóm có tiên lượng xấu với thời gian là $12,6 \pm 4,8$ tháng. Tại thời điểm 12 tháng, xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu là $37,5 \pm 28,6\%$, nhóm tiên lượng trung bình có xác suất sống không bệnh là $38,0 \pm 12,3\%$ và nhóm tiên lượng tốt có xác suất là $65,6 \pm 20,9\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2.9. Xác suất sống còn theo các biến đổi gen dược lý học

Xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen TPMT

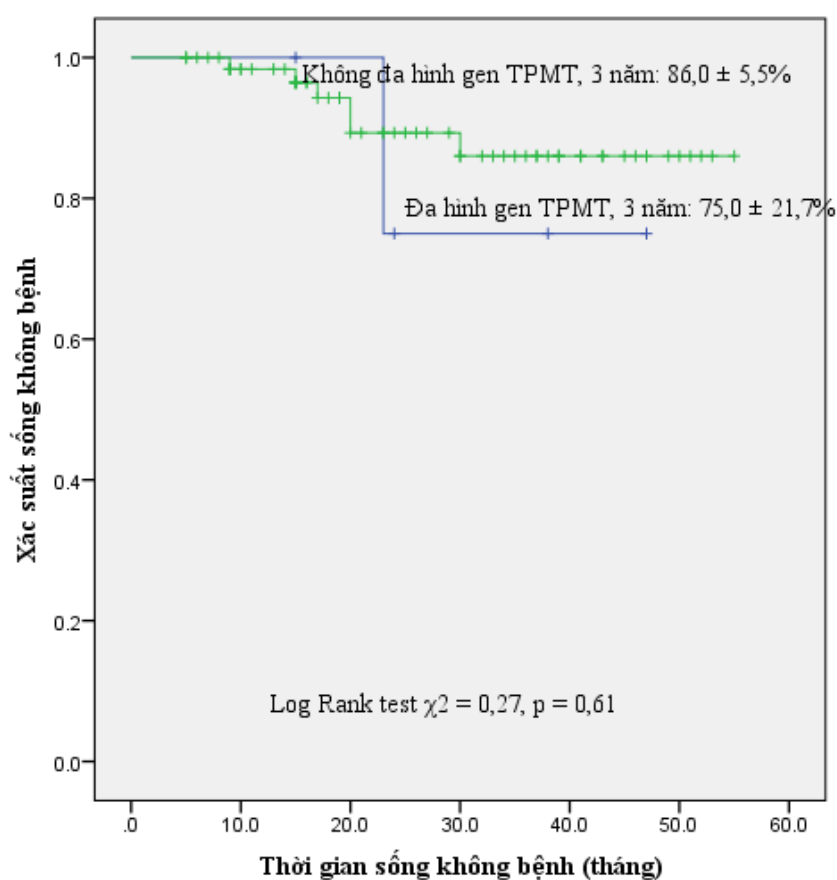


	Biến cố	1 năm	2 năm	3 năm
Đa hình gen <i>TPMT</i> (5)	1	100,0 ± 0,0%	100,0 ± 0,0%	66,7 ± 27,2%
Không có đa hình gen <i>TPMT</i> (67)	6	98,2 ± 2,8%	91,3 ± 4,2%	84,8 ± 5,9%

Biểu đồ 3.11. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen *TPMT*

Nhận xét: Thời gian sống còn toàn bộ trung bình của bệnh nhân BCCDL là có mang đa hình gen *TPMT* là: $40,3 \pm 5,4$ tháng, nhóm BCCDL không có mang đa hình gen *TPMT* là $50,1 \pm 1,8$ tháng. Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm có mang đa hình gen *TPMT* là $66,7 \pm 27,2\%$ và nhóm không có mang đa hình gen *TPMT* là $84,8 \pm 5,9\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Xác suất sống không bệnh theo đa hình gen *TPMT*

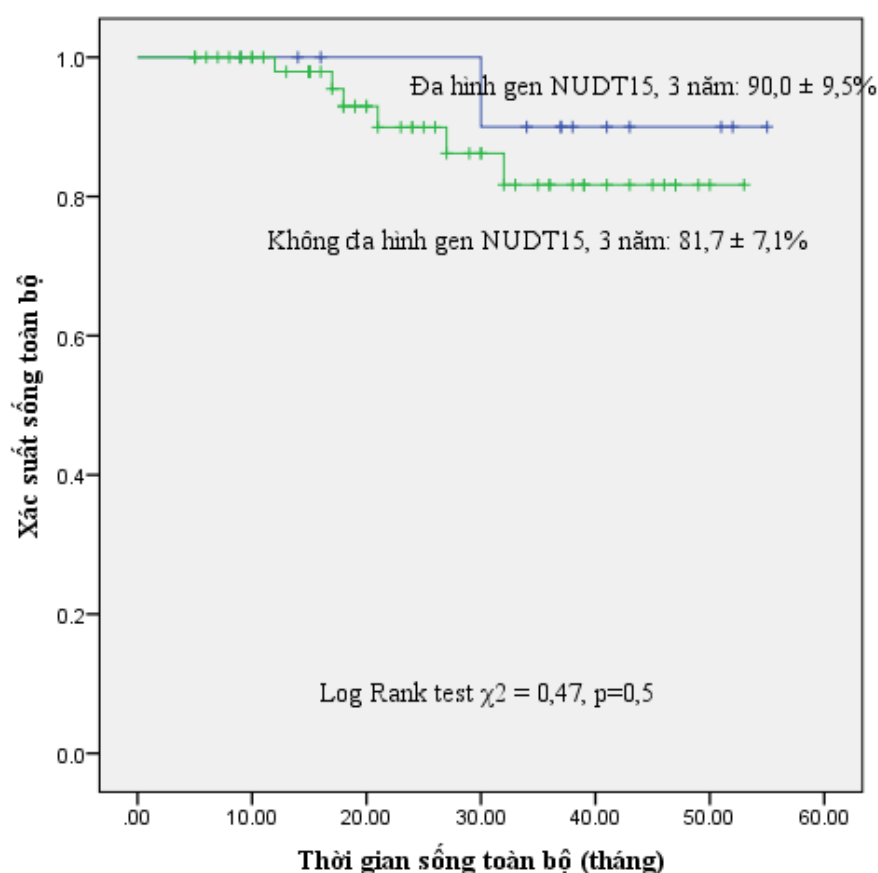


	1 năm	2 năm	3 năm
Đa hình gen <i>TPMT</i>	100,0 ± 0,0%	75,0 ± 21,7%	75,0 ± 21,7%
Không có đa hình gen <i>TPMT</i>	98,4 ± 1,6%	89,3 ± 4,6%	86,0 ± 5,5%

Biểu đồ 3.12. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo đa hình gen *TPMT*

Nhận xét: Thời gian sống không bệnh trung bình của bệnh nhân BCCDL có mang đa hình gen *TPMT* là: $41,0 \pm 5,1$ tháng, nhóm BCCDL không có mang đa hình gen *TPMT* là $50,0 \pm 1,8$ tháng. Vào thời điểm 3 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm có mang đa hình gen *TPMT* là $75,0 \pm 21,7\%$, nhóm không có mang đa hình gen *TPMT* là $86,0 \pm 5,5\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen *NUDT15*

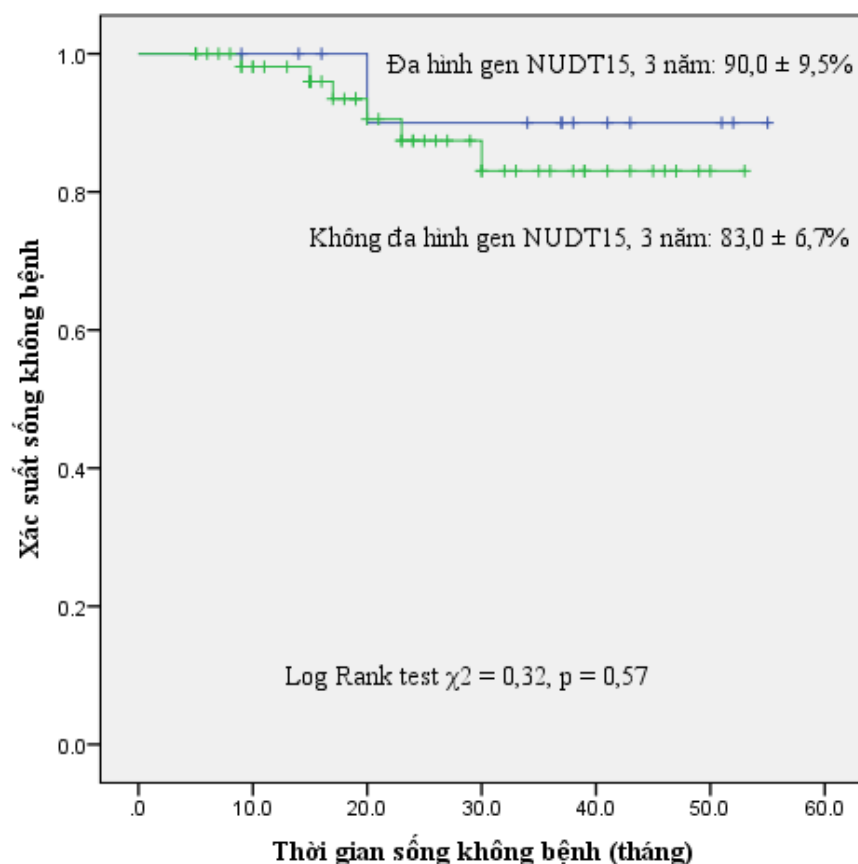


	1 năm	2 năm	3 năm
Đa hình gen <i>NUDT15</i>	$100,0 \pm 0,0\%$	$100,0 \pm 0,0\%$	$90 \pm 9,5\%$
Không có đa hình gen <i>NUDT15</i>	$97,9 \pm 2,1\%$	$90,0 \pm 4,8\%$	$81,7 \pm 7,1\%$

Biểu đồ 3.13. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo đa hình gen *NUDT15*

Nhận xét: Thời gian sống còn toàn bộ trung bình của bệnh nhân BCCDL là có mang đa hình gen *NUDT15* là: $52,5 \pm 2,3$ tháng, nhóm BCCDL không có mang đa hình gen *NUDT15* là $47,5 \pm 2,0$ tháng. Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm bệnh nhân có mang đa hình gen *NUDT15* và nhóm không có mang đa hình gen *NUDT15* lần lượt là $90 \pm 9,5\%$ và $81,7 \pm 7,1\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Xác suất sống không bệnh theo đa hình gen *NUDT15*



	1 năm	2 năm	3 năm
Đa hình gen <i>NUDT15</i>	100,0 ± 0,0%	90,0 ± 9,5%	90,0 ± 9,5%
Không có đa hình gen <i>NUDT15</i>	98,1 ± 1,9%	87,4 ± 5,4%	83,0 ± 6,7%

Biểu đồ 3.14. Đường biểu diễn xác suất sống không bệnh theo đa hình gen *NUDT15*

Nhận xét: Thời gian sống không bệnh trung bình của bệnh nhân BCCDL là có mang đa hình gen *NUDT15* là $51,5 \pm 3,3$ tháng, nhóm BCCDL không có mang đa hình gen *NUDT15* là $47,5 \pm 2,0$ tháng. Xác suất sống không bệnh đối với nhóm có mang đa hình gen *NUDT15* tại thời điểm 3 năm là $90,0 \pm 9,5\%$ và tỷ lệ này đối với nhóm không có mang đa hình gen là $83,0 \pm 6,7\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

4.1.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu

4.1.1.1. Đặc điểm lứa tuổi

Tuổi là một biến có sẵn và có ý nghĩa tiên lượng trong bệnh lý bạch cầu cấp, đặc biệt trong bệnh lý bạch cầu cấp dòng lympho. Tuổi khi chẩn đoán theo truyền thống đã cung cấp cơ sở đáng tin cậy cho phân tầng bệnh nhân ban đầu, và đáng chú ý là yếu tố tuổi vẫn giữ ý nghĩa sau khi điều chỉnh các tiêu chí khác ngay cả khi cải thiện tỷ lệ chữa lành theo nhóm và điều chỉnh phác đồ điều trị mạnh hơn trong những thập kỷ qua [65],[148],[149]. Đặc điểm về tuổi của nhóm nghiên cứu được thể hiện trên bảng 3.1, cho thấy bệnh bạch cầu cấp gặp bất kể lứa tuổi nào, trong đó độ tuổi gặp nhiều nhất là độ tuổi từ 1- 9 tuổi, chiếm tỷ lệ 79,7%, tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $5,8 \pm 4,0$ tuổi. Đối với nhóm BCCDL, tuổi trung bình là $5,2 \pm 3,5$ tuổi, lứa tuổi gặp nhiều nhất là trẻ từ 1-5 tuổi, chiếm tỷ lệ 57,8%, và nhóm trẻ từ 1- 9 tuổi chiếm tỷ lệ 85,5%. Như vậy, đối với nhóm BCCDL, đa số bệnh nhi thuộc nhóm có tiên lượng tốt về tuổi. Đối với BCCDT, tuổi trung bình là $7,3 \pm 4,9$ tuổi, và không có đỉnh tuổi mắc bệnh, có sự gia tăng tỷ lệ mắc bệnh từ sau 1 tuổi. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nghiên cứu này tương đồng với nhiều tác giả trong và ngoài nước khi nghiên cứu về bệnh BCC trẻ em. Nghiên cứu của Bùi Ngọc Lan và Nguyễn Thị Mai Hương trên nhóm bệnh BCCDL trẻ em, đều cho kết quả nhóm tuổi từ 1-5 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 45,7% [6],[7]. Nghiên cứu của Robazzi trên 354 trẻ bị bạch cầu cấp ở Brazil, cho thấy tuổi dao động từ 0,75 tuổi đến 15 tuổi, tuổi trung bình là 6,18 tuổi [144]. Sinigaglia qua nghiên cứu 122 trẻ bị bạch cầu cấp tại Ý, cho thấy tuổi trung bình lúc chẩn đoán là 6,6 tuổi (dao động từ 7 tháng đến 17 tuổi) [158]. Các nghiên cứu khác của các tác giả nước ngoài khác đều cho thấy đối với BCCDL, đỉnh cao mắc bệnh từ 2-5 tuổi, và BCCDT không có đỉnh cao mắc bệnh, chỉ có sự tăng nhẹ từ tuổi nhũ nhi đến tuổi lớn [40],[69],[108],[128].

4.1.1.2. Đặc điểm về giới tính

Giới cũng được xem là một yếu tố tiên lượng trong bệnh bạch cầu cấp, trong đó trẻ gái có tiên lượng tốt hơn trẻ trai. Sự khác biệt này tồn tại nhưng được thu hẹp khoảng cách một cách đặc biệt nhờ vào các phác đồ điều trị mới, với tỷ lệ sống nhiều hơn 1,1% cho giới nữ theo các thử nghiệm phác đồ nhóm ung thư nhi (COG) hiện nay [68]. Có thể giải thích khả năng do trẻ trai có nguy cơ bị tái phát tinh hoàn, tần suất cao hơn bị T-ALL và tỷ lệ thấp hơn bị đa bội ở trẻ nam so với trẻ gái, và khả năng những yếu tố sinh học, nội tiết và chuyển hóa khác chưa giải thích được [128]. Nghiên cứu đặc điểm về giới trong nghiên cứu chúng tôi cho thấy bệnh nhi nam có tỷ lệ mắc bệnh nhiều hơn nữ, tỷ lệ nam/nữ lần lượt trong nhóm BCC nói chung, BCCDL và BCCDT lần lượt là 1,51/1; 1,37/1 và 1,92/1 (bảng 3.2). Nghiên cứu của Bùi Ngọc Lan trong nhóm BCCDL cho kết quả nam ưu thế hơn nữ, với tỷ lệ 67,4% so với 32,6% [7]. Các nghiên cứu của các tác giả nước ngoài trên nhóm bệnh BCC cho kết quả tương tự, nghiên cứu của Robazzi cho thấy 59,4% bệnh nhi nam và 40,% bệnh nhi nữ [144]; nghiên cứu của Sinigaglia cho kết quả 60% bệnh nhân nam và 40% bệnh nhân nữ [158]; nghiên cứu của Biswas cho thấy tỷ lệ nam/nữ là 1,9/1 [26]. Nghiên cứu của Shahab cho thấy nam luôn chiếm ưu thế hơn nữ trong cả hai nhóm BCCDL và BCCDT (62% so với 38%) và (57% so với 43%) [151].

Như vậy, rõ ràng bệnh nhi nam có xu hướng mắc bệnh BCC nhiều hơn bệnh nhi nữ. Cho đến thời điểm hiện tại, các nhà khoa học vẫn chưa giải thích được nguyên nhân vì sao. Vào năm 1998, Jackson đã tiến hành nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân bạch cầu cấp ở Malaysia và người ta ghi nhận có sự phân bố khác nhau về nhóm máu ABO giữa nam và nữ trong bệnh bạch cầu cấp, so với nhóm chứng. Tỷ lệ bệnh nhi nam mắc bệnh bạch cầu cấp có nhóm máu O nhiều hơn bệnh nhân nữ. Từ đó tác giả đưa ra giả định tồn tại một gen liên quan đến giới tính gần với locus gen ABO trên nhiễm sắc thể số 9, bảo vệ bệnh nhi nữ chống lại bệnh bạch cầu cấp. Sự tồn tại một gen như vậy có thể giải thích một phần tại sao trong bệnh bạch cầu cấp, và có thể những bệnh lý ung thư khác ở trẻ em, nam mắc bệnh nhiều hơn nữ [73].

4.1.1.3. Đặc điểm xếp loại thể bệnh theo dấu ấn miễn dịch

Khảo sát tủy đồ và dấu ấn miễn dịch tế bào được thực hiện độc lập, giúp xác định chẩn đoán và phân loại thể bệnh. Từ đó giúp tiên lượng bệnh và có hướng điều trị phù hợp. Trong nghiên cứu này, biểu đồ 3.1 cho thấy 70,3% bệnh nhân bị bệnh BCCDL và 29,7% bị BCCDT. Hiện trong nhóm của chúng tôi, chưa gặp trường hợp nào lai giữa hai dòng.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các tác giả khác. Theo nghiên cứu của Robazzi và Sinigaglia cho thấy tỷ lệ BCCDL lần lượt là 77,1% và 83,6%, BCCDT chiếm tỷ lệ lần lượt là 22,9% và 16,3% [144],[158]. Nghiên cứu của Biswas trên 75 trẻ bạch cầu cấp tại Ấn Độ cho thấy 72% BCCDL và 18% BCCDT và 10% chưa xếp được phân loại [26]. Nghiên cứu của Pérez cho thấy BCCDL chiếm tỷ lệ 85,1%, BCCDT chiếm tỷ lệ 12,3% [123].

Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi, đối với BCCDL, dòng lympho B chiếm tỷ lệ 84,3% và dòng lympho T chiếm tỷ lệ 15,7%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của các tác giả khác. Theo nghiên cứu của Shalal, BCC dòng lympho B chiếm tỷ lệ 89,1% và BCC dòng lympho T chiếm tỷ lệ 10,9% [152]. Nghiên cứu của Pérez cho thấy phân nhóm B chiếm tỷ lệ 72,3% và dòng lympho T chiếm tỷ lệ 12,4% [123]. Theo Fadool, có 78,5% bệnh nhân tế bào B và 17,5% dòng T. Theo Al-Sudairy, có 89,5% bệnh nhân tiền B và 10,5% bệnh nhân tế bào T [14],[48]. Theo Jovanovska có 81,2% bệnh nhân dòng lympho B và 11,8% bệnh nhân dòng lympho T [81].

Như vậy, trong BCC trẻ em, BCCDL luôn chiếm ưu thế so với BCCDT và trong BCCDL, dòng lympho B luôn ưu thế so với dòng lympho T. Với những đặc điểm này, bệnh BCC ở trẻ em có tiên lượng thuận lợi và có tỷ lệ chữa lành cao [65],[128].

4.1.1.4. Phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy

Dựa vào các biểu hiện hình thái học, dấu ấn miễn dịch, sinh học, và các đặc điểm sinh học phân tử, giúp phân loại dưới nhóm BCCDT từ M0 đến M7 [65]. Việc phân nhóm giúp tiên lượng và có hướng điều trị cụ thể cho bệnh nhân

[65],[132]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, biểu đồ 3.2 cho thấy nhóm bệnh M2 và M5 chiếm tỷ lệ cao nhất 28,6%. Tiếp đến là nhóm M6, chiếm tỷ lệ 14,3%, M3 chiếm tỷ lệ 11,4%. M7 chiếm tỷ lệ thấp nhất 2,8% và chưa gặp bệnh nhân nhóm M4. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có một vài điểm tương đồng và một vài điểm khác với nghiên cứu của các tác giả khác. Nghiên cứu của Phan Nguyễn Thanh Vân cho thấy M2 chiếm tỷ lệ cao, từ 52,5% đến 61,1%, M5 chiếm tỷ lệ từ 1,9% đến 5,6%, M3 chiếm tỷ lệ 14,2% [12]. Theo nghiên cứu của Pui trên 180 ca BCCDT trẻ em tại Mỹ, kết quả cho thấy M2 chiếm tỷ lệ 28%, M5 chiếm tỷ lệ 21%, M3 chiếm tỷ lệ 6%, M4 chiếm tỷ lệ 19%, M7 chiếm tỷ lệ 10% [132]. Theo nghiên cứu của Shahab, M2 chiếm tỷ lệ 19%, M3 chiếm tỷ lệ 11%. Theo Zaki, tỷ lệ M3 chiếm tỷ lệ cao nhất (43%), M2 và M1 chiếm tỷ lệ 13%, M4 chiếm tỷ lệ 22% [185].

4.1.1.5. Phân nhóm nguy cơ bạch cầu cấp dòng lympho

Viện ung thư quốc gia Mỹ, Ý đã đưa ra tiêu chuẩn để phân loại nguy cơ thường và nguy cơ cao cho bệnh BCCDL dựa vào tuổi và số lượng bạch cầu tại thời điểm chẩn đoán. Theo đó, những trẻ từ 1-<10 tuổi và số lượng bạch cầu $< 50 \times 10^9/l$, được xếp nguy cơ thường. Ngược lại, những trẻ có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$ và/hoặc tuổi ≥ 10 tuổi, được xếp vào nguy cơ cao [65],[128]. Những trẻ < 1 tuổi, được phân loại bạch cầu cấp dòng lympho nhũ nhi và thường có tiên lượng xấu [65]. Vì thế, trong thực hành lâm sàng tại bệnh viện chúng tôi, những trẻ < 1 tuổi, chúng tôi xếp vào nhóm nguy cơ cao. Việc phân tầng nguy cơ giúp chọn lựa phác đồ điều trị cũng như biết được tiên lượng bệnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bảng 3.3 cho thấy bệnh nhân BCCDL thuộc nhóm nguy cơ thường chiếm tỷ lệ nhiều hơn nguy cơ cao (61,4% so với 38,6%). Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả của Jovanovska, theo đó 75% bệnh nhân nguy cơ thường và 25% bệnh nhân nguy cơ cao [81]. Nghiên cứu của Gaynon cũng cho thấy nhóm nguy cơ thường chiếm ưu thế so với nhóm nguy cơ cao [61].

4.1.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh bạch cầu cấp

4.1.2.1. Triệu chứng khởi phát

Các triệu chứng khởi phát bạch cầu cấp thường không đặc hiệu, mơ hồ và thay đổi [128],[151]. Vì thế, các bác sĩ tiếp nhận ban đầu khó chẩn đoán ra bệnh. Bảng 3.4 cho thấy triệu chứng sốt chiếm tỷ lệ cao nhất 57,6%, tiếp đến là da xanh xao, thiếu máu chiếm tỷ lệ 32,2%. Lý do xuất huyết, nổi hạch, đau khớp chiếm tỷ lệ lần lượt là 21,2%, 18,6% và 15,3%. Ngoài ra, còn có một số lý do ít gặp khác như ho, đau bụng, nôn, tiêu chảy, sụt cân và có một trường hợp trẻ bị ngất. Không có sự khác biệt về tỷ lệ lý do vào viện giữa bệnh nhân BCCDL và BCCDT, ngoại trừ triệu chứng đau khớp. Có 20,5% bệnh nhân BCCDL vào viện vì lý do đau khớp, nhưng chỉ có 2,9% BCCDT vào viện vì lý do đau khớp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

Nghiên cứu của chúng tôi có những điểm tương đồng với các nghiên cứu trước đây trên thế giới. Nghiên cứu của Shahab tại Peshawar, Pakistan cho thấy những lý do chính khiến bệnh nhân nhập viện bao gồm: sốt (77%), xanh xao (33%), xuất huyết (23%), nhức mỏi toàn thân (18%), ngoài ra vẫn có tỷ lệ nhỏ các bệnh nhân vào viện vì sụt cân, tương tự với một số bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi [151].

Như vậy, các lý do chính khiến bệnh nhân nhập viện vẫn là sốt, thiếu máu và xuất huyết. Những triệu chứng này có thể được giải thích bởi cơ chế các tế bào blast tăng sinh và chèn ép tủy xương, dẫn đến ức chế tủy xương, dẫn đến bạch cầu hạt giảm gây nên sốt, hồng cầu giảm sản xuất gây nên thiếu máu và tiểu cầu cũng bị ức chế tạo ra nên gây chảy máu [65],[151].

4.1.2.2. Thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đến lúc nhập viện

Bảng 3.5 cho thấy trong nhóm BCC, thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đến lúc nhập viện từ 1-10 ngày chiếm tỷ lệ cao nhất 47,5%, từ 11-20 ngày chiếm tỷ lệ 16,9% và >20 ngày chiếm tỷ lệ 35,6%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian khởi phát giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT ($p > 0,05$).

Thời gian thời phát đến lúc nhập viện trung vị của nhóm nghiên cứu là 14 ngày. Thời gian khởi phát trung vị của lần lượt hai nhóm BCCDL và BCCDT vẫn là 14 ngày, sự giống nhau không mang ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả một phần tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nwannadi trên các bệnh nhân bạch cầu cấp tại Nigeria, theo đó thời gian trung bình từ lúc xuất hiện triệu chứng đến khi nhập viện đối với BCCDT là 15 ngày, và đối với BCCDL là 22 ngày [116]. Theo nghiên cứu của Robazzi, thời gian từ khi khởi phát triệu chứng đến khi có chẩn đoán cuối cùng không có khác nhau giữa BCCDL và BCCDT, với thời gian lần lượt là $50,2 \pm 66,7$ ngày và $64,7 \pm 85,3$ ngày [144].

Ở các nước đang phát triển, phần lớn các bệnh nhân đến khám với những biểu hiện muộn, trái ngược với các nước phát triển, các bệnh nhân được đưa đến viện với các biểu hiện rất sớm. Nguyên nhân dẫn đến các triệu chứng muộn là do sự nghèo nàn và không để ý đến bệnh. Những trẻ đến muộn thường có khuynh hướng đáp ứng không thuận lợi với điều trị [116].

4.1.2.3. Các biểu hiện lâm sàng của bệnh bạch cầu cấp tại thời điểm chẩn đoán

Các biểu hiện lâm sàng của bệnh bạch cầu cấp liên quan đến ba cơ chế bệnh lý chính: tủy xương bị suy do sự thâm nhiễm quá mức của các tế bào non ác tính, sự thâm nhiễm tế bào non ác tính đến các cơ quan, mô, và các tế bào u giải phóng ra các cytokine gây nên các biểu hiện toàn thân.

Các biểu hiện lâm sàng thường gặp

Bảng 3.6 cho thấy các biểu hiện lâm sàng thường gặp của bệnh BCC bao gồm thiếu máu (87,3%), gan lớn (48,3%), hạch lớn (44,9%), sốt (44,9%), lách lớn (41,5%), xuất huyết (39,8%) và đau xương khớp (21,2%). Tần suất bị thiếu máu và xuất huyết gặp nhiều hơn ở nhóm BCCDT, với tỷ lệ lần lượt là 97,1% và 51,4%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tần suất các triệu chứng thiếu máu, sốt, gan, hạch, lách lớn, hay xuất huyết giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT ($p>0,05$).

Dưới đây là bảng tổng hợp các triệu chứng thường gặp theo nghiên cứu của một số tác giả đối với bệnh bạch cầu cấp:

Bảng 4.1. So sánh các biểu hiện lâm sàng thường gặp với một số nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam.

