

**ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC**

NGUYỄN THỊ KIM HOA

**NGHIÊN CỨU CÁC 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

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HUẾ - 2022

Công trình nghiên cứu được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC, ĐẠI HỌC HUẾ

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. PHAN HÙNG VIỆT

2. PGS.TS. TRẦN KIÊM HẢO

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học Huế

Họp tại: số 3, Lê Lợi, thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế

Vào lúc:giờphút, ngàythángnăm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm học liệu Huế
- Thư viện Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

CẤU TRÚC LUẬN ÁN

Luận án được trình bày trong 143 trang (không kể tài liệu tham khảo và phụ lục). Luận án gồm: 2 trang Đặt vấn đề, 39 trang Tổng quan tài liệu, 20 trang Đối tượng và phương pháp nghiên cứu, 37 trang Kết quả nghiên cứu, 42 trang Bàn luận, 2 trang Kết luận và 1 trang Kiến nghị.

Luận án có 57 bảng, 14 biểu đồ, 12 hình, 2 sơ đồ và 189 tài liệu tham khảo trong đó có 12 tài liệu tiếng Việt, 181 tài liệu tiếng Anh.

Phụ lục gồm các công trình nghiên cứu, tài liệu tham khảo, phụ lục quy trình kỹ thuật, phiếu nghiên cứu, danh sách bệnh nhân, một số hình ảnh phân tích gen và hình ảnh bệnh nhân

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.

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.

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. 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%. 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.

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.

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 biến đổi 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 được 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

1.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ BẠCH CẦU CẤP TRẺ EM

Bạch cầu cấp là bệnh ung thư thường gặp nhất ở trẻ em. Tỷ lệ mắc bệnh bạch cầu cấp trẻ em vào khoảng 46,7 ca/1 triệu đối với các trẻ ở Châu Âu, dao động trong khoảng 30-60 ca/1 triệu. Đối với BCCDL, đỉnh cao thường gặp ở trẻ từ 2-5 tuổi, đối với BCCDT không có đỉnh cao mắc bệnh. Nam mắc bệnh nhiều hơn nữ.

Nguyên nhân gây bệnh bệnh bạch cầu cấp trẻ em vẫn chưa được xác định một cách chính xác. Các giả thuyết tập trung chủ yếu vào hai yếu tố chính là biến đổi di truyền và tác động của môi trường sống.

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

Bệnh nhân có các hội chứng: thiếu máu, xuất huyết, thâm nhiễm,

nhiễm trùng. Cận lâm sàng, biến đổi công thức máu (tăng hoặc giảm số lượng bạch cầu, giảm tiểu cầu, giảm hemoglobin), sinh hóa (tăng acid uric, LDH, men gan tăng, suy thận, rối loạn điện giải), tủy đồ có sự thâm nhiễm tế bào blast.

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. Trong BCCDL, các dung hợp gen thường gặp theo thứ tự: dung hợp gen *TEL/AML1* do t(12;21)(p13;q22), dung hợp gen *E2A/PBX1* do t(1;19)(q23;p13), dung hợp gen *BCR/ABL1* do t(9;22)(q34;q11), dung hợp gen *MLL/AF4* do t(4;11)(q21;q23), dung hợp *SET/NUP214*, chuyên đoạn t(8;14)(q24;q32), và một số biến đổi gen trong T-BCCDL. Trong BCCDT, các dung hợp gen thường gặp bao gồm: dung hợp gen *AML1/ETO* do t(8,21)(q22;q22), dung hợp gen *PML/RARA* do t(15;17)(q22;q21), đảo đoạn nhiễm sắc thể 16, inv(16)(p13;q22), dung hợp gen *MLL/AF6* do t(6;11)(q27;q23), dung hợp gen *KMT2A/MLLT10* do t(10;11)(p12;q23). Các dung hợp gen có vai trò quan trọng trong chẩn đoán và phân nhóm nguy cơ tiên lượng.

1.4. CÁC YẾU TỐ TIÊN LƯỢNG BỆNH BẠCH CẦU CẤP

Đối với BCCDL, các yếu tố tiên lượng bao gồm: tuổi, giới, chủng tộc, biến đổi di truyền, số lượng bạch cầu, kiểu hình miễn dịch, tình trạng dinh dưỡng và đáp ứng điều trị. Đối với BCCDT, các yếu tố tiên lượng bao gồm: các biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng, các biến đổi di truyền, và đáp ứng điều trị.

1.5. PHÂN NHÓM NGUY CƠ, CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ

Đối với BCCDL, phân nhóm nguy cơ theo tiêu chuẩn phân loại của viện ung thư quốc gia Hoa kỳ (tuổi, số lượng bạch cầu), chia thành ba nhóm: nguy cơ thường, nguy cơ cao và nhóm BCCDL nữ nhi.

Chẩn đoán BCC dựa vào lâm sàng, tủy đồ (có số lượng tế bào blasts $\geq 20\%$), hóa học tế bào và miễn dịch tế bào.

Về điều trị, đối với BCCDL đang áp dụng phác đồ CCG 1881, 1882 hiệu chỉnh. Đối với BCCDT, đang áp dụng phác đồ 7&3 (riêng bạch cầu cấp tiên tủy bào áp dụng phác đồ riêng).

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

Hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyên hóa thuốc 6-MP, một thuốc mà những bệnh nhân

BCCDL phải dùng trong vòng 2-3 năm. Việc xác định được khả năng chuyển hóa thuốc dựa trên hai đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* giúp nhà lâm sàng sử dụng liều thuốc phù hợp cho bệnh nhân.

1.7. ĐÁNH GIÁ ĐÁP ỨNG ĐIỀU TRỊ

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.

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 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, sản lục dưới da, thâm nhiễm hệ thần kinh trung ương, thâm nhiễm trung thất, hay thâm nhiễm tinh hoàn.

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.

Tủy đồ: Tế bào blast trong tủy $\geq 20\%$. Đây là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán 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 [80]

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 [61].

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 1/6/2022.

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 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, chức năng gan, chức năng thận. Biến đổi về chức năng đông máu.

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 (kít có khả năng phát hiện 28 đột biến gene). 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*.

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.

2.3. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ

- Đánh giá 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 blast. Không tái phát trong vòng 4 tuần. Đánh giá không lui bệnh: tủy đồ còn hiện diện $\geq 20\%$ tế bào blast. Đánh giá lui bệnh một phần: tủy đồ còn hiện diện 5-20% blast.

- 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 $\geq 20\%$. 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.

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

- Tuổi trung bình của nhóm BCC: $5,8 \pm 4,0$ tuổi.
 - Bạch cầu cấp dòng lympho B: 70 (59,3%), bạch cầu cấp dòng lympho T: 13 (11,0%), bạch cầu cấp dòng tủy: 35 (29,7%). Đối với BCCDL, nguy cơ thường (61,4%), nguy cơ cao (38,6%), lứa tuổi từ 1-5 tuổi chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 57,8%. Trái lại, đối với bạch cầu cấp dòng tủy, không có đỉnh cao mắc bệnh.

- Bệnh nhân nam: 71 (60,2%), bệnh nhân nữ: 47 (39,8%).

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh bạch cầu cấp

- 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 ($p > 0,05$). Ngoài 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 ($p < 0,05$).

- 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 ($p > 0,05$).

- Biểu hiện lâm sàng thường gặp nhất trong bệnh BCC là 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 921,2%). Triệu chứng ít gặp bao gồm: thâm nhiễm tinh hoàn (2,8%), phì đại nước (1,7%) và sần lục (0,7%).

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

- Công thức máu cho thấy có 28,8% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$, 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 ($p > 0,05$).

- Có 20,3% bệnh nhân BCC không có sự hiện diện bạch cầu non trong máu ngoại vi, 29,7% bệnh nhân có tỷ lệ blast từ 1- $<25\%$, 21,2%

bệnh nhân có blast máu ngoại vi từ 25-50% và 28,8% bệnh nhân có tỷ lệ bạch cầu non trong máu ngoại vi > 50%. Sự khác biệt về tỷ lệ phân bố bạch cầu non máu ngoại vi giữa hai nhóm BCCDL và BCCDT không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

- 65,3% bệnh nhân BCC có số lượng bạch cầu non trong tủy đồ $\geq 50\%$, và 34,7% bệnh nhân có số lượng bạch cầu non từ 20 - <50%. 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 ($p>0,05$).

- Có 89,4% bệnh nhân tăng LDH, 16,8% bệnh nhân tăng acid uric, 35,7% bệnh nhân có men gan tăng, 0,9% bệnh nhân suy thận và 25,0% bệnh nhân có 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

Bảng 3.1. 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

- Các dung hợp gen thường gặp theo thứ tự: *TEL/AML1* (12,1%), *BCR/ABL1* (4,8%), *E2A/PBX1* (3,6%), *MLL/AF4* (2,4%) và *SET/NUP214* (1,2%).

- Phân nhóm tiên lượng theo các đột biến gen cho thấy: tiên lượng tốt (12,1%), tiên lượng trung bình (80,7%), tiên lượng xấu (7,2%).

- Sự khác biệt về tỷ lệ phân bố dung hợp gen giữa hai nhóm nguy cơ thường và nguy cơ cao, hay giữa hai nhóm B-BCCDL và T-BCCDL không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

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

Bảng 3.2. 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

- Các dung hợp gen thường gặp theo thứ tự: *AML1/ETO* (14,2%), *PML/RARA* (8,6%), *MLL/AF6* (5,7%), *KMT2A/MLLT10* (2,9%), *AML1/ETO* và *BCR/ABL1* (2,9%).

- Phân nhóm tiên lượng theo đột biến gen: nhóm tiên lượng tốt (22,9%), tiên lượng trung bình (65,7%), tiên lượng xấu chiếm tỷ lệ (11,4%).

