ĐẶC ĐIỂM KIỂU HÌNH MIỄN DỊCH TỦY XƯƠNG CỦA BỆNH NHÂN LƠ XÊ MI CẤP TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG

Nguyễn Thanh Bình[1,2], Phan Thu Giang[1], Đặng Thị Hà[2]

[1]Trường Đại học Y Hà Nội, [2]Bệnh viện Nhi Trung Ương

Phân tích kiểu hình miễn dịch tủy xương trên máy BD FASC Callibur ở bệnh nhân được chẩn đoán Lơ xê mi cấp (LXMc) trong độ tuổi từ 1 tháng – 15 tuổi điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ 04/2012 đến 11/2016 cho thấy: tỷ lệ LXMc dòng Lympho B, Lympho T và dòng tủy tương ứng là 76,9%, 7,7% và 15,4%. Các dấu ấn miễn dịch (CD) đặc trưng biểu lộ trên các tế bào ác tính dòng Lympho B là: CD19 (96,7%), CD10 (95%), CD79a (91,7%), CD22 (77,9%), CD20 (32,2%); dòng Lympho T là: CD7 (100%), cCD3 (94,4%), CD5 (88,9%), CD3 (77,8%), CD2 (50%) và dòng tủy là: MPO (80,5%), CD33 (97,3%), CD117 (94.4), CD13 (80,5%), CD14 (22,2%). Có sự biểu lộ một số dấu ấn lạc dòng như: LXMc dòng Lympho B có biểu lộ dấu ấn dòng tủy chiếm 20,6%; LXMc dòng Lympho T có biểu lộ dấu ấn dòng tủy chiếm 22,2%, dòng lympho B chiếm 16,7%; LXMc dòng tủy có biểu lộ dấu ấn dòng Lympho B chiếm 11,1%, dòng lympho T chiếm 5,6%.

Từ khóa: Lơ xê mi cấp, kiểu hình miễn dịch, dấu ấn miễn dịch (CD)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, cùng với sự phát triển của kinh tế - xã hội đặc biệt sự phát triển của y học, tỷ lệ các bệnh lây truyền giảm đáng kể, trong khi đó các bệnh về chuyển hóa, tim mạch, ung thư lại có xu hướng tăng lên, trong đó có ung thư máu. Lơ xê mi cấp (LXMc) là bệnh ác tính thường gặp nhất của cơ quan tạo máu. Bệnh có thể gặp mọi lứa tuổi, ở cả 2 giới và biểu hiện đa dạng. Ở trẻ em, LXMc cũng là loại ung thư khá phổ biến và hay gặp nhất là LXMc dòng Lympho chiến đến 75% [1-4].

Trước đây, việc chẩn đoán và phân loại LXMc chủ yếu dựa trên hình thái học và hóa học tế bào theo tiêu chuẩn phân loại FAB (French - American - British). Việc xác định và phân loại kiểu hình miễn dịch của LXMc bằng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch hoặc miễn dịch huỳnh quang đã góp phần phân loại LXMc cụ thể hơn đặc biệt LXMc dòng Lympho. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn còn hạn chế do số lượng tế bào được phân tích chưa nhiều, phụ thuộc nhiều vào yếu tố chủ quan của người đọc kết quả...

Những năm gần đây, kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy xác định các dấu ấn miễn dịch trong phân loại LXMc được ứng dụng nhiều hơn. Đây là kỹ thuật xác định được nhiều loại dấu ấn trên một tế bào và phân tích được số lượng tế bào lớn nên có độ chính xác hơn [5-6]. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu (1) Mô tả tỷ lệ và mức độ biểu hiện các dấu ấn miễn dịch trên tế bào LXMc và (2) xác định một số biểu hiện bất thường các dấu ấn miễn dịch trong LXMc ở bệnh nhi được điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thanh Bình,
Trường Đại học Y Hà Nội
Email: ntbinh@hmu.edu.vn
Ngày nhận: 09/10/2019
Ngày được chấp nhận: 21/10/2019

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Nghiên cứu trên 234 bệnh nhi trong độ tuổi từ 1 tháng – 15 tuổi được chẩn đoán Lơ-xê-mi cấp mới theo WHO 2001 và phân loại theo FAB [7-8]. Những bệnh nhân này được phân loại kiểu hình miễn dịch tủy xương trên máy BD FASC Calibur theo panel hướng dẫn của EuroFlow từ năm 2012 đến năm 2015 tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

2. Phương pháp

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu. Các số liệu của các chỉ số nghiên cứu được thu thập từ bệnh án bệnh nhân lưu trữ tại Bệnh viện.