Tác giả Triệu chứng	Biswas [26]	Clarke [37]	Nwannadi [116]	Nguyễn Văn Tuy [11]	Chúng tôi
	%	%	%	%	%
Sốt	85,3	62,0	94,4	69,7	44,9
Xanh xao	64,0	60,0	94,4	84,8	87,3
Gan lớn	72,0	71,0	16,6	69,7	48,3
Lách lớn	60,0	56,0	25,9	66,7	41,5
Hạch lớn	50,7	52,0	25,9	57,6	44,9
Xuất huyết	38,7	48,0	31,5	45,5	39,8
Đau xương	8,0	23,0	96,2	30,3	21,2

Như vậy, các triệu chứng có tần suất gặp nhiều nhất vẫn là sốt, da xanh xao, gan lách hạch lớn, xuất huyết và đau xương. Tuy nhiên tỷ lệ phần trăm của mỗi triệu chứng có thay đổi tùy theo tác giả. Theo kết quả của tác giả Nwannadi, các tỷ lệ phần trăm có phần thay đổi so với các tác giả còn lại, có thể giải thích do cỡ mẫu nhỏ.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, triệu chứng đau khớp gặp nhiều hơn ở nhóm BCCDL so với BCCDT, 26,5% so với 8,6%. Sự khác biệt về triệu chứng đau khớp giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Colby-Graham, theo đó, nhóm BCCDL cũng có triệu chứng đau xương nhiều hơn nhóm BCCDT [40].

Các triệu chứng lâm sàng ít gặp trong bệnh bạch cầu cấp

Bảng 3.7 cho thấy các triệu chứng lâm sàng ít gặp trong bệnh bạch cầu cấp tại thời điểm nhập viện là ho (15,3%), sụt cân (7,6%), đau bụng (5,9%), nghe rales ở phổi (5,1%), thở nhanh (3,4%), thâm nhiễm tinh hoàn (2,8%), tiêu chảy

(1,7%), phì đại nước (1,7%), sản lực (0,8%), nôn (0,8%), và không có ca nào bị thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương.

Một số triệu chứng như đau bụng, buồn nôn, nôn, tiêu chảy trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp hơn so với các tác giả nước ngoài. Theo nghiên cứu của Biswas, một số triệu chứng ít gặp trong đó có đau bụng, chiếm tỷ lệ 9,3%, tiêu chảy chiếm tỷ lệ 5,3% [26]. Theo Robazzi, Robazzi chỉ nghiên cứu về các triệu chứng dạ dày ruột trên bệnh bạch cầu cấp và thấy tỷ lệ đau bụng gặp trong 19,5% BCCDL và 11,8% BCCDT, buồn nôn và nôn gặp 14,9% BCCDL và 14% BCCDT, chướng bụng gặp trong 18,5% BCCDL và 8,6% BCCDT, tiêu chảy gặp trong 3,6% BCCDL và 11,8% BCCDT [144]. Theo Clarke, các triệu chứng đau bụng gặp tỷ lệ 21% (dao động từ 3-34%) [37].

Triệu chứng sản lực gặp ở một bệnh nhân BCCDT, triệu chứng phì đại nước gặp ở hai bệnh nhân BCCDT. Điều này phù hợp với triệu chứng của BCCDT [65]. Các biểu hiện xâm lấn ngoài tủy của tế bào ung thư trong BCCDT bao gồm da, lợi, hệ thần kinh trung ương và vùng đầu, cổ [40].

Triệu chứng thâm nhiễm tinh hoàn trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ gặp hai trường hợp và chiếm tỷ lệ 2,8%. Theo các tác giả trên thế giới, thâm nhiễm tinh hoàn gặp tỷ lệ 1,1-2,4% ở trẻ trai tại thời điểm chẩn đoán BCCDL, nhưng rất hiếm gặp ở người trưởng thành [57],[66]. Thâm nhiễm tinh hoàn có thể được chẩn đoán dựa vào sự gia tăng kích thước, sự căng phồng không theo quy luật, và khi thăm khám thì thấy tinh hoàn cứng. Siêu âm Doppler màu là phương tiện hữu dụng để xác nhận tình trạng thâm nhiễm tinh hoàn liên quan và được dùng để đánh giá các tình trạng của bìu lớn như tràn dịch màng tinh hoàn, giãn tĩnh mạch thừng tinh, khối ngoài tinh hoàn, xoắn tinh hoàn, và để theo dõi đáp ứng với điều trị. Siêu âm bình thường cho thấy sự lớn lên của tinh hoàn một hoặc hai bên, với những vùng giảm âm lan tỏa hoặc khu trú. Và siêu âm màu cho thấy sự gia tăng tưới máu trong những vùng có thâm nhiễm tế bào ung thư [114]. Hai ca chẩn đoán thâm nhiễm tinh hoàn của chúng tôi cũng chỉ dựa vào thăm khám lâm sàng và siêu âm.

4.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp trẻ em

4.1.3.1. Đặc điểm công thức máu

Bảng 3.8 cho thấy trong nhóm BCC, có 28,8% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trong nước cũng như trên thế giới, theo đó, số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$ chiếm tỷ lệ từ 19,4% - 34,5%. Nghiên cứu của Bùi Thị Mỹ Hương trên nhóm BCCDT cho thấy có 25% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $> 50 \times 10^9/l$ [5]. Theo Sinigaglia, có 33,8% bệnh nhân BCC có số lượng bạch cầu $> 20 \times 10^9/l$, và có 7,4% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $> 100 \times 10^9/l$ [158]. Theo Magrath nghiên cứu trên các bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho ở Ấn Độ, tại ba trung tâm cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$ lần lượt là 24,6%, 31,2% và 34,5% [105]. Theo nghiên cứu của Pui trên các bệnh nhân BCCDL, khoảng 20% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $> 50.000/mm^3$. Mức độ tăng bạch cầu tại thời điểm chẩn đoán vẫn là một trong những yếu tố quan trọng nhất trong tiên lượng bệnh bạch cầu cấp dòng lympho [137].

Bạch cầu tăng, đặc biệt trong một số trường hợp lúc số lượng bạch cầu tăng cao, gây ra các biểu hiện bất lợi cho bệnh nhân. Những biểu hiện của tăng bạch cầu có triệu chứng bao gồm: những biểu hiện của hô hấp và thần kinh, kết hợp với giảm oxy thứ phát gây nên hội chứng ngưng kết bạch cầu [42],[59]. Trong một phân tích 1.364 trẻ bị BCCDT, có 20% trẻ bị tăng bạch cầu [167]. Những dấu hiệu và triệu chứng hô hấp bao gồm: thở gắng sức, tăng tần số thở, giảm oxy, xuất huyết, tràn dịch màng phổi, và suy hô hấp. Những biểu hiện của hệ thần kinh trung ương bao gồm: đau đầu, lú lẫn, co giật, lơ mơ, và hôn mê. Ước tính có khoảng hơn 20% bệnh nhân bị ngưng kết bạch cầu trầm trọng dẫn đến biến chứng tử vong, bao gồm xuất huyết não, suy hô hấp, hoặc các biến chứng về chuyển hóa, mặc dầu những phân tích hiện nay cho thấy tỷ lệ dao động từ 1% đến 11% và tùy thuộc vào số lượng bạch cầu [167]. Ví dụ, trong

một nghiên cứu của COG ở trẻ em với số lượng bạch cầu từ $100-200 \times 10^9/l$, có tỷ lệ tử vong là 3,4% trong giai đoạn tấn công, so với tỷ lệ là 1,3% ở những trẻ có số lượng bạch cầu dưới $100 \times 10^9/l$, và tỷ lệ này tăng lên đến 10,5% ở những trẻ có số lượng bạch cầu $\geq 400 \times 10^9/l$ [167]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có một bệnh nhân BCCDL lúc nhập viện với số lượng bạch cầu $274 \times 10^9/l$, nhưng sau đó bạch cầu tiếp tục tăng lên $400 \times 10^9/l$ và trẻ đã bị rơi vào tình trạng hôn mê, khả năng do tắc mạch. Vì thế, giá trị bạch cầu đóng vai trò quan trọng và cần xử lý kịp thời.

Trong các thành phần bạch cầu, bạch cầu hạt trung tính là thành phần chính bảo vệ cơ thể chống lại nhiễm trùng. Giảm bạch cầu trung tính ($< 500/mm^3$) thường gặp trong các bệnh nhân bị bệnh bạch cầu cấp và thường dẫn đến nguy cơ nhiễm trùng. Bảng 3.11 cho thấy trong nhóm BCC có 43,2% bệnh nhân có số lượng bạch cầu trung tính $< 500/ul$. Kết quả của chúng tôi có khác so với kết quả của Nguyễn Văn Tuy. Theo đó, có 61,8% bệnh nhân có số lượng bạch cầu trung tính $< 500/ul$ [11].

Xét về nồng độ hemoglobin, trong nhóm BCC, nồng độ Hb trong khoảng 7-11 g/dl vẫn chiếm tỷ lệ ưu thế, 62,7%, cũng như trong hai nhóm BCCDL và BCCDT (59,0% và 71,4%). Tỷ lệ bệnh nhân có Hb $< 11g/dl$ trong nhóm chúng tôi chiếm tỷ lệ 92,4%, tăng nhẹ so với một số nghiên cứu khác. Theo Barbosa tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ Hb $< 11g/dl$ chiếm tỷ lệ 88% [21]. Nguyên nhân thiếu máu là do các tế bào blast xâm lấn và phát triển trong tủy xương, lấn át sự phát triển các dòng tế bào máu bình thường, dẫn đến sự sản sinh dòng hồng cầu bị giảm. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ Hb $< 11g/dl$ chiếm tỷ lệ cao, có thể do nhóm bệnh nhân của chúng tôi từ khi có triệu chứng đến khi vào viện không được sớm. Chính vì việc thiếu máu, dẫn đến giảm nồng độ Hb lưu hành trong tuần hoàn, gây ra các biểu hiện của giảm oxy, bệnh nhân có cảm giác mệt mỏi, ít vận động, đau đầu.

Xét về số lượng tiểu cầu, trong bệnh bạch cầu cấp, giảm tiểu cầu xảy ra trong hầu hết các bệnh nhân, xấp xỉ 75% bệnh nhân có tiểu cầu $< 100.000/\text{mm}^3$. Sự trầm trọng và mức độ chảy máu có liên quan với mức độ giảm tiểu cầu. Xuất huyết nặng ít gặp cho dù tiểu cầu dưới $20.000/\text{mm}^3$, trừ khi có sốt và nhiễm trùng đi kèm (cả hai yếu tố này ảnh hưởng đến khả năng sống sót và chức năng tiểu cầu) [128]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 24,6% bệnh nhân BCC có số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/\text{l}$. Tỷ lệ này ở trong nhóm BCCDL và nhóm BCCT lần lượt là 21,7% và 31,4%. Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả khác trong nước cũng như trên thế giới. Nghiên cứu của Shalal cho thấy có 25,5% bệnh nhân BCCDL có số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/\text{l}$ [152]. Theo ghi nhận nghiên cứu của các tác giả khác, trong nhóm BCCDL, tỷ lệ bệnh nhân có số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/\text{l}$ dao động từ 28-30% [65],[128].

4.1.3.2. Tỷ lệ tế bào non ác tính trong máu ngoại vi

Bình thường bạch cầu non không có xuất hiện trong máu ngoại vi, trong bệnh bạch cầu cấp, tế bào bạch cầu non xuất hiện trong máu ngoại vi. Sự xuất hiện bạch cầu non trong máu ngoại vi khi không có bạch cầu trung gian tạo nên khoảng trống bạch cầu.

Kết quả bảng 3.9 cho thấy tỷ lệ bạch cầu non trong máu ngoại vi $\geq 25\%$ chiếm tỷ lệ nhiều nhất, với tỷ lệ lần lượt ở các nhóm BCC, BCCDL và BCCDT là 50,0%, 55,4%, 37,1%.

Theo nghiên cứu của Dai, tìm hiểu về mối liên quan giữa số lượng tế bào non ác tính ngoại biên ban đầu với tiên lượng lâm sàng của trẻ bị BCCDL. Kết quả cho thấy những trẻ B-BCCDL với số lượng tế bào non ác tính ngoại vi thấp có thời gian sống tốt hơn so với những trẻ có số lượng tế bào non ác tính cao. Ngược lại, đối với T-BCCDL, nhóm có số lượng tế bào non ác tính ngoại vi thấp lại có thời gian sống xấu hơn so với nhóm có số lượng tế bào non ác tính trung bình và cao [43]. Những kết quả đó cho thấy rằng tỷ lệ tế bào non ác tính ngoại vi thấp tại thời điểm chẩn đoán có liên kết với tiên lượng khác nhau giữa nhóm B-BCCDL và T-BCCDL.

4.1.3.3 Đặc điểm tủy đồ trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại bảng 3.10 cho thấy giá trị trung vị tế bào tủy của nhóm BCC là $100,0 \times 10^9/l$ và không khác biệt giữa 2 nhóm BCCDL và BCCDT. Kết quả của chúng tôi tương tự với kết quả của Nguyễn Tư Hùng, theo đó, số lượng tế bào tủy xương trung bình của nhóm BCC là $75,44 \pm 37,24 \times 10^9/l$, và số lượng tế bào tủy xương trung bình giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT khác biệt không có ý nghĩa thống kê [4].

Tế bào bạch cầu non hiện diện trong tủy đồ $\geq 50\%$ chiếm tỷ lệ 65,3% trong nhóm BCC, 79,5% trong nhóm BCCDL và chỉ có 31,4% trong nhóm BCCDT. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có khác biệt so với tác giả Nguyễn Tư Hùng, theo đó tỷ lệ bạch cầu non trong tủy đồ khác biệt giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT nhưng không có ý nghĩa thống kê [4].

4.1.3.4. Các đặc điểm sinh hóa

LDH tồn tại trong nhiều hệ thống tế bào khác nhau, và thường tăng sau khi các tế bào hoặc mô bị tổn thương. LDH huyết thanh được coi là một chỉ điểm của tổn thương và hoại tử tế bào. LDH tăng trong nhiều bệnh lý ác tính và những bệnh lý không phải ác tính và người ta tìm thấy mối liên quan giữa các tế bào ung thư và mức độ tăng LDH. Cho tới nay, đã có một số nghiên cứu về nồng độ LDH trong bệnh bạch cầu cấp [136].

Bảng 3.11 cho thấy 89,4% bệnh nhân BCC có giá trị LDH tăng, và sự gia tăng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT ($p > 0,05$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Suarez, theo đó giá trị LDH trung bình của nhóm BCCDL và BCCDT khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với giá trị lần lượt là $970 \pm 105 u/l$, và $817 \pm 161 u/l$ [165].

Nồng độ acid uric trong máu tăng cao là do sự tăng sinh quá mức của các tế bào khối u với sự tăng tạo ra sản phẩm acid uric và dị hóa purin. Do đó, tăng acid uric thường thấy nhất trong những bệnh nhân có gánh nặng tế bào bạch cầu lớn. Đôi khi, tăng acid uric và suy thận báo trước sự hiện diện các bệnh lý huyết học ác tính, mặc dầu trên lâm sàng trẻ có thể chưa xuất hiện các biểu hiện lâm sàng thể hiện bệnh lý ác tính [80]. Với những trẻ có tăng acid uric, cần theo dõi sát, đề phòng hội chứng ly giải u.

Bảng 3.11 cho thấy có 16,8% bệnh nhân BCC có tăng nồng độ acid uric. Nhóm BCCDL có 20,3% bệnh nhân tăng acid uric và nhóm BCCDT có 8,8% bệnh nhân tăng acid uric. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ bệnh nhân tăng acid uric nhiều hơn các nghiên cứu khác. Theo Sivinir, có 12,6% bệnh nhân BCCDL có tăng acid uric [150]. Điều này có thể lý giải do bệnh nhân của chúng tôi đến muộn, nên gánh nặng khối u tăng.

Tăng men gan có thể gặp tại thời điểm chẩn đoán do tế bào blast thâm nhiễm ở gan. Rối loạn chức năng gan thường nhẹ và không liên quan đến mức độ gan lớn. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 35,7% bệnh nhân có men gan tăng. Nghiên cứu Sharma cho thấy có 16,45% bệnh nhân BCC có tăng SGOT, 45,7% có tăng SGPT [153].

Suy thận gặp trong 1 bệnh nhân BCCDL, chiếm tỷ lệ 0,9%. Trong BCC, nguyên nhân gây suy thận thường gặp trong hội chứng ly giải u, do các tế bào ung thư tự chết với số lượng lớn, hoặc dưới tác động của hóa chất. Bên cạnh đó, còn có thể do các thuốc gây độc tính lên thận hoặc sốc nhiễm trùng. Suy thận là triệu chứng khởi đầu thường hiếm gặp trong bệnh bạch cầu cấp [24]. Bhatia trong nghiên cứu của mình cũng mô tả các ca bệnh nhân bị suy thận trong BCCDL [24].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 25% bệnh nhân có giá trị CRP tăng tại thời điểm nhập viện. CRP là một protein ở pha cấp tính được sản xuất ở gan. Sau khi nhiễm trùng vài giờ, nồng độ CRP tăng lên. CRP được xem là một chỉ điểm để đánh giá nhiễm trùng [154].

4.2. XÁC ĐỊNH CÁC BIẾN ĐỔI GEN TRONG BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

4.2.1. Các biến đổi gen trong bạch cầu cấp dòng lympho

4.2.1.1. Các biến đổi gen thường gặp trong bạch cầu cấp dòng lympho

Điểm mới trong nghiên cứu của chúng tôi đó chính là sử dụng kit Hemavision 28N với phương pháp multiplex RT-PCR để xác định 28 chuyển đoạn nhiễm sắc thể gây ra bệnh bạch cầu cấp bao gồm hơn 145 điểm đứt gãy và các biến thể mRNA liên quan. Hơn nữa, còn giúp phát hiện các điểm đứt gãy và các biến thể mRNA mới cho 28 chuyển đoạn. Trước đây, các nghiên

cứu về gen ở Việt Nam hầu hết khảo sát các biến đổi gen bằng phương pháp RT-PCR với 4 dung hợp gen cơ bản. Riêng trong nghiên cứu về gen của Phan Nguyễn Thanh Vân, những bệnh nhân không biểu hiện gen qua khảo sát bằng RT-PCR với 4 tổ hợp gen cơ bản, sẽ được thực hiện multiplex RT-PCR [12]. Qua khảo sát gen trên 83 bệnh nhân BCCDL, chúng tôi phát hiện 4 tổ hợp dung hợp gen thường gặp, và 1 dung hợp gen *SET/NUP214*, lần đầu tiên được ghi nhận tại Việt Nam. Tỷ lệ đột biến dung hợp gen nói chung chiếm tỷ lệ 24,1%. Trong đó, dung hợp gen *TEL/AML1* chiếm tỷ lệ nhiều nhất, 12,1%, dung hợp gen *BCR/ABL1* chiếm tỷ lệ 4,8%, dung hợp gen *E2A/PBX1* chiếm tỷ lệ 3,6%, dung hợp gen *MLL/AF4* chiếm tỷ lệ 2,4% và dung hợp gen *SET/NUP214* chiếm tỷ lệ 1,2%.

Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp một số gen khảo sát với một số nghiên cứu tại Việt Nam và trên thế giới trong bệnh BCCDL

Tác giả (năm)	Kỹ thuật	<i>TEL/AML1</i> (%)	<i>BCR/ABL1</i> (%)	<i>E2A/PBX1</i> (%)	<i>MLL/AF4</i> (%)	Một số dung hợp gen ít gặp
H.T.Hồng (2021) [3]	RT-PCR	13,5	8,3	3,5	2,8	
P.N.T.Vân (2013) [12]	RT-PCR+ Multiplex- PCR	9,5	9,5	4,5	2,8	<i>MLL/MLLT10</i> (0,6%), <i>STIL/TAL1</i> (1,2%), <i>FUS/ERG</i> (0,6%)
Alonso (2012) [17]	RT-PCR	12,9	1,6	5,0	10,5	<i>STIL/TAL1</i> (27,7%)
Pui (2011) [135]	RT-PCR	25	3	5	8	
Veerman (2009) [173]	RT-PCR	15,8	1,7	2,6	2,1	
Aldrich [15]	FISH	19	1,8	3,9	3,6	
Park [120]	Multiplex- PCR	8,0	18,2	2,7	1,6	<i>SET/NUP214</i> : 0,5% <i>STIL/TAL1</i> : 2,1%
Chúng tôi	Multiplex- PCR	12,1	4,8	3,6	2,4	<i>SET/NUP214</i> : 1,2%

Như vậy, tỷ lệ đột biến của nghiên cứu chúng tôi cũng có tỷ lệ tương đồng với một số tác giả, như tác giả Veerman [173], Hoàng Thị Hồng [3], và cũng gặp tỷ lệ thấp hơn so với một số tác giả khác, như Pui [135]. Nhưng tất cả đều có một điểm chung là tần suất đột biến gen *TEL/AML1* luôn chiếm tỷ lệ cao nhất. Đây là chuyển đoạn thường gặp nhất trong BCCDL, nhất là trong B-BCCDL [86]. Trong nghiên cứu của Aldrich, tác giả đã nêu ra tần suất của *TEL/AML1* thay đổi từ 0-28%, tùy theo từng chủng tộc [15]. Tần suất của hai đột biến gen *E2A/PBX1* và *MLL/AF4* của chúng tôi có tỷ lệ gần tương đồng với kết quả của các tác giả Veerman, Aldrich, Hoàng Thị Hồng [3],[15],[173] và thấp hơn so với kết quả của Pui, Alonso và Phan Nguyễn Thanh Vân [17],[19],[135]. Tần suất đột biến gen *BCR/ABL1* trong nghiên cứu của chúng tôi là 4,8%, cao hơn so với kết quả của một số tác giả Aldrich [15], Veerman [173], Pui, Alonso, nhưng thấp hơn so với kết quả của Hoàng Thị Hồng và Phan Nguyễn Thanh Vân và Park [3],[12],[120]. Xét về gen *E2A/PBX1*, theo nghiên cứu của Inaba, gen *E2A/PBX1* gặp nhiều ở người Mỹ gốc Phi và thường có biểu hiện tái phát hệ thần kinh trung ương [71].

Đặc biệt, nghiên cứu của chúng tôi phát hiện đột biến gen mới, dung hợp gen *SET/NUP214*, lần đầu tiên được báo cáo tại Việt Nam. Bệnh nhân mang dung hợp gen *SET/NUP214* trong nghiên cứu của chúng tôi là một bệnh nhân nam 11 tuổi, vào viện vì lý do ho, phổi nghe rales. Công thức máu cho thấy bạch cầu tăng cao $122,43 \times 10^9/l$, tủy đồ chẩn đoán T-BCCDL. Sau giai đoạn tấn công, trẻ lui bệnh. Điều này phù hợp với nghiên cứu của các tác giả trên thế giới, đây là một đột biến dung hợp gen ít gặp và ghi nhận ở bệnh nhân T-BCCDL. Theo Zhou, trong khảo sát 256 bệnh nhân BCC, có hai bệnh nhân có đột biến *SET/NUP214*, và cả hai bệnh nhân này đều là T-BCCDL [189]. Nghiên cứu của Vlierberghe trên 67 bệnh nhân T-BCCDL, phát hiện 3 bệnh nhân có đột biến *SET/NUP214* nhờ làm phân tích RT-PCR. Tác giả xác nhận *SET/NUP214* là một dung hợp gen tái diễn mới trong T-BCCDL.

SET/NUP214 có thể đóng góp vào cơ chế bệnh sinh T-BCCDL bằng cách ức chế tế bào T trưởng thành thông qua sự kích hoạt phiên mã gen *HOXA* [172]. Hiện tại trên thế giới, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu nói về dung hợp gen *SET/NUP214*. Các nghiên cứu cho thấy dung hợp gen *SET/NUP214* gặp tỷ lệ dưới 1%, ở độ tuổi trung bình từ 10-11 tuổi. Những bệnh nhân mang dung hợp gen này sẽ có tần suất tái phát cao, và có tiên lượng xấu hơn so với những bệnh nhân không có mang dung hợp gen này [60],[128],[180]. Điều này phù hợp với ca bệnh nhân mang dung hợp gen *SET/NUP214* trong nghiên cứu của chúng tôi, đó là bệnh nhân 11 tuổi. Hiện bệnh nhân đang ở giai đoạn duy trì, chưa xảy ra biến cố tái phát, nhưng chúng tôi sẽ theo dõi sát. Xét về các điều trị mới cho những bệnh nhân có mang dung hợp gen *SET/NUP214* vẫn đang được nghiên cứu [172].

4.2.1.2. Các biến đổi gen theo phân nhóm nguy cơ bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.13 cho thấy dung hợp gen *TEL/AML1* gặp ở 15,7% nhóm bệnh nhân nguy cơ thường, và 6,3% nhóm nguy cơ cao. Dung hợp gen *BCR/ABL1* gặp ở 9,4% nhóm nguy cơ cao và 1,9% nhóm nguy cơ thường. Gen *SET/NUP214* gặp tỷ lệ 3,1% nhóm nguy cơ cao và không có ở nhóm nguy cơ thường. Điều này cũng phù hợp nghiên cứu của các tác giả như Pui, Hiroto, dung hợp gen *TEL/AML1* gắn với tiên lượng thuận lợi, dung hợp gen *BCR/ABL1* thường đi kèm với tăng bạch cầu, và gặp ở tuổi lớn [72],[135]. Dung hợp gen *SET/NUP214* có độ tuổi trung bình là 10-11 tuổi, với độ tuổi này sẽ được xếp vào nguy cơ cao [128]. Nghiên cứu của Jeha cũng cho kết quả tương tự, dung hợp gen *ETV6/RUNX1* gặp ở 86,7% nguy cơ thấp, trong khi dung hợp gen *BCR/ABL1* gặp toàn bộ ở nhóm nguy cơ cao, không xảy ra ở nhóm nguy cơ thấp [75].

4.2.1.3. Các biến đổi gen theo phân nhóm dấu ấn miễn dịch

Bảng 3.14 cho thấy các dấu ấn miễn dịch tế bào không có liên quan với các dung hợp gen. Kết quả của chúng tôi có khác so với kết quả của Phan Nguyễn Thanh Vân, theo đó các dấu ấn miễn dịch tế bào có liên quan với tổ hợp gen có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) [12]. Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với ghi nhận của các tác giả trên thế giới, các đột biến gen trong nhóm T-BCCDL chưa thấy có giá trị tiên lượng và do đó, không được dùng để hướng dẫn phân nhóm nguy cơ trong điều trị [128].

4.2.1.4. Các biến đổi gen theo phân nhóm tiên lượng bạch cầu cấp dòng lympho

Trong vài thập niên, các nghiên cứu cho thấy phần lớn các trẻ BCCDL có các thay đổi về số lượng cũng như cấu trúc nhiễm sắc thể. Những sự thay thế này là chìa khóa quan trọng trong sinh bệnh học và giúp cho nhà lâm sàng đánh giá tiên lượng và đưa ra những biện pháp điều trị thích hợp cho từng bệnh nhi. Dựa vào các biến đổi gen, người ta phân chia làm ba nhóm tiên lượng: tiên lượng tốt, tiên lượng xấu và tiên lượng trung bình. Bảng 3.15 trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 10 bệnh nhi có đột biến gen *TEL/AML1*, chiếm tỷ lệ 12,1% được phân nhóm tiên lượng tốt. Theo các nghiên cứu trên thế giới, đột biến gen *TEL/AML1* chiếm tỷ lệ 15-25%, và có tiên lượng rất tốt [65],[71],[135]. Bệnh nhân có đột biến gen *TEL/AML1* có thời gian sống không bệnh trong vòng 5 năm từ 80-95% [135]. Có 6 bệnh nhi được xếp vào nhóm tiên lượng xấu, chiếm tỷ lệ 7,2%. Trong đó có 4 bệnh nhi có đột biến *BCR/ABL1* và 2 bệnh nhi với đột biến *MLL/AF4*. Theo Inaba và Pui, đột biến gen *BCR/ABL1* gặp ở người lớn nhiều hơn trẻ em, chiếm tỷ lệ khoảng 2-4% và có tiên lượng xấu. Tuy nhiên, với sự ra đời của thuốc ức chế tyrosine kinase, nên tiên lượng đã được cải thiện, tỷ lệ sống không bệnh trong vòng 3 năm khoảng 60-80% [71],[135]. Đột biến *MLL/AF4* gặp nhiều ở trẻ nhỏ, chiếm tỷ lệ 1-2%, có tiên lượng xấu, thời gian sống không bệnh trong vòng 5 năm là 30-40% [135]. Và những bệnh nhân còn lại không thuộc hai nhóm trên sẽ được xếp vào nhóm tiên lượng trung bình, chiếm tỷ lệ 80,7%.