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

- Có 72 bệnh nhân BCCDL được làm xét nghiệm *NUDT15* và *TPMT*. Kết quả xét nghiệm *NUDT15* cho thấy 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 ($p > 0,05$). Ngoài kiểu gen alen *NUDT15**1 (90,2%), còn gặp các loại alen khác như: *NUDT15**3 (6,3%), *NUDT15**6 (2,1%), *NUDT15**2 (0,7%) và *NUDT15**5 (0,7%). Các kiểu gen *NUDT15* theo thứ tự lần lượt như sau: *NUDT15**1/*1 (81,9%), *NUDT15**1/*3 (11,1%), *NUDT15**1/*6 (4,2%), *NUDT15**1/*2 (1,4%) và *NUDT15**3/*5 (1,4%).

- Có 6,9% bệnh nhân có đa hình gen *TPMT*, trong đó tần suất alen *TPMT**1 chiếm đa số (96,5%), alen *TPMT**3C (3,5%). Ngoài kiểu gen *TPMT**1/*1 (93,1%), chỉ gặp một kiểu gen *TPMT**1/*3C (3,5%).

Bảng 3.3. 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

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

- Kết quả cho thấy 95% bệnh nhân BCCDL lui bệnh dựa theo số lượng tế bào blast < 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 ($p < 0,05$).

- Nhóm BCCDT có 73,1% bệnh nhi đạt lui bệnh, 15,4% bệnh nhân lui bệnh một phần và 11,5% bệnh nhân không lui bệnh. Tử vong trong giai đoạn tấn công chiếm 25,7%.

- 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 ($p < 0,05$).

- 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 BCC lần lượt là $82,2 \pm 3,6\%$, $75,1 \pm 4,5\%$, và $67,4 \pm 5,5\%$.

- Vào thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của 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 ($p < 0,05$).

- Tại thời điểm 1 năm, 2 năm và 3 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm BCC lần lượt là $81,1 \pm 3,7\%$, $71,1 \pm 4,8\%$, và $69,0 \pm 5,1\%$.

- Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống không bệnh của 3 nhóm bệnh nhân B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT 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

- 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 ($p < 0,05$).

- 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

- 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 ($p > 0,05$).

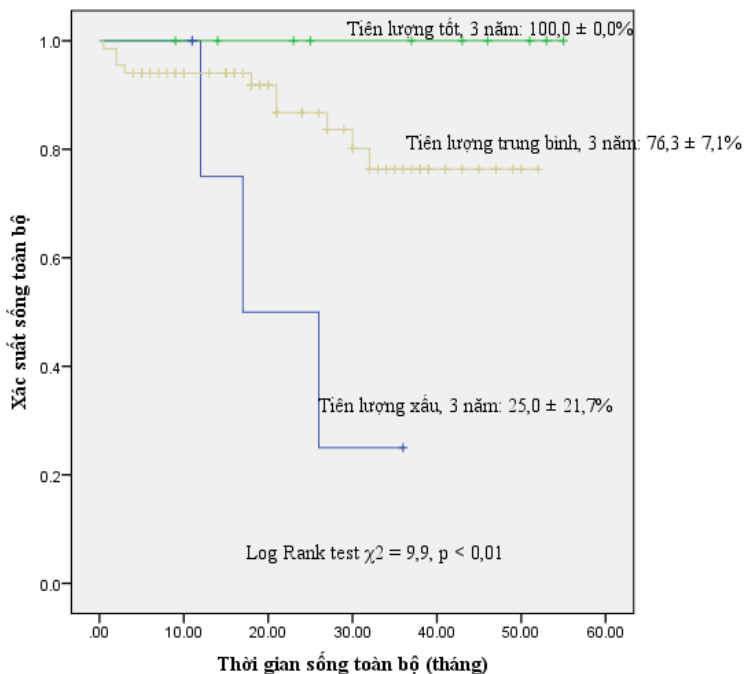
3.3.2.3. Đánh giá tình trạng tái phát bạch cầu cấp dòng lympho theo phân nhóm đột biến gen

- Nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ tái phát cao nhất (66,7%), tiếp theo là nhóm tiên lượng trung bình (11,1%), 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

- 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

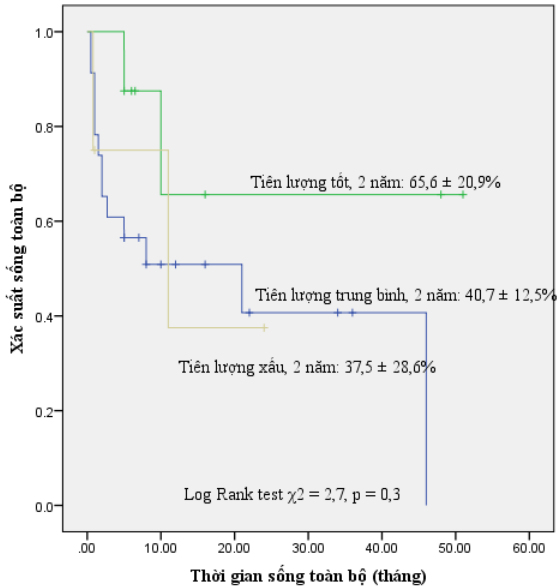


	1 năm	2 năm	3 năm
Tiên lượng xấu	75,0 ± 21,7%	50,0 ± 25,0%	25,0 ± 21,7%
Tiên lượng trung bình	94,0 ± 2,9%	86,7 ± 4,9%	76,3 ± 7,1%
Tiên lượng tốt	100,0 ± 0,0%	100,0 ± 0,0%	100,0 ± 0,0%

Biểu đồ 3.1. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm biến đổi gen BCCDL

- 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 ± 0,0%, 76,3 ± 7,1%, và 25,0 ± 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 ± 28,6%	37,5 ± 28,6%	-
Tiên lượng trung bình	56,5 ± 10,3%	40,7 ± 12,5%	40,7 ± 12,5%
Tiên lượng tốt	65,6 ± 20,9%	65,6 ± 20,9%	65,6 ± 20,9%

Biểu đồ 3.2. Đường biểu diễn xác suất sống toàn bộ theo phân nhóm đột biến gen BCCDT

- 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, xác suất sống toàn bộ của nhóm đột biến tiên lượng xấu, tiên lượng trung bình và tiên lượng tốt lần lượt là 37,5 ± 28,6%, 40,7 ± 12,5% và 65,6 ± 20,9%. 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

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 ± 0,0%, 81,5 ± 5,8%, và 27,8 ± 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

Tại thời điểm 12 tháng, xác suất sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu, tiên lượng trung bình và tiên lượng tốt lần lượt là $37,5 \pm 28,6\%$, $38,0 \pm 12,3\%$ và $65,6 \pm 20,9\%$. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

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

Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống còn toàn bộ hay sống không bệnh của bệnh nhân BCCDL có mang đa hình gen *TPMT* và không có mang đa hình gen *TPMT* là $66,7 \pm 27,2\%$, $75,0 \pm 21,7\%$ và $84,8 \pm 5,9\%$, $86,0 \pm 5,5\%$. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Xác suất sống còn toàn bộ hay sống không bệnh của bệnh nhân BCCDL là có mang đa hình gen *NUDT15* tại thời điểm 3 năm là $90 \pm 9,5\%$, $90,0 \pm 9,5\%$ và $81,7 \pm 7,1\%$, $83,0 \pm 6,7\%$. 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

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $5,8 \pm 4,0$ tuổi. Tương tự nghiên cứu của Robazzi cho thấy tuổi trung bình là 6,18 tuổi. Đối với nhóm BCCDL, lứa tuổi 1-5 tuổi chiếm tỷ lệ 57,8%. Đối với BCCDT, không có đỉnh tuổi mắc bệnh. Tương tự với nghiên cứu của các tác giả trong nước và trên thế giới.

Tỷ lệ nam/nữ trong nhóm BCC là 1,51/1, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Robazzi, 59,4% bệnh nhi nam và 40% bệnh nhi nữ.

Có 70,3% bệnh nhân bị bệnh BCCDL và 29,7% bị BCCDT. 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%. Đối với BCCDL, dòng lympho B chiếm tỷ lệ 84,3% và dòng lympho T chiếm tỷ lệ 15,7%. Tương tự kết quả của Shalal.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 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.

4.1.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh bạch cầu cấp

Các triệu chứng phổ biến khiến bệnh nhân nhập viện, bao gồm sốt (57,6%), da xanh xao (32,2%), xuất huyết (21,2%), nổi hạch (18,6%), đau khớp (15,3%). Nghiên cứu của chúng tôi có những điểm tương đồng với nghiên cứu của Shahab.

Thời gian thời phát đến lúc nhập viện trung vị của nhóm nghiên cứu là 14 ngày. Tương tự với kết quả của Nwannadi.

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%). 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. Triệu chứng thâm nhiễm tinh hoàn trong nghiên cứu của chúng tôi 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.

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

Có 28,8% bệnh nhân có số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$, tương tự 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%. Nồng độ Hb trong khoảng 7-11 g/dl vẫn chiếm tỷ lệ ưu thế, 62,7%. Theo Barbosa tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ Hb < 11 g/dl chiếm tỷ lệ 88%. Có 24,6% bệnh nhân BCC có số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/l$. Tương tự với kết quả của Shalal, 25,5% bệnh nhân BCCDL có số lượng tiểu cầu $< 20 \times 10^9/l$.

Kết quả cho thấy tỷ lệ bạch cầu non trong máu ngoại vi $\geq 25\%$ chiếm tỷ lệ 50,0%. Theo nghiên cứu của Dai, những trẻ B-BCCDL với số lượng tế bào blast ngoại vi thấp có thời gian sống tốt hơn so với những trẻ có số lượng blast cao. Ngược lại, đối với T-BCCDL, nhóm có số lượng tế bào blast ngoại vi thấp lại có thời gian sống xấu hơn so với nhóm có số lượng tế bào blast trung bình và cao.