Các dấu ấn (CD) được dùng xác định các tế bào dòng tủy (MPO, CD33, CD13, CD14, CD41a, CD117), dòng Lympho B (CD10, CD19, CD20, cCD22, cCD79a, Kappa, Lambda), dòng Lympho T (CD2, CD5, CD7, cCD3, CD3, CD4, CD8), các dấu ấn không đặc hiệu dòng và dấu ấn khác (CD45, CD34, HLA-DR, CD38, CD123, TdT). Mức độ dương tính của các dấu ấn: dương tính mạnh (++), dương tính (+) và âm tính (-) dựa trên cường độ huỳnh quang biểu hiện trên flowcytometry. Các tế bào ác tính mang đầy đủ dấu ấn trong tiêu chuẩn chẩn đoán của một dòng có biểu hiện thêm các dấu ấn của dòng khác được xác định là dấu ấn lạc dòng.

3. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Excel 10 và các phần mềm thống kê phù hợp.

4. Đạo đức nghiên cứu

Thông tin bệnh nhân được mã hóa và bảo mật. Số liệu nghiên cứu được thu thập từ bệnh án bệnh nhân và chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Phân bố giới tính của nhóm nghiên cứu

Các dòng LXMc	Nam		Nữ		Tổng	%
	SL	%	SL	%		
Lympho B	100	42,7	80	34,2	180	76,9
Lympho T	12	5,1	6	2,6	18	7,7
Tủy	22	9,4	14	6	36	15,4
Tổng số	134	57,3	100	42,7	234	100

LXMc dòng lympho B chiếm tỷ lệ cao nhất là 76,9%, LXMc dòng tủy chiếm 15,4%, LXMc dòng lympho T chiếm 7,7%. Tỷ lệ nam/nữ là 1,3.

2. Đặc điểm biểu hiện các dấu ấn miễn dịch theo nhóm LXMc

Bảng 2. Tỷ lệ xuất hiện và mức độ biểu hiện các dấu ấn miễn dịch dòng lympho B

Dấu ấn	Tổng số	Tỷ lệ %	(+)		(++)	
			n	%	n	%
CD19	174	96,7	122	70	52	26,7
CD10	171	95	73	40,6	98	54,4
CyCD79a	165	91,7	145	80,6	20	11,1
CD20	58	32,2	18	55	3	1,6
CD22	158	77,8	128	71,1	30	16,1

CD19 xuất hiện với tỷ lệ cao nhất là 96,7%, tiếp đến là CD10 (95%), CyCD79a (91,7%); CD22 và CD 20 với tỷ lệ lần lượt là 77,8% và 32,2%. Không thấy có sự biểu hiện Kappa và Lambda. Mức độ dương tính cao (++) với CD10 là 54,4%, CD20 là 19 là 26,7%.

Bảng 3. Tỷ lệ xuất hiện và mức độ biểu hiện các dấu ấn dòng lympho T

Dấu ấn	Tổng số	Tỷ lệ %	(+)		(++)	
			n	%	n	%
CD2	9	50	8	44,4	1	5,6
CD5	16	88,9	13	72,2	3	16,7
CD7	18	100	14	77,8	4	22,2
CD3	14	77,8	11	61,1	3	16,7
CyCD3	17	94,4	15	83,3	2	11,1

CD7 xuất hiện với tỷ lệ cao nhất là 100%, thấp nhât CD2 có tỷ lệ 50%. Mức độ biểu hiện dương tính cao (++) đối với CD7 là 22,2%. cCD3 và CD2 dương tính (++) với tỷ lệ lần lượt là 11,1% và 5,6%.

Bảng 4. Tỷ lệ xuất hiện và mức độ biểu hiện các dấu ấn dòng tủy

Dấu ấn	Tổng số	Tỷ lệ %	(+)		(++)	
			n	%	n	%
MPO	29	80,5	25	69,4	4	11,1
CD33	35	97,3	20	55,6	15	41,7
CD13	29	80,5	18	50	11	30,5
CD14	8	22,2	8	22,2	0	0
CD117	34	94,4	31	86,1	3	8,3

CD33 và CD117 xuất hiện với tỷ lệ cao nhất 97,3% và 94.4 %. CD14 biểu hiện với mức độ thấp nhất 22.2%. Mức độ biểu hiện dương tính mạnh (++) đối với là CD33 là 41,7, tiếp đến là CD13 (30,5%) và MPO (11,1%).