4.2.2. Các biến đổi gen trong bạch cầu cấp dòng tủy

4.2.2.1. Các biến đổi gen thường gặp trong bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.16 cho thấy các tổ hợp gen thường gặp trong bệnh bạch cầu cấp dòng tủy. Trong đó, tổ hợp gen *AML1/ETO* chiếm tỷ lệ cao nhất 14,2%, tiếp đến là tổ hợp gen *PML/RARA* (8,6%), *MLL/AF6* (5,7%), *KMT2A/MLLT10* (2,9%). Một điểm mới trong nghiên cứu của chúng tôi: phát hiện một bệnh nhân BCCDT mang hai dung hợp gen *AML1/ETO* và *BCR/ABL1*. Đây là một ca rất đặc biệt, được ghi nhận đầu tiên tại Việt Nam. Đối với BCCDT, tồn tại dung hợp gen *BCR/ABL1* đã là một trường hợp rất hiếm [113]. Và trường hợp tồn tại đồng thời hai dung hợp gen trên rất hiếm khi xảy ra. Theo báo cáo y văn trên thế giới, chỉ gặp một số rất ít các ca có tồn tại đồng thời hai dung hợp gen *AML1/ETO* và *BCR/ABL1* và những bệnh nhân này sẽ có tiên lượng xấu [157]. Điều này phù hợp với bệnh nhân của chúng tôi, bệnh nhân nam 7 tuổi, vào viện vì thiếu máu, xuất huyết. Phân tích gen, bệnh nhân mang cả hai dung hợp gen *AML1/ETO* và *BCR/ABL1*. Sau giai đoạn tấn công, bệnh nhân chỉ đạt lui bệnh một phần. Bệnh nhân được tiếp tục hóa chất và đã lui bệnh. Nhưng sau đó một thời gian, bệnh nhân lại xuất hiện tái phát tủy.

So với kết quả của một số tác giả trong nước, nghiên cứu của chúng tôi có điểm mới, vì chúng tôi làm xét nghiệm multiplex RT-PCR giúp phát hiện 28 đột biến gen. Trong nghiên cứu của Phan Nguyễn Thanh Vân, chỉ những bệnh nhân làm xét nghiệm RT-PCR với 4 dung hợp gen thường gặp, không phát hiện đột biến, mới tiến hành làm xét nghiệm multiplex-PCR [12], trong nghiên cứu của Vũ Minh Phương, tiến hành làm xét nghiệm RT-PCR và nested PCR phát hiện ba biến đổi gen *AML1/ETO*, *PML/RARA* và *CBFB/MYH11* [8]. Kết quả của chúng tôi có một số điểm tương đồng với các kết quả nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước. Bảng dưới đây sẽ mô tả các kết quả.

Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp một số gen khảo sát với một số nghiên cứu tại Việt Nam và trên thế giới trong bệnh BCCDT

Tác giả (năm)	Kỹ thuật	<i>AML1/ETO</i> (%)	<i>PML/RARA</i> (%)	<i>CBFB/MYH11</i> (%)	<i>MLL/AF9</i> (%)	Một số gen ít gặp
Vũ Minh Phương (2009) [8]	RT-PCR, nested PCR	20	22,7	6,4		
P.N.T.Vân (2013) [12]	RT-PCR+ Multiplex- PCR	11,7	6,8	4,3	3,1	<i>MLL/MLLT4</i> : 0,6%, <i>MLL/MLLT10</i> : 0,6%
Rubnitz (2012) [145]	RT-PCR	15		10	<i>MLL</i> (20%)	<i>MLL/MLLT4</i> : 1%, <i>MLL/MLLT10</i> : 1%
Kumar (2011) [95]	RT-PCR	10	10	5		<i>MLL</i> : 4%
Quessada (2021)	RT-PCR, RQ-PCR, FISH	12-15	6-10	6-9	5-9	<i>KMT2A/MLLT10</i> : 2-3% <i>MLL/AF6</i> : 1-2%
Park [120]	Multiplex- PCR	6,5	12,9	4,4		<i>BCR/ABL1</i> : 1,15% <i>KMT2A/MLLT3</i> : 1,5% <i>KMT2A/AFDN</i> : 0,96% <i>KMT2A/MLLT10</i> : 0,96%
Chúng tôi	Multiplex- PCR	14,2	8,6			<i>MLL/AF6</i> : 5,7%, <i>KMT2A/MLLT10</i> : 2,9%, <i>AML1/ETO+BCR/ABL1</i> : 2,9%

Qua bảng trên cho thấy tần suất đột biến *AML1/ETO* trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỷ lệ cao nhất (14,2%), tương đương với kết quả của tác giả Quessa và Rubnitz [139],[145], cao hơn so với kết quả của Phan Nguyễn Thanh Vân và Kumar [11],[95], và thấp hơn so với kết quả của Vũ Minh Phương [8]. Tất cả các nghiên cứu đều cho thấy đột biến *AML1/ETO* được tạo bởi chuyển đoạn t(8;21)(q22;q22), chiếm tỷ lệ cao nhất trong các đột biến gen của BCCDT, và đây là một đột biến có tiên lượng thuận lợi [128],[135],[139]. Tiếp đến trong kết quả của chúng tôi là đột biến gen *PML/RARA*, chiếm tỷ lệ 8,6%, gần tương đồng với kết quả của Quessada cũng như Phan Nguyễn Thanh

Vân, và đây cũng là đột biến có tỷ lệ cao thứ hai trong các đột biến của BCCDT [12],[135],[139]. Nhờ vào kỹ thuật Multiplex-PCR, nghiên cứu của chúng tôi phát hiện ra ba đột biến gen ít gặp, mà trong nghiên cứu của Vũ Minh Phương chỉ sử dụng kỹ thuật RT-PCR chưa phát hiện ra, đó là đột biến *MLL/AF6* với tỷ lệ 5,7% và *KMT2A/MLLT10* (2,9%) và đột biến dung hợp gen *AML1/ETO +BCR/ABL1* với tỷ lệ 2,9%. Nghiên cứu của Park với kỹ thuật multiplex-PCR cũng phát hiện ra nhiều dung hợp gen như: *BCR/ABL1*, *MT2A/MLLT3*, *KMT2A/AFDN*, *KMT2A/MLLT10* [120]. Theo nghiên cứu của Quessada, tần suất hai đột biến dung hợp gen *MLL/AF6* và *KMT2A/MLLT10* dao động lần lượt là: 1-2% và 2-3% [139]. Đây là những đột biến liên quan đến *MLL* và có tiên lượng xấu. Vì thế, việc phát hiện các đột biến trong chẩn đoán BCCDT rất quan trọng.

4.2.2.2. Các biến đổi gen theo phân loại dưới nhóm bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.17 cho thấy các gen *AML1/ETO* đa phần được phát hiện ở nhóm M2. Trong nhóm M3, đa phần bệnh nhân có đột biến dung hợp gen *PML/RARA*. Tuy nhiên, dấu ấn miễn dịch tế bào và tổ hợp gen liên quan không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

4.2.2.3. Phân nhóm tiên lượng bạch cầu cấp dòng tủy theo các biến đổi gen

Dựa vào các đột biến gen được phát hiện, nhiều tác giả đã đưa ra các tiêu chuẩn để phân loại tiên lượng. Trong đó, những bệnh nhân có đột biến *AML1/ETO* và *PML/RARA* được xếp vào nhóm tiên lượng tốt, với thời gian sống toàn bộ trong 5 năm lần lượt là 75-85% và 90% [135]. Vì thế, trong kết quả của chúng tôi có 8 bệnh nhân được xếp vào nhóm tiên lượng tốt, chiếm tỷ lệ 22,9%. Nhóm bệnh nhân của chúng tôi, có 4 bệnh nhân được xếp vào tiên lượng xấu, chiếm tỷ lệ 11,4%. Đó là những bệnh nhân có mang các đột biến *MLL/AF6*, *KMT2A/MLLT10* và *BCR/ABL1 + AML1/ETO*. Theo Singh, đột biến dung hợp gen đơn thuần *AML1/ETO* được xếp vào nhóm tiên lượng tốt, thế nhưng sự phối hợp với dung hợp gen *BCR/ABL1*, một dung hợp gen có tiên lượng xấu, sẽ làm cho bệnh nhân có tiên lượng xấu [157]. Theo Pui và

Marana, đối với đột biến *MLL/AF6*, có tiên lượng xấu với thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh trong 5 năm lần lượt là 22% và 11% [106],[135]. Theo Rubnitz, Quessada, đột biến *KMT2A/MLLT10* có tiên lượng xấu [139],[145]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 23 bệnh nhân còn lại, chiếm tỷ lệ 65,7% được xếp vào nhóm tiên lượng trung bình.

4.2.3. Các biến đổi gen được lý học trong quá trình điều trị bạch cầu cấp dòng lympho

Trong điều trị bạch cầu cấp dòng lympho, 6-mercaptopurine là một thuốc mà bệnh nhân phải dùng lâu dài. Trong giai đoạn duy trì, bệnh nhân dùng hàng ngày trong khoảng thời gian từ 2-3 năm để đạt được sự lui bệnh lâu dài [94]. Tuy nhiên, chuyển hóa thuốc mercaptopurine lại khác nhau trên mỗi bệnh nhân. Có những bệnh nhân không xảy ra biến chứng gì, thế nhưng, có những bệnh nhân xuất hiện biến chứng suy tủy, tăng men gan, đặc biệt có những ca bị suy tủy nặng, đưa đến nhiễm trùng nặng, đe dọa tử vong [94]. Những nghiên cứu trước đây đã cho thấy độc tính của mercaptopurine có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều gen di truyền *TPMT* và *NUDT15*, mã hóa các enzyme chính liên quan đến chuyển hóa mercaptopurine, đặc biệt trong sự hình thành TGN và DNA-TG [143],[183].

Trong nhóm BCCDL, chúng tôi có 83 bệnh nhân và có 72 bệnh nhân được làm đồng thời gen *NUDT15* và *TPMT*. Và kết quả cho thấy có bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*. Đây là điểm mới của đề tài.

4.2.3.1. Tỷ lệ đa hình gen *NUDT15*

Bảng 3.19 cho thấy có 18,1% bệnh nhân có đa hình gen *NUDT15*. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ gần tương đồng với các nghiên cứu thực hiện trên chủng tộc Châu Á. Tần suất có biến thể gen *NUDT15* ở Trung Quốc dao động từ 16,1%- 30,4%, ở Trung và Nam Châu Á là 13,5% [188]. Theo nghiên cứu của Jena trên các trẻ ở phía Nam- Châu Á đã cho thấy tỷ lệ có đa hình gen *NUDT15* là 16,9% [77]. Nghiên cứu của Liang trên các trẻ ở Đài Loan cho thấy tần suất có đa hình gen *NUDT15* là 11,6% [98]. Một nghiên

cứu khác của Moriyama thực hiện trên các trẻ Nhật Bản, kết quả cho thấy tần suất của đa hình gen *NUDT15* là 20% [110]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp hơn kết quả nghiên cứu của Huỳnh Hữu Thân, theo đó tần suất đa hình gen *NUDT15* là 32,86% [9].

Thế nhưng, tần suất đa hình gen *NUDT15* cao hơn so với kết quả của các trẻ Châu Âu và Châu Mỹ La tinh. Tần suất xuất hiện đa hình gen *NUDT15* chỉ là 12,3% đối với các trẻ gốc Tây Ban Nha, Châu Mỹ La Tinh, tần suất chỉ là 2,4% đối với trẻ Châu Âu và hầu như không thấy ở Châu Phi [188]. Nghiên cứu của Ferreira ở Brazil cho thấy tỷ lệ đa hình gen *NUDT15* dao động từ 4,2%-7,7% [51]. Như vậy, tỷ lệ có xuất hiện đa hình gen *NUDT15* khác nhau giữa các chủng tộc và vì thế trong khi điều trị bệnh nhân, chúng ta cần xác định bệnh nhân nào có xuất hiện đa hình gen, để từ đó điều chỉnh liều thuốc phù hợp với từng cá thể, từng chủng tộc.

4.2.3.2. Tần suất alen và kiểu gen *NUDT15* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.20 cho thấy tần suất alen *NUDT15**1 chiếm tỷ lệ ưu thế, 90,2%. Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận được bốn kiểu alen biến thể: *NUDT15**2, *NUDT15**3, *NUDT15**5, *NUDT15**6. Trong đó alen *NUDT15**3 chiếm tỷ lệ nhiều nhất, 6,3%. Tiếp đến, alen *NUDT15**6 chiếm tỷ lệ 2,1%, và hai alen *NUDT15**2 và *NUDT15**5 có tỷ lệ bằng nhau, 0,7%. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp hơn so với nghiên cứu của Huỳnh Hữu Thân. Nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ thấp hơn, vì chúng tôi tính theo alen, nên mỗi bệnh nhân có hai alen, còn tác giả Huỳnh Hữu Thân chỉ tính theo 1 alen bị biến đổi. Theo đó, tỷ lệ kiểu biến thể *NUDT15**3 chiếm tỷ lệ cao nhất 18,57%, kiểu biến thể *6 *NUDT15* chiếm tỷ lệ 5,71% [9]. Nghiên cứu của Suarez-Kurtz so sánh sự phân bố của các kiểu biến thể *NUDT15* trên người thổ dân Mỹ và Châu Âu đã cho thấy những sự khác biệt. Tần suất alen *2, *3 *NUDT15* chiếm tỷ lệ 13,1% ở người thổ dân Mỹ, trong khi không gặp ở người Châu Âu. Tần suất kiểu biến thể *4 *NUDT15* gặp 1,3% và 1,9% ở người thổ dân Mỹ cũng như người

Châu Âu [164]. Đồng thời bảng kết quả dưới đây mô tả các kiểu biến thể tại các dân tộc khác nhau trên thế giới. Theo đó, tần suất luôn gặp ở trẻ Châu Á nhiều hơn so với các trẻ ở Châu Âu và Châu Mỹ La Tinh [188].

Bảng 4.4. So sánh tần suất các alen *NUDT15* với các chủng tộc khác trên thế giới [188]

Alen <i>NUDT15</i>	Chúng tôi (n=72) (%)	Han (n=675) (%)	Uighur (n=118) (%)	Kirghiz (n=126) (%)	Dai (n=152) (%)	Trung/Nam Châu Á (%)	Đông Châu Á (%)	Châu Âu (%)	Châu Mỹ La Tinh (%)
*1	90,2	83,8	91,5	90,5	91,8	93	87,9	99,3	93,6
*3	6,3	8,1	6,4	8,7	3,6	6,7	6,1	0,2	0,8
*6	2,1	1,4	0,4	0	2,0	0,2	1,3	0,3	0,2
*2	0,7	5,0	1,3	0,4	2,0	0	3,5	0	3,7
*5	0,7	1,4	0	0,4	0,7	0	1,1	0	0

Như vậy, nhìn vào bảng 4.4, chúng ta thấy được tỷ lệ bệnh nhân có alen *NUDT15**3 trong nghiên cứu chúng tôi cũng như các nghiên cứu khác, chiếm tỷ lệ cao nhất, và đây là một alen mất chức năng chuyển hóa thuốc mercaptopurine, làm cho toàn bộ thuốc 6-MP sẽ được chuyển hóa thành DNA-TG, gây độc tế bào [186]. Tác giả Relling đã đưa ra các kết luận về chức năng của mỗi alen. Theo đó, các alen *1: có chức năng bình thường, các alen mất chức năng bao gồm: *2, *3. Các alen chức năng không rõ ràng: *4, *5, *6, *7, *8, *9 [143].

Xét về kiểu gen, bảng 3.20 cho thấy kiểu gen hoang dại *NUDT15**1/*1 chiếm tỷ lệ cao nhất, 81,9%. Các đa hình gen *NUDT15* chiếm tỷ lệ 18,1%. Trong đó, kiểu gen *NUDT15**1/*3 chiếm tỷ lệ cao nhất, 11,1%. Kiểu gen *NUDT15**1/*6 chiếm tỷ lệ 4,2%, và hai kiểu gen *NUDT15**1/*2 và *NUDT15**3/*5 chiếm tỷ lệ 1,4%. Đối với bệnh nhân có dạng kiểu gen dị hợp tử kép *NUDT15**3/*5, trước khi kết luận, chúng tôi có tiến hành phân tích gen cho cả bố mẹ bệnh nhân và kết quả cho thấy bệnh nhân nhận các biến thể alen

từ cả bố và mẹ. Kết quả của chúng tôi có tỷ lệ cao hơn nhẹ so với kết quả nghiên cứu của Puangpetch trên các bệnh nhân Thái Lan, và các kiểu gen cũng gặp với tần suất khác nhau. Theo đó, tỷ lệ kiểu gen dị hợp tử chiếm tỷ lệ 14% với các kiểu gen *NUDT15**1/*2 (4%), *NUDT15**1/*3 (4%), *NUDT15**1/*6 (8%). Tỷ lệ kiểu gen đồng hợp tử *NUDT15**2/*2 chiếm tỷ lệ 1% [131]. Bảng so sánh dưới đây sẽ cho thấy tần suất các kiểu gen *NUDT15*. Trong đó, có các kiểu gen giống với kiểu gen trong nghiên cứu của chúng tôi, đồng thời có thêm các kiểu gen khác nữa. Trong đó, tần suất các dạng kiểu đa hình gen luôn thấp hơn ở các trẻ tại các nước Châu Âu và Châu Mỹ La tinh.

Bảng 4.5. So sánh các kiểu gen *NUDT15* với các dân tộc khác trên thế giới [188]

Kiểu gen <i>NUDT15</i>	Chúng tôi (n=72) (%)	Han (n=675) (%)	Uighur (n=118) (%)	Kirghiz (n=126) (%)	Dai (n=152) (%)	Trung/Nam Châu Á (%)	Đông Châu Á (%)	Châu Âu (%)	Châu Mỹ La Tinh (%)
*1/*1	81,9	69,6	83,9	81	83,6	86,5	77,2	98,8	87,7
*1/*2	1,4	8,7	2,5	0,8	3,9	0	6,2	0%	6,8
*1/*3	11,1	13,0	11,0	17,5	7,2	12,5	10,6	0,4	1,4
*1/*6	4,2	2,7	0,8	0	3,9	0,4	2,3	0,6	0,3
*3/*5	1,4	0,4	0	0	0	0	0,1	0	0
*2/*3	0	1,3	0	0	0	0	0,4	0	0,1
*3/*3	0	0,7	0,8	0	0	0,4	0,4	0	0
*5/*6	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0

Theo bảng 4.5, kiểu gen *NUDT15**1/*6 trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỷ lệ cao nhất so với các nghiên cứu khác. Kiểu gen *NUDT15**3/*5 trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ 1,4%, nhưng vẫn có tỷ lệ cao nhất khi so sánh với các nghiên cứu khác.

4.2.3.3. Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine theo đa hình gen *NUDT15*

Từ các nghiên cứu phát hiện được các kiểu gen khác nhau của *NUDT15*, các nhà nghiên cứu đã phân chia các mức độ chuyển hóa thuốc khác nhau. Kiểu gen *NUDT15**1/*1 chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường, kiểu gen *NUDT15**1/*2 và *NUDT15**1/*3, chuyển hóa thuốc trung gian, kiểu gen *NUDT15**2/*5, *NUDT15**3/*6, *NUDT15**3/*5 có khả năng chuyển hóa thuốc trung gian và các kiểu gen dị hợp tử kép như *NUDT15**2/*2, *NUDT15**3/*3, *NUDT15**2/*3 chuyển hóa thuốc kém. Kiểu gen *NUDT15**1/*4, *NUDT15**1/*5, *NUDT15**4/*5, *NUDT15**5/*6, *NUDT15**1/*6 không xác định được chuyển hóa 6-MP [143]. Vì thế, bảng 3.21 đã tập hợp lại khả năng chuyển hóa thuốc trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi. Theo đó, tỷ lệ bệnh nhân có chuyển hóa thuốc bình thường là 81,9%, chuyển hóa trung gian là 12,5%, có khả năng chuyển hóa trung gian là 1,4% và 4,2% không xác định được khả năng chuyển hóa.

Dựa vào mức độ chuyển hóa thuốc, hiệp hội ứng dụng gen và dược học di truyền đã đưa ra khuyến cáo liều sử dụng thuốc. Đối với những bệnh có mức độ chuyển hóa thuốc bình thường, không cần điều chỉnh liều 6-MP sử dụng. Tuy nhiên, với những bệnh nhân có hoạt tính chuyển hóa thuốc mức độ trung gian hay khả năng trung gian, cần giảm liều thuốc 6-MP để tránh tối đa các độc tính cho bệnh nhân, đặc biệt đối với những phác đồ đang dùng liều 6-MP 75mg/m²/ngày. Có thể dùng khởi đầu với liều 30-80% liều bình thường, sau đó điều chỉnh liều tùy thuộc vào mức độ suy tủy. Thường phải theo dõi liều thay đổi trong 2-4 tuần để đạt được sự ổn định liều. Nếu suy tủy vẫn xảy ra, cần cân nhắc giảm liều 6-MP. Đối với những bệnh nhân có chuyển hóa thuốc kém, cần khởi đầu với liều thấp 10mg/m²/ngày và điều chỉnh liều tùy theo mức độ suy tủy. Thường phải đợi 4-6 tuần để bệnh nhân đạt được sự ổn định liều. Nếu tình trạng suy tủy tiếp tục xảy ra, cần giảm liều cho bệnh nhân [143].

Trước đây, khi chưa có xét nghiệm đa hình gen *NUDT15*, chúng tôi không biết chính xác được tình trạng suy tủy do thuốc 6-MP hay methotrexate. Vì thế, việc điều chỉnh còn mang tính cách dò dẫm. Thế nhưng, kể từ khi việc xác định đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* được thực hiện, chúng tôi sẽ khởi động liều theo tính đa hình của gen, từ đó giảm được các biến chứng suy tủy, tăng men gan cho bệnh nhân. Theo kết quả của Huỳnh Hữu Thân, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về liều thuốc trung bình, liều thuốc bệnh nhân dung nạp được, giữa hai nhóm có đa hình và không có đa hình của gen *NUDT15* tại thời điểm hoàn tất 3, 6, 12 tháng điều trị duy trì [9]. Như thế, việc xác định các biến thể gen *NUDT15* rất có ý nghĩa trong thực hành lâm sàng, giúp cho thầy thuốc biết được khả năng chuyển hóa thuốc, sử dụng liều điều trị phù hợp với từng cá thể [143].

4.2.3.4. Biến đổi gen *TPMT*

Trong 72 bệnh nhân được tiến hành khảo sát biến thể gen *TPMT*, kết quả cho thấy có 5 bệnh nhân có đa hình gen *TPMT*, chiếm tỷ lệ 6,9%. Kết quả của chúng tôi cao hơn kết quả của Huỳnh Hữu Thân, tỷ lệ biến thể *TPMT* là 2,13% [9]. Sở dĩ có sự khác biệt này là do trong nghiên cứu của Huỳnh Hữu Thân, không tiến hành làm xét nghiệm gen *NUDT15* và *TPMT* đồng thời, thay vào đó chỉ làm xét nghiệm *TPMT* trên những bệnh nhân không có biến đổi gen *NUDT15*. Vì thế, đây là điểm mới trong đề tài của chúng tôi, một trong những đề tài đầu tiên tại Việt Nam tiến hành thực hiện xét nghiệm đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* cùng một thời điểm. Kết quả của chúng tôi có cao hơn so với kết quả của một số tác giả khác. Theo Jena tần suất của đa hình gen *TPMT* ở miền Nam Châu Á là 4,57% [77]. Theo Liang, tần suất có đa hình gen *TPMT* trên các trẻ ở Đài Loan là 1,6% [98]. Nghiên cứu của Stanulla trên các bệnh nhân ở Đức, cho thấy tần suất có đa hình gen *TPMT* là 7,2% [161].

Tỷ lệ gặp biến thể *TPMT* ở nhóm T-BCCDL nhiều hơn B-BCCDL có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong nghiên cứu của Stanulla, tác giả cho thấy tần suất gặp biến thể *NUDT15* ở nhóm B-BCCDL nhiều hơn nhóm T-BCCDL không có ý nghĩa thống kê [161]. Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nghiên cứu nào tìm hiểu về tần suất biến thể *TPMT* trên các dòng tế bào.

4.2.3.5. Tần suất alen và kiểu gen *TPMT* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.23 cho thấy alen *TPMT**1 chiếm tỷ lệ ưu thế 96,5%, alen *TPMT**3C chiếm tỷ lệ nhỏ 3,5%. Theo Wu, qua nghiên cứu trên 4441 cá nhân, kết quả cho thấy tần suất các alen thường gặp *2, *3A, *3B và *3C chiếm tỷ lệ lần lượt là: 0,42%, 7,74%, 0,05% và 2,22% [178]. Stanulla trong nghiên cứu cho thấy tần suất các alen *TPMT* như sau: *TPMT**1: 96,12%, *TPMT**2: 0,25%, *TPMT**3A: 2,95%, *TPMT**3C: 0,56%, *TPMT**9: 0,06% và *TPMT**11: 0,06%. Trong đó, bốn dạng alen *TPMT*: *2, *3A, *3B và *3C làm giảm hoạt tính của *TPMT* từ 80-95%. Trong khi *TPMT* có vai trò chuyển hóa mercaptopurine thành dạng bất hoạt methylmercaptopurine, hạn chế toàn bộ sản phẩm mercaptopurine được chuyển thành thioguanine nucleotides, kết hợp với DNA gây độc tế bào. Khi *TPMT* bị bất hoạt sẽ dẫn đến tạo ra nhiều thioguanine nucleotides và dẫn đến suy tủy sâu, có khả năng đe dọa tính mạng [161]. Relling trong nghiên cứu của mình cũng có thấy các alen có chức năng bình thường: *1. Alen không rõ chức năng: *3D, *24. Alen có thể suy giảm chức năng: *8. Alen không có chức năng: *2, *3A, *3B, *3C, *4 [143]. Vì thế, dựa vào các alen *TPMT* để đánh giá khả năng chuyển hóa thuốc, từ đó đưa ra liều cụ thể cho từng cá nhân.

Bảng 3.23 cho thấy trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ gặp một kiểu đa hình gen *TPMT**1/*3C, chiếm tỷ lệ 6,9%. Kiểu gen *TPMT**1/*1 chiếm ưu thế, 93,1%. Kết quả tỷ lệ đa hình gen *TPMT* chúng tôi cao hơn so với kết quả Huỳnh Hữu Thân, theo đó tác giả cũng chỉ gặp một kiểu gen *TPMT**1/*3C, với tần suất 2,13%, tỷ lệ gen *TPMT**1/*1 là 97,87% [9]. Theo Stanulla, kiểu

gen hoang dại $TPMT^*1/*1$ chiếm tỷ lệ 92,8%, có 6,8% bệnh nhân có mang gen dị hợp tử, và tỷ lệ các kiểu gen $TPMT^*2/*3A$, $TPMT^*3A/*3A$ và $TPMT^*3A/*11$ lần lượt là 0,125%, 0,25% và 0,125% [161].

4.2.3.6. Phân nhóm mức độ chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine theo đa hình gen $TPMT$

Relling trong nghiên cứu đã nêu ra được khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP khác nhau đối với các kiểu gen $TPMT$. Đối với kiểu gen $TPMT^*1/*1$ có khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường. Kiểu gen $TPMT^*1/*3C$, $TPMT^*1/*2$, $TPMT^*1/*3A$, $TPMT^*1/*3B$, và $TPMT^*1/*4$ mang chuyển hóa trung gian thuốc 6-MP. Kiểu gen $TPMT^*3A/*3A$, $TPMT^*2/*3A$, $TPMT^*3A/*3C$, $TPMT^*3C/*4$, $TPMT^*2/*3C$, $TPMT^*3A/*4$ có chuyển hóa thuốc 6-MP kém. Bảng 3.24 cho thấy 93,1% bệnh nhân có chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường và 6,9% bệnh nhân có chuyển hóa trung gian. Dựa vào khả năng chuyển hóa thuốc khác nhau, sẽ điều chỉnh liều phù hợp với từng cá thể khác nhau [143]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, 6,9% bệnh nhân có đặc tính chuyển hóa thuốc 6-MP trung gian, chúng tôi áp dụng liều 6-MP khởi đầu là 50mg/m²/ngày và chúng tôi tiếp tục theo dõi để chỉnh liều cho từng cá thể dựa trên số lượng bạch cầu trung tính, chức năng gan và theo dõi độc tính theo tiêu chuẩn CTCAE 5.0 [55].

4.2.3.7. Biến đổi gen $NUDT15$ và $TPMT$

Bảng 3.25 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân mang cả hai đa hình gen $NUDT15$ và $TPMT$ rất thấp, 1,4%, với kiểu gen cụ thể là $NUDT15^*1/*3$ và $TPMT^*1/*3C$. Đây là điểm mới trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi, bởi chưa có ghi nhận nào tại Việt Nam cho thấy bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen $NUDT15$ và $TPMT$. Trong nghiên cứu của Huỳnh Hữu Thân tại thành phố Hồ Chí Minh, không tiến hành đồng thời hai đa hình gen cùng một thời điểm, chỉ xét nghiệm đa hình gen $TPMT$ trên những bệnh nhân không có đa hình gen $NUDT15$ [9]. Kết quả của chúng tôi có tỷ lệ thấp hơn so với kết quả của Ferreira ở Brazil. Qua nghiên cứu 128 bệnh nhân, nhóm người thổ

dân Châu Mỹ (67 bệnh nhân), Ferreira cho thấy có 2 bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen, chiếm tỷ lệ 2,98%. Nhóm không phải thổ dân Châu Mỹ (61 bệnh nhân) cũng có hai bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen, chiếm tỷ lệ 3,27%. Kiểu đa hình gen đó là *NUDT15**1/*3, kết hợp với *TPMT**1/*2, hoặc *TPMT**1/*3A và *TPMT**1/*3C [51].