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.

Có 89,4% bệnh nhân BCC có giá trị LDH tăng, 16,8% tăng nồng độ acid uric. Theo Sivindir, có 12,6% bệnh nhân BCCDL có tăng acid uric. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 35,7% bệnh nhân có men gan

tăng. Tăng men gan có thể gặp tại thời điểm chẩn đoán do tế bào blast thâm nhiễm ở gan. Suy thận gặp trong 1 bệnh nhân BCCDL, chiếm tỷ lệ 0,9%. 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. Có 25% bệnh nhân có giá trị CRP tăng tại thời điểm nhập viện. CRP được xem là một chỉ điểm để đánh giá nhiễm trùng.

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

Qua phân tích multiplex-PCR, tỷ lệ 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%). Nhờ vào xét nghiệm multiplex-PCR, chúng tôi phát hiện một dung hợp gen mới so với các nghiên cứu trước đây ở Việt Nam. Đó là dung hợp gen *SET/NUP214*. Đây là một đột biến dung hợp gen ít gặp và ghi nhận ở bệnh nhân T-BCCDL, ở độ tuổi trung bình từ 10-11 tuổi. Những bệnh nhân mang dung hợp gen này sẽ có tần suất tái phát cao. Cho đến nay, người ta vẫn chưa hiểu rõ hết về dung hợp gen này.

Dựa vào các biến đổi gen, các tác giả như Inaba, Pui phân chia làm ba nhóm tiên lượng: tiên lượng tốt, tiên lượng xấu và tiên lượng trung bình. Nghiên cứu của chúng tôi có 12,1% được phân nhóm tiên lượng tốt, 80,7% tiên lượng trung bình và 7,2% tiên lượng xấu.

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

Qua phân tích multiplex-PCR, chúng tôi phát hiện 34,3% bệnh nhân có đột biến gen, trong đó dung hợp gen *AML1/ETO* (14,2%), *PML/RARA* (8,6%), *MLL/AF6* (5,7%), *KMT2A/MLLT10* (2,9%), *AML1/ETO* and *BCR/ABL1* (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. 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. Bên cạnh đó, những dung hợp gen *MLL/AF6* và *KMT2A/MLLT10* là những dung hợp gen chưa thấy ghi nhận trước đây ở trẻ em Việt Nam.

Dựa vào các đột biến gen được phát hiện, tác giả Quessada đã đưa ra các phân nhóm tiên lượng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm tiên lượng tốt chiếm tỷ lệ 22,9%, tiên lượng trung bình (65,7%), tiên lượng xấu (11,4%).

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

Trong nhóm BCCDL, chúng tôi có 72/83 bệnh nhân được làm đồng thời gen *NUDT15* và *TPMT*. Kết quả cho thấy có 18,1% bệnh nhân có đa hình gen *NUDT15*, 6,9% đa hình gen *TPMT* và 1,4% đa hình cả hai gen *NUDT15* và *TPMT*. Đây là điểm mới trong nghiên cứu của chúng tôi. Bảng 3.3 đã mô tả khả năng chuyển hóa thuốc 6-MP và từ đó chúng tôi sẽ đưa ra liều sử dụng cho mỗi 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 BCCDL và BCCDT lần lượt là 95% và 73,1%. Tỷ lệ lui bệnh đối với BCCDL tương đương với các tác giả khác trên thế giới, theo đó, tỷ lệ lui bệnh đạt từ 90-98%. Riêng đối với BCCDT, kết quả lui bệnh của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Bùi Thị Mỹ Hương, đạt 89,4%.

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

Tỷ lệ tái phát trong nhóm BCC là 19,9%, nhóm BCCDL có tỷ lệ tái phát là 14%, nhóm BCCDT có tỷ lệ tái phát 40,9%. 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%. Nghiên cứu của Pedram trên BCCDT, có tỷ lệ tái phát là 34,0%. 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

Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của bệnh nhân BCC là $67,4 \pm 5,5\%$. Trong đó, xác suất 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 ($p < 0,05$).

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. Trong nhóm BCCDT, thời gian sống toàn bộ trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với Waack, với phác đồ AML-BFM2012, thời gian sống toàn bộ sau 3 năm là $82 \pm 3\%$.

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

Xác suất sống không bệnh của nhóm chung BCC tại thời điểm 3 năm là $69,0 \pm 5,1\%$. Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống không bệnh của nhóm B-BCCDL, T-BCCDL và BCCDT 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 ($p < 0,05$).

So với kết quả Nguyễn Thị Mai Hương trên đối tượng BCCDL nguy cơ cao, xác suất sống không bệnh trong vòng 5 năm là $46,0 \pm 5,0\%$. Theo nghiên cứu của Escherich, thời gian sống không bệnh trong vòng 5 năm của các bệnh nhân BCCDL điều trị theo phác đồ COALL 92 và 97 lần lượt là $73,2 \pm 2,0\%$ và $76,7 \pm 1,7\%$. Trong nhóm BCCDT, kết quả của chúng tôi thấp hơn so với Waack, thời gian sống không bệnh sau 3 năm là $69 \pm 4\%$. 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

Kết quả 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 đạt tỷ lệ lui bệnh thấp nhất (66,6%), tiếp đến là nhóm tiên lượng tốt (90,0%) và nhóm tiên lượng trung bình (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 một số tác giả Pui, Lin, Toksvang và Cimino. Như vậy, 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)

Nhóm 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 ($p < 0,05$). Kết quả của chúng tôi phù hợp với Borowitz. 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%.

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

Nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tốt có tỷ lệ lui bệnh là 33,3%, 66,7% và 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 không chế nhiễm trùng đóng vai trò quan trọng trong điều trị BCCDT.

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

Nhóm tiên lượng xấu 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 ($p < 0,05$). Phù hợp với nghiên cứu của Sanchez, nhóm tiên lượng xấu luôn có tỷ lệ tái phát cao, 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.

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

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

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

Tại thời điểm 3 năm, xác suất sống toàn bộ của nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tốt 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 tương tự với kết quả của 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: $94,5 \pm 1,8\%$.

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

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 $65,6 \pm 20,9\%$.

Nhóm tiên lượng xấu hiện chưa có bệnh nhân nào còn sống sau 3 năm. 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 Cho, Pui và Rubnitz.

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

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 như Jeha, Pui.

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

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, Pui và Rubnitz. Các tác giả đều cho thấy có mối liên quan giữa các nhóm tiên lượng và thời gian sống còn. Điều này cũng phản ánh 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 đa hình gen *NUDT15* và *TPMT* đều không ảnh hưởng đến thời gian sống toàn bộ hay sống không bệnh trong bệnh BCCDL. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Liang, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian sống còn giữa các biến thể của đa hình gen *NUDT15* và *TPMT*.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 118 bệnh nhi BCC bao gồm 83 bệnh nhi BCCDL và 35 BCCDT 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. Tỷ lệ nam/nữ: 1,5/1.
- 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 (87,3%), gan lớn (48,3%), hạch lớn (44,9%), sốt (44,9%), lách lớn (41,5%), xuất huyết (39,8%), đau xương khớp (21,2%). Một số biểu hiện ít gặp như: thâm nhiễm tinh hoàn (2,8%), phì đại nước (1,7%), và sần lục (0,8%).
- Đặc điểm công thức máu: số lượng bạch cầu $\geq 50 \times 10^9/l$ chiếm 28,8%, số lượng bạch cầu hạt < 500 (μ/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*. Các đa

hình gen giúp hướng dẫn liều thuốc 6-MP sử dụng cho bệnh nhân.

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. Nhóm tiên lượng xấu có tỷ lệ lui bệnh thấp nhất (66,6%) và tái phát cao nhất (66,7%); nhóm tiên lượng trung bình (lui bệnh: 98,4%, tái phát: 11,1%) và nhóm tiên lượng tốt (lui bệnh 90,0%, tái phát 0,0%). Có 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: Tỷ lệ lui bệnh nhóm đột biến gen tiên lượng xấu chiếm tỷ lệ thấp nhất (33,3%) và có tỷ lệ tái phát cao nhất (66,7%). Tuy nhiên, không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tiên lượng với tỷ lệ lui bệnh, tỷ lệ tái phát cũng như xác suất sống còn và sống không bệnh ($p > 0,05$). Tại thời điểm 1 năm, xác suất sống toàn bộ, sống không bệnh của nhóm tiên lượng xấu, trung bình và tốt lần lượt là: $37,5 \pm 28,6\%$, $37,5 \pm 28,6\%$; $56,5 \pm 10,3\%$, $38,0 \pm 12,3\%$; $65,6 \pm 20,9\%$, $65,6 \pm 20,9\%$.
- 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/10.1177/2333794X20901930>.
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 gene 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 gene trong bệnh bạch cầu cấp tại Trung tâm Nhi Khoa, Bệnh viện Trung ương Huế. Sẽ đăng *Tạp chí Y dược học lâm sàng*, Trường Đại học Y dược Huế, tháng 12/2022.

**HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

NGUYEN THI KIM HOA

**RESEARCH OF GENETIC ABNORMALITIES IN
DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CHILDHOOD ACUTE
LEUKEMIA AT HUE CENTRAL HOSPITAL**

Major : NHI KHOA

Code : 9720106

SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION

HUE - 2022

The dissertation was conducted and completed at:

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY,
HUE UNIVERSITY**

Academic advisors:

- 1. Assoc Prof. PHAN HUNG VIET, MD, PhD**
- 2. Assoc Prof. PROF. TRAN KIEM HAO, MD, PhD**

Reviewer 1:

Reviewer 2:

Reviewer 3:

**The dissertation will be defended to the Dissertation
Committee of Hue University.**

Venue: 3 Le Loi, Hue, Thua Thien Hue

Date:2023

The dissertation is available at:

- Vietnam National Library
- Hue University Learning Resource Center
- Library of University of Medicine and Pharmacy, Hue
University

DISSERTATION LAYOUT

The dissertation is presented in 143 pages (references and appendix not include). It is structured with Introduction (2 pages), Literature review (39 pages), Material and Methods (20 pages), Results (37 pages), Discussion (42 pages), Conclusion (2 pages), and Recommendation (1 page).