3. Sự biểu lộ các dấu ấn lạc dòng trên các tế bào ác tính

Bảng 5. Các dấu ấn biểu lộ lạc dòng trên các loại LXMc

	LXMc Lympho B (n = 180)				LXMc Lympho T (n = 18)				LXMc dòng tủy (n = 36)			
Dấu ấn	CD 13	CD 33	CD 117	CD 10	CD 20	CD 13	CD 33	CD 117	CD 10	CD 19	CyCD 79a	CD 7
Số lần	21	22	5	2	1	2	2	2	1	19	1	2
Tỷ lệ (%)	11,7	12,2	2,8	11,1	5,6	11,1	11,1	11,1	2,8	5,6	2,8	5,6

Đối với LXMc dòng Lympho B thấy có biểu lộ thêm dấu ấn dòng tủy CD13 (11,7%), CD33 (12,2% và CD117 (11,1%). Đối với LXMc dòng Lympho B có biểu hiện thêm các dấu ấn dòng Lympho B CD10 (11,1%), CD20 (5,6%) và các dấu ấn dòng tủy CD13, CD33, CD117 đều 11,1%. Đối với LXMc dòng tủy có biểu hiện thêm các dấu ấn dòng Lympho B CD10 (2,8%), CD19 (5,6%), CyCD79a (2,8%) và dấu ấn dòng Lympho T CD7 (5,6%).

IV. BÀN LUẬN

Qua theo dõi 234 bệnh nhi được chẩn đoán và phân loại LXMc tại Bệnh viện Nhi Trung ương thấy hay gặp nhất là LXMc dòng Lympho trong đó chủ yếu là LXMc dòng Lympho B chiếm 76,9% các trường hợp. Đồng thời LXMc hay gặp ở trẻ nam hơn trẻ nữ với tỷ lệ Nam/Nữ là 1,3. Kết quả này cũng tương tự như một số báo cáo trước đây về tỷ lệ nam nữ và các dòng LXMc ở Việt Nam và thế giới [5, 6].

Trong số các dấu ấn được khảo sát trên tế bào ác tính tính dòng Lympho B thì CD19, CD10 và CyCD79a xuất hiện với tỷ lệ cao nhất trong các trường hợp bệnh tương ứng là 96,7%, 95% và 91,7%. Đây là các dấu ấn đặc trưng dòng quan trọng và xuất hiện ở giai đoạn sớm của quá trình biệt hóa dòng Lympho B. Các dấu ấn này cũng là 3 dấu ấn có biểu hiện dương tính mạnh (++) lớn nhất. Do đó chúng được coi là các dấu ấn rất có giá trị và được sử dụng rộng rãi trong các panel xác định quần thể tế bào ác tính dòng Lympho B [8].

Đối với LXMc dòng Lympho T, các dấu ấn hay gặp nhất là CD7 (100%), CyCD3 (94,4%), CD5 (88,9%), CD3 (77,8%). Tỷ lệ gặp các dấu ấn này trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như một số nghiên cứu khác như trong nghiên cứu của Bachir.F thì tỷ lệ các dấu ấn này lần lượt là CD3 (100%), CD7 (100%), CD5 (98,2%) [9]. Nghiên cứu của Tiensiwakul và cộng sự năm 1999 cho kết quả tỷ lệ xuất hiện của CD7 là 85,7%, CD5 là 100%. Scherrer. RT cũng cho kết quả CyCD3 là 100%, CD7 là 100% và CD2 là 57% [10-11]. Khảo sát mức độ biểu hiện cũng cho thấy CD7, CD5 và CD3 cũng có tỷ lệ biểu lộ dương tính mạnh (++) rất cao. Ngoài ra, CD7 và CyCD3 không biểu hiện ở mức âm tính, do đó đây được coi là hai dấu ấn có độ đặc hiệu cao với LXMc dòng lympho T.