4.2.3.8. Khả năng chuyển hóa thuốc 6-mercaptopurine dựa trên các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*

Bảng 3.26 cho thấy 76,4% bệnh nhân có chuyển hóa thuốc 6-MP bình thường, 4,2% bệnh nhân không xác định được mức chuyển hóa thuốc 6-MP, 19,4% bệnh nhân có chuyển hóa thuốc 6-MP mức độ trung gian hoặc có khả năng chuyển hóa trung gian.

Trong điều trị, áp dụng hướng dẫn điều trị của hiệp hội ứng dụng gen và dược học di truyền, đối với những bệnh nhân có chuyển hóa trung gian hoặc khả năng chuyển hóa trung gian dựa trên một biến đổi một đa hình gen, chúng tôi khởi đầu điều trị với liều 6-MP 50mg/m²/ngày. Sau đó, kiểm tra công thức máu, chức năng gan, theo dõi độc tính 6-MP theo tiêu chuẩn CTCAE 5.0 để điều chỉnh liều [55],[143].

Đối với bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*, với kiểu gen *NUDT15**1/*3 và *TPMT**1/*3C, cả hai kiểu gen đó đều chuyển hóa trung gian thuốc 6-MP. Theo hướng dẫn điều trị của hiệp hội ứng dụng gen và dược học di truyền, những bệnh nhân mang đồng thời hai đa hình gen, làm giảm hoặc mất chức năng của hai gen *TPMT*, *NUDT15* và dẫn đến các độc tính của thuốc xảy ra rất nhiều, nặng nề. Trong điều trị, cần cân nhắc giảm liều nhiều hơn so với những bệnh nhân chỉ có một đa hình gen giảm hoặc mất chức năng [51]. Đối với bệnh nhân của chúng tôi, đây là bệnh nhân nam 3 tuổi, bệnh nhân vào viện vì sốt, thiếu máu. Thăm khám lâm sàng có gan, lách lớn. Trong quá trình điều trị, chúng tôi khởi đầu thuốc 6-MP với liều

10mg/m²/ngày, nhưng sau đó bệnh nhân vẫn bị giảm bạch cầu hạt, và phải dùng liều 7,5mg/m²/ngày.

Những bệnh nhân chưa xác định được khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP, chúng tôi khởi đầu với liều bình thường 75mg/m²/ngày. Sau đó, kiểm tra công thức máu, chức năng gan, các độc tính do thuốc 6-MP để điều chỉnh liều cho phù hợp với bệnh nhân.

Như vậy, việc xác định các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* đóng vai trò quan trọng, giúp nhà lâm sàng biết được mức chuyển hóa thuốc 6-MP để chọn lựa liều phù hợp.

4.3. KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC BIẾN ĐỔI GEN VỚI KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

4.3.1. Xác định tỷ lệ lui bệnh, tái phát, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

4.3.1.1. Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bệnh bạch cầu cấp trẻ em

- Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu dòng lympho**

Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi có 83 bệnh nhân BCCDL, nhưng có 3 bệnh nhân bị tử vong (3,6%), một bệnh tử vong tại thời điểm ban đầu trước khi điều trị, còn hai bệnh nhân tử vong đang trong quá trình điều trị giai đoạn tấn công. Như vậy, còn 80 bệnh nhân được chọn tủy đồ đánh giá đáp ứng sau giai đoạn tấn công. Về mặt hình thái học, tế bào blast dưới 5% được gọi là đáp ứng. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 95% bệnh nhân BCCDL đạt lui bệnh. Tỷ lệ lui bệnh của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới, theo đó, tỷ lệ lui bệnh đạt từ 90-98%. Theo kết quả nghiên cứu của Paolucci, bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho được điều trị với phác đồ AIEOP-ALL87, có 97,9% bệnh nhân đạt lui bệnh sau tấn công [118]. Nghiên cứu của Allen Yeoh trên các bệnh nhân bạch cầu cấp sử dụng phác đồ Malaysia-Singapore ALL 2003 cho thấy có 92,8% bệnh nhân đạt lui bệnh sau tấn công [184]. Tác giả Jastaniah qua theo dõi và đánh giá đáp ứng

đối với các bệnh nhân T-ALL, kết quả cho thấy có 90% bệnh nhân đạt lui bệnh sau giai đoạn tấn công và có 3 bệnh nhân tử vong [74]. Về tỷ lệ tử vong trong giai đoạn tấn công, nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỷ lệ 3,6%, cao hơn so với các nghiên cứu khác. Theo Gaynon, tỷ lệ tử vong trong giai đoạn tấn công dao động từ 0,2% đến 2,5% [61]. Điều này phản ánh tình trạng điều trị và không chế nhiễm trùng trong nghiên cứu của chúng tôi còn bị hạn chế.

Bảng 3.27 cho thấy tỷ lệ lui bệnh khác nhau giữa nhóm nguy cơ thường và nhóm nguy cơ cao. Tỷ lệ lui bệnh đối với nhóm nguy cơ thường là 100%, trong khi nhóm nguy cơ cao chỉ đạt 86,7%, Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, nguy cơ thường luôn luôn đạt tỷ lệ lui bệnh cao hơn nhóm nguy cơ cao. Kết quả này phù hợp với kết quả của các tác giả khác. Theo Paolucci, trong đối tượng nghiên cứu, các trẻ BCCDL được chia thành ba nhóm và tỷ lệ lui bệnh đối với nhóm nguy cơ thường là 98,7% và nhóm nguy cơ trung bình là 98,1% và nhóm nguy cơ cao là 97,1% [118]. Theo Moricke theo dõi kết quả điều trị trên 2169 trẻ em và trẻ vị thành niên được điều trị theo phác đồ ALL-BFM 95, kết quả cho thấy tỷ lệ đạt lui bệnh chung là 97,7%, trong đó nhóm nguy cơ thường và nguy cơ trung bình đạt lui bệnh là 100%, nhóm nguy cơ cao đạt lui bệnh là 80,7% [109]. Theo một nghiên cứu khác của Gaynon, nghiên cứu kết quả điều trị các bệnh nhi BCCDL trong giai đoạn 1983-2002, điều trị theo phác đồ COG. Kết quả cho thấy tỷ lệ lui bệnh đối với nhóm nguy cơ thường dòng lympho B dao động từ 99,6%-100%, nhóm nguy cơ cao dòng lympho B dao động từ 98,7% - 99,1%, đối với trẻ nữ nhi, tỷ lệ dao động từ 96,9% - 99,1% [61].

- **Tỷ lệ lui bệnh sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy**

Bảng 3.28 cho thấy trong bệnh BCCDT, tỷ lệ lui bệnh thấp, chỉ đạt 73,1%, có đến 11,5% không lui bệnh và 15,4% bệnh nhân lui bệnh một phần. Và tỷ lệ tử vong trước khi đánh giá lui bệnh cao, có đến 9 bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi, chiếm tỷ lệ 25,7%. Kết quả lui bệnh của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Bùi Thị Mỹ Hương, theo đó, tỷ lệ lui bệnh đạt

cao hơn 89,4%, tỷ lệ lui bệnh một phần là 5,3% và tỷ lệ tử vong trong quá trình điều trị là 5,3 [8]. Theo Tran Kiem Hao, tỷ lệ đạt lui bệnh sau tấn công là 82,6% [90]. Theo tác giả Waack, tỷ lệ lui bệnh sau tấn công là 84,7% [175]. Như vậy, tỷ lệ lui bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn và tỷ lệ tử vong trong nghiên cứu của chúng tôi còn cao, điều này đòi hỏi cần phải có sự chăm sóc hỗ trợ tốt hơn. Quả thật, phác đồ điều trị giai đoạn tấn công đối với BCCDT rất mạnh, các dòng tế bào suy sâu và cần thời gian phục hồi. Trong quá trình suy sâu, nguy cơ nhiễm trùng dẫn đến tử vong rất cao. Tỷ lệ điều trị thành công đối với BCCDT vẫn còn hạn chế và vì thế nhiều tác giả trên thế giới đang nghiên cứu và cải thiện kết quả điều trị cho các trẻ bị BCCDT [141].

4.3.1.2. Tỷ lệ tái phát bệnh bạch cầu cấp trẻ em

Bảng 3.29 cho thấy trong 101 trẻ được đánh giá tình trạng tái phát, có đến 19,9% trẻ xuất hiện tái phát. Trong đó tái phát tủy chiếm tỷ lệ nhiều nhất 11,9%, 6% tái phát hệ thần kinh trung ương, 1% tái phát phối hợp giữa tủy + hệ thần kinh trung ương và 1% tái phát mô mềm. Trong đó, nhóm BCCDL có tỷ lệ tái phát chung là 14%, với 5,1% tái phát tủy, 7,6% tái phát hệ thần kinh trung ương, 1,3% tái phát tủy + hệ thần kinh trung ương. Nhóm BCCDT có tỷ lệ tái phát cao hơn, 40,9%, trong đó tái phát tủy chiếm tỷ lệ cao 36,4%, tái phát mô mềm 4,5%. Sự khác biệt về tỷ lệ tái phát giữa hai nhóm bệnh có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả tái phát trong nhóm BCCDL của chúng tôi cao hơn so với kết quả của Bùi Ngọc Lan, với tỷ lệ tái phát là 12,2% [7]. Nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt này là do đối tượng nghiên cứu của Bùi Ngọc Lan là những bệnh nhân thuộc nhóm nguy cơ thường. Một số nghiên cứu khác có kết quả phù hợp với kết quả của chúng tôi. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai Hương, theo dõi các bệnh nhân BCCDL nguy cơ cao, có tỷ lệ tái phát là 16,7 [6]. Tỷ lệ tái phát của chúng tôi thấp hơn so với kết quả của Hoàng Thị Hồng, Paolucci. Hoàng Thị Hồng qua nghiên cứu nhóm bệnh BCCDL, cho thấy tỷ lệ

tái phát là 21,9%, trong đó tái phát tủy xương chiếm tỷ lệ 20,4% [3]. Paolucci nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân BCCDL điều trị theo phác đồ AIEOP-ALL 87, theo đó, tỷ lệ tái phát chung là 31,8%, trong đó tái phát tủy là 14,5%, tái phát hệ thần kinh trung ương là 7,9%, tái phát tủy phổi hợp 5,2% [118]. Nghiên cứu của Kamps trên các trẻ BCCDL với phác đồ ALL-8, cho thấy tỷ lệ tái phát là 22,6%, trong đó tái phát tủy chiếm tỷ lệ nhiều nhất 17,8%, tiếp đến là hệ thần kinh trung ương 3,0% [83].

Về tỷ lệ tái phát trong BCCDT, nghiên cứu của chúng tôi gặp 40,9%, tương đương với nghiên cứu trước đây của Tran Kiem Hao, tỷ lệ tái phát là 46,9% [90], và cao hơn so với nghiên cứu của Pedram, với tỷ lệ 34,0% [122]. Như vậy, đối với BCCDT, tỷ lệ tái phát vẫn còn rất cao và làm thế nào để cải thiện thời gian sống cho bệnh nhân vẫn còn là một thách thức.

4.3.1.3. Xác suất sống toàn bộ trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

Bảng 3.30 đã mô tả các biến cố xảy ra trong thời gian nghiên cứu đối với nhóm bệnh bạch cầu cấp trẻ em. Trong đó có 30 bệnh nhân tử vong, số bệnh nhân còn sống là 88 bệnh, chiếm tỷ lệ 74,6%.

Biểu đồ 3.3 và 3.4 cho thấy thời gian sống toàn bộ trung bình của nhóm BCC trong thời gian nghiên cứu là $40,8 \pm 2,1$ tháng. Trong đó thời gian sống toàn bộ trung bình của bệnh nhân B-BCCDL là cao nhất $47,1 \pm 2,2$ tháng, tiếp đến là T-BCCDL $39,0 \pm 4,9$ tháng và thấp nhất là BCCDT, với thời gian là $25,7 \pm 4,3$ tháng. Tại thời điểm 1 năm, 2 năm và 3 năm, xác suất sống toàn bộ của bệnh nhân BCC lần lượt là $82,2 \pm 3,6\%$, $75,1 \pm 4,5\%$ và $67,4 \pm 5,5\%$. Tại thời điểm 3 năm, tỷ lệ sống toàn bộ của nhóm B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT lần lượt là $77,6 \pm 6,7\%$, $68,4 \pm 15,8\%$ và $45,5 \pm 10,2\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trên thế giới, hiện có nhiều phác đồ của các nhóm nghiên cứu khác nhau. Theo nghiên cứu của Escherich, xác suất sống toàn bộ của các bệnh nhân BCCDL điều trị theo phác đồ COALL 92 và 97 lần lượt là $81,1 \pm 1,8\%$

và $85,4 \pm 1,4\%$ tại thời điểm 5 năm [47]. Theo Yeoh, với phác đồ Malaysia-Singapore-ALL 2003, xác suất sống toàn bộ sau 6 năm đối với BCCDL là $88,4 \pm 3,1\%$ [184]. Như vậy, so với các kết quả trên thế giới, xác suất sống toàn bộ trong nhóm bệnh BCCDL của chúng tôi thấp hơn. So với các nghiên cứu trong nước, kết quả của Nguyễn Thị Mai Hương cho thấy tỷ lệ sống toàn bộ trong vòng 5 năm đối với nhóm BCCDL nguy cơ cao là $48,6 \pm 5,0\%$ [6].

Trong nhóm BCCDT, thời gian sống toàn bộ trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với các tác giả khác. Theo Waack, các bệnh nhân BCCDT được điều trị theo phác đồ AML-BFM2012, thời gian sống toàn bộ sau 3 năm là $82 \pm 3\%$ [175]. Theo nghiên cứu của Pedram, thời gian sống toàn bộ sau 5 năm là 53% [122].

Như vậy, BCCDL luôn có thời gian sống toàn bộ trung bình cao hơn BCCDT.

4.3.1.4. Xác suất sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

Biểu đồ 3.5 và 3.6 cho thấy thời gian sống không bệnh trung bình của nhóm BCC trong thời gian nghiên cứu là $40,6 \pm 2,2$ tháng. Thời gian sống trung bình không bệnh của nhóm B-BCCDL luôn cao nhất ($47,1 \pm 2,2$ tháng), tiếp đến là nhóm T-BCCDL ($38,9 \pm 4,9$ tháng), và thấp nhất là nhóm BCCDT ($23,7 \pm 4,4$ tháng). Xác suất sống không bệnh của nhóm chung BCC tại thời điểm 1 năm, 2 năm và 3 năm lần lượt là $81,1 \pm 3,7\%$, $71,1 \pm 4,8\%$ và $69,0 \pm 5,1\%$. Tại thời điểm 1 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT lần lượt là $94,1 \pm 2,9\%$, $92,3 \pm 7,4\%$ và $44,6 \pm 10,0\%$. Những tỷ lệ tương ứng này tại thời điểm 3 năm là: $79,5 \pm 6,1\%$, $70,3 \pm 14,8\%$ và $44,6 \pm 10,0\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

So với các kết quả nghiên cứu khác, nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai Hương trên đối tượng BCCDL nguy cơ cao, có xác suất sống không bệnh trong vòng 5 năm là $46,0 \pm 5,0\%$ [6]. Theo nghiên cứu của Escherich, thời gian sống không bệnh của các bệnh nhân BCCDL điều trị theo phác đồ COALL 92 và 97 lần lượt là $73,2 \pm 2,0\%$ và $76,7 \pm 1,7\%$ tại thời điểm 5 năm

[47]. Theo Yeoh, với phác đồ Malaysia-Singapore-ALL 2003, thời gian sống không bệnh sau 6 năm đối với BCCDL là $80,6 \pm 3,5\%$ [184].

Trong nhóm BCCDT, theo Waack, các bệnh nhân BCCDT được điều trị theo phác đồ AML-BFM2012, có thời gian sống không bệnh sau 3 năm là $69 \pm 4\%$ [175]. Như vậy, kết quả của chúng tôi thấp hơn nhiều so với tác giả Wacck. Điều này đòi hỏi chúng tôi cần cải thiện hơn nữa chất lượng điều trị cho các trẻ bị BCCDT.

4.3.2. Mối liên quan giữa đột biến gen với tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

4.3.2.1. Liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng lympho

•Đánh giá lui bệnh dựa vào hình thái học

Bảng 3.31 cho thấy tỷ lệ lui bệnh khác nhau giữa các nhóm có đột biến gen. Theo đó, tỷ lệ lui bệnh của nhóm có tiên lượng xấu (mang dung hợp gen *BCR/ABL1*, *MLL/AF4*) đạt tỷ lệ lui bệnh thấp nhất (66,6%), tiếp đến là nhóm tiên lượng tốt (*TEL/AML1*) đạt tỷ lệ 90,0% và nhóm tiên lượng trung bình đạt tỷ lệ lui bệnh 98,4% Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có vài điểm tương đồng với các tác giả khác trên thế giới. Đối với dung hợp gen *BCR/ABL1*, cho đến thời điểm hiện tại, đột biến này có tiên lượng xấu, ngay cả khi sử dụng hóa chất mạnh, những bệnh nhân BCCDL có đột biến Ph (+) cho thấy gia tăng tỷ lệ thất bại sau tấn công, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương và tái phát sớm. Điều trị BCCDL với Ph(+) và bạch cầu mạn dòng tủy với Ph(+) đã được cải thiện nhờ vào sự phát triển của thuốc Imatinib, một chất ức chế tyrosine kinase, chống lại dung hợp gen *BCR/ABL1*, giúp cải thiện tỷ lệ sống sót từ 30-40% lên đến 80% [44],[147]. Theo Pui, dung hợp gen *TEL/AML1* có tiên lượng tốt, với thời gian sống còn sau 5 năm dao động từ 80-95%, và đột biến này rất nhạy với thuốc L-asparaginase [135]. Nghiên cứu của Lin cho thấy, 8 bệnh nhi có đột biến *TEL/AML1* trong nhóm 25 bệnh nhân ở Đài Loan, đều đạt lui bệnh hoàn toàn sau đợt hóa trị đầu

tiên [100]. Nghiên cứu của Toksvang còn cho thấy những bệnh nhân BCCDL có mang dung hợp gen *TEL/AML1* có thể rút ngắn giai đoạn duy trì xuống 1 năm, vẫn đạt được lui bệnh lâu dài [169]. Nghiên cứu của Cimino cho thấy, trong các bệnh nhân có đột biến gen *MLL/AF4*, tỷ lệ lui bệnh đạt được 89,1% [36]. Tóm lại, các biến đổi gen có tác động đến kết quả điều trị cho bệnh nhân.

- **Đánh giá lui bệnh dựa vào bệnh tồn dư tối thiểu (MRD)**

Những năm gần đây, việc đo lường bệnh tồn dư tối thiểu bằng phương pháp đếm dòng chảy tế bào hoặc khuếch đại PCR đã thay thế việc đánh giá sớm hình thái học của tủy xương và tăng tầm quan trọng trong việc phân tầng nguy cơ [34]. Thông thường, một bệnh nhân đáp ứng càng nhanh và đưa về MRD âm tính, thì tiên lượng càng tốt. Nồng độ MRD không phát hiện được hoặc dưới ngưỡng 10^{-4} vào cuối giai đoạn tấn công, có tiên lượng tốt nhất. Tồn tại hoặc gia tăng giá trị MRD sau giai đoạn tấn công có tiên lượng xấu cho cả hai nhóm: nhóm BCCDL mới chẩn đoán hoặc bệnh tái phát được điều trị hóa chất hay ghép tủy [34],[56].

Bảng 3.32 cho thấy nhóm có tiên lượng thuận lợi có tỷ lệ MRD $< 10^{-4}$ sau tấn công là 88,9%, và tỷ lệ này chỉ 50% ở nhóm có tiên lượng xấu và 92,2% ở nhóm có tiên lượng trung bình. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Theo tác giả Borowitz cho thấy có sự khác biệt về giá trị MRD giữa nhóm có đột biến thuận lợi so với nhóm có đột biến xấu (tái sắp xếp MLL). Tỷ lệ những bệnh nhi có dung hợp gen *TEL/AML1* đạt được giá trị MRD $< 10^{-4}$ là 87,9%, trong khi những bệnh nhân có đột biến MLL, tỷ lệ đạt MRD $< 10^{-4}$ là 70,7%. Tác giả cũng cho thấy, tỷ lệ đạt MRD $< 10^{-4}$ ở nhóm bệnh nhân có 3 NST 4 và 10 là 70,8% [28]. Kết quả của chúng tôi khác với kết quả của Hoàng Thị Hồng, theo đó không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị MRD giữa các nhóm tiên lượng BCCDL [3]. Tuy nhiên, tỷ lệ MRD $< 10^{-4}$ sau giai đoạn tấn công của nghiên cứu chúng tôi cao hơn so với một số tác giả trong và ngoài nước. Theo tác giả Võ Thị Thanh Trúc, chỉ có 25,3% bệnh nhi có giá trị MRD $< 10^{-4}$ sau giai đoạn tấn công với phác đồ FRALLE [10]. Nghiên cứu của Jovanovska, chỉ có 57,8% bệnh nhân có MRD $< 10^{-4}$ sau giai đoạn tấn công [81]. Kết quả của

Borowitz có 72,3% bệnh nhân đạt được ngưỡng MRD $< 10^{-4}$ [28].

Theo tác giả Vora, những bệnh nhân có giá trị MRD $\geq 0,01\%$ vào cuối giai đoạn tấn công, sẽ được hưởng lợi từ việc tăng cường liệu pháp điều trị sau lui bệnh [174]. Tương tự vậy, Allen cũng chỉ ra MRD giúp hướng dẫn tăng cường điều trị cho bệnh nhi bạch cầu cấp dòng lympho [184]. Vì thế, trong nghiên cứu của chúng tôi, những bệnh nhân có giá trị MRD $\geq 0,01\%$ sau giai đoạn tấn công, chúng tôi chuyển sang điều trị theo nhóm nguy cơ cao.

4.3.2.2. Liên quan giữa đột biến gen với kết quả điều trị sau tấn công đối với bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.33 cho thấy nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ lui bệnh là 33,3%, nhóm tiên lượng trung bình có tỷ lệ lui bệnh là 66,7%. Tỷ lệ này xuất hiện ở nhóm có tiên lượng tốt là 100%. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này có thể phản ánh ngoài việc các dung hợp gen ảnh hưởng đến tiên lượng cho bệnh nhân, việc theo dõi sát, chăm sóc hỗ trợ và khống chế nhiễm trùng đóng vai trò quan trọng trong điều trị BCCDT. Theo Cho, bệnh nhân BCCDT với đột biến gen *AML1/ETO* thuộc nhóm tiên lượng tốt có tỷ lệ lui bệnh cao hơn so với nhóm không có đột biến gen (81,8% so với 56,6%) [35]. Hay theo các nghiên cứu của Pui và Rubnitz, cũng cho thấy *AML1/ETO* liên kết với tiên lượng thuận lợi, *PML/RARA* liên kết với tiên lượng thuận lợi và nhạy cảm với thuốc ATRA, trong khi đột biến *MLL/AF6* liên quan với tiên lượng xấu, và đạt tỷ lệ lui bệnh thấp hơn [135],[145]. Theo Singh, sự tồn tại kết hợp giữa đột biến dung hợp gen *BCR/ABL1* và *AML1/ETO* là những trường hợp rất hiếm gặp, và trong những trường hợp đó, bệnh nhân có tiên lượng xấu, cho dù bệnh nhân có mang đột biến dung hợp gen *AML1/ETO* có tiên lượng thuận lợi [157].

4.3.2.3. Đánh giá tình trạng tái phát nhóm bạch cầu cấp dòng lympho theo phân nhóm đột biến gen

Bảng 3.34 cho thấy tỷ lệ tái phát khác nhau giữa các nhóm đột biến gen, đặc biệt nhóm tiên lượng xấu (có mang các dung hợp gen như *BCR/ABL1* và *MLL/AF4*) có tỷ lệ tái phát cao 66,7%, nhóm tiên lượng tốt chưa có ca nào tái

phát đến thời điểm kết thúc nghiên cứu và nhóm tiên lượng trung bình có 11,1% bệnh nhi tái phát. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Theo nghiên cứu của Sanchez, cho thấy 23% bệnh nhân mang dung hợp gen *BCR/ABL1* bị tái phát sau khi lui bệnh, trong đó có 10% tái phát hệ thần kinh trung ương hoặc kết hợp tái phát thần kinh trung ương và tủy [146]. Hay trong một nghiên cứu người lớn cho thấy tái phát vẫn là một trong những nguyên nhân dẫn đến thất bại điều trị ở những bệnh nhân có đột biến *MLL/AF4*, với tỷ lệ tái phát 56,5% [36]. Như vậy, việc phát hiện các dung hợp gen có ý nghĩa rất quan trọng trong tiên lượng bệnh.

4.3.2.4. Đánh giá tình trạng tái phát nhóm bạch cầu cấp dòng tủy theo phân nhóm đột biến gen

Bảng 3.35 cho thấy tỷ lệ nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ tái phát là 66,7%. Nhóm tiên lượng trung bình và nhóm tiên lượng tốt có tỷ lệ tái phát lần lượt là 41,7% và 28,6%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Trong điều trị BCCDT, bên cạnh các đột biến gen đưa đến những tiên lượng xấu, tốt, còn có rất nhiều yếu tố chi phối đến tỷ lệ thành công và tái phát. Với việc dùng hóa chất mạnh, nên tỷ lệ nhiễm trùng cao. Những đợt nhiễm trùng kéo dài sẽ làm chậm trễ thời gian vào thuốc cho bệnh nhân, ảnh hưởng đến kết quả điều trị và tỷ lệ tái phát. Vì thế, vấn đề chăm sóc hỗ trợ trong BCCDT đóng vai trò quan trọng. Trong nghiên cứu tác giả Henrris, tác giả đã nêu ra những yếu tố tiên đoán tái phát tủy sau khi ghép ở những bệnh nhân BCCDT bao gồm: tình trạng tủy trước khi ghép, thể M4/M5 theo phân loại FAB, các yếu tố nguy cơ cao về di truyền, và tình trạng bệnh nhân trước khi ghép [63].

4.3.2.5. Xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm biến đổi gen bạch cầu cấp dòng lympho

Bảng 3.36 mô tả các biến cố xảy ra trong quá trình nghiên cứu đối với bạch cầu cấp dòng lympho. Theo đó, nhóm đột biến gen tiên lượng xấu có 3/6 bệnh nhân tử vong (50,0%), nhóm tiên lượng trung bình có 10/67 bệnh nhân tử vong (85,1) và nhóm tiên lượng tốt chưa có bệnh nhân nào xảy ra biến cố. Đến thời điểm kết thúc nghiên cứu, có 70/83 bệnh nhân BCCDL còn sống

(84,3%). Biểu đồ 3.7 cho thấy xác suất sống toàn bộ trung bình của nhóm tiên lượng tốt đạt cao nhất, tiếp đến nhóm tiên lượng trung bình và sau cùng là nhóm tiên lượng xấu. Tại thời điểm 1 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm tiên lượng xấu là $75,0 \pm 21,7\%$, nhóm tiên lượng trung bình là $94,0 \pm 2,9\%$ và nhóm tiên lượng tốt là $100,0 \pm 0,0\%$. Các tỷ lệ này tại thời điểm 3 năm lần lượt là $25,0 \pm 21,7\%$, $76,3 \pm 7,1\%$ và $100,0 \pm 0,0\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả của chúng tôi, mặc dầu với cỡ mẫu nhỏ nhưng vẫn cho kết quả tương tự với một số tác giả. Theo Pui, thời gian sống toàn bộ sau 5 năm của nhóm có dung hợp gen *BCR/ABL1* là $48,0 \pm 2,0\%$, trong khi nhóm không có dung hợp gen *BCR/ABL1* sẽ là: $94,5 \pm 1,8\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tương tự, những bệnh nhân có dung hợp gen *TEL/AML1*, có thời gian sống toàn bộ trong 5 năm là $100,0 \pm 0\%$. Nhóm không có dung hợp gen *TEL/AML1* có thời gian sống sống toàn bộ là: $92,2 \pm 2,3\%$. Như vậy, các đột biến dung hợp gen đóng vai trò tiên lượng và ảnh hưởng đến thời gian sống còn của bệnh nhi bị BCCDL.

4.3.2.6. Xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm đột biến gen nhóm bạch cầu cấp dòng tủy

Bảng 3.37 mô tả các biến cố xảy ra trong quá trình điều trị. Theo đó, tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, có 2/4 bệnh nhân nhóm tiên lượng xấu tử vong, 13/23 bệnh nhân nhóm tiên lượng trung bình tử vong và 2/8 bệnh nhân nhóm tiên lượng tốt tử vong. Số bệnh nhân còn sống đến thời điểm kết thúc nghiên cứu là 18/35 bệnh nhân (51,4%).