The dissertation consists of 57 tables, 14 diagrams, 12 figures, and 189 references (12 in Vietnamese and 177 in English).

Appendix includes publications, references, technical procedures appendices, questionnaires, patient list, some genetic analysis images and patient images.

INTRODUCTION

Acute leukemia is the most common cancer in children and adolescents, accounting for 25% of all new cancers diagnosed in children under 15 years of age. It is a disease of the hematopoietic system caused by uncontrolled proliferation of one or more malignant immature cell lines.

Diagnosis and classification of acute leukemia is based on clinical features combined with morphological malignancies, cytochemical staining, immunocytochemical markers, and genetic tests.

Regarding the treatment of childhood acute leukemia, the application of chemotherapy by risk group and genetic modification has significantly improved the survival rate of childhood patients, especially in acute lymphoblastic leukemia. In developed countries, the overall survival rate for acute lymphoblastic leukemia from 10% in the 1960s has increased to more than 90% in recent years. However, the long-term survival rate for acute myeloid leukemia remains challenging. Although the rate of remission after induction phase of treatment is up to 94.6%, the 5-year disease-free survival rate still accounts for a modest rate of about 50 - 61.6%, recurrence still remains in the range of 20% to 41%. Therefore, the constant search for progressive treatments is essential in acute leukemia. In order to have advanced treatment methods, studying the molecular genetic characteristics of childhood acute leukemia lead to accurate diagnosis, classification of risk groups and improvement of treatment.

During the treatment of acute leukemia, drug metabolism in each patient plays an important role in drug dose adjustment and appropriate drug selection. Polymorphisms of the NUDT15 and TPMT genes have been shown to be involved in the metabolism of 6-mercaptopurine (6-MP), one of the main drugs of the acute lymphoblastic leukemia regimen.

In Vietnam, the implementation of gene tests on acute leukemia patients is carried out at a number of large centers, with the test to detect 4 types of common gene fusions by RT-PCR technique. The performance of NUDT15 and TPMT genetic tests on new acute lymphoblastic leukemia patients is carried out at a few centers.

The Pediatric Center of Hue Central Hospital was established in 2013 on the basis of the original pediatric department. Children with blood cancer have been treated in Hue since 2005. The implementation of genetic tests has been conducted since 2012 and the pharmacogenetic analysis has been carried out since 2018. In Vietnam, there is not any research that has been used multiplex-PCR test, real-time PCR test and Sanger test to identify genetic abnormalities in childhood acute leukemia. Therefore, we conducted a study on the topic: "**Research on genetic abnormalities in the diagnosis and treatment of childhood acute leukemia at Hue Central Hospital**", with the following three objectives:

- 1. Describe clinical and laboratory characteristics of childhood acute leukemia.*
- 2. Determine genetic abnormalities in childhood acute leukemia.*
- 3. Investigate the correlation between gene abnormalities and the treatment results of childhood acute leukemia*

Chapter 1: LITERATURE REVIEW

1.2. INTRODUCTION OF CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA

Acute leukemia is the most common cancer in children. The incidence of childhood acute leukemia is about 46.7 cases per million in Europe, ranging from 30 to 60 cases per million. For acute lymphoblastic leukemia (ALL), the peak incidence is at aged 2-5 years. For acute myeloid leukemia (AML), it does not have peak incidence. Boys get the disease more often than girls.

The exact cause of childhood acute leukemia is still undefined. Hypotheses on the pathogenesis focus mainly on two factors: genetic mutations and environmental effects

1.2. CLINICAL AND PARACLINICAL CHARACTERISTICS OF ACUTE LEUKEMIA

Clinically, patients present with syndromes: anemia, hemorrhage, infiltration, infection. In terms of subclinical, whole blood count changes (increase or decrease in white blood cell count, thrombocytopenia, low hemoglobin), biochemical tests (high uric acid level, high LDH level, elevated liver enzymes, kidney failure, electrolyte imbalance), the myelogram show blast cell infiltration.

1.3. GENE MUTATIONS OF CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA

Genetic abnormalities are mainly caused by structural chromosomal mutations, which can be caused by chromosomal translocations, deletions, inversions, gene reconstructions or point mutations. Among them, chromosomal translocation is the most common. In ALL, the most prevalent gene fusions are in the order: *TEL/AML1* gene fusion due to t(12;21)(p13;q22), *E2A/PBX1* gene fusion due to t(1;19) (q23;p13), *BCR/ABL1* gene fusion by t(9;22)(q34;q11), *MLL/AF4* gene fusion by t(4;11)(q21;q23), *SET/NUP214* fusion. translocation t(8,14)(q24;q32) and some genetic changes in T-cell lymphoblastic leukemia. In AML, common gene fusions include: *AML1/ETO* gene fusion due to t(8,21)(q22; q22), *PML/RARA* gene fusion due to t(15,17)(q22;q21), inversion of chromosome 16, inv(16)(p13;q22), *MLL/AF6* gene fusion by t(6;11)(q27;q23), *KMT2A/MLLT10* gene fusion by t(10;11)(p12;q23). Gene fusions play an important role in diagnosis and prognostic risk grouping.

1.4. PROGNOSIS FACTORS OF ACUTE LEUKEMIA

In ALL, prognostic factors include: age, sex, race, genetic variation, white blood cell count, immune phenotypes, nutritional status, and treatment response. For AML, prognostic factors include: clinical manifestations, laboratory tests, genetic variations, and treatment response.

1.5. RISK FACTORS, DIAGNOSIS AND MANAGEMENT

In ALL, the risk group according to the United State National Cancer Institute classification criteria (age, white blood cell count), divided into three groups: normal risk, high risk, and acute lymphoblastic leukemia in infants.

Diagnosis of acute leukemia is based on clinical evidence, myelogram (blasts $\geq 20\%$), cytochemistry, and immunocytochemistry.

Regarding treatment, for ALL, modified CCG 1881 and 1882 protocols are being applied. For AML, 7 & 3 protocol is being applied (particularly for acute promyelocytic leukemia, separate treatment protocol are used).

1.6. GENES RELATED TO METABOLISM OF 6-MERCAPTOPURINE

NUDT15 and *TPMT* polymorphisms play an important role in the metabolism of 6-MP, a medication that patients with ALL have taken for 2 to 3 years. The identification of drug metabolism based on two *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms helps clinicians apply appropriate drug doses for patients.

1.7. ASSESSMENT OF TREATMENT RESPONSE

Assessment on remission after induction phase not only helps us to predict but also helps us to select the next treatment. Before that, we evaluate remission basing on morphology. Nowadays, we could evaluate on minimal residual disease (MRD).

Chapter 2: MATERIALS AND METHOD

2.1. MATERIALS

The study materials were 118 children diagnosed with acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia, treated at Pediatric Oncology - Hematology – Bone Marrow Transplant Department, Pediatric Center - Hue Central Hospital, from 11/2017 to 5/2022.

2.3.1. Inclusion criteria

- The patient was diagnosed with acute lymphoblastic leukemia or acute myeloid leukemia for the first time.
- Age < 16
- All patients were done multiplex RT-PCR genetic analysis, with the Hemavision 28N kit, 28 basic genetic mutations in acute leukemia were detected.

Criteria for diagnosis of acute leukemia: Clinical: Systemic symptoms: fever, fatigue, poor appetite. Anemia, bleeding under the skin or mucous membranes. Symptoms of extramedullary infiltrates: liver, spleen, lymphadenopathy, gingival hypertrophy, subcutaneous papules, central nervous system infiltrates, mediastinal infiltrates, or testicular infiltrates.

Peripheral blood count: There is usually a decrease in hemoglobin (Hb), the white blood cell count may be elevated, normal or decreased, but often there is a severe decrease in neutrophils, and peripheral bleeding may be visible or not. The platelet count is usually reduced.

Myelogram: Blast cells in the marrow $\geq 20\%$. This is the gold standard for the diagnosis of acute leukocytosis

Diagnostic criteria for childhood acute lymphocytic leukemia

Cytochemistry: PAS (+), Sudan-black (-), Peroxydase (-).

Diagnostic criteria based on cytoplasmic CDs

B cell: CD19 is strongly positive with ≥ 1 strongly positive markers for: CD79a, CD22, CD10 or CD19 is weakly positive with ≥ 2 strongly positive markers such as: CD79a, CD22, CD10.

T cell: CD3 positive and at least one of the markers CD2, 5, 7, or 8.

Diagnostic criteria for childhood acute myeloid leukemia

Cytochemistry: Usually positive for MPO, Sudan - Black, negative for PAS.

Immune markers consistent with acute myeloid leukemia: MPO, CD13, CD33, CD117, \pm CD14. CD15 [61].

2.3.2. Exclusion criteria

- Pediatric patients with secondary or relapsed acute leukemia
- The child and the representative did not agree to participate in the study.

2.4. RESEARCH METHOD

2.4.1. Research design

Descriptive, prospective longitudinal study. The longitudinal follow-up time to the end of the study was June 1, 2022.

2.4.2. Sampling method

Convenient sample size: All new pediatric patients diagnosed with acute lymphocytic leukemia or acute myeloid leukemia were hospitalized during the study period.