Trong số 36 bệnh nhân LXMc dòng tủy, dấu ấn CD33, CD13 xuất hiện với tần số cao nhất (CD33: 97,2%, CD13: 76,3%). Dấu ấn CD117 biểu hiện khá cao (94,4%) tương tự như trong nghiên cứu của Kaleem [12]. Trong số các dấu ấn được khảo sát, chỉ có anti-MPO, CD33, CD13 có mức độ biểu hiện dương tính mạnh (++).

Sự biểu lộ bất thường các dấu ấn CD lạc dòng cũng được coi là một gợi ý trong chẩn đoán và phân loại miễn dịch LXMc. Một LXMc dòng tế bào này có thể biểu lộ thêm một hoặc một số dấu ấn của dòng tế bào khác. Trong nghiên cứu

này chúng tôi thấy trong các trường hợp LXMc dòng lympho B, các tế bào ác tính ngoài biểu lộ các dấu ấn dòng Lympho B thì có biểu lộ bất thường các dấu ấn dòng tủy như CD13, CD33 với tỷ lệ là 20,6%. Tỷ lệ này tương đương với phát hiện trong nghiên cứu của Zhang (23%) nhưng thấp hơn so với một số nghiên cứu khác như nghiên cứu của Seegmiller là 100%, của Tong. H là 42,6% [13 - 15]. Tuy nhiên các dấu ấn CD13, CD33 biểu hiện bất thường trên tế bào ác tính dòng Lympho B này đa số có mức độ biểu hiện là dương tính (+) không giống như chúng biểu hiện trên các tế bào trong LXMc dòng tủy, chủ yếu biểu hiện dương tính mạnh (++) với tỷ lệ rất cao. Đối với LXMc dòng Lympho T, có 3/18 trường hợp có biểu hiện dấu ấn dòng lympho B chiếm 16,7%, có 4/18 trường hợp có biểu hiện dấu ấn dòng tủy chiếm 22,2%. Tỷ lệ này thấp hơn hầu hết các kết quả nghiên cứu của tác giả khác, có thể số lượng LXMc dòng Lympho T của chúng tôi còn hạn chế do dòng này ít gặp trên đối tượng bệnh nhi [13]. Các dấu ấn dòng lympho B, dòng tủy biểu hiện trong LXMc dòng lympho T cũng chủ yếu có mức độ biểu hiện dương tính (+). Trong số 36 bệnh nhân LXMc dòng tủy, chúng tôi thấy có 3/36 bệnh nhân xuất hiện dấu ấn dòng lympho B như CD10, CD19, CyCD79a chiếm tỷ lệ 8,3%. Chỉ có 2/36 bệnh nhân xuất hiện thêm dấu ấn dòng lympho T là CD7 chiếm 5,6%. Các dấu ấn này cũng chỉ biểu lộ mức độ dương tính (+). Kết quả này cũng thấp hơn so với một số tác giả khác như nghiên cứu của Martin trên các bệnh nhân LXMc dòng tủy phát hiện 47% xuất hiện dấu ấn dòng lympho T, trong đó CD7 chiếm tới 27% [16].

V. KẾT LUẬN

Các dấu ấn thường xuyên xuất hiện và có mức độ biểu hiện cao trong LXMc dòng lympho B là CD19, CD10 và cCD79a. Ngoài ra một số dấu ấn khác cũng có tỷ lệ gặp cao như CD22 và CD20. Đối với LXMc dòng Lymphp T, các dấu ấn hay gặp là CD7, CyCD3, CD5, CD3 và CD2 với tỷ lệ đều trên 50%. Trong LXMc dòng tủy, các dấu ấn xuất hiện với tỷ lệ lớn là anti-MPO, CD33, CD117 và CD13. Một số các dấu ấn biểu lộ lạc dòng hay gặp như CD13, CD33, CD117 trên LXMc dòng Lympho B; CD10, CD20, CD13 và CD33 trên LXMc dòng Lympho T và CD10, CD19, CyCD79a, CD7 trên LXMc dòng tủy. Các dấu ấn bất thường này đa số chỉ biểu lộ mức ở độ dương tính (+).

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Ban giám đốc, lãnh đạo khoa Huyết học Bệnh viện Nhi Trung ương đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Minh Hương (2002). Tình hình bệnh máu tại viện Huyết học- Truyền máu, Bệnh viện Bạch Mai. *NXB Y học*. *Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học*, p15-24.