Biểu đồ 3.8 cho thấy thời gian sống toàn bộ của nhóm tiên lượng tốt là cao nhất, tiếp đến là nhóm tiên lượng trung bình và thấp nhất ở nhóm có đột biến tiên lượng xấu. Nhóm tiên lượng xấu hiện tại chưa có bệnh nhân nào sống đến thời điểm 3 năm. Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm tiên lượng trung bình và tiên lượng tốt lần lượt là $40,7 \pm 12,5\%$ và $65,6 \pm 20,9\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả

của chúng tôi khác so với kết quả của một số tác giả trên thế giới. Theo nghiên cứu của Cho, những bệnh nhân có đột biến tiên lượng tốt như *AML1/ETO*, có thời gian sống toàn bộ dài hơn so với những bệnh nhân không có đột biến (82,2 tuần so với 34,4 tuần), có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Nghiên cứu của Pui cho thấy thời gian sống toàn bộ trong 5 năm đối với đột biến dung hợp gen *AML1/ETO* là 75-85%. Ngược lại, trong nghiên cứu của Rubnitz và Pui đã cho thấy những bệnh nhân có đột biến dung hợp gen *MLL/AF6* (nhóm tiên lượng xấu) có thời gian sống toàn bộ chỉ là 22% [135],[145]. Như vậy, các đột biến dung hợp gen có ý nghĩa và tiên lượng trong bệnh BCCDT. Việc xác định các đột biến dung hợp gen là điều cần thiết và có ý nghĩa trong thực hành lâm sàng. Bên cạnh đó, việc điều trị BCCDT rất phức tạp, và các yếu tố chăm sóc giảm nhẹ đóng vai trò hết sức quan trọng, làm thế nào để kiểm soát tốt nhiễm trùng, hạn chế tử vong cho bệnh nhân.

4.3.2.7. Xác suất sống không bệnh theo phân nhóm biến đổi gen bạch cầu cấp dòng lympho

Biểu đồ 3.9 cho thấy xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng tốt đạt cao nhất, tiếp đến nhóm tiên lượng trung bình và thấp nhất là nhóm tiên lượng xấu. Tại thời điểm 2 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tốt lần lượt là $27,8 \pm 23,2\%$, $81,5 \pm 5,8\%$ và $100,0 \pm 0,0\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Kết quả của chúng tôi tương tự với kết quả của một số tác giả khác. Theo Jeha, xác suất sống không bệnh trong vòng 5 năm đối với đột biến dung hợp gen *TEL/AML1* là 98,4%, trong khi đối với dung hợp gen *BCR/ABL1* là 76,2%, dung hợp gen *E2A/PBX1* là 88,2% [75]. Theo Pui, thời gian sống không bệnh sau 5 năm của nhóm có đột biến gen *BCR/ABL1* là $40,0 \pm 21,9\%$, trong khi nhóm không có đột biến gen *BCR/ABL1* sẽ là $86,7 \pm 2,8\%$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tương tự, những bệnh nhân có đột biến gen *TEL/AML1*, có thời gian sống không bệnh trong 5 năm là $85,9 \pm 11,4\%$.

Nhóm không có đột biến gen *TEL/AML1* có thời gian sống sống không bệnh sẽ là $83,0 \pm 3,3\%$ [134]. Như vậy, các đột biến gen ảnh hưởng và tác động đến thời gian sống không bệnh của bệnh nhân BCCDL.

4.3.2.8. Xác suất sống không bệnh theo phân nhóm đột biến gen bạch cầu cấp dòng tủy

Biểu đồ 3.10 cho thấy xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng tốt là cao nhất, tiếp đến là nhóm tiên lượng trung bình và thấp nhất ở nhóm có đột biến tiên lượng xấu. Tại thời điểm 1 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tiên lượng tốt lần lượt là $35,7 \pm 28,6\%$, $38,0 \pm 12,3\%$ và $65,6 \pm 20,9\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả của chúng tôi khác so với kết quả nghiên cứu của Cho, những bệnh nhân có đột biến dung hợp gen tiên lượng tốt như *AML1/ETO*, có thời gian sống không bệnh dài hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với những bệnh nhân không có đột biến (50,9 tuần so với 20,4 tuần) [35]. Nghiên cứu của Pui cho thấy thời gian sống không bệnh trong 5 năm đối với đột biến *AML1/ETO* là 55-71%. Ngược lại, với gen thuộc nhóm tiên lượng xấu, trong nghiên cứu của Rubnitz và Pui đã cho thấy những bệnh nhân có đột biến *MLL/AF6* có thời gian sống không bệnh là 11% [135],[145].

Như vậy, các đột biến gen có ý nghĩa và tiên lượng trong bệnh BCCDT. Việc xác định các đột biến gen là điều cần thiết và có ý nghĩa trong thực hành lâm sàng. Trong nhóm của chúng tôi, cỡ mẫu nhỏ nên chưa phản ánh được thực trạng. Nhưng với sự khác biệt không có ý nghĩa trong nghiên cứu của chúng tôi cũng nói lên việc điều trị BCCDT rất phức tạp, và các yếu tố chăm sóc giảm nhẹ đóng vai trò hết sức quan trọng, làm thế nào để kiểm soát tốt nhiễm trùng, hạn chế tử vong cho bệnh nhân.

4.3.2.9. Xác suất sống còn theo các biến đổi gen dược lý học

Các biểu đồ từ 3.11 đến 3.14 đều cho thấy, với các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* đều không ảnh hưởng đến thời gian sống toàn bộ hay sống không

bệnh trong bệnh BCCDL. Đối với đa hình gen *TPMT*, tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm có đa hình gen *TPMT* là $66,7 \pm 27,2\%$ và nhóm không có đa hình gen *TPMT* là $84,8 \pm 5,9\%$. Cũng tại thời điểm đó, xác suất sống không bệnh của nhóm có đa hình gen *TPMT* là $75 \pm 21,7\%$ và nhóm không có đa hình gen *TPMT* là $86,0 \pm 5,5\%$. Đối với đa hình gen *NUDT15*, tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh đối với nhóm có đa hình gen *NUDT15* lần lượt là $90 \pm 9,5\%$ và $90 \pm 9,5\%$. Xác suất này đối với nhóm không có đa hình gen *NUDT15* lần lượt là $81,7 \pm 7,1\%$ và $83,0 \pm 6,7\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này có thể được lý giải là do các bác sĩ lâm sàng đã theo dõi sát các độc tính và chỉnh liều phù hợp cho bệnh nhân, nên tránh được các tác dụng phụ và vẫn duy trì được hàm lượng thuốc phù hợp cho bệnh nhi. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Liang, cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian sống toàn bộ và sống không bệnh giữa các biến thể của đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* [98]. Nghiên cứu của Moriyama cũng không đưa ra mối liên quan mạnh mẽ giữa đa hình gen *NUDT15* và thời gian sống không bệnh, nhưng cho thấy xu hướng gây hậu quả xấu hơn ở những người có mang alen đa hình [111].

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 118 bệnh nhi bạch cầu cấp tại Trung Tâm Nhi Khoa- Bệnh viện Trung ương Huế, cho ra một số kết luận như sau:

1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh bạch cầu cấp trẻ em:

- Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $5,8 \pm 4,0$ tuổi. Đối với bệnh BCCDL, đỉnh cao gặp ở trẻ 1-5 tuổi (57,8%). Đối với bệnh BCCDT, không có đỉnh cao mắc bệnh. Trẻ nam gặp nhiều hơn trẻ nữ (tỷ lệ nam/nữ: 1,37/1).
- BCCDT chiếm tỷ lệ 29,7%, BCCDL chiếm tỷ lệ 70,3%. Trong đó, B-BCCDL nhiều hơn T-BCCDL (84,3% so với 15,7%).
- Triệu chứng lâm sàng thường gặp trong bệnh BCC là: thiếu máu, gan lớn, hạch lớn, sốt, lách lớn, xuất huyết, đau xương khớp. Một số biểu hiện ít gặp như: thâm nhiễm tinh hoàn, phì đại nước, sản lục.
- Đặc điểm công thức máu: số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$ chiếm 28,8%, số lượng bạch cầu hạt $< 500 (\mu/l)$ chiếm 43,2%, số lượng Hb $< 7,0$ g/dl chiếm 29,7%, số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/l$ chiếm 24,6%.
- Đặc điểm sinh hóa: 89,4% bệnh nhân tăng LDH, 16,8% bệnh nhân tăng acid uric, 35,7% bệnh nhân men gan tăng, 0,9% bệnh nhân có biểu hiện suy thận và 25,0% bệnh nhân tăng CRP.

2. Xác định biến đổi gen trong bệnh bạch cầu cấp trẻ em

- Trong bệnh BCCDL: tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp gen là 24,1%, theo thứ tự lần lượt là: *TEL/AML1* (12,1%), *BCR/ABL1* (4,8%), *E2A/PBX1* (3,6%), *MLL/AF4* (2,4%), *SET/NUP214* (1,2%). Phân nhóm tiên lượng theo biến đổi gen: tiên lượng tốt (12,1%), tiên lượng trung bình (80,7%), tiên lượng xấu (7,2%).
- Trong bệnh BCCDT: tỷ lệ phát hiện đột biến dung hợp gen là 34,3%, theo thứ tự lần lượt là: *AML1/ETO* (14,2%), *PML/RARA* (8,6%),

MLL/AF6 (5,7%), *KMT2A/MLLT10* (2,9%), *AML1/ETO + BCR/ABL1* (2,9%). Phân nhóm tiên lượng theo biến đổi gen: tiên lượng tốt (22,9%), tiên lượng trung bình (65,7%), tiên lượng xấu (11,4%).

- Phân tích các gen được lý học cho thấy: tỷ lệ có đa hình gen *NUDT15* là 18,1%, đa hình gen *TPMT* là 6,9% và 1,4% bệnh nhân có mang cả hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*.

3. Khảo sát mối liên quan giữa các biến đổi gen với kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp trẻ em

- Tỷ lệ lui bệnh trong nhóm BCCDL, BCCDT lần lượt là 95,0% và 73,1%. Tỷ lệ tái phát BCC là 19,9%, trong đó BCCDL chiếm 14,0%, BCCDT chiếm 40,9%. Tỷ lệ tử vong trong thời gian nghiên cứu chiếm 25,4%. Xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh nhóm BCC trẻ em trong vòng 3 năm là $67,4 \pm 5,5\%$ và $69,0 \pm 5,1\%$. Xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh nhóm B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT trong vòng 3 năm lần lượt là: $77,6 \pm 6,7\%$, $79,5 \pm 6,1\%$; $68,4 \pm 15,8\%$, $70,3 \pm 14,8\%$ và $45,5 \pm 10,2\%$, $44,6 \pm 10,0\%$.
- Đối với BCCDL: có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát với các phân nhóm nguy cơ biến đổi gen, cũng như mối liên quan giữa xác suất sống toàn bộ và sống không bệnh với các phân nhóm tiên lượng đột biến gen. Tại thời điểm 2 năm, xác suất sống toàn bộ, sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tốt lần lượt là: $50,0 \pm 25,0\%$, $27,8 \pm 23,2\%$; $86,7 \pm 4,9\%$, $81,5 \pm 5,8\%$ và $100,0 \pm 0,0\%$, $100,0 \pm 0,0\%$.
- Đối với BCCDT: không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tiên lượng gen với tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát cũng như xác suất sống còn và sống không bệnh ($p > 0,05$).
- Không có mối liên quan giữa các đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* với thời gian sống còn của bệnh BCCDL.

KIẾN NGHỊ

- Tiếp tục làm phân tích các đột biến gen cho bệnh nhân bạch cầu cấp. Bên cạnh đó, cần làm thêm xét nghiệm cấy nhiễm sắc thể. Từ đó giúp phân nhóm nguy cơ theo các biến đổi di truyền được chính xác hơn.

- Cần tiến hành làm xét nghiệm *NUDT15* và *TPMT* cho tất cả các bệnh nhân BCC, để từ đó có cơ sở điều chỉnh liều thuốc 6-MP phù hợp cho bệnh nhân, làm giảm các độc tính và biến chứng xảy ra.

- Đối với nhóm BCCDT, tỷ lệ tử vong trong giai đoạn tấn công còn quá cao, cần nâng cao công tác chăm sóc hỗ trợ, có những phòng điều trị dành riêng cho bệnh nhân BCCDT, để giảm thiểu nguy cơ nhiễm trùng trong giai đoạn suy tủy.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO VÀ CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Clinical, laboratory features and minimal residual disease levels in childhood acute lymphoblastic leukemia at Hue Central Hospital, Viet Nam. *Journal of Annals of Clinical and Analytical Medicine*. DOI: 10.4328/ACAM.20328.
2. Testicular Involvement of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children and Adolescents: Diagnosis, Biology, and Management. *Cancer*. DOI: 10.1002/cncr.33609
3. Cause of Death in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia at Hue Central Hospital for 10 years (2008-2018). *Global Pediatric Health*. <https://doi.org/10.1177%2F2333794X20901930>.
4. Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Single Institution Experience. *Cureus*. DOI: 10.7759/cureus.9238.
5. Genetics abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia at Hue Central Hospital, Vietnam. *Journal of Annals of Clinical and Analytical Medicine*. DOI: 10.4328/ACAM.21373.
6. Nghiên cứu biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và phát hiện một số đột biến gen trong bệnh bạch cầu cấp dòng lympho tại Trung tâm Nhi khoa, Bệnh viện Trung ương Huế. *Tạp chí Y học lâm sàng*, Bệnh viện Trung ương Huế, số 82,2022, trang 34-40.
7. Nghiên cứu biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và phát hiện đột biến gen trong bệnh bạch cầu cấp tại Trung tâm Nhi Khoa, Bệnh viện Trung ương Huế. *Tạp chí Y dược học lâm sàng*, Trường Đại học Y dược Huế, tháng 12/2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Đào Thị Tú Anh, Yeoh Allen Eng, Zhiwei Chen (2020), "Ảnh hưởng của đột biến gen *NUDT15* và *TPMT* đến điều trị mercaptopurine ở trẻ bạch cầu cấp dòng lympho tại Bệnh viện Nhi Trung ương", *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 135(11), pp: 23-30.
2. Bộ Y Tế (2022), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý huyết học, tr. 129-135.
3. Hoàng Thị Hồng (2021), Nghiên cứu một số biến đổi di truyền và liên quan tới kết quả điều trị sớm ở bệnh lơ xê mi cấp dòng lympho trẻ em theo phác đồ FRALLE 2000, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
4. Nguyễn Tư Hùng (2007), Nghiên Cứu Các Đặc Điểm Lâm Sàng Và Huyết Học Bệnh Lơ-xê-mi Cấp Ở Trẻ Em Tại Bệnh Viện Trung Ương Huế, Luận Văn Thạc Sĩ Y Học, Trường Đại Học Y Dược Huế.
5. Bùi Thị Mỹ Hương, Nguyễn Hoàng Quý, Nguyễn Đình Văn (2018), "Đặc Điểm Lâm Sàng Và Kết Quả Điều Trị Bạch Cầu Cấp Dòng Tủy Ở Trẻ Em Tại Bệnh Viện Nhi Đồng 2", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 22(4), tr. 89-94.
6. Nguyễn Thị Mai Hương (2015), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và đánh giá kết quả điều trị bệnh bạch cầu cấp dòng lympho nhóm nguy cơ cao ở trẻ em theo phác đồ CCG 1961, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
7. Bùi Ngọc Lan (2008), Nghiên cứu lâm sàng, cận lâm sàng bệnh Lơxêmi cấp dòng lympho và điều trị thể nguy cơ không cao ở trẻ em, Luận án tiến sĩ y học, Đại học Y Hà Nội.
8. Vũ Minh Phương (2009), Nghiên cứu một số biến đổi gen đặc trưng và đáp ứng điều trị tấn công ở bệnh nhân lơ xê mi cấp dòng tủy, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

9. Huỳnh Hữu Thân (2019), Khảo sát đột biến *NUDT15* và *TPMT* trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho trẻ em điều trị duy trì tại Bệnh viện Truyền máu Huyết Học Thành Phố Hồ Chí Minh, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ nội trú, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.
10. Võ Thị Thanh Trúc (2019), "Đánh giá ý nghĩa tiên lượng của tồn lưu tế bào ác tính trong điều trị bệnh bạch cầu cấp dòng lympho ở trẻ em", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, Tập 23, số 6.
11. Nguyễn Văn Tuy (2018), Nghiên cứu một số biến chứng thường gặp ở bệnh nhân bạch cầu cấp điều trị tại trung tâm Nhi khoa, Bệnh viện Trung ương Huế, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y dược Huế.
12. Phan Nguyễn Thanh Vân (2013), Ứng dụng kỹ thuật khuếch đại gen khảo sát các tổ hợp gen thường gặp trong bệnh lý bạch cầu cấp, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh.

Tiếng Anh

13. Akhtar S, Al-Abkal J, Al-Shammari A (2020), "Childhood leukaemia incidence and trends in a Middle Eastern country during 1980-2014: a population-based study", *Cancer Causes Control*, 31(3), pp. 231-240.
14. Al-Sudairy R, Al-Nasser A, Alsultan A, et al. (2014), "Clinical characteristics and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia in Saudi Arabia: a multi-institutional retrospective national collaborative study", *Pediatr Blood Cancer*, 61(1), pp. 74-80.
15. Aldrich MC, Zhang L, Wiemels JL, et al. (2006), "Cytogenetics of Hispanic and White children with acute lymphoblastic leukemia in California", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15(3), pp. 578-581.
16. Alexander FE, Patheal SL, Biondi A, et al. (2001), "Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion", *Cancer Res*, 61(6), pp. 2542-2546.

17. Alonso CN, Gallego MS, Rossi JG, et al. (2012), "RT-PCR diagnosis of recurrent rearrangements in pediatric acute lymphoblastic leukemia in Argentina", *Leuk Res*, 36(6), pp. 704-708.
18. Amarante-Mendes GP, Rana A, Datoguia TS, et al. (2022), "BCR-ABL1 Tyrosine Kinase Complex Signaling Transduction: Challenges to Overcome Resistance in Chronic Myeloid Leukemia", *Pharmaceutics*, 14(1).
19. Antillon FG, Blanco JG, Valverde PD, et al. (2017), "The treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia in Guatemala: Biologic features, treatment hurdles, and results", *Cancer*, 123(3), pp. 436-448.
20. Aspland SE, Bendall HH, Murre C (2001), "The role of E2A-PBX1 in leukemogenesis", *Oncogene*, 20(40), pp. 5708-5717.
21. Barbosa CMPL, Nakamura C, Terreri MT (2002), "Musculoskeletal manifestations as the onset of acute leukemias in childhood", *Journal de Pediatria*, 78(6), pp. 481-484.
22. Barnard DR, Lange B, Alonzo TA, et al. (2002), "Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome in children treated for cancer: comparison with primary presentation", *Blood*, 100(2), pp. 427-434.
23. Ben-David Y, Bernstein A (1991), "Friend virus-induced erythroleukemia and the multistage nature of cancer", *Cell*, 66(5), pp. 831-834.
24. Bhatia NG, Sneha LM, Selvan SM, et al. (2013), "Acute renal failure as an initial manifestation of acute lymphoblastic leukemia", *Indian J Nephrol*, 23(4), pp. 292-293.
25. Bhojwani D, Pei D, Sandlund JT, et al. (2012), "ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy", *Leukemia*, 26(2), pp. 265-270.
26. Biswas S, Chakrabarti S, Chakraborty J, et al. (2009), "Childhood acute leukemia in West Bengal, India with an emphasis on uncommon clinical features", *Asian Pac J Cancer Prev*, 10(5), pp. 903-906.

27. Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, et al. (2008), "Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study", *Blood*, 111(12), pp. 5477-5485.
28. Borowitz MJ, Wood BL, Devidas M, et al. (2015), "Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232", *Blood*, 126(8), pp. 964-971.
29. Brown P, Inaba H, Annesley C, et al. (2020), "Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology", *J Natl Compr Canc Netw*, 18(1), pp. 81-112.
30. Buffler PA, Kwan ML, Reynolds P, et al. (2005), "Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence", *Cancer Invest*, 23(1), pp. 60-75.
31. Bussler S, Vogel M, Pietzner D, et al. (2018), "New pediatric percentiles of liver enzyme serum levels (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyltransferase): Effects of age, sex, body mass index, and pubertal stage", *Hepatology*, 68(4), pp. 1319-1330.
32. Butturini AM, Dorey FJ, Lange BJ, et al. (2007), "Obesity and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia", *J Clin Oncol*, 25(15), pp. 2063-2069.
33. Calle EE, Kaaks R (2004), "Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms", *Nat Rev Cancer*, 4(8), pp. 579-591.
34. Campana D (2012), "Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia", *Curr Opin Hematol*, 19(4), pp. 313-318.
35. Cho EK, Bang SM, Ahn JY, et al. (2003), "Prognostic value of AML 1/ETO fusion transcripts in patients with acute myelogenous leukemia", *Korean J Intern Med*, 18(1), pp. 13-20.
36. Cimino G, Cenfra N, Elia L, et al. (2010), "The therapeutic response and clinical outcome of adults with ALL1(MLL)/AF4 fusion positive acute

- lymphoblastic leukemia according to the GIMEMA experience", *Haematologica*, 95(5), pp. 837-840.
37. Clarke RT, Van den Bruel A, Bankhead C, et al. (2016), "Clinical presentation of childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis", *Arch Dis Child*, 101(10), pp. 894-901.
 38. Co-Reyes E, Li R, Huh W, et al. (2012), "Malnutrition and obesity in pediatric oncology patients: causes, consequences, and interventions", *Pediatr Blood Cancer*, 59(7), pp. 1160-1167.
 39. Coebergh JW, Reedijk AM, de Vries E, et al. (2006), "Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project", *Eur J Cancer*, 42(13), pp. 2019-2036.
 40. Colby-Graham MF, Chordas C (2003), "The childhood leukemias", *J Pediatr Nurs*, 18(2), pp. 87-95.
 41. Coustan-Smith E, Ribeiro RC, Stow P, et al. (2006), "A simplified flow cytometric assay identifies children with acute lymphoblastic leukemia who have a superior clinical outcome", *Blood*, 108(1), pp. 97-102.
 42. Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, et al. (2004), "Early deaths and treatment-related mortality in children undergoing therapy for acute myeloid leukemia: analysis of the multicenter clinical trials AML-BFM 93 and AML-BFM 98", *J Clin Oncol*, 22(21), pp. 4384-4393.
 43. Dai Q, Zhang G, Yang H, et al. (2021), "Clinical features and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia with low peripheral blood blast cell count at diagnosis", *Medicine (Baltimore)*, 100(4), pp. 24518.
 44. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. (2001), "Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia", *N Engl J Med*, 344(14), pp. 1031-1037.
 45. Ellina L, Mancini M, Moleti L (2003), "A multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction strategy for the diagnostic molecular screening of

- chimeric genes: a clinical evaluation on 170 patients with acute lymphoblastic leukemia.", *Journal of hematology*, 88(3), pp. 275-279.
46. Ernst P, Wang J, Korsmeyer SJ (2002), "The role of MLL in hematopoiesis and leukemia", *Curr Opin Hematol*, 9(4), pp. 282-287.
 47. Escherich G, Horstmann MA, Zimmermann M, et al. (2010), "Cooperative study group for childhood acute lymphoblastic leukaemia (COALL): long-term results of trials 82,85,89,92 and 97", *Leukemia*, 24(2), pp. 298-308.
 48. Fadoo Z, Nisar I, Yousuf F, et al. (2015), "Clinical features and induction outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia in a lower/middle income population: A multi-institutional report from Pakistan", *Pediatr Blood Cancer*, 62(10), pp. 1700-1708.
 49. Felice MS, Gallego MS, Alonso CN, et al. (2011), "Prognostic impact of t(1;19)/ TCF3-PBX1 in childhood acute lymphoblastic leukemia in the context of Berlin-Frankfurt-Munster-based protocols", *Leuk Lymphoma*, 52(7), pp. 1215-1221.
 50. Feng Q, de Smith AJ, Vergara-Lluri M, et al. (2021), "Trends in Acute Lymphoblastic Leukemia Incidence in the United States by Race/Ethnicity From 2000 to 2016", *Am J Epidemiol*, 190(4), pp. 519-527.
 51. Ferreira GMA, Ribeiro Elias AB, Nascimento J, et al. (2020), "Pharmacogenomics of thiopurines: distribution of TPMT and NUDT15 polymorphisms in the Brazilian Amazon", *Pharmacogenet Genomics*, 30(8), pp. 184-189.
 52. Frei E, 3rd, Holland JF, Schneiderman MA, et al. (1958), "A comparative study of two regimens of combination chemotherapy in acute leukemia", *Blood*, 13(12), pp. 1126-1148.
 53. Frei E, 3rd, Karon M, Levin RH, et al. (1965), "The effectiveness of combinations of antileukemic agents in inducing and maintaining remission in children with acute leukemia", *Blood*, 26(5), pp. 642-656.

54. Freireich EJ, Wiernik PH, Steensma DP (2014), "The leukemias: a half-century of discovery", *J Clin Oncol*, 32(31), pp. 3463-3469.
55. Freitas-Martinez A, Santana N, Arias-Santiago S, et al. (2021), "Using the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE - Version 5.0) to Evaluate the Severity of Adverse Events of Anticancer Therapies", *Actas Dermosifiliogr (Engl Ed)*, 112(1), pp. 90-92.
56. Gajjar A, Harrison PL, Sandlund JT, et al. (2000), "Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia", *Blood*, 96(10), pp. 3381-3384.
57. Gajjar A, Ribeiro RC, Mahmoud HH, et al. (1996), "Overt testicular disease at diagnosis is associated with high risk features and a poor prognosis in patients with childhood acute lymphoblastic leukemia", *Cancer*, 78(11), pp. 2437-2442.
58. Galbraith D, Gross SA, Paustenbach D (2010), "Benzene and human health: A historical review and appraisal of associations with various diseases", *Crit Rev Toxicol*, 40 Suppl 2, pp. 1-46.
59. Ganzel C, Becker J, Mintz PD, et al. (2012), "Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: practice management", *Blood Rev*, 26(3), pp. 117-122.
60. Gao MG, Hong Y, Qin YZ, et al. (2020), "Prognostic significance of SET-NUP214 fusion gene in acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation", *Medicine (Baltimore)*, 99(50), pp. e23569.
61. Gaynon PS, Angiolillo AL, Carroll WL, et al. (2010), "Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983-2002: a Children's Oncology Group Report", *Leukemia*, 24(2), pp. 285-297.
62. Greuber EK, Smith-Pearson P, Wang J, et al. (2013), "Role of ABL family kinases in cancer: from leukaemia to solid tumours", *Nat Rev Cancer*, 13(8), pp. 559-571.

63. Harris AC, Kitko CL, Couriel DR, et al. (2013), "Extramedullary relapse of acute myeloid leukemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors and outcomes", *Haematologica*, 98(2), pp. 179-184.
64. Hastings C, Gaynon PS, Nachman JB, et al. (2015), "Increased post-induction intensification improves outcome in children and adolescents with a markedly elevated white blood cell count ($\geq 200 \times 10^9 /l$) with T cell acute lymphoblastic leukaemia but not B cell disease: a report from the Children's Oncology Group", *Br J Haematol*, 168(4), pp. 533-546.
65. Hastings CA, Torkildson JC, Agrawal AK (2021), Acute Leukemias. Handbook of Pediatric Hematology and Oncology- Children's Hospital & Research Center Oakland, John Wiley & Sons Ltd, pp. 120-160.
66. Hijiya N, Liu W, Sandlund JT, et al. (2005), "Overt testicular disease at diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia: lack of therapeutic role of local irradiation", *Leukemia*, 19(8), pp. 1399-1403.
67. Holmfeldt L, Wei L, Diaz-Flores E, et al. (2013), "The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia", *Nat Genet*, 45(3), pp. 242-252.
68. Hunger SP, Lu X, Devidas M, et al. (2012), "Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: a report from the children's oncology group", *J Clin Oncol*, 30(14), pp. 1663-1669.
69. Hunger SP, Mullighan CG (2015), "Acute Lymphoblastic Leukemia in Children", *N Engl J Med*, 373(16), pp. 1541-1552.
70. Hutchinson RJ, Gaynon PS, Sather H, et al. (2003), "Intensification of therapy for children with lower-risk acute lymphoblastic leukemia: long-term follow-up of patients treated on Children's Cancer Group Trial 1881", *J Clin Oncol*, 21(9), pp. 1790-1797.
71. Inaba H, Mullighan CG (2020), "Pediatric acute lymphoblastic leukemia", *Haematologica*, 105(11), pp. 2524-2539.