2.4.3. Research content

2.4.3.1. Description of clinical and subclinical characteristics of childhood acute leukemia

- General characteristics of the research group: Age, gender, geography, classification of diseases according to immunity, classification of subgroups and classification of risk groups.

- Describe the clinical features: symptom onset, time from onset to hospital admission, common and uncommon clinical manifestations in acute leukemia.

Describe the paraclinical characteristics: complete blood count (white blood cells, granulocytes, platelets, hemoglobin), immature white blood cells in the peripheral blood, bone marrow changes. The biochemical changes: LDH, uric acid, liver function, kidney function. Changes in blood clotting function.

2.4.3.2. Identification of genetic variations in childhood acute leukemia

- Determine the rate of some significant gene fusion mutations in childhood acute leukemia. Based on 118 pediatric patients, multiplex-RT-PCR tests were performed (kit capable of detecting 28 gene mutations). Detect gene mutations in each disease group and divide gene mutations according to diagnosis, subclassification.

- Identification of *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms in 72 acute lymphocytic leukemia patients. Allele and genotype frequency analysis of *NUDT15* and *TPMT* gene polymorphisms.

2.2.3.3. Investigating the relationship between gene mutations and treatment outcomes for childhood acute leukemia.

- Determine the rate of remission, relapsed rate, the overall survival rate and the event free survival rate in childhood acute leukemia

- + Conduct to determine the rate of remission, the rate of relapse in each group of ALL and AML.

- + Calculate the overall survival and event free survival rates in each group of ALL and AML for a period of 3 years.

- Find the relationship between gene mutations and treatment results:

- + Relationship between gene mutation and treatment results after induction phase.

- + Find the relationship between gene mutations and relapse in each disease group.

- + Find the relationship between gene mutations and the overall survival rate and the event free survival rate in each disease group.

- + Find out the relationship between *NUDT15* and *TPMT* gene polymorphisms with the overall survival rate and the event free survival rate in the acute lymphoblastic leukemia.

2.5. EVALUATION CRITERIA

- Assess for complete remission: granulocyte count $> 1.5 \times 10^9/l$, platelet count $> 100.000 \times 10^9/l$. The marrow is normal, with moderate or reduced cell density, $< 5\%$ blast cells. No recurrence within 4 weeks. Non remission: myelogram still present $\geq 20\%$ blast cells. Evaluation of partial remission: 5-20% blasts are present in the myelogram.

- Bone marrow relapse: after achieving remission over 4 weeks, the patient appeared anemia, fever, hepatosplenomegaly. Lumbar puncture shows blast cells $\geq 20\%$. Central nervous system relapse: with or without headache, nausea. Cerebrospinal fluid shows more than 5 leukocytes/mm³, and blast cells, or intracranial tumors, or cranial nerve damage. Testicular relapse: testicular swelling, pain, fine-needle testicular biopsy showed blast cells.

Chapter 3. RESULTS

3.1. CLINICAL AND PARACLINICAL CHARACTERISTICS OF ACUTE LEUKEMIA

3.1.1. General characteristics

- Mean age of childhood acute leukemia: 5.8 ± 4.0 years old.
 - B-ALL: 70 (59.3%), T-ALL: 13 (11.0%), AML: 35 (29.7%).
 For ALL, the standard risk is 51 (61.4%), high risk: 32 (38.6%), the age group from 1-5 years old accounts for the highest rate is 57.8%.
 In contrast, for AML, there is no peak incidence.

- Male patients: 71 (60.2%), female patients: 47 (39.8%).

3.1.2. Clinical presentations in childhood acute leukemia

- The onset of symptoms in patients with acute leukemia include: fever (57.6%), pale skin 32.2%, hemorrhage 21.2%, lymphadenopathy 18.6%, joint pain 15.3%. These reasons account for a different proportion between the two groups of acute lymphoblastic leukemia and myeloid leukemia, but there is no statistical significance ($p > 0.05$). Except for joint pain, which was more common in the acute lymphoblastic leukemia group than in the myeloid leukemia group, 20.5% vs 2.9% respectively, there was statistical significance ($p < 0.05$).

- Mean time from first symptom onset to hospital admission for acute leukemia group was 14 days. Mean time for ALL and AML was 14.0 and 10.0 days, respectively. The difference was not statistically significant ($p > 0.05$).

- The most common clinical manifestations in acute leukemia were anemia (87.3%), hepatomegaly (48.3%), lymphadenopathy (44.9%), fever (44.9%), spleen large (41.5%), hemorrhage (39.8%) and bone pain (21.2%). Less common symptoms include: testicular involvement (2.8%), gingival hyperplasia (1.7%) and leukemia cutis (0.7%).

3.1.3. Paraclinical characteristics of childhood acute leukemia

- Whole blood count showed that 28.8% of patients had leukocyte count $\geq 50 \times 10^9/l$, 43.2% of patients had neutrophil count $< 500/\mu l$. Hb concentration in the range of 7-11 g/dl accounted for the highest rate, 62.7%. Platelets $< 20 \times 10^9/l$ accounted for 24.6%. The ratio of levels of leukocytes, neutrophils, Hb levels as well as platelet counts between the two disease groups was not statistically significant ($p > 0.05$).

- There were 20.3% of acute leukemia patients without presence of blast cells in peripheral blood, 29.7% of patients had blast cell rate from 1 to $< 25\%$, 21.2% of patients had blast cell rate 25-50% and 28.8% of patients had a ratio of blast cells $> 50\%$. The difference in the distribution of blast cells in peripheral blood between two groups of ALL and AML was not statistically significant ($p > 0.05$).

- There were 65,3% patients with the number of blast cells rate in bone marrow $\geq 50\%$, and 34,7% patients with that rate from 20 - $< 50\%$.

- The median of bone marrow cells in acute leukemia, ALL and AML were $100.0 \times 10^9/l$, $100.0 \times 10^9/l$ and $60.0 \times 10^9/l$ respectively. The difference of that in ALL and AML group was not statistically significant ($p > 0.05$).

- There were 89.4% patients with increased LDH, 16.8% of patients with increased uric acid, 35.7% of patients with elevated liver enzymes, 0.9% of patients with renal failure and 25.0% of patients with elevated CRP.

3.2. DETERMINE GENETIC ABNORMALITIES IN CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA

3.2.1. Genetic variants in childhood acute lymphoblastic leukemia

Table 3.1. Common genetic variants in ALL

Gene fusions	Number	Percentage (%)
<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
Unexpressed	63	75,9
Total	83	100,0

- The results of the analysis with multiplex PCR showed that there were 24.1% patients with genetic abnormalities in the following order: *TEL/AML1* (12.1%), *BCR/ABL1* (4.8%), *E2A/PBX1* (3.6%), *MLL/AF4* (2.4%) and *SET/NUP214* (1.2%).

- Prognostic grouping according to genetic mutation: good prognosis (12.1%), intermediate prognosis (80.7%), poor prognosis (7.2%).

- The difference in the distribution rate of gene fusion between the two groups of standard and high risk, or between the two groups B-ALL and T-ALL was not statistically significant. ($p > 0,05$).

3.2.2. Genetic variants in childhood acute myeloid leukemia

Table 3.2. Common genetic variants in AML

Gene fusion	Number	Percentage (%)
<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
Unexpressed	23	65,7
Total	35	100,0

- The most common gene fusions were in the following order: *AML1/ETO* (14.2%), *PML/RARA* (8.6%), *MLL/AF6* (5.7%), *KMT2A/MLLT10* (2.9%), *AML1/ETO* and *BCR/ABL1* (2.9%).

- Prognostic grouping according to genetic mutation: good prognosis (22.9%), intermediate prognosis (65.7%) and poor prognosis (11.4%).

3.2.3. Pharmacogenetic variants during the treatment of acute lymphoblastic leukemia:

- There were 72 patients with ALL tested for *NUDT15* and *TPMT*. The test results showed that 18.1% of patients with *NUDT15* polymorphism. The detection rate of *NUDT15* polymorphism in the two groups B-ALL and T-ALL was 20.0% and 8.3%, respectively. This difference was not statistically significant ($p > 0.05$). In addition to allele *NUDT15*1* (90.2%), other alleles were also detected such as: *NUDT15*3* (6.3%), *NUDT15*6* (2,1%), *NUDT15*2* (0.7%) and *NUDT15*5* (0,7). There were genotypes in the following order: *NUDT15*1/*1* (81,9%), *NUDT15*1/*3* (11,1%), *NUDT15*1/*6* (4,2%), *NUDT15*1/*2* (1,4%) and *NUDT15*3/*5* (1,4%).

- There were 6.9% patients with *TPMT* polymorphism, in which the frequency of *TPMT**1 allele was the majority (96.5%), *TPMT**3C allele (3.5%). In addition to the *TPMT**1/*1 genotype (93.1%), only one *TPMT**1/*3C genotype (6.9%) was detected.

Table 3.1. 6-MP metabolism based on *NUDT15* and *TPMT* gene polymorphism

6-MP metabolism	Number	Percentage (%)
Normal metaboliser	55	76,4
Intermediate metaboliser based on 1 gene polymorphism	12	16,6
Possible intermediate metaboliser based on 1 gene polymorphism	1	1,4
Intermediate metaboliser based on 2 gene polymorphisms	1	1,4
Indeterminate	3	4,2
Total	72	100

3.3. SURVEYING THE RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC VARIATIONS AND CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA TREATMENT OUTCOME

3.3.1. Determine the rate of remission, relapse, the overall survival and even free survival in childhood acute leukemia

- Results showed that 95% of ALL patients recovered based on blast cell count < 5% after induction phase. The remission rate for the standard risk group is usually 100%, while the figure for the high-risk group is 86.7%. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

- Regarding AML group, the results showed that 73.1% of patients achieved remission, 15.4% of patients had partial remission and 11.5% of patients did not.