2. Lisa LH, Klaus R, Kjeld S et al (2003). Age- and Sex-Specific Incidence of Childhood Leukemia by Immunophenotype in the Nordic Countries. *J Natl Cancer Inst*. **95(20)**:1539-44.

3. Anthony V.M, Lucy C., Jennifer W et al (2010). Age- and sex-adjusted incidence rates of adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in the northern part of England. *Blood,* **116 (6)**: 1012

4. Ries LAG, Smith MA, Gurney JG et al (1999). Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995, National Cancer Institute, SEER Program. *NIH Pub.* No. 99-4649.

5. Bachir F, Bennani S, Lahjouji A et al (2009). Characterization of Acute Lymphoblastic Leukemia Subtypes in Moroccan Children. *Int J Pediatr*. 674 - 801.

6. Brent L. Wood (2015). Flow cytometry in

the diagnosis and monitoring of acute leukemia in children. *Journal of Hematopathology,* **8(3)**,191–19.

7. Vardiman J.W. (2002). The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms, *Blood*, **114(5)**: 2292-2302.

8. Vardiman J.W. (2009). The revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes, *Blood*, **100(7)**: 937- 951.

9. Shaver AC, Seegmiller AC (2017). B Lymphoblastic Leukemia Minimal Residual Disease Assessment by Flow Cytometric Analysis. *Clin Lab Med*. **37(4)**:771-785

10. Tiensiwakul P, Lertlum T, Nuchprayoon I, Seksarn P (1999). Immunophenotyping of acute lymphoblastic leukemia in pediatric patients by three-color flow cytometric analysis. *Asian Pac J Allergy Immunol*.**17(1)**:17-21.

11. Scherrer RT, Mitterbauer G, Simonitsch I et al (2002). Relationship to Morphologic and Molecular Classification and Proposal for a Minimal Screening Program Highly Predictive for Lineage Discrimination. *Am J Clin Pathol* ,**117**:380-389

12. Kaleem Z, Crawford E, Pathan MH et al (2003). Flow cytometric analysis of acute leukemias. Diagnostic utility and critical analysis of data. *Arch Pathol Lab Med*. **127(1)**:42-8.

13. Zhang YD, Tan LN, Hu Q et al (2012). Immunophenotyping and its clinical significance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. **14(3)**:188-91.

14. Seegmiller AC, Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW (2009). Characterization of immunophenotypic aberrancies in 200 cases of B acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Pathol*, **132(6)**:940-9

15. Tong H, Liu Z, Lu C, Wang Q (2013). Clinical and laboratory features of adult biphenotypic acute leukemia. *Asia Pac J Clin Oncol*. **9(2)**:146-54.

16. Schwonzen M, Diehl V, Dellanna M, Staib P (2007). Immunophenotyping of surface antigens in acute myeloid leukemia by flow cytometry after red blood cell lysis. *Leuk Res*. **31(1)**:113-6.

Summary

BONE MARROW IMMUNOPHENOTYPING OF ACUTE LEUKEMIA PATIENTS IN NATIONAL CHILDREN'S HOSPITAL

Bone marrow Immunophenotyping of 1 month-old – 15 years-old acute leukemia patients, treated in National Children's Hospital from 2012/Apr to 2016/Nov, showed that the ratio of acute B-cell Leukemia, acute T-cell Leukemia and acute Myeloid Leukemia are 76.6%, 7.7% and 15.4%, respectively. The ratio of specific marker expressions on leukemic B cells: CD19 (96.7%), CD10 (95%), CD79a (91.7%), CD22 (77.9%), CD20 (32.2%); leukemic T cells: CD7 (100%), cCD3 (94.4%), CD5 (88.9%), CD3 (77.8%), CD2 (50%); leukemic myeloid cells: MPO (80.6%), CD33 (97.2%), CD117 (94.4), CD13 (80.6%), CD14 (22.2%). Ectopically expression of lineage markers on leukemic cells: leukemic B cells with expression of myeloid cell marker is 20.6%; leukemic T cell with expression of myeloid cell marker is 22.2%, and of B cell marker is 16.7%. Myeloid leukemic cell with expression of B cell marker is 11.1% and of T cell marker is 5.6%.

Keywords: Acute Leukemia, immunophenotyping, Cluster Diferentiation (CD)