72. Inaba H, Pui CH (2021), "Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia", *J Clin Med*, 10(9).
73. Jackson N, Menon BS, Zarina W (1999), "Why is acute leukemia more common in males? A possible sex-determined risk linked to the ABO blood group genes", *Ann Hematol*, 78(5), pp. 233-236.
74. Jastaniah W, Elimam N, Abdalla K, et al. (2018), "High-dose methotrexate vs. Capizzi methotrexate for the treatment of childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia", *Leuk Res Rep*, 10, pp. 44-51.
75. Jeha S, Choi J, Roberts KG, et al. (2021), "Clinical significance of novel subtypes of acute lymphoblastic leukemia in the context of minimal residual disease-directed therapy", *Blood Cancer Discov*, 2(4), pp. 326-337.
76. Jeha S, Pei D, Raimondi SC, et al. (2009), "Increased risk for CNS relapse in pre-B cell leukemia with the t(1;19)/TCF3-PBX1", *Leukemia*, 23(8), pp. 1406-1409.
77. Jena A, Jha DK, Kumar MP, et al. (2021), "Prevalence of polymorphisms in thiopurine metabolism and association with adverse outcomes: a South Asian region-specific systematic review and meta-analysis", *Expert Rev Clin Pharmacol*, 14(4), pp. 491-501.
78. Johnston DL, Alonzo TA, Gerbing RB, et al. (2012), "Superior outcome of pediatric acute myeloid leukemia patients with orbital and CNS myeloid sarcoma: a report from the Children's Oncology Group", *Pediatr Blood Cancer*, 58(4), pp. 519-524.
79. Johnston DL, Alonzo TA, Gerbing RB, et al. (2010), "The presence of central nervous system disease at diagnosis in pediatric acute myeloid leukemia does not affect survival: a Children's Oncology Group study", *Pediatr Blood Cancer*, 55(3), pp. 414-420.
80. Jones DP, Stapleton FB, Kalwinsky D, et al. (1990), "Renal dysfunction and hyperuricemia at presentation and relapse of acute lymphoblastic leukemia", *Med Pediatr Oncol*, 18(4), pp. 283-286.

81. Jovanovska A, Martinova K, Kocheva S, et al. (2019), "Clinical Significance of Minimal Residual Disease at the End of Remission Induction Therapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia", *Open Access Maced J Med Sci*, 7(17), pp. 2818-2823.
82. Kampen KR (2012), "The discovery and early understanding of leukemia", *Leuk Res*, 36(1), pp. 6-13.
83. Kamps WA, Bokkerink JP, Hakvoort-Cammel FG, et al. (2002), "BFM-oriented treatment for children with acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation and treatment reduction for standard risk patients: results of DCLSG protocol ALL-8 (1991-1996)", *Leukemia*, 16(6), pp. 1099-1111.
84. Karol SE, Coustan-Smith E, Cao X, et al. (2015), "Prognostic factors in children with acute myeloid leukaemia and excellent response to remission induction therapy", *Br J Haematol*, 168(1), pp. 94-101.
85. Karran P, Attard N (2008), "Thiopurines in current medical practice: molecular mechanisms and contributions to therapy-related cancer", *Nat Rev Cancer*, 8(1), pp. 24-36.
86. Kato M (2020,). *Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia*, Springer Nature Singapore Pte Ltd, pp. 3-17.
87. Khera S, Trehan A, Bhatia P, et al. (2019), "Prevalence of TPMT, ITPA and NUDT 15 genetic polymorphisms and their relation to 6MP toxicity in north Indian children with acute lymphoblastic leukemia", *Cancer Chemother Pharmacol*, 83(2), pp. 341-348.
88. Kiaei A, Onsori H, Alijani A, et al. (2016), "Detection of t(8;14) c-myc/IgH gene rearrangement by long-distance polymerase chain reaction in patients with diffuse large B-cell lymphoma", *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, 9(4), pp. 141-146.
89. Kiem Hao T, Nhu Hiep P, Kim Hoa NT, et al. (2020), "Causes of Death in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia at Hue Central Hospital for 10 Years (2008-2018)", *Glob Pediatr Health*, 7, pp. 1-8.

90. Kiem Hao T, Van Ha C, Huu Son N, et al. (2020), "Long-term outcome of childhood acute myeloid leukemia: A 10-year retrospective cohort study", *Pediatr Rep*, 12(1), pp. 84-90.
91. Kim MJ, Cho SY, Lee WI, et al. (2013), "The utility of the multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay in the detection of hematologic malignancies", *Ann Lab Med*, 33(4), pp. 304-307.
92. Kipf E, Schlenker F, Borst N, et al. (2022), "Advanced Minimal Residual Disease Monitoring for Acute Lymphoblastic Leukemia with Multiplex Mediator Probe PCR", *J Mol Diagn*, 24(1), pp. 57-68.
93. Kolb EA, Meshinchi S (2015), "Acute myeloid leukemia in children and adolescents: identification of new molecular targets brings promise of new therapies", *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2015, pp. 507-513.
94. Koren G, Ferrazini G, Sulh H, et al. (1990), "Systemic exposure to mercaptopurine as a prognostic factor in acute lymphocytic leukemia in children", *N Engl J Med*, 323(1), pp. 17-21.
95. Kumar CC (2011), "Genetic abnormalities and challenges in the treatment of acute myeloid leukemia", *Genes Cancer*, 2(2), pp. 95-107.
96. Lennard L, Lilleyman JS (1989), "Variable mercaptopurine metabolism and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukemia", *J Clin Oncol*, 7(12), pp. 1816-1823.
97. Leung W, Ribeiro RC, Hudson M, et al. (2001), "Second malignancy after treatment of childhood acute myeloid leukemia", *Leukemia*, 15(1), pp. 41-45.
98. Liang DC, Yang CP, Liu HC, et al. (2016), "NUDT15 gene polymorphism related to mercaptopurine intolerance in Taiwan Chinese children with acute lymphoblastic leukemia", *Pharmacogenomics J*, 16(6), pp. 536-539.
99. Licht JD (2020), "Oncogenesis by E2A-PBX1 in ALL: RUNX and more", *Blood*, 136(1), pp. 3-4.

100. Lin PC, Chang TT, Lin SR, et al. (2008), "TEL/AML1 fusion gene in childhood acute lymphoblastic leukemia in southern Taiwan", *Kaohsiung J Med Sci*, 24(6), pp. 289-296.
101. Lins MM, Santos MO, de Albuquerque M, et al. (2017), "Incidence and survival of childhood leukemia in Recife, Brazil: A population-based analysis", *Pediatr Blood Cancer*, 64(8).
102. Liquori A, Ibanez M, Sargas C, et al. (2020), "Acute Promyelocytic Leukemia: A Constellation of Molecular Events around a Single PML-RARA Fusion Gene", *Cancers (Basel)*, 12(3).
103. Lo-Coco F, Ammatuna E, Montesinos P, et al. (2008), "Acute promyelocytic leukemia: recent advances in diagnosis and management", *Semin Oncol*, 35(4), pp. 401-409.
104. Low SK, Nanua S, Patel M, et al. (2022), "AML with BCR-ABL1 Fusion treated with Imatinib, a Hypomethylating Agent and Venetoclax", *Leuk Res Rep*, 17, pp. 100333.
105. Magrath I, Shanta V, Advani S, et al. (2005), "Treatment of acute lymphoblastic leukaemia in countries with limited resources; lessons from use of a single protocol in India over a twenty year period [corrected]", *Eur J Cancer*, 41(11), pp. 1570-1583.
106. Manara E, Baron E, Tregnago C, et al. (2014), "MLL-AF6 fusion oncogene sequesters AF6 into the nucleus to trigger RAS activation in myeloid leukemia", *Blood*, 124(2), pp. 263-272.
107. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, et al. (2007), "FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia", *Blood*, 110(4), pp. 1262-1270.
108. Mitchell C, Hall G, Clarke RT (2009), "Acute leukemia in children: diagnosis and management", *BMJ*, 338.

109. Moricke A, Reiter A, Zimmermann M, et al. (2008), "Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95", *Blood*, 111(9), pp. 4477-4489.
110. Moriyama T, Nishii R, Lin TN, et al. (2017), "The effects of inherited NUDT15 polymorphisms on thiopurine active metabolites in Japanese children with acute lymphoblastic leukemia", *Pharmacogenet Genomics*, 27(6), pp. 236-239.
111. Moriyama T, Nishii R, Perez-Andreu V, et al. (2016), "NUDT15 polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity", *Nat Genet*, 48(4), pp. 367-373.
112. Nachman J, Sather HN, Cherlow JM, et al. (1998), "Response of children with high-risk acute lymphoblastic leukemia treated with and without cranial irradiation: a report from the Children's Cancer Group", *J Clin Oncol*, 16(3), pp. 920-930.
113. Neuendorff NR, Schwarz M, Hemmati P, et al. (2015), "BCR-ABL1(+) acute myeloid leukemia: clonal selection of a BCR-ABL1(-) subclone as a cause of refractory disease with nilotinib treatment", *Acta Haematol*, 133(2), pp. 237-241.
114. Nguyen HTK, Terao MA, Green DM, et al. (2021), "Testicular involvement of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: Diagnosis, biology, and management", *Cancer*, 127(17), pp. 3067-3081.
115. Nguyen Thi Kim Hoa, Tran Van A (2019), "Epidemiology of Childhood Cancer at Central Zone of Viet Nam", *Journal of Clinical Medicine*, 56, pp: 52-55.
116. Nwannadi I, Alao O, Bazuaye G (2009), "Clinical and Laboratory Characteristics of Patients with Leukaemia in South-South Nigeria", *The internet Journal of Oncology*, 7 (2).

117. Orgel E, Sposto R, Malvar J, et al. (2014), "Impact on survival and toxicity by duration of weight extremes during treatment for pediatric acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Oncology Group", *J Clin Oncol*, 32(13), pp. 1331-1337.
118. Paolucci G, Vecchi V, Favre C, et al. (2001), "Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. Long-term results of the AIEOP-ALL 87 study", *Haematologica*, 86(5), pp. 478-484.
119. Parapia LA (2007), "Trepanning or trephines: a history of bone marrow biopsy", *Br J Haematol*, 139(1), pp. 14-19.
120. Park JH, Kang MG, Kim HR, et al. (2020), "Changing the frequency and spectra of chromosomal aberrations in Korean patients with acute leukemia in a tertiary care hospital", *Blood Res*, 55(4), pp. 225-245.
121. Parkin DM, Stiller CA, Draper GJ, et al. (1988), "The international incidence of childhood cancer", *Int J Cancer*, 42(4), pp. 511-520.
122. Pedram M, Hiradfar AA (2009), "Results of Chemotherapy with BFM-87 Protocol in Children with Acute Myeloid Leukemia at Referral Center in the Southwest of Iran: Clinical Characteristics and Outcome", *IJCP*, 3, pp. 143-150.
123. Perez-Saldivar ML, Fajardo-Gutierrez A, Bernaldez-Rios R, et al. (2011), "Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology", *BMC Cancer*, 11, pp. 355.
124. Peterson JF, Sukov WR, Pitel BA, et al. (2019), "Acute leukemias harboring KMT2A/MLLT10 fusion: a 10-year experience from a single genomics laboratory", *Genes Chromosomes Cancer*, 58(8), pp. 567-577.
125. Pi WC, Wang J, Shimada M, et al. (2020), "E2A-PBX1 functions as a coactivator for RUNX1 in acute lymphoblastic leukemia", *Blood*, 136(1), pp. 11-23.
126. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P, et al. (2007), "A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial", *Lancet*, 370(9583), pp. 240-250.

127. Piller G (2001), "Leukaemia - a brief historical review from ancient times to 1950", *Br J Haematol*, 112(2), pp. 282-292.
128. Pizzo PA, Poplack DG (2016), Acute Lymphoblastic Leukemia, Acute Myeloid Leukemia. Principles and practices of pediatrics oncology, Wolters Kluwer. pp. 463-533.
129. Pogoda JM, Preston-Martin S (2006), "Smoking and risk of acute myeloid leukemia in adults", *Cancer Causes Control*, 17(3), pp. 351-352.
130. Prada-Arismendy J, Arroyave JC, Rothlisberger S (2017), "Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia", *Blood Rev*, 31(1), pp. 63-76.
131. Puangpetch A, Tiyasirichokchai R, Pakakasama S, et al. (2020), "NUDT15 genetic variants are related to thiopurine-induced neutropenia in Thai children with acute lymphoblastic leukemia", *Pharmacogenomics*, 21(6), pp. 403-410.
132. Pui CH (1995), "Childhood leukemias", *N Engl J Med*, 332(24), pp. 1618-1630.
133. Pui CH, Boyett JM, Rivera GK, et al. (2000), "Long-term results of Total Therapy studies 11, 12 and 13A for childhood acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children's Research Hospital", *Leukemia*, 14(12), pp. 2286-2294.
134. Pui CH, Campana D, Pei D, et al. (2009), "Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation", *N Engl J Med*, 360(26), pp. 2730-2741.
135. Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, et al. (2011), "Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update", *J Clin Oncol*, 29(5), pp. 551-565.
136. Pui CH, Dodge RK, Dahl GV, et al. (1985), "Serum lactic dehydrogenase level has prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia", *Blood*, 66(4), pp. 778-782.
137. Pui CH, Robison LL, Look AT (2008), "Acute lymphoblastic leukaemia", *Lancet*, 371(9617), pp: 1030-1043.
138. Puumala SE, Ross JA, Aplenc R, et al. (2013), "Epidemiology of childhood acute myeloid leukemia", *Pediatr Blood Cancer*, 60(5), pp: 728-733.

139. Quessada J, Cuccuini W, Saultier P, et al. (2021), "Cytogenetics of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Current Knowledge", *Genes (Basel)*, 12(6).
140. Rehling D, Zhang SM, Jemth AS, et al. (2021), "Crystal structures of NUDT15 variants enabled by a potent inhibitor reveal the structural basis for thiopurine sensitivity", *J Biol Chem*, 296, pp. 100568.
141. Reinhardt D, Antoniou E, Waack K (2022), "Pediatric Acute Myeloid Leukemia-Past, Present, and Future", *J Clin Med*, 11(3).
142. Rejeski K, Duque-Afonso J, Lubbert M (2021), "AML1/ETO and its function as a regulator of gene transcription via epigenetic mechanisms", *Oncogene*, 40(38), pp. 5665-5676.
143. Relling MV, Schwab M, Whirl-Carrillo M, et al. (2019), "Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on TPMT and NUDT15 Genotypes: 2018 Update", *Clin Pharmacol Ther*, 105(5), pp. 1095-1105.
144. Robazzi TC, Silva LR, Mendonca N, et al. (2008), "Gastrointestinal manifestations as initial presentation of acute leukemias in children and adolescents", *Acta Gastroenterol Latinoam*, 38(2), pp. 126-132.
145. Rubnitz JE, Inaba H (2012), "Childhood acute myeloid leukaemia", *Br J Haematol*, 159(3), pp. 259-276.
146. Sanchez R, Ayala R, Alonso RA, et al. (2017), "Clinical characteristics of patients with central nervous system relapse in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia: the importance of characterizing ABL1 mutations in cerebrospinal fluid", *Ann Hematol*, 96(7), pp. 1069-1075.
147. Schultz KR, Bowman WP, Aledo A, et al. (2009), "Improved early event-free survival with imatinib in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a children's oncology group study", *J Clin Oncol*, 27(31), pp. 5175-5181.

148. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, et al. (2007), "Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG)", *Blood*, 109(3), pp. 926-935.
149. Seth R, Singh A (2015), "Leukemias in Children", *Indian J Pediatr*, 82(9), pp. 817-824.
150. Sevinir B, Demirkaya M, Baytan B, et al. (2011), "Hyperuricemia and tumor lysis syndrome in children with non-Hodgkin's lymphoma and acute lymphoblastic leukemia", *Turk J Haematol*, 28(1), pp. 52-59.
151. Shahab F, Raziq F (2014), "Clinical presentations of acute leukemia", *J Coll Physicians Surg Pak*, 24(7), pp. 472-476.
152. Shalal HM, Mahmood NS, Alchalabi MAQ (2017), "Clinical, hematological, and laboratory presentation of acute lymphoblastic leukemia of children in Diyala province/Eastern Iraq", *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(10), pp. 4227-4233.
153. Sharma Poudel B, Karki L (2007), "Abnormal hepatic function and splenomegaly on the newly diagnosed acute leukemia patients", *JNMA J Nepal Med Assoc*, 46(168), pp. 165-169.
154. Shilpakar R, Paudel BD, Neupane P, et al. (2019), "Procalcitonin and C-Reactive Protein As Markers of Bacteremia in Patients With Febrile Neutropenia Who Receive Chemotherapy for Acute Leukemia: A Prospective Study From Nepal", *J Glob Oncol*, 5, pp. 1-6.
155. Shu XO, Ross JA, Pendergrass TW, et al. (1996), "Parental alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of infant leukemia: a Childrens Cancer Group study", *J Natl Cancer Inst*, 88(1), pp. 24-31.
156. Sievers EL, Lange BJ, Alonzo TA, et al. (2003), "Immunophenotypic evidence of leukemia after induction therapy predicts relapse: results from a prospective Children's Cancer Group study of 252 patients with acute myeloid leukemia", *Blood*, 101(9), pp. 3398-3406.

157. Singh MK, Gupta R, Rahman K, et al. (2017), "Co-existence of AML1-ETO and BCR-ABL1 transcripts in a relapsed patient of acute myeloid leukemia with favorable risk group: A coincidence or clonal evolution?", *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, 10(1), pp. 39-41.
158. Sinigaglia R, Gigante C, Bisinella G, et al. (2008), "Musculoskeletal manifestations in pediatric acute leukemia", *J Pediatr Orthop*, 28(1), pp. 20-28.
159. Soler AM, Olano N, Mendez Y, et al. (2018), "TPMT and NUDT15 genes are both related to mercaptopurine intolerance in acute lymphoblastic leukaemia patients from Uruguay", *Br J Haematol*, 181(2), pp. 252-255.
160. Song MJ, Kim HJ, Park CH, et al. (2012), "Diagnostic utility of a multiplex RT-PCR assay in detecting fusion transcripts from recurrent genetic abnormalities of acute leukemia by WHO 2008 classification", *Diagn Mol Pathol*, 21(1), pp. 40-44.
161. Stanulla M, Schaeffeler E, Flohr T, et al. (2005), "Thiopurine methyltransferase (TPMT) genotype and early treatment response to mercaptopurine in childhood acute lymphoblastic leukemia", *JAMA*, 293(12), pp. 1485-1489.
162. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, et al. (2017), "International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study", *Lancet Oncol*, 18(6), pp. 719-731.
163. Stensman LM, Kjeldsen E, Nersting J, et al. (2015), "Treatment-related myelodysplastic syndrome in a child with acute myeloid leukemia and TPMT heterozygosity", *J Pediatr Hematol Oncol*, 37(4), pp. 242-244.
164. Suarez-Kurtz G, Araujo GS, de Sousa SJ (2020), "Pharmacogeomic implications of population diversity in Latin America: TPMT and NUDT15 polymorphisms and thiopurine dosing", *Pharmacogenet Genomics*, 30(1), pp. 1-4.
165. Suarez CR, Andreeff M, Miller DR (1984), "Serum LDH values in childhood acute leukemias and non-Hodgkin's lymphoma", *Med Pediatr Oncol*, 12(2), pp. 89-92.

166. Sun C, Chang L, Zhu X (2017), "Pathogenesis of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse", *Oncotarget*, 8(21), pp. 35445-35459.
167. Sung L, Aplenc R, Alonzo TA, et al. (2012), "Predictors and short-term outcomes of hyperleukocytosis in children with acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group", *Haematologica*, 97(11), pp. 1770-1773.
168. Tawfique M, Mannana M, Haque M (2013), "Relationship of Initial Lactate Dehydrogenase (LDH) with initial tumor load and bone marrow remission in childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)", *CBMJ*, 2(1), pp. 03-08.
169. Toksvang LN, Lee SHR, Yang JJ, et al. (2022), "Maintenance therapy for acute lymphoblastic leukemia: basic science and clinical translations", *Leukemia*, 36(7), pp. 1749-1758.
170. Tuong Pham Nguyen, Kiem Hao Tran, Kim Hoa Nguyen Thi (2020), "Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Single-Institution Experience", *Cureus*, 12(7), pp. e9238.
171. Valerie NC, Hagenkort A, Page BD, et al. (2016), "NUDT15 Hydrolyzes 6-Thio-DeoxyGTP to Mediate the Anticancer Efficacy of 6-Thioguanine", *Cancer Res*, 76(18), pp. 5501-5511.
172. Van Vlierberghe P, van Grotel M, Tchinda J, et al. (2008), "The recurrent SET-NUP214 fusion as a new HOXA activation mechanism in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia", *Blood*, 111(9), pp. 4668-4680.
173. Veerman AJ, Kamps WA, van den Berg H, et al. (2009), "Dexamethasone-based therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of the prospective Dutch Childhood Oncology Group (DCOG) protocol ALL-9 (1997-2004)", *Lancet Oncol*, 10(10), pp. 957-966.
174. Vora A, Goulden N, Mitchell C, et al. (2014), "Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute

- lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial", *Lancet Oncol*, 15(8), pp. 809-818.
175. Waack Katharina (2020), "Improved outcome in Pediatric AML-the AML-BFM 2012 study", *Blood*, 136 (supplement 1).
 176. Ward E, DeSantis C, Robbins A, et al. (2014), "Childhood and adolescent cancer statistics, 2014", *CA Cancer J Clin*, 64(2), pp. 83-103.
 177. Woods WG, Kobrinsky N, Buckley JD, et al. (1996), "Timed-sequential induction therapy improves postremission outcome in acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group", *Blood*, 87(12), pp. 4979-4989.
 178. Wu F, Melis R, McMillin GA, et al. (2019), "Retrospective Data Analysis of the Influence of Age and Sex on TPMT Activity and Its Phenotype-Genotype Correlation", *J Appl Lab Med*, 3(5), pp. 827-838.
 179. Xia ZB, Popovic R, Chen J, et al. (2005), "The MLL fusion gene, MLL-AF4, regulates cyclin-dependent kinase inhibitor CDKN1B (p27kip1) expression", *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(39), pp. 14028-14033.
 180. Xu X, Zhai Q, Jin H, et al. (2021), "SET-NUP214 Fusion Gene Involved Early T-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia in Adult with B Marker Expression", *Int J Gen Med*, 14, pp. 659-664.
 181. Yang JJ, Cheng C, Devidas M, et al. (2011), "Ancestry and pharmacogenomics of relapse in acute lymphoblastic leukemia", *Nat Genet*, 43(3), pp. 237-241.
 182. Yang JJ, Landier W, Yang W, et al. (2015), "Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia", *J Clin Oncol*, 33(11), pp. 1235-1242.
 183. Yang SK, Hong M, Baek J, et al. (2014), "A common missense variant in NUDT15 confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia", *Nat Genet*, 46(9), pp. 1017-1020.

184. Yeoh AE, Ariffin H, Chai EL, et al. (2012), "Minimal residual disease-guided treatment deintensification for children with acute lymphoblastic leukemia: results from the Malaysia-Singapore acute lymphoblastic leukemia 2003 study", *J Clin Oncol*, 30(19), pp. 2384-2392.
185. Zaki S, Burney IA, Khurshid M (2002), "Acute myeloid leukemia in children in Pakistan: an audit", *J Pak Med Assoc*, 52(6), pp. 247-249.
186. Zaza G, Cheok M, Krynetskaia N, et al. (2010), "Thiopurine pathway", *Pharmacogenet Genomics*, 20(9), pp. 573-574.
187. Zelent A, Greaves M, Enver T (2004), "Role of the TEL-AML1 fusion gene in the molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukaemia", *Oncogene*, 23(24), pp. 4275-4283.
188. Zhang F, Amat G, Tang Y, et al. (2022), "NUDT15 Genetic Variants in Chinese Han, Uighur, Kirghiz, and Dai Nationalities", *Front Pediatr*, 10, pp. 832363.
189. Zhou MH, Yang QM (2014), "NUP214 fusion genes in acute leukemia (Review)", *Oncol Lett*, 8(3), pp. 959-962.

PHỤ LỤC

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH GEN BỆNH MÁU ÁC TÍNH

BẰNG RT-PCR

(SỬ DỤNG KIT HemaVision®-28N)

1. Mục đích

HemaVision®-28N là kit xét nghiệm chẩn đoán cho 28 chuyển đoạn nhiễm sắc thể gây ra bệnh bạch cầu bao gồm hơn 145 điểm đứt gãy và các biến thể mRNA liên quan. Hơn nữa, nó phát hiện các điểm đứt gãy và các biến thể mRNA mới cho 28 chuyển đoạn. Xét nghiệm HemaVision®-28N có độ nhạy rất cao (> 99%) và độ đặc hiệu (> 99%).

HemaVision®-28N là xét nghiệm định tính sử dụng RNA tổng số được tách chiết từ tế bào máu hoặc tủy xương của con người làm nguyên liệu ban đầu trong xét nghiệm. Xét nghiệm sử dụng phiên mã ngược RNA thành cDNA, sau đó là phản ứng PCR, điện di trên gel agarose và giải thích kết quả.

HemaVision®-28N xác định nhiễm sắc thể, gen và exon tại điểm đứt gãy trong gen tổng hợp. Hơn nữa, xét nghiệm này xác định các biến thể mRNA từ các gen tổng hợp.

Bộ HemaVision®-28N chứa các môi cho 25 phản ứng cDNA, 25 xét nghiệm tổng thể PCR và 15 xét nghiệm phân tách PCR.

Chuyển đoạn	Dung hợp gen	Chuyển đoạn	Dung hợp gen
Del1(p32)	<i>STIL/TAL1</i>	t(9;12)(q34;p13)	<i>ETV6/ABL1</i>
t(1;11)(p32;q23)	<i>KMT2A/EP315</i>	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR/ABL1</i>
t(1;11)(q21;q23)	<i>KMT2A/MLLT11</i>	t(10;11)(p12;q23)	<i>KMT2A/MLLT10</i>
t(1;19)(q23;p13)	<i>TCF3/PBX1</i>	t(11;17)(q23;q21)	<i>KMT2A/MLLT6</i>
t(3;5)(q25;q34)	<i>NPM1/MLF1</i>	t(11;17)(q23;q21)	<i>ZBTB16/RARA</i>
t(3;21)(q25;q34)	<i>RUNX1/MECOM</i>	t(11;19)(q23;p13.1)	<i>KMT2A/ELL</i>
t(4;11)(q21;q23)	<i>KMT2A/AFF1- MLL/AF4</i>	t(11;19)(q23;p13.3)	<i>KMT2A/MLLT1</i>

t(5;12)(q33;p13)	<i>ETV6/PDGFRB</i>	t(12;21)(p13;q22)	<i>ETV6/RUNX1-TEL/AML1</i>
t(5;17)(q35;q21)	<i>NPM1/RARA</i>	t(12;22)(p13;q11)	<i>ETV6/MN1</i>
t(6;9)(q23;q34)	<i>DEK/NUP214</i>	t(15;17)(q24;q21)	<i>PML/RARA</i>
t(6;11)(q27;q23)	<i>KMT2A/AFDN-MLL/AF6</i>	inv(16)(p13;q22)	<i>CBFB/MYH11</i>
t(8;21)(q22;q23)	<i>RUNX1/RUNX1T1-AML1/ETO</i>	t(16;21)(p11;q22)	<i>FUS/ERG</i>
t(9;9)(q34;q34)	<i>SET/NUP214</i>	t(17;19)(q22;p13)	<i>TCF3/HLF</i>
t(9;11)(p22;q23)	<i>KMT2A/MLLT3</i>	T(X;11)(q13;q23)	<i>KMT2A/FOXO4</i>

2. Nguyên lý

RNA được dùng làm khuôn mẫu để tổng hợp cDNA bằng phản ứng phiên mã ngược (Reverse Transcriptase) sử dụng các môi cDNA đặc hiệu. Sản phẩm cDNA là khuôn mẫu cho phản ứng khuếch đại PCR bằng cách sử dụng hot start Taq DNA polymerase và các môi PCR cụ thể. Nhiều gen tổng hợp có một số điểm đứt gãy. Do đó, các đoạn môi PCR được thiết kế để liên kết tại các vị trí cho phép sàng lọc tất cả các điểm đứt gãy này.