- The relapsed rate in the acute leukemia group was 19.9%, in which the bone marrow relapse rate was 11.9%, the central nervous system relapse was 6.0%, and the combination of central nervous and medulla relapse were 1.0%, and soft tissue recurrence was 1.0%. There was a difference in the recurrence rate between the two groups. The AML group had a high relapsed rate, 40.9%, compared with the ALL group of 14.0%. AML has a higher rate of bone marrow relapse than ALL, 36.4% compared with 5.1%. The ALL group had a higher rate of CNS relapse than AML, 7.6% compared to 0%. This difference is statistically significant ($p < 0.05$).

- Out of total 118 patients, 30 patients died during the study period. The number of patients alive was 88, accounting for 74.6%. The mean overall survival time during follow-up was 40.8 ± 2.1 months. At 1 year, 2 years, and 3 years, the overall survival rate for acute leukemia patient was $82.2 \pm 3.6\%$, $75.1 \pm 4.5\%$, and $67.4 \pm 5.5\%$, respectively.

- At 3 years, the overall survival rate of B-ALL, T-ALL and AML was: $77.6 \pm 6.7\%$, $68.4 \pm 15.8\%$, and $45.5 \pm 10.2\%$, respectively. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

- At the time of 1 year, 2 years, and 3 years, the event-free survival rate of childhood acute leukemia was $81.1 \pm 3.7\%$, $71.1 \pm 4.8\%$, and $69.0 \pm 5.1\%$, respectively.

- At the time of 3 years, the event-free survival rate of B-ALL, T-ALL and AML was $79.5 \pm 6.1\%$, $70.3 \pm 14.8\%$ and $44.6 \pm 10.0\%$, respectively. There was a statistically significant correlation between them, $p < 0.05$.

3.3.2. The correlation between genetic abnormalities and the rate of remission, relapse, the overall survival and event free survival rate in childhood acute leukemia

3.3.2.1. The correlation between genetic abnormalities and the rate of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia

- Remission rates varied between groups, in which the poor prognosis group accounted for the lowest (66.6%), 98.4% for the intermediate prognosis group, and 90.0% for the good prognosis group. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

- The group with good prognosis and intermediate prognosis had the rate of $\text{MRD} < 10^{-4}$ after induction therapy was 88.9% and 92.2%, respectively, while this rate was only 50% in the group with poor prognosis. There was statistically significant difference between the three groups ($p < 0.02$).

3.3.2.2. The correlation between genetic abnormalities and the rate of remission in childhood acute myeloid leukemia

- The poor prognosis had the lowest remission rate (33.3%). That rate was 66.7% in the intermediate prognosis and 100% in the good prognosis group. There was not a statistically significant correlation between them, $p > 0.05$.

3.3.2.3. Evaluation of acute lymphoblastic leukemia relapse rate basing on genetic risk groups

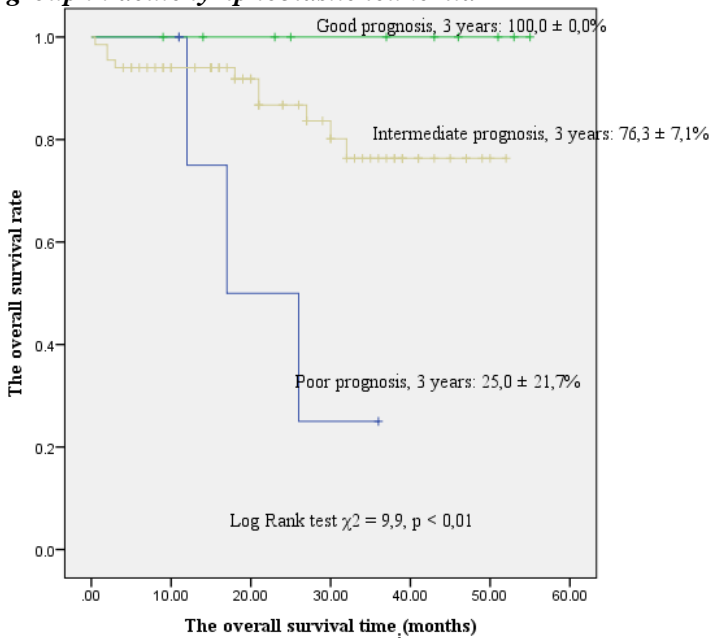
- There was a difference in the relapse rates between the genetic risk groups, in which this rate of the poor prognosis group was highest (66.7%), followed by the intermediate prognosis group (11.1%), while

the group with good prognosis did not show any recurrence. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

3.3.2.4. Evaluation of acute myeloid leukemia relapse rate basing on genetic risk groups

- The relapse rates were different between the genetic risk groups. The poor prognosis group had the highest relapse rate (66.7%), while the figures for the intermediate prognosis group and good prognosis group were 66,7% and 26,8%, respectively. The difference was not statistically significant ($p > 0.05$).

3.3.2.5. Evaluation of the overall survival rate according to genetic risk group in acute lymphoblastic leukemia

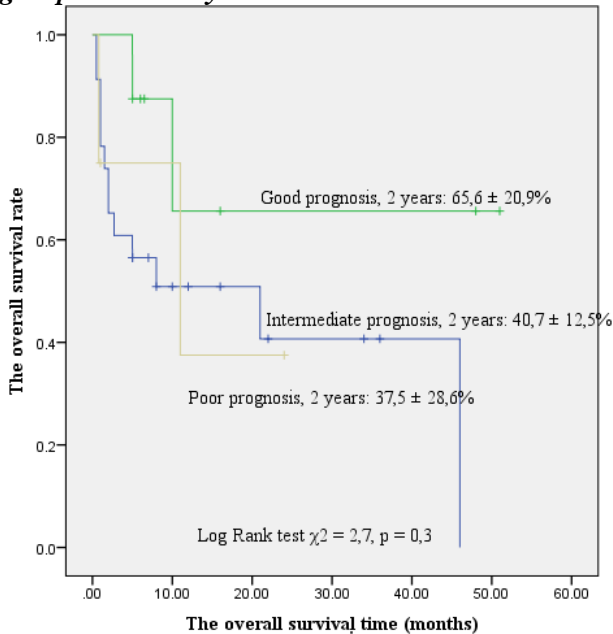


	1 year	2 years	3 years
Poor prognosis	75.0 ± 21.7%	50.0 ± 25.0%	25.0 ± 21.7%
Intermediate prognosis	94.0 ± 2.9%	86.7 ± 4.9%	76.3 ± 7.1%
Good prognosis	100.0 ± 0.0%	100.0 ± 0.0%	100.0 ± 0.0%

Figure 3.1. The overall survival curve by genetic risk group in ALL
 - At the end of the study, out of a total of 83 patients with ALL, there were 13 patients died, of which 3/6 patients belonged to the poor prognosis group, 10/67 patients belonged to the intermediate prognosis group and

no patient in the good prognosis died. The number of surviving patients is 70 patients, accounting for 84.3%. At 3 years, the overall survival for the group with good, intermediate, and poor prognosis were $100.0 \pm 0.0\%$, $76.3 \pm 7.1\%$, and $25.0 \pm 21.7\%$, respectively. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

3.3.2.6. Evaluation of the overall survival rate according to genetic risk group in acute myeloid leukemia



	1 year	2 years	3 years
Poor prognosis	$37.5 \pm 28,6\%$	$37.5 \pm 28.6\%$	-
Intermediate prognosis	$56.5 \pm 10.3\%$	$40.7 \pm 12.5\%$	$40.7 \pm 12.5\%$
Good prognosis	$65.6 \pm 20.9\%$	$65.6 \pm 20.9\%$	$65.6 \pm 20.9\%$

Figure 3.2. The overall survival curve by genetic risk group in AML

- At the end of the study, out of a total of 35 AML patients, there were 17 patients died. The number of surviving patients is 18, accounting for 51.4%. At 2 years, the poor prognosis group had the overall survival rate of $37.5 \pm 28.6\%$, the figure for intermediate and favorable prognosis group were $40.7 \pm 12.5\%$ and $65.6 \pm 20.9\%$ respectively. At 3 years, the overall survival rate in the intermediate prognosis group

was $40.7 \pm 12.5\%$, and the good prognosis group was $65.6 \pm 20.9\%$. In the poor prognosis one, no patient survived to 3 years. However, the difference was not statistically significant ($p > 0.05$).

3.3.2.7. *The event free survival rate bases on genetic risk group in childhood acute lymphoblastic leukemia*

- At 2nd years, the event free survival rate in the groups with good, intermediate and poor prognosis were: $100 \pm 0.0\%$, $81.5 \pm 5.8\%$, and 27.8 ± 23.2 , respectively. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

3.3.2.8. *The event free survival rate bases on genetic risk group in childhood acute myeloid leukemia*

- At 1st year, the event free survival rate of the poor-prognostic group was $37.5 \pm 28.6\%$, and that of the intermediate prognosis group and the good prognostic group were $38.0 \pm 12.3\%$ and $65.6 \pm 20.9\%$, respectively. However, this difference was not statistical significance ($p > 0.05$).

3.3.2.9. *The overall survival rate and the event free survival rate with pharmacogenetic changing*

- At 3rd year, the overall survival rate and the event free survival rate of the *TPMT* polymorphism group and the group without *TPMT* polymorphism were $66.7 \pm 27.2\%$, $75.0 \pm 21.7\%$ and $84.8 \pm 5.9\%$, $86.0 \pm 5.5\%$. Similarly, at the 3rd year, the overall survival rate and the event free survival rate of the *NUDT15* polymorphism group and the group without *NUDT15* polymorphism were $90.0 \pm 9.5\%$, $90.0 \pm 9.5\%$ and $81.7 \pm 7.1\%$, $83.0 \pm 6.7\%$. These differences were not statistical significance ($p > 0.05$).