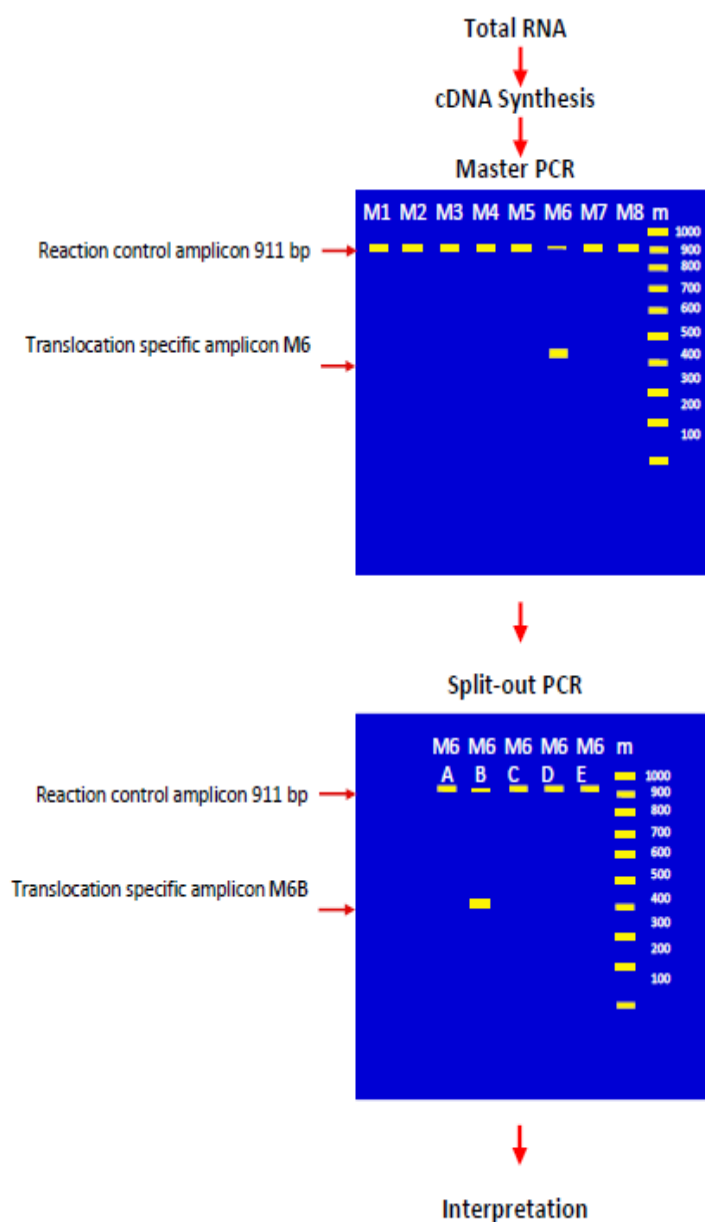


Figure 2. Workflow and results from a test with HemaVision® Cat. No. HV01-28N.

Result: M6 and M6B positive, amplicon 397 bp.

Conclusion: From Table 11 it can be seen this patient has a translocation at t(9;22)(q34;q11) with a breakpoint in the M-bcr (Major breakpoint cluster region) at position BCRe13-ABL1ex2 (b2a2) generating a P210 (kDa) fusion protein.

3. Thiết bị và vật tư

3.1. Thiết bị

- Máy luân nhiệt: Veriti 96 well – Thermal Cycler
- Máy ly tâm HETTICK Centrifuge
- Máy vortex
- PCR Cabinet

3.2. Vật tư/vật liệu

3.2.1. Dụng cụ

- Găng tay không bột dùng một lần
- Pipette điều chỉnh thể tích: 1-10 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl
- Tube PCR 0.2 ml (sạch Rnase/Dnase)
- Tube 2.0 ml (sạch Rnase/Dnase)
- Đầu tip có lọc vô trùng (sạch Rnase/Dnase): 1-10 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl

3.2.2. Hóa chất/sinh phẩm

- HemaVision[®]-28N kit
- Kít tách chiết QIAamp[®] RNA Blood – Qiagene
- Nước cất sinh học phân tử
- Cồn sinh học phân tử, cồn 70%

3.2.3. Mẫu bệnh phẩm

- Nguồn mẫu: mẫu RNA tách chiết từ máu toàn phần
- Mẫu máu toàn phần: kết quả tốt nhất thu được với mẫu máu vừa thu nhận (sử dụng chất chống đông EDTA, citrate, **không sử dụng heparin**). Để có kết quả tối ưu mẫu máu nên được xử lý trong vòng vài tiếng sau thu nhận.
- Nồng độ mẫu đầu vào khuyến cáo: 80 ng/µl.
- Chú ý: Không được sử dụng mẫu máu đông lạnh

4. Nội dung thực hiện

4.1. Tách chiết RNA

Chuẩn bị dung dịch Wash Buffer R1, Wash Buffer R2 và Buffer EL theo hướng dẫn.

Bước 1: Ly giải hồng cầu

- Đảo mẫu cẩn thận ít nhất 15 lần đến khi mẫu đồng nhất. Không được vortex.
- Thêm 10 ml Buffer EL lạnh (4°C) vào 0.5-1.5 ml mẫu máu toàn phần (tối đa 10⁷ tế bào bạch cầu) trong ống 15 ml. Trộn nhanh nhưng mẫu phải đồng nhất bằng cách đảo. Không vortex.
- Ủ trên đá trong 15 phút. Trộn bằng cách đảo 2 lần trong thời gian ủ

Lưu ý:

+ Nếu dung dịch đục trở nên trong suốt trong quá trình ủ, đó là do sự ly giải của hồng cầu. Nếu cần thiết, có thể kéo dài thời gian ủ lên 20 phút.

+ Nếu mẫu máu đầu vào mới thu nhận (tối đa 3 giờ sau khi lấy mẫu), kéo dài thời gian ly giải hồng cầu lên 45 phút.

+ Thể tích mẫu máu đầu vào tối đa có thể là 1.5 ml, tuy nhiên nếu lượng bạch cầu nhiều hơn 10^7 thì giảm thể tích mẫu máu đầu vào.

- Ly tâm ở 3000 rpm trong 5 phút, 4°C, cẩn thận loại bỏ hoàn toàn dịch nổi.

Lưu ý: Bạch cầu tạo thành pellet sau khi ly tâm. Đảm bảo rằng dịch nổi được loại bỏ hoàn toàn. Hồng cầu tạo thành pellet màu đỏ sẽ được loại bỏ ở các bước rửa sau.

- Thêm 5 ml dung dịch Buffer EL lạnh vào pellet tế bào, trộn và ly tâm trong 5 phút ở 3000 rpm, 4°C. Loại bỏ dịch nổi càng nhiều càng tốt, kể cả chấm đỏ, chỉ để lại các pellet nhỏ màu trắng.

Lưu ý: Việc loại bỏ không hoàn toàn dịch nổi sẽ cản trở quá trình ly giải và liên kết của RNA vào cột RTA, dẫn đến giảm hiệu suất và độ tinh sạch.

Bước 2: Ly giải bạch cầu

- Trước khi bắt đầu bước 2, vortex Lysis Solution TR để huyền phù lại chất mang dùng để loại bỏ DNA. Thêm DTT vào Lysis Solution TR. Đệm chứa DTT ổn định ít nhất 4 tuần.

- Thêm 900 µl Lysis Solution TR (chứa DTT) vào pellet tế bào, huyền phù bằng cách pipet vài lần

Bước 3: Gắn DNA vào chất mang

Chuyển dung dịch huyền phù ly giải tế bào ở trên vào Receiver tube 2 ml. Vortex 10s và ủ trong 5 phút, vortex 3-5 lần trong quá trình ủ. Ly tâm mẫu 1 phút, 11000 rpm. Chuyển dịch nổi sang Receiver tube 2 ml mới, tránh chuyển các hạt gắn DNA

Bước 4: Điều chỉnh điều kiện gắn RNA

Thêm 750 µl ethanol 96-100 % vào dịch nổi, trộn đều bằng cách pipet vài lần

Lưu ý: Kết tủa có thể xuất hiện sau khi thêm ethanol vào dịch nổi nhưng nó không ảnh hưởng đến quy trình.

Bước 5: Gắn RNA tổng số vào RTA Spin Filter

- Chuyển 800 µl dung dịch mẫu (ở bước 4) vào RTA Spin Filter. Ủ 1 phút ở nhiệt độ phòng. Ly tâm 1 phút, 11000 rpm. Loại bỏ phần nước và đặt RTA Spin Filter vào RTA Receiver Tube.

- Chuyển phần dịch mẫu còn lại ở bước 4 vào RTA Spin Filter ở trên, ủ trong 1 phút và ly tâm 11000 rpm, 1 phút. Loại bỏ phần nước và đặt RTA Spin Filter vào RTA Receiver Tube.

Bước 6: Rửa cột lọc RTA Spin Filter lần 1

Thêm 600 µl Wash Buffer R1 vào RTA Spin Filter và ly tâm 11000 rpm, 1 phút. Loại bỏ phần nước và đặt RTA Spin Filter vào RTA Receiver Tube mới.

Bước 7: Rửa cột lọc RTA Spin Filter lần 2

- Thêm 700 µl Wash Buffer R2 vào RTA Spin Filter và ly tâm 11000 rpm, 1 phút. Loại bỏ phần nước và đặt RTA Spin Filter vào RTA Receiver Tube cũ.

- Lặp lại bước 7 một lần nữa

Bước 8: Làm khô màng RTA Spin Filter

Ly tâm ở tốc độ cao nhất trong 4 phút để loại bỏ hoàn toàn ethanol. Bỏ RTA Receiver Tube

Bước 9: Rửa giải

- Chuyển RTA Spin Filter sang tube mới (sạch RNase)

- Thêm 30-60 µl Elution Buffer R trực tiếp lên màng RTA Spin Filter.

- Ủ trong 2 phút và ly tâm 1 phút, 11000 rpm.

- Loại bỏ RTA Spin Filter và đặt ống thu nhận RNA tổng số này trên đá

Lưu ý: Tùy điều kiện thực tế, chọn thể tích rửa giải khác nhau, tối thiểu là 30 µl.

Bước 10: Đo nồng độ

Sử dụng máy quang phổ (Nanodrop, Quibit) đo nồng độ RNA tách chiết. Nồng độ mẫu đầu vào cho thử nghiệm là 200-800 ng RNA. Nếu sử dụng 5ul mẫu: pha loãng về nồng độ 40-160 ng/ µl, nồng độ mẫu khuyến cáo là 80 ng/ µl.

4.2. RT-PCR

Bước 1: Tổng hợp cDNA

- Chuẩn bị Master Mix cho tổng hợp cDNA theo Bảng 1.

Table 1: *cDNA Synthesis Mix*

Number of samples	1	2
5x MMLV-RT Buffer (μL)	11.0	22.0
100 mM DTT (μL)	5.5	11.0
10 mM dNTP Mix (μL)	5.5	11.0
MMLV-RT (μL)	2.2	4.4
Total volume (μL):	24.2	48.4

- Thêm 8 μL cDNA Mix (mỗi) từ ống có nắp màu trắng trong bộ HemaVision HV01-28N vào một tube chứa 20 μL RNA tổng số (2 μg). Trộn nhẹ nhàng và spin down trong 10 giây.

- Trong một tube khác chứa 8 μL cDNA Mix thêm 20 μL H₂O (đối chứng âm).

- Ủ các tube ở 65°C trong 5 phút. Sau đó giữ trên đá.

- Thêm 22 μL cDNA Synthesis Mix vào ống với 28 μL RNA + cDNA Mix và tube đối chứng âm. Trộn nhẹ nhàng và spin down trong 10 giây.

- Ủ ở 37 °C trong 45 phút.

- Thêm 50 μL H₂O vào mỗi ống cDNA.

- Ủ ở 95°C trong 5 phút để làm bất hoạt enzyme MMLV-RT.

- Làm lạnh và giữ tube cDNA trên đá (0°C, không đông đá) trong tối đa ba ngày trước khi sử dụng trong Master PCR và Split-out PCR.

Bước 2: Master PCR-I

- Chuẩn bị Master Mix PCR-I theo Bảng 2 sử dụng HemaVision Cat. No. HV06-RMP. Mix. Trộn và spin down trong 10 giây.

Table 2: *Master Mix PCR-I*

Number of samples	1	2
Number of PCR reactions	8	16
10x PCR buffer (μL)	22.0	44.0
dNTP mix (μL)	4.4	8.8
HemaVision DNA Polymerase (μL)	3.5	7.0
H ₂ O (μL)	102.1	204.2
Total volume (μL):	132.0	264.0

- Mỗi mẫu sẽ bao gồm 8 microtube đánh dấu từ M1 đến M8.

- Cho 15 μL Master Mix PCR-I vào 8 microtube.

- Thêm 5 μL mỗi Master PCR-I từ các ống có nắp màu xanh lam M1-M8 vào các ống PCR tương ứng. Ví dụ: vào ống PCR có nhãn M1 thêm 5 μL M1 PCR-I.
- Thêm 5 μL cDNA đã tổng hợp ở trên vào mỗi ống PCR. Đậy nắp, trộn nhẹ trong 10 giây. Thể tích mỗi ống 25 μL .
- Chạy PCR theo chu trình nhiệt như Bảng 3.

Table 3: Master PCR-I Amplification Parameters

Step	Time/Temperature	Cycles
1	15 minutes at 95°C	1
2	30 seconds at 95°C 30 seconds at 58°C 1 minute 30 seconds at 72°C	25
3	Hold at 4°C	1

Bước 3: Master PCR-II

- Chuẩn bị Master Mix PCR-II theo Bảng 4 sử dụng Cat. No. HV06-RMP. Mix . Trộn và spin down trong 10 giây.
- Mỗi mẫu sẽ bao gồm 8 microtube đánh dấu từ M1 đến M8.

Table 4: Master Mix PCR-II

Number of samples	1	2
Number of PCR reactions	8	16
10x PCR buffer (μL)	22.0	44.0
dNTP mix (μL)	4.4	8.8
HemaVision DNA Polymerase (μL)	3.5	7.0
H ₂ O (μL)	137.3	274.6
Total volume (μL):	167.2	334.4

- Cho 19 μL Master Mix PCR-II vào 8 microtube.
- Thêm 5 μL mỗi Master PCR-II từ các ống có nắp màu đỏ M1-M8 vào các ống PCR tương ứng. Ví dụ: vào ống PCR có nhãn M1 thêm 5 μL M1 PCR-II.
- Mở cẩn thận mà không làm đổ các ống PCR có chứa các phản ứng Master PCR-I. Từ các ống này chuyển 1 μL sản phẩm PCR sang các ống Master PCR-II tương ứng. Đậy nắp, trộn nhẹ trong 10 giây. Thể tích mỗi ống 25 μL .
- Chạy PCR theo chu trình nhiệt như Bảng 5.

Table 5: Master PCR-II Amplification Parameters

Step	Time/Temperature	Cycles
1	15 minutes at 95°C	1
2	30 seconds at 95°C 30 seconds at 58°C 1 minute 30 seconds at 72°C	20
3	10 minutes at 72°C	1
4	Hold at 4°C	1

Bước 4: Điện di gel

- Chuẩn bị gel agarose 1,5% (w / v) dài ít nhất 10 cm trong dung dịch đệm TBE 1X. Thêm ethidium bromide đến nồng độ cuối cùng là 0,5 µg / mL.
- Trong phòng Điện di Gel cẩn thận mở các ống PCR (Master PCR-II), thêm 3 µL dung dịch đệm 10X vào mỗi ống PCR. Load khoảng 14 µL cho mỗi giếng trong gel (lane 1-8). Marker được load trong giếng thứ 9 (lane 9).
- Chạy gel trong bộ đệm TBE 1X cho đến khi thuốc nhuộm màu xanh Bromophenol đã di chuyển khoảng 3/4 gel.
- Kiểm tra gel bằng tia UV và chụp ảnh để lưu kết quả.

Bước 5: Giải thích kết quả

- Dương tính khi có một (hoặc nhiều) band chuyển đoạn cụ thể. Tiếp tục với các phản ứng tách ra tương ứng để xác định chuyển đoạn. Như một ví dụ, xem hình 2.
- Dương tính khi có một band chuyển đoạn cụ thể . Band control (911 bp) dương tính trong tất cả các lane. Tiếp tục với các phản ứng tách ra có liên quan để xác định chuyển đoạn.
- Âm tính khi không có band chuyển đoạn và có band control (911 bp) dương tính trong tất cả các lane M1 - M8.
- Khi band chuyển đoạn âm tính và band control âm tính. Xét nghiệm lỗi rất có thể do:
 - + RNA chất lượng kém
 - + Sử dụng máy luân nhiệt có cấu hình nhiệt độ (độ dốc) khác với ABI 9600
 - + Trộn không đúng cách.
- Band chuyển đoạn âm tính và một vài band control âm tính. Xét nghiệm lỗi rất có thể do:

+ Sử dụng máy luân nhiệt có cấu hình nhiệt độ (độ dốc) khác với ABI 9600/9700

+ Trộn không đúng cách một số phản ứng.

- Phản ứng đã bị nhiễm DNA. Xác định nhiễm và lặp lại thử nghiệm.

Bước 6: Split-out PCR-I

Khi một mẫu được xét nghiệm dương tính với sự chuyển đoạn trong Master PCR-II, sự chuyển đoạn và điểm đứt gãy trong gen tổng hợp có thể được xác định bằng cách kiểm tra cDNA còn lại trong phản ứng Split-out PCR.

- Chuẩn bị Split-out Mix PCR-I theo Bảng 6 bằng thuốc thử HemaVision[®] Cat. No. HV06-RMP. Trộn và spin down trong 10 giây.

Table 6: *Split-out Mix PCR-I*

Number of positive Master PCR-II	1	1	1
Number of Split-out PCR-I reactions	4	5	6
10x PCR buffer (μL)	11,00	13,75	16,50
dNTP mix (μL)	2,20	2,75	3,30
HemaVision DNA Polymerase (μL)	1,76	2,20	2,64
H ₂ O (μL)	51,04	63,80	76,56
Total volume (μL):	66,0	82,5	99,0

- Dán nhãn 4, 5 hoặc 6 tube PCR (ví dụ: nếu Master M6 là nhãn dương, sẽ gồm năm ống tách ra theo thứ tự: M6A, M6B, M6C, M6D và M6E).

- Cho 15 μl Split-out Mix PCR-I vào mỗi ống PCR.

- Đối với mỗi ống này, thêm 5 μl Split-out PCR-I primers từ các ống có nắp màu xanh.

- Thêm tiếp 5μl cDNA vào mỗi tube PCR. Đậy nắp, trộn nhẹ trong 10 giây. Thử tích mỗi ống 25 μl.

- Chạy PCR theo chu trình nhiệt như Bảng 7.

Table 7: *Split-out PCR-I Amplification Parameters*

Step	Time/Temperature	Cycles
1	15 minutes at 95°C	1
2	30 seconds at 95°C 30 seconds at 58°C 1 minute 30 seconds at 72°C	25
3	Hold at 4°C	1

Bước 7: Split-out PCR-II (nested)

- Chuẩn bị Split-out Mix PCR-II theo Bảng 8 bằng thuốc thử HemaVision[®] Cat. No. HV06-RMP. Trộn và spin down trong 10 giây.

Table 8: *Split-out Mix PCR-II*

Number of positive Master PCR-II	1	1	1
Number of Split-out PCR-II reactions	4	5	6
10x PCR buffer (μL)	11,00	13,75	16,50
dNTP mix (μL)	2,20	2,75	3,30
HemaVision Taq DNA Polymerase (μL)	1,76	2,20	2,64
H ₂ O (μL)	68,64	85,8	102,96
Total volume (μL):	83,6	104,5	125,4

- Dán nhãn bốn, năm hoặc sáu tube PCR (ví dụ: nếu Master M6 là nhãn dương, sẽ gồm năm ống tách ra theo thứ tự: M6A, M6B, M6C, M6D và M6E).
- Cho 19μl Split-out Mix PCR-II vào mỗi tube PCR.
- Đối với mỗi ống này, thêm tiếp 5 μl Split-out PCR-II primers từ các ống có nắp màu đỏ.
- Thêm 1μl sản phẩm PCR từ bước Split-out PCR-I sang các tube PCR-II tương ứng. Đậy nắp, trộn nhẹ trong 10 giây. Thử tích mỗi ống 25 μl.
- Chạy PCR theo chu trình nhiệt như Bảng 9.

Table 9: Split-out PCR-II Amplification Parameters

Step	Time/Temperature	Cycles
1	15 minutes at 95°C	1
2	30 seconds at 95°C 30 seconds at 58°C 1 minute 30 seconds at 72°C	20
3	10 minutes at 72°C	1
4	Hold at 4°C	1

Bước 8: Điện di gel

- Chuẩn bị gel agarose 1,5% (w/ v) dài ít nhất 10 cm trong dung dịch đệm TBE 1X. Thêm ethidium bromide đến nồng độ cuối cùng là 0,5 μg / μL.

Trong phòng Điện di Gel cẩn thận mở các ống PCR (Split-out PCR-II), thêm 3 μL dung dịch đệm 10X vào mỗi ống PCR. Load khoảng 14 μL cho mỗi giếng trong gel (lane 1-8). Marker được load trong giếng thứ 9 (lane 9).

- Chạy gel trong bộ đệm TBE 1X cho đến khi thuốc nhuộm màu xanh Bromophenol đã di chuyển khoảng 3/4 gel.

- Kiểm tra gel bằng tia UV và chụp ảnh để lưu kết quả.

5. Giải thích và báo cáo kết quả

Band control dương tính trong tất cả phản ứng Split-out PCR-II.

Band control có thể yếu hoặc không có trong lane có chứa band chuyển đoạn mạnh. Band chuyển đoạn có cùng kích thước phân tử với band chuyển đoạn trong phản ứng Master PCR-II tương ứng. Xác định chuyển đoạn với Bảng 11.

Khi hai phản ứng Master PCR-II và hai phản ứng Split-out PCR-II phân tách có chứa các band chuyển đoạn đặc hiệu, nó có thể được tạo ra bởi hai chuyển đoạn. Nhưng nó cũng có thể được tạo ra bởi sự khuếch đại của hai vùng chồng chéo chỉ từ một chuyển đoạn.

Table 10: Translocations with two or three positive Master and Split-out reactions

Positive in Split-out..	..and also positive in Split-out	Interpret translocation from Split-out	Translocation
M1D	M2D & M5B	M1D	t(10;11)
M2D	M5B	M2D	t(10;11)
M2C	M5C	M2C	t(11;19)
M4B	M8B	M4B	t(3;21)
M5D	M2E	M5D	t(9;11)
M6A	M7C	M6A	inv(16)
M6B	M8F	M6B	t(9;22)
M7D	M4B & M8B	M7D	t(3;21)
M8C	M4D	M8C	t(15;17)

Split-out PCR-II là âm tính đối với band chuyển đoạn được thấy trong phản ứng Master PCR-II tương ứng. Khi tất cả các phản ứng Split-out có chứa band control (911 bp), xét nghiệm phải âm tính đối với chuyển đoạn có trong Bảng 11. Khi một số hoặc tất cả các phản ứng Split-out âm tính đối với band control phản ứng, xét nghiệm Split-out không thành công và nó phải được lặp lại.

Bộ kit HemaVision[®] Cat. No. HV01-28N khảo sát 28 chuyển đoạn hoặc sắp xếp lại nhiễm sắc thể với hơn tám mươi biến thể mRNA của gen tổng hợp do sự không đồng nhất của các điểm đứt gãy và/hoặc ghép nối thay thế. Kết quả là, số lượng các đoạn PCR chuyển đoạn dương tính là lớn.

Bảng 11 được sử dụng để giải thích các kết quả quan sát được từ điện di trên gel agarose của Split-out PCR-II. Bảng liệt kê các chuyển đoạn, các gen liên quan, exon ở điểm đứt gãy và kích thước phân tử sản phẩm khuếch đại của Master and Split-out PCR-II. Số lượng exon đã được cập nhật vào năm 2011 theo geneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genebank/>).

Lưu ý: Một sản phẩm PCR-II với kích thước phân tử không được liệt kê trong Bảng 11 có thể xuất hiện do khuếch đại của một điểm đứt gãy hoặc biến thể chưa được công bố. Trình tự của sản phẩm khuếch đại này có thể được xét nghiệm miễn phí bởi DNA Diagnostic A/S. Làm sạch bộ khuếch đại và gửi nó đến DNA Diagnostic A/S.

Lưu ý: Bảng giải thích đã được cập nhật theo HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). Để biết danh sách các thay đổi được thực hiện, hãy xem “8. GENE ABBREVIATIONS ACCORDING TO THE HGNC”.

Table 11: Interpretation table

M1 and M1A-D				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M1A	t(X;11)(q13;q23)	KMT2A(11q23) FOXO4(Xq13.1)	KMT2A ex8 - FOXO4 ex2: 244 bp KMT2A ex9 - FOXO4 ex2: 376 bp KMT2A ex10 - FOXO4 ex2: 490 bp	1
M1B	t(6;11)(q27;q23)	KMT2A(11q23) AFDN(6q27)	KMT2A ex8 - AFDN ex2: 309 bp KMT2A ex9 - AFDN ex2: 441 bp KMT2A ex10 - AFDN ex2: 555 bp	2; 3
M1C	t(11;19)(q23;p13.1)	KMT2A(11q23) ELL(19p13.1)	KMT2A ex8 - ELL ex3: 283 bp KMT2A ex8 - ELL ex2: 331 bp KMT2A ex9 - ELL ex3: 415 bp KMT2A ex9 - ELL ex2: 463 bp KMT2A ex9 - ELL ex2 ins120: 583 bp KMT2A ex10 - ELL ex2 ins120: 697 bp	4; 5; 6
M1D	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A(11q23) MLLT10(10p12)	KMT2A ex8 - MLLT10 ex6: 268 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex5: 304 bp KMT2A ex8 - MLLT10 ex4: 433 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex3: 439 bp	9; 10

M2 and M2A-E				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M2A	t(1;11)(p32;q23)	KMT2A(11q23) EPS15 (1p32)	KMT2A ex8 - EPS15 ex2: 184 bp	7
M2B	t(11;17)(q23;q12-21)	KMT2A(11q23) MLLT6(17q21)	KMT2A ex7 - MLLT6 ex11: 304 bp	8
M2C	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A(11q23) MLLT1(19p13.3)	KMT2A ex8 - MLLT1 ex2: 187 bp KMT2A ex9 - MLLT1 ex2: 319 bp KMT2A ex10 - MLLT1 ex2: 433 bp KMT2A ex11 - MLLT1 ex2: 580 bp	30; 32; 34
M2D	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A(11q23) MLLT10(10p12)	KMT2A ex8 - MLLT10 ex10: 269 bp KMT2A ex8 - MLLT10 ex9: 365 bp KMT2A ex9 - MLLT10 ex10: 401 bp KMT2A ex8 - MLLT10 ex8: 461 bp KMT2A ex9 - MLLT10 ex9: 497 bp KMT2A ex9 - MLLT10 ex8: 593 bp	9; 10; 12
M2E	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A(11q23) MLLT3(9p22)	KMT2A ex8 - MLLT3 ex10: 295 bp KMT2A ex8 - MLLT3 ex9(B): 367 bp KMT2A ex9 - MLLT3 ex9(B): 499 bp KMT2A ex10 - MLLT3 ex9(B): 613bp	3; 30; 35

M3 and M3A-D				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M3A	t(1;19)(q23;p13)	TCF3(19p13.3) PBX1(PRL)(1q23.3)	TCF3 ex16 – PBX ex3 : 376 bp TCF3 ex16 – PBX ex3 (ins 27 bp): 403 bp	13; 14; 15
M3B	t(17;19)(q22;p13)	TCF3(19p13.3) HLF(17q22)	TCF3ex15 – HLF ex4: 207 bp TCF3ex14 – HLF ex3: 269 bp TCF3ex16 – HLF ex3: 552 bp TCF3ex14 – HLF ex2: 605 bp TCF3ex16 – HLF ex2: 888 bp TCF3ex16 – HLF ex4(ins59): 389 bp TCF3ex16 – HLF ex4(ins87): 417 bp	16; 17; 18
M3C	t(12;21)(p13;q22)	ETV6(12p13) RUNX1(21q22.3)	ETV6 ex5 - RUNX1 ex4: 389 bp ETV6 ex5 - RUNX1 ex3: 428 bp	19; 20; 21; 55
M3D	TAL1 ^d 40kbp deletion 1p32	STIL(1p32) TAL1(1p32)	STIL ex1- TAL1 ex1 d1+d2: 184 bp	22; 23

M4 and M4A-D				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M4A	t(8;21)(q22;q22)	RUNX1(21q22.3) RUNX1T1(8q22)	RUNX1 ex6 - RUNX1T1 ex2: 197 bp RUNX1 ex7 - RUNX1T1 ex2: 389 bp RUNX1 ex8 - RUNX1T1 ex2: 551 bp	24; 25; 26
M4B	t(3;21)(q26;q22)	RUNX1(21q22.3) MECOM (3q26)	RUNX1 ex6 – MECOM ex2: 291 bp RUNX1 ex7 – MECOM ex2: 483 bp RUNX1 ex8 – MECOM ex2: 645 bp	25; 27; 28
M4C	t(16;21)(p11;q22)	FUS(16p11.2) ERG(21q22.3)	FUS ex7 – ERG ex13: 315 bp FUS ex8 - ERGex11: 453 bp	29; 57
M4D	t(15;17)(q24;q21)	PML(15q24) RARA(17q21)	PML ex3 - RARA ex3 (S, bcr3): 325 bp	50; 51; 52

M5 and M5A-E				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M5A	t(4;11)(q21;q23)	KMT2A(11q23) AFF1(4q21.3)	KMT2A ex8 - AFF1 ex8(1546): 191 bp KMT2A ex8 - AFF1 ex7(1459): 278 bp KMT2A ex9 - AFF1 ex8(1546): 323 bp KMT2A ex8 - AFF1 ex6(1414): 323 bp KMT2A ex9 - AFF1 ex7(1459): 410 bp KMT2A ex10 - AFF1 ex8(1546): 437 bp KMT2A ex9 - AFF1 ex6(1414): 455 bp KMT2A ex10 - AFF1 ex7(1459): 524 bp KMT2A ex10 - AFF1 ex6(1414): 569 bp	30; 31; 32; 33
M5B	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A(11q23) MLLT10(10p12)	KMT2A ex7 - MLLT10 ex17: 200 bp KMT2A ex8 - MLLT10 ex16: 386 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex15: 491 bp KMT2A ex9 - MLLT10 ex16: 518 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex14: 539 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex13: 572 bp KMT2A ex7 - MLLT10 ex12: 617 bp	9; 10; 11
M5C	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A(11q23) MLLT1(19p13.3)	KMT2A ex 8 - MLLT1 ex7(B): 315 bp KMT2A ex 9 - MLLT1 ex7(B): 447 bp KMT2A ex 10 - MLLT1 ex7(B): 561 bp	30; 34
M5D	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A(11q23) MLLT3(9p22)	KMT2A ex 8 - MLLT3 ex6(A): 322 bp KMT2A ex 9 - MLLT3 ex6(A): 454 bp KMT2A ex 10 - MLLT3 ex6(A): 568 bp KMT2A ex 8 - MLLT3 ex5: 1027 bp KMT2A ex 9 - MLLT3 ex5: 1159 bp KMT2A ex 10 - MLLT3 ex5: 1273 bp	3; 30; 35
M5E	t(1;11)(q21;q23)	KMT2A(11q23) MLLT11(1q21)	KMT2A ex 8 - MLLT11 ex2: 401 bp KMT2A ex 9 - MLLT11 ex2: 533 bp KMT2A ex 10 - MLLT11 ex2: 647bp	36

M6 and M6A-E				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M6A	inv(16)(p13;q22)	CBFB (16q22.1) MYH11 (16p13.11)	CBFB ex4 - MYH11 ex30(G): 192 bp CBFB ex4 - MYH11 ex29: 399 bp CBFB ex5 - MYH11 ex30(D): 288 bp CBFB ex5 - MYH11 ex29(E): 495 bp	47
M6B	t(9;22)(q34;q11)	BCR(22q11) ABL1(9q34.1)	<u>M-bcr, P210:</u> BCR ex12 - ABL1 ex3 (b1a3): 118 bp BCR ex13 - ABL1 ex3 (b2a3): 223 bp BCR ex12 - ABL1 ex2 (b1a2): 292 bp BCR ex14 - ABL1 ex3 (b3a3): 298 bp BCR ex13 - ABL1 ex2 (b2a2): 397 bp BCR ex14 - ABL1 ex2 (b3a2): 472 bp <u>μ-bcr, P230:</u> BCR ex19 - ABL1 ex3 (c3a3): 838 bp BCR ex20 - ABL1 ex3 (c4a3): 973 bp BCR ex19 - ABL1 ex2 (c3a2): 1012 bp BCR ex20 - ABL1 ex2 (c4a2): 1147 bp	37; 38; 39
M6C	t(9;12)(q34;p13)	ETV6(12p13) ABL1(9q34.1)	ETV6 ex2 - ABL1 ex3: 121 bp ETV6 ex3 - ABL1 ex3: 286 bp ETV6 ex2 - ABL1 ex2: 295 bp ETV6 ex4 - ABL1 ex3: 421 bp ETV6 ex3 - ABL1 ex2: 460 bp ETV6 ex4 - ABL1 ex2: 595 bp ETV6 ex5 - ABL1 ex3: 967 bp ETV6 ex5 - ABL1 ex2: 1141 bp	40; 41
M6D	t(5;12)(q33;p13)	ETV6(12p13) PDGFRB(5q33)	ETV6 ex4 - PDGFRB ex11: 464 bp ETV6 ex4 - PDGFRB ex9: 800 bp	42
M6E	t(12;22)(p13;q11-12)	ETV6(12p13) MN1(22q12.1)	ETV6 ex2 - MN1 ex2(1): 244 bp ETV6 ex3 - MN1 ex2(2): 409 bp ETV6 ex4 - MN1 ex2: 544 bp	43

M7 and M7A-D				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M7A	t(6;9)(p23;q34)	DEK(6p23) NUP214(9q34)	DEK ex9 - NUP214 ex18: 320 bp DEK ex10 - NUP214 ex18: 449 bp DEK ex9 - NUP214 ex17: 479 bp DEK ex10 - NUP214 ex17: 608 bp DEK ex9 - NUP214 ex16: 629 bp DEK ex9 - NUP214 ex15: 716 bp DEK ex10 - NUP214 ex16: 758 bp DEK ex10 - NUP214 ex15: 845 bp	44
M7B	t(9;9)(q34;q34)	SET(9q34) NUP214(9q34)	SET ex7 - NUP214 ex18: 246 bp SET ex8 - NUP214 ex18: 393 bp SET ex7 - NUP214 ex17: 405 bp SET ex8 - NUP214 ex17: 552 bp SET ex7 - NUP214 ex16: 555 bp SET ex7 - NUP214 ex15: 642 bp SET ex8 - NUP214 ex16: 702 bp SET ex8 - NUP214 ex15: 789 bp	45; 46
M7C	inv(16)(p13;q22)	CBFB (16q22.1) MYH11 (16p13.11)	CBFB ex4 - MYH11 ex34 (F): 174 bp CBFB ex5 - MYH11 ex34 (A): 270 bp CBFB ex4 - MYH11 ex33: 387 bp CBFB ex5 - MYH11 ex33 (B): 483 bp CBFB ex4 - MYH11 ex32: 636 bp CBFB ex5 - MYH11 ex32: 732 bp CBFB ex4 - MYH11 ex31: 789 bp CBFB ex5 - MYH11 ex31: 885 bp	47
M7D	t(3;21)(q26;q22)	RUNX1(21q22.3) RPL22P1 (3q26)	RUNX1 ex6 - RPL22 P1, 22bp from 3'-end ex2: 127 bp RUNX1 ex7 - RPL22 P1, 22bp from 3'-end ex2: 319 bp	25; 27; 28; 56

M8 and M8A-F				
PCR	TRANSLOCATION	GENES	BREAKPOINTS AND PCR FRAGMENTS	REFERENCE
M8A	t(11;17)(q23;q21)	ZBTB16(11q23) RARA(17q21)	ZBTB16 ex4(A) - RARA ex3: 285 bp ZBTB16 ex5(B) - RARA ex3: 373 bp	48; 49
M8B	t(3;21)(q26;q22)	RUNX1(21q22.3) MECOM(3q26)	RUNX1 ex6 - MECOM ex5: 91 bp RUNX1 ex7 - MECOM ex5: 283 bp RUNX1 ex8 - MECOM ex5: 445 bp RUNX1 ex6 - MECOM ex2: 667 bp RUNX1 ex7 - MECOM ex2: 859 bp RUNX1 ex8 - MECOM ex2: 1021 bp	25; 27; 28
M8C	t(15;17)(q24;q21)	PML(15q24) RARA(17q21)	PML ex6 - RARA ex3 (L, bcr1): 353 bp PML δ ex6 - RARA ex3 (V, bcr2): 97-350 bp	50; 51; 52
M8D	t(5;17)(q35;q21)	NPM1(5q35) RARA(17q21)	NPM1 ex4(S) - RARA ex3: 91 bp	53
M8E	t(3;5)(q25.1;q35)	NPM1(5q35) MLF1(3q25.1)	NPM1 ex6 - MLF1 ex4: 276 bp	54
M8F	t(9;22)(q34;q11)	BCR(22q11) ABL1(9q34.1)	<u>m-bcr, P190:</u> BCR ex1 - ABL1 ex3 (e1a3): 146 bp BCR ex1 - ABL1 ex2 (e1a2): 320 bp BCR ex6 - ABL1 ex3 (e6a3): 788 bp BCR ex6 - ABL1 ex2 (e6a2): 962 bp	37; 38; 39

PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU

1. Hành chính:

1.1. Họ và tên:

1.2. Tuổi: (tuổi theo năm)

1.3. Giới: 1.Nam ☐ 2.Nữ ☐

1.4. Ngày vào viện:

1.5. Số vào viện:

2. Một số đặc điểm chung:

2.1. Lý do vào viện:

1.Đau khớp ☐ 2.Thiếu máu ☐ 3.Xuất huyết ☐ 4.Ho ☐ 5.Nổi hạch ☐
6.Sụt cân ☐ 7.Sốt ☐ 8.Đau bụng ☐ 9.Nôn ☐ 10.Tiêu chảy ☐
11.Ngất ☐ 12.Sẩn lục ☐ 13.Khác ☐

2.2. Thời gian khởi phát: ngày

2.3. Sử dụng thuốc trước khi nhập viện: 1. Có ☐ 2. Không ☐

3. Lâm sàng:

3.1. Gan lớn: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.2. Lách lớn: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.3. Thiếu máu: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.4. Xuất huyết: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.5. Xuất huyết da: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.6. Xuất huyết niêm mạc: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.7. Có thâm nhiễm: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.8. Hạch lớn: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.9. Vị trí hạch lớn:

1.Cổ ☐ 2.Thượng đòn ☐ 3.Bẹn ☐ 4.Hách ☐ 5.Vị trí khác ☐

3.10. Ho: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.11. Phổi rale: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.12. Thở nhanh: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.13. Sụt cân: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.14. Phù đại nướu: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.15. Đau khớp: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.16. Thâm nhiễm tinh hoàn: 1.Có ☐ 2.Không ☐

3.17. Nhiệt độ:.....°C

4. Cận lâm sàng:

- 4.1. Số lượng hồng cầu:..... 4.2. Hemoglobin:.....
- 4.3. Số lượng bạch cầu:..... 4.4. Bạch cầu trung tính:.....
- 4.5. Số lượng tiểu cầu:.....
- 4.7. LDH:.....U/L 1.Tăng ☐ 2.Bình thường ☐
- 4.8. Acid Uric:.....U/L 1.Tăng ☐ 2.Bình thường ☐
- 4.9. CRP:.....U/L 1.Tăng ☐ 2.Bình thường ☐
- 4.10. SGOT:.....U/L 1.Tăng ☐ 2.Bình thường ☐
- 4.11. SGPT:.....U/L 1.Tăng ☐ 2.Bình thường ☐
- 4.12. Men gan tăng: 1.Có ☐ 2.Không ☐
- 4.13. Creatinin:.....umol/L
- 4.14. Suy thận: 1.Có ☐ 2.Không ☐
- 4.15. Dịch não tủy:.....tế bào
- 4.16. Blast máu ngoại vi:.....%
- 4.17. Blast tủy xương:.....%
- 4.18. Tế bào tủy:.....
- 4.19. Chẩn đoán: 1.B-BCCDL ☐ 2.T-BCCDL ☐ 3.BCCDT ☐
- 4.20. Nhóm nguy cơ cho bạch cầu cấp dòng lympho: 1.Thường ☐ 2.Cao ☐
- 4.21. Thở bệnh:
- | | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0.M0 ☐ | 1.M1 ☐ | 2.M2 ☐ | 3.M3 ☐ |
| 4.M4 ☐ | 5.M5 ☐ | 6.M6 ☐ | 7.M7 ☐ |

5. Xét nghiệm gen

- 5.1. *NUDT15*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.2. Loại đột biến *NUDT15*:
- Kiểu alen: *1 ☐ *2 ☐ *3 ☐ *5 ☐ *6 ☐
- Kiểu gen: 1.*1/*6 ☐ 2.*1/*3 ☐ 3.*1/*2 ☐ 4.*3/*5 ☐
- 5.3. *TPMT*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.4. Loại đột biến *TPMT*:
- Kiểu alen: *1 ☐ *3C ☐
- Kiểu gen: *1/*1 ☐ *1/*3C ☐
- 5.5. *TEL/AML1*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.6. *BCR/ABL1*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.7. *MLL/AF4*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.8. *E2A/PBX1*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐
- 5.9. *SET/NUP214*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.10. Tổng hợp đột biến dòng lympho:

1.Xấu ☐ 2.Trung gian ☐ 3. Tốt ☐

5.11. *AML1/ETO*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.12. *BCR/ABL1*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.13. *MLL/AF9*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.14. *CBFB/MYH11*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.15. *PML/RARA*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.16. *KMT2A/MLLT10*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.17. *MLL/AF6*: 1.Dương tính ☐ 2.Âm tính ☐

5.18. Tổng hợp đột biến dòng tủy:

1.Xấu ☐ 2.Trung gian ☐ 3. Tốt ☐

6. Đánh giá đáp ứng

6.1. Blast sau điều trị:.....

6.2. Tình trạng lui bệnh đối với bạch cầu cấp dòng lympho:

1. Lui bệnh ☐ 2. Lui bệnh một phần ☐ 3. Không lui bệnh ☐

6.3. Tình trạng lui bệnh với bạch cầu cấp dòng tủy:

1. Lui bệnh ☐ 2. Lui bệnh một phần ☐ 3. Không lui bệnh ☐

6.4. Biến cố trong giai đoạn tấn công:

0. Tử vong ☐ 1. Lui bệnh ☐ 2. Không lui ☐

6.5. Số lượng tế bào tủy:.....

6.6. MRD sau tấn công: 1. $< 0,0001$ ☐ 2. $> 0,0001$ ☐

6.7. Lui bệnh MRD:

0. Tử vong ☐ 1. Lui bệnh ☐ 2. Không lui ☐

6.8. Loại tái phát:

0.Không ☐ 1.Tủy ☐ 2.TK TW ☐ 3.Phối hợp ☐ 4.Mô mềm ☐ 5.Không tính ☐

6.9. Tái phát: 1. Không ☐ 2. Có ☐ 3. Không tính ☐

6.10. Kết cục: 1. Chết ☐ 2. Sống ☐

6.11. Thời gian sống toàn bộ (tháng):

6.12. Thời gian sống không bệnh (tháng) :.....

6.13. Tử vong điều trị:

1. Có ☐ 2. Không ☐ 3. Trước điều trị ☐

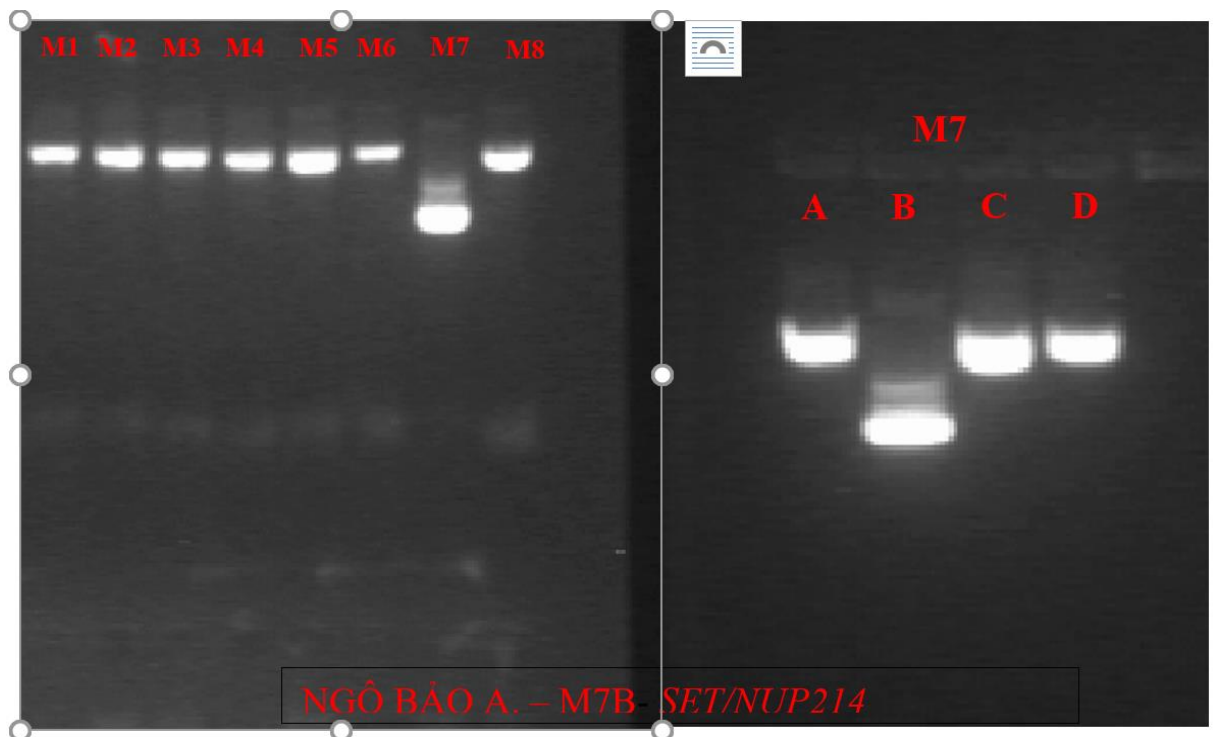
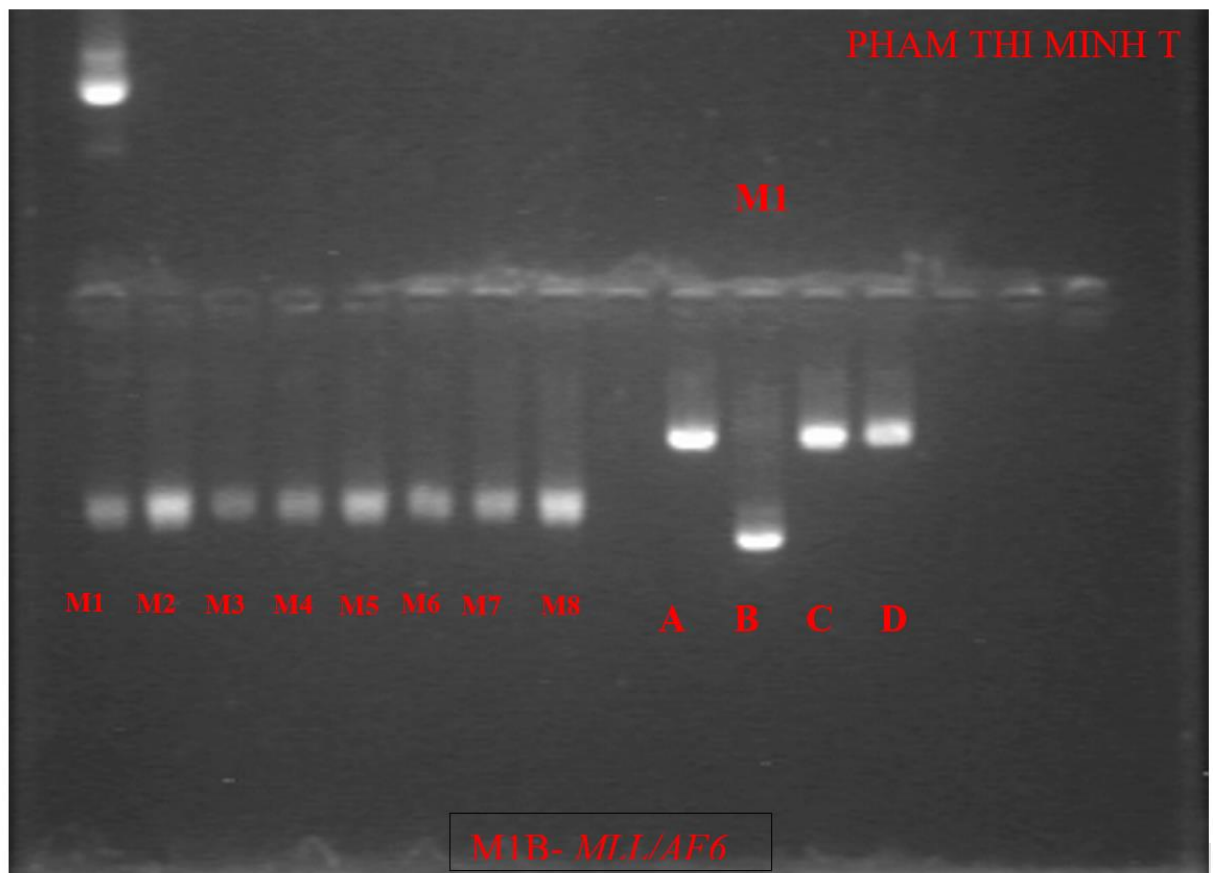
6.14. Ghi chú:.....

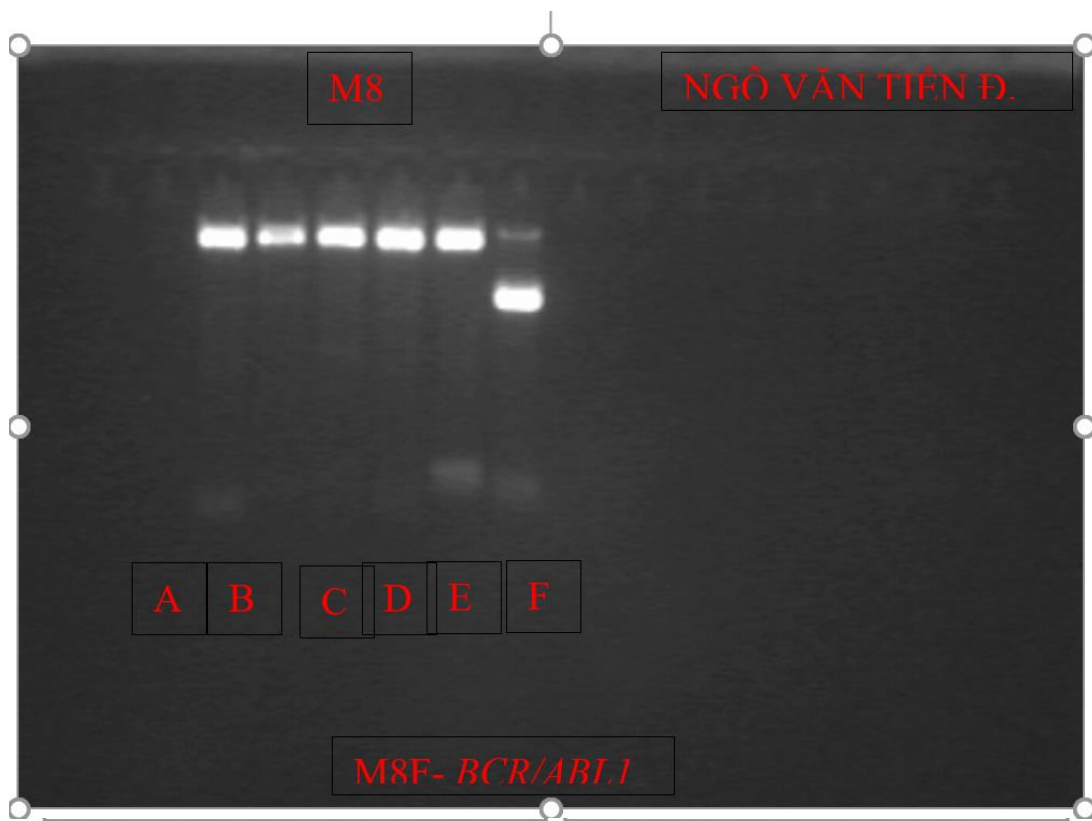
Huế, ngày ... tháng ... năm ...

Người điều tra

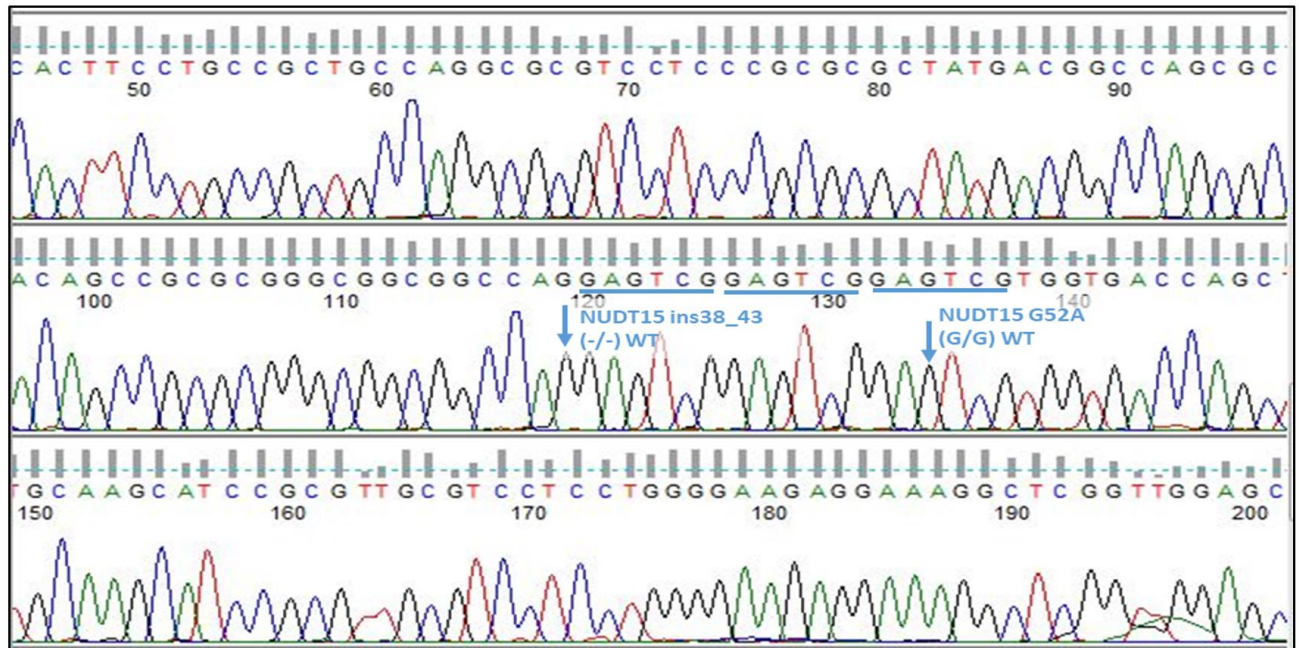
Nguyễn Thị Kim Hoa

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ KẾT QUẢ GEN

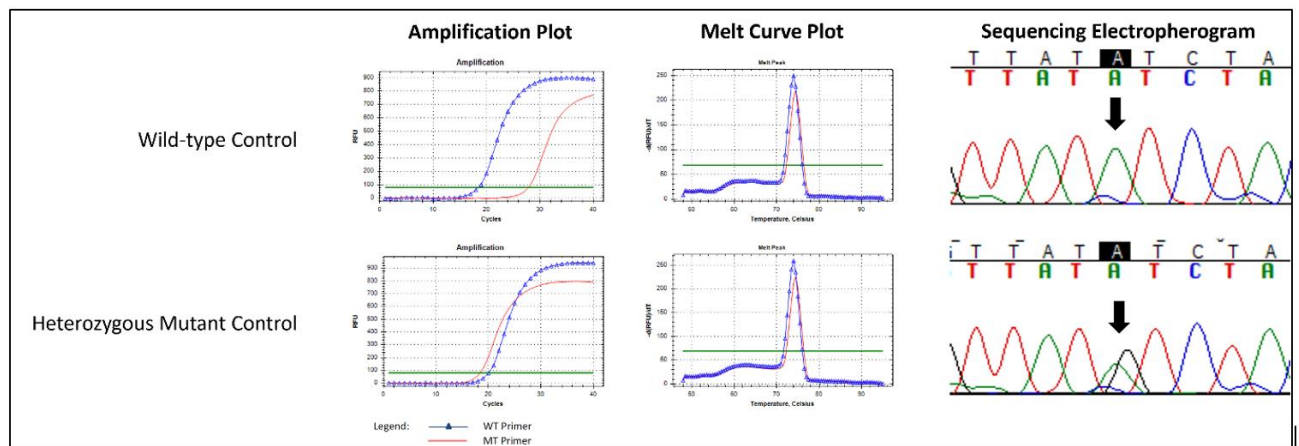




MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ KẾT QUẢ ĐA HÌNH GEN *NUDT15* VÀ *TPMT*



*NUDT15**1/*2



*TPMT**1/*3C

MỘT SỐ HÌNH ẢNH BỆNH NHÂN SAU ĐIỀU TRỊ



Hình ảnh bệnh nhân Phan Thị Hải Y.
Cháu đã kết thúc điều trị



Hình ảnh cháu Hồ Hoàng K.,
người dân tộc đang điều trị



Cháu Nguyễn Trần Gia B, đã kết thúc điều trị.