Chapter 4 DISCUSSION

4.1. CLINICAL AND PARACLINICAL CHARACTERISTICS OF ACUTE LEUKEMIA

4.1.1. General characteristics

The mean age was 5.8 ± 4.0 years old, which is similar to Robazzi's result, the mean age was 6,18 years old. For ALL, children aged 1 to 5 accounted for 57.8%. For AML, it does not have peak incidence. These results are similar to those of local and foreign researchers.

The male to female ratio was 1.5:1, similar to Robazzi's study which showed that male accounted for 59.4% and female accounted for 40.1%.

There was 70.3% patients with ALL and 29.7% patients with AML. According to Robazzi and Sinigaglia, the percentages of ALL were 77.1% and 83.6% respectively, the percentages of AML were 22.9% and 16.3% respectively. For ALL, B-ALL accounted for 84.3% and T-ALL accounted for 15.7, which is similar to Shalal's result. ALL-standard risk that accounted for 61.4% was higher than ALL-high risk with 38.6%. Our result is similar to Jonavoska's research.

4.1.2. Clinical presentations in childhood acute leukemia

The onset of symptoms were fever (57.6%), pallor (32.2%), hemorrhage (21.2%), enlarged lymph nodes (18.6%) and bone pain (15.3%). These are similar to Shahab's result.

The mean time from symptom onset to hospital admission was 14 days, similar to Nwannadi's.

The most common symptoms were anemia (87.3%), hepatomegaly (48.3%), enlarged lymph nodes (44.9%), fever (44.9%), splenomegaly (41.5%), hemorrhage (39.8%) and bone pain (21.2%). In our research, bone pain. In our result, the percentage of bone pain in ALL was higher of that in AML (26.5% vs. 8.6%). The difference has statistical ($p < 0.05$). Our result is similar to Colby-Graham's result. Testicular involvement accounted for 2.8%. According to foreign researchers, testicular involvement accounted for 1.1-2.4% at the time of diagnosis. There were some uncommon symptoms such as: gingival hyperplasia (1.7%) and leukemia cutis (0.8%).

4.1.3. Paraclinical characteristics of childhood acute leukemia

Regarding peripheral blood, there were 28.8% of patients with white blood cell count $\geq 50 \times 10^9/l$, similar to some other local and foreign researchers, white blood cell count accounted from 19.4 to 34.5%. Hb from 7-11 g/dl accounted for 62.7%. According to Barbosa, Hb < 11 g/dl accounted for 88%. Moreover, 24.6% of patients had PLT $< 20 \times 10^9/l$, which is similar to Shalal's result, 25.5% of ALL patients had PLT $< 20 \times 10^9/l$.

The percentage of blast cells in peripheral blood $\geq 25\%$ accounted for 50%. According to Dai, B-ALL patient with low blast cells in peripheral blood has longer term survival than that who have higher

blast cells. In contrast to T-ALL, patient who has low blast cells in peripheral blood has shorter term survival.

The median of bone marrow cells was $100,0 \times 10^9/l$ and there was not any difference between ALL and AML patients. Our result is similar to Nguyen Tu Hung's result.

89.4% of patients showed increased LDH, 16.8% of patients had elevated uric acid level. According to Sivindir, there was 12.6% of patient with elevated uric acid level. In our result, 35.7% of patients had elevated liver enzyme. Blast cells could infiltrate liver and cause elevated liver enzyme. Renal failure that was diagnosed in one case accounted for 0.9%. The most common cause of kidney failure is tumor lysis syndrome, where cancer cells die on their own in large number, or under the influence of chemotherapy. Beside that, some medicines or sepsis shock could cause renal failure. 25% of patients had elevated CRP. CRP is a marker to evaluate infection.

4.2. DETERMINE GENETIC ABNORMALITIES IN CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA

4.2.1. Genetic variants in childhood acute lymphoblastic leukemia

The results of the analysis with multiplex PCR showed that there were 24.1% patients with genetic abnormalities including 12.1% of patients had *TEL/AML1* fusion, 4.8% of patients had *BCR/ABL1* fusion, 3.6% of patients had *E2A/PBX1* fusion, 2.4% of patients had *MLL/AF4* fusion and 1.2% of patients had *SET/NUP214* fusion. With the multiplex-PCR, our result found new fusion comparing with other previous results in Vietnam. It was *SET/NUP214* fusion which is rare fusion gene and often occurs in T-ALL, at the aged 10-11. The patient with *SET/NUP214* will have high percentage of relapse. Until now, *SET/NUP214* is still poorly understood.

Basing on genetic abnormalities, some authors such as Inaba, Pui classify patients into three risk genetic group: favorable prognosis, intermediate prognosis and poor prognosis. In our result, there were 12.1% patients with favorable prognosis, 80.7% patients with intermediate prognosis and 7.2% patients with poor prognosis.

4.2.2. Genetic variants in childhood acute myeloid leukemia

The results of the analysis with multiplex PCR showed that there were 34.3% patients with genetic abnormalities including 14.2% patients with *AML1/ETO*, 8.6% patients with *PML/RARA*, 5.7% patients with *MLL/AF6*, 2.9% patient with *KMT2A/MLLT10*. New point

in our result was that one patient had two fusion genes: *AML1/ETO* and *BCR/ABL1*. This was a special case and reported the first time in Vietnam. For AML patient, the presence of *BCR/ABL1* fusion gene is rare. And the combining of *AML1/ETO* and *BCR/ABL1* is extreme rare. According to foreign literatures, there is a few case having of *AML1/ETO* and *BCR/ABL1*. And these patients will have poor prognosis. Beside that, our result also found two fusion genes which haven't reported in children yet. They were *MLL/AF6* fusion and *KMT2A/MLLT10* fusion genes.

Similar to ALL patients, basing on genetic abnormalities, Quessada classify patients into three risk genetic group: favorable prognosis, intermediate prognosis and poor prognosis. In our result, there were 22.9% patients with favorable prognosis, 65.7% patients with intermediate prognosis and 11.4% patients with poor prognosis.

4.2.3. Pharmacogenetic variants during the treatment of acute lymphoblastic leukemia

In ALL group, there were 72/83 patients who were done *NUDT15* and *TPMT* analysis at the same time. The results showed that 18.1% patients have *NUDT15* polymorphisms, 6.9% patients have *TPMT* polymorphisms 1.4% patients have both *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms. This is a new point in our results.

The table 3.3 described the capacity of 6-MP metabolism and when we know the capacity of each phenotype, we will indicate the dose for patients. So, the definition of *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms plays an important role for each patient during treatment.

4.3. SURVEYING THE RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC VARIATIONS AND CHILDHOOD ACUTE LEUKEMIA TREATMENT OUTCOME

4.3.1. Determine the rate of remission, relapse, the overall survival and even free survival in childhood acute leukemia

The rate of remission after induction phase for ALL and AML are 95% and 73.1% respectively. The rate of ALL remission is similar to that of other researchers all over the world, the rate achieves 90-98%. Regarding AML, our rate is lower than that of Bui Thi My Huong, the rate achieved 89,4%.

The relapsed rate in childhood acute leukemia was 19,9%, in which, the relapsed rate for ALL and AML were 14% and 40.9% respectively. According to Nguyen Thi Mai Huong, the relapsed rate

for ALL-high risk was 16,7%. According Pedram, the relapsed rate for AML patient was 34,0%. Therefore, for AML, the relapsed rate is still high, and how to improve the survival rate for patient is still a challenge.

The overall survival rate for childhood acute leukemia after 3 years were $67.4 \pm 5.5\%$, in which, the overall survival rate for B-ALL, T-ALL and AML were $77.6 \pm 6.7\%$, $68.4 \pm 15.8\%$ and $45.5 \pm 10.2\%$ respectively. The difference has statistical ($p < 0,05$).

According to Escherich, the overall survival for ALL with COALL 92 and 97 protocol after 5 years were $81.1 \pm 1.8\%$ và $85.4 \pm 1.4\%$. For AML group, our overall survival rate was lower than that of Waack, the overall survival rate after 3 years were $82 \pm 3\%$.

The event-free survival rate for childhood acute leukemia after 3 years were $69.0 \pm 5.1\%$, in which, the overall survival rate for B-ALL, T-ALL and AML were $79.5 \pm 6.1\%$, $70.3 \pm 14.8\%$ and $44.6 \pm 10.0\%$ respectively. The difference has statistical ($p < 0,05$).

According to Nguyen Thi Mai Huong, the event free survival rate for ALL-high risk after 5 years were $46.0 \pm 5.0\%$. According to Escherich, the event free survival for ALL with COALL 92 and 97 protocol after 5 years were $73.2 \pm 2.0\%$ and $76.7 \pm 1.7\%$ respectively. For AML group, our event free survival rate was lower than that of Waack, the event free survival rate after 3 years with AML-BFM2012 were $69 \pm 4\%$. So, we have to improve the quality of treatment.

4.3.2. The correlation between genetics abnormalities and the rate of remission, relapse, the overall survival and even free survival in childhood acute leukemia

4.3.2.1. The correlation between genetics abnormalities and the rate of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia

The result showed that the percentage of remission differed from three risk genetic group. The rate of remission for the poor prognosis group was 66.6%, the favorable prognosis group achieved 90.0% and the intermediate prognosis group was 98.4%. The difference has statistical ($p < 0.05$). Our results are similar to some studies by Pui, Lin, Toksvang and Cimino. So, genetic abnormalities made a tremendous impact on the result of treatment.

The good prognosis group had 88.9% MRD $< 10^{-4}$ after induction phase and that percentage was just 50% for the poor prognosis group and that was 92.2% for the intermediate prognosis group. The

difference has statistical ($p < 0.05$). Our results are similar to the study by Borowitz. The percentage of MRD $< 10^{-4}$ after induction phase in patients with *TEL/AML1* fusion gene is 87,9%, however, that percentage is only 70,7% for patients with MLL rearrangement.

4.3.2.2. The correlation between genetic abnormalities and the rate of remission in childhood acute myeloid leukemia

The rate of remission in the poor prognosis group, the intermediate prognosis group and the good prognosis group were 33.3%, 66.7% and 100%. However, the difference is not statistically significant ($p > 0.05$). That result illustrated that beside the impact of genetic abnormalities, supportive care and infection control play an important role in AML treatment.

4.3.2.3. Evaluation of acute lymphoblastic leukemia relapse rate basing on genetic risk group

The poor prognosis group had the highest relapsed percentage, 66.7%, the intermediate prognosis group had 11.1% relapse and the good prognosis group had no relapse. The difference has statistical ($p < 0.05$). Our results are similar to the study by Sanchez, the poor prognosis has the highest relapsed rate. 23% patients with *BCR/ABL1* relapsed after achieving remission, in which, there is 10% of CNS relapse or CNS and bone marrow relapse.

4.3.2.4. Evaluation the relapsed rate in childhood acute myeloid leukemia basing on genetic risk group

The relapsed rate of the poor prognosis group, the intermediate prognosis group and the good prognosis group were 66.7%, 41.7% and 28.6%. The difference does not have statistical significance ($p > 0.05$). According to Henris, there are some factors that predict relapse in AML after transplant are: the condition of bone marrow and patient before transplant, genetic abnormalities, type M4/M5.

4.3.2.5. Evaluation of the overall survival rate according to genetic risk group in acute lymphoblastic leukemia

The overall survival rate for the poor prognosis, intermediate prognosis and good prognosis risk group after 3 years were $25.0 \pm 21.7\%$, $76.3 \pm 7.1\%$ and $100.0 \pm 0.0\%$. The difference is statistically significant ($p < 0.05$). Our results are similar to the study by Pui, the overall survival rate for patients with *BCR/ABL1* fusion gene was $48.0 \pm 2.0\%$, and the patients without *BCR/ABL1* fusion genes was $94.5 \pm 1.8\%$.

4.3.2.6. Evaluation of the overall survival rate according to genetic risk group in acute myeloid leukemia

The overall survival rate for childhood acute myeloid leukemia with intermediate prognosis risk group and favorable prognosis risk group after 3 years were $40.7 \pm 12.5\%$ and $65.6 \pm 20.9\%$ respectively. However, there was not any patient with poor prognosis risk group that was still alive. The difference is not statistically significant ($p > 0,05$). Our results differed from the study by Cho, Pui and Rubnitz.

4.3.2.7. The event free survival rate bases on genetic risk group in childhood acute lymphoblastic leukemia

The event-free survival rate for the poor prognosis, intermediate prognosis and favorable prognosis risk group after 2 years were $27.8 \pm 23.2\%$, $81.5 \pm 5.8\%$ and $100.0 \pm 0.0\%$. The difference is statistically significant ($p < 0,05$). Our results are similar to the study by Jeha, Pui.

4.3.2.8. The event free survival rate bases on genetic risk group in childhood acute myeloid leukemia

The event-free survival rate for the poor prognosis, intermediate prognosis and favorable prognosis risk group after 1 year were $35.7 \pm 28.6\%$, $38.0 \pm 12.3\%$ and $65.6 \pm 20.9\%$. However, the difference has no statistical ($p > 0,05$).

Our results differed from the study by Cho, Pui and Rubnitz who illustrated that there is a correlation between genetic risk group and the event free survival. Our result demonstrated that AML treatment is so complicated, and supportive care plays an important role, how to control infection and reduce mortality is very necessary.

4.3.2.9. The overall survival time and the event free survival time with pharmacogenetic changing

NUDT15 and *TPMT* polymorphisms do not affect the overall survival time and the event survival time in ALL. These results are similar to the study Liang, there is not a statistically significant difference between *NUDT15* and *TPMT* wide type and *NUDT15* and *TPMT* variants.

CONCLUSION

Based on research on 118 childhood acute leukemia including 83 acute lymphoblastic leukemia and 35 acute myeloid leukemia at Hue Pediatric Center- Hue Central Hospital, we reach these conclusions:

2. Clinical presentations and laboratory findings in childhood acute leukemia

- The mean age was $5,8 \pm 4,0$. For ALL, the peak incidence was at the aged 1-5 (57.8%). For AML, it doesnot have peak incidence. The male to female ration was 1.5:1
- AML accounted for 29.7% and ALL accounted for 70.3%, in which, the percentage of B-ALL is higher than the percentage of T-ALL (84.3% vs. 15.7%).
- The most common symptoms in childhood acute leukemia were: anemia (87.3%), hepatomegaly (48.3%), enlarged lymph nodes (44.9%), fever (44.9%), splenomegaly (41.5%), hemorhage (39.8%), bone pain (21.2%). There were some uncommon symptoms such as: testicular involvement (2.8%), gingival hyperplasia (1.7%) and leukemia cutis (0.8%).
- Whole blood count showed that 28.8% of patients had white blood cell count $\geq 50 \times 10^9/l$, 43.2% of patients had neutrophil count $< 500/\mu l$. Hb concentration < 7 g/dl accounted for 29.7%. Platelets $< 20 \times 10^9/l$ accounted for 24.6%.
- Biochemical features showed that there were 89.4% patients with increased LDH, 16.8% of patients with increased uric acid, 35.7% of patients with elevated liver enzymes, 0.9% of patients with renal failure and 25.0% of patients with elevated CRP.

2. Determine genetic abnormalities in childhood acute leukemia

- In acute lymphoblastic leukemia, the results of multiplex PCR tests showed that there were 24.1% patients with genetic abnormalities, in which, 12.1% of patients had *TEL/AML1* fusion, 4.8% of patients had *BCR/ABL1* fusion, 3.6% of patients had *E2A/PBX1* fusion, 2.4% of patients had *MLL/AF4* fusion and 1.2% of patients had *SET/NUP214* fusion. There were 12.1% patients with favorable prognosis, 80.7% patients with intermediate prognosis and 7.2% patients with poor prognosis

- In acute myeloid leukemia, there were 34.3% patients with genetic abnormalities, in which, 14.2% patients with *AML1/ETO*, 8.6% patients with *PML/RARA*, 5.7% patients with *MLL/AF6*, 2.9% patient with *KMT2A/MLLT10* and 2.9% patient with *AML1/ETO* and *BCR/ABL1*.
- The pharmacogenetic test showed that the percentage of *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms were 18.1% and 6.9% respectively, and there is 1.4% patient having *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms. Finding *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms guide 6-MP dose for patients.

3. Surveying the relationship between genetic variations and childhood acute leukemia treatment outcome

- The rate of remission after induction phase for ALL and AML were 95.0% and 73.1% respectively. The relapsed rate for acute leukemia were 19.9%, in which, that for ALL and AML were 14.0% and 40.9%. The overall survival and event-free survival rates in 3 years for B-ALL, T-ALL and AML were $77.6 \pm 6.7\%$, $79.5 \pm 6.1\%$; $68.4 \pm 15.8\%$, $70.3 \pm 14.8\%$; and $45.5 \pm 10.2\%$, $44.6 \pm 10.0\%$ respectively.
- For ALL, there were statistical correlations between the remission rate, the relapsed rate with the genetic risk group. The poor prognosis group had the lowest remission rate (66.6%) and the highest relapsed rate (66.7%). The remission rate and relapsed rate in the intermediate prognosis group and the good prognosis group were 98.4%, 11.1% and 90.0% and 0%. There were statistical correlations between the overall survival rate, the event free survival rate with the genetic risk group. The overall survival rate and the event-free survival rate for the poor prognosis, intermediate prognosis and good prognosis risk group after 2 years were $50.0 \pm 25.0\%$, $27.8 \pm 23.2\%$; $86.7 \pm 4.9\%$, $81.5 \pm 5.8\%$ and $100.0 \pm 0.0\%$, $100.0 \pm 0.0\%$.
- For AML, the remission rate for the poor prognosis group was the lowest (33.3%), and the relapsed rate was the highest (66.7%). However, there were not statistical correlations between the remission rate, the relapsed rate, the overall survival rate and the event free survival rate with the genetic risk group ($p > 0.05$). The overall survival rate and the event free survival rate for the poor

prognosis, intermediate prognosis and good prognosis risk group after 1 year were $37.5 \pm 28.6\%$, $37.5 \pm 28.6\%$; $56.5 \pm 10.3\%$, $38.0 \pm 12.3\%$; $65.6 \pm 20.9\%$, $65.6 \pm 20.9\%$.

- There were not statistical correlations between *NUDT15* and *TPMT* polymorphisms and the overall survival time and the event survival time in ALL.

RECOMMENDATIONS

- Continuing to do genetic tests for childhood acute leukemia. Beside that, we should analyse karyotype. So we could classify genetic prognosis group more exactly.

- We should do *NUDT15* and *TPMT* tests for all acute lymphoblastic leukemia, so we could have the evidence to adjust 6-MP dose, reducing toxicity and side effects.

- For AML, the death rate in induction phase is high, we should improve the quality of supportive care, and set up isolated room for AML patients to reduce infection.

PUBLICATIONS

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/10.1177/2333794X20901930>.
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. Clinical, laboratory features and some genetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia at Hue Central Hospital, Vietnam. *Journal of Medicine, Hue Central Hospital*, N 82,2022, pp. 34-40.
7. Clinical, laboratory features and some genetic abnormalities in childhood acute leukemia at Hue Central Hospital, Vietnam. Will publish at *The Journal of Medicine and Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy*, 12/2022.