

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CỦA HÓA HỌC TẾ BÀO VÀ GIÁ TRỊ BỔ SUNG CỦA DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRONG CHẨN ĐOÁN, PHÂN LOẠI LƠ XÊ MI CẤP

Trần Ngọc Vũ¹, Nguyễn Duy Thăng¹, Phan Thị Thùy Hoa¹, Trần Thị Phương Túy¹,
Phan Hoàng Duy¹, Ngô Tứ Cường¹, Hoàng Thị Thanh Trang¹, Tôn Nữ Trà Mai¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lơ xê mi cấp là bệnh lý ác tính của cơ quan tạo máu, cần phải có những xét nghiệm đặc biệt để phân loại thể bệnh giúp cho việc điều trị được chính xác và hiệu quả.

Mục tiêu: Phân loại lơ xê mi cấp bằng phương pháp hình thái học-hóa học tế bào và dấu ấn miễn dịch và giá trị của 2 phương pháp.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang ở 101 bệnh nhân được chẩn đoán là lơ xê mi cấp lần đầu tại Khoa Huyết học Lâm sàng và Khoa Nhi - Bệnh viện trung ương Huế từ 6/2012 - 6/2013. Sử dụng kỹ thuật hình thái học-hóa học tế bào và dấu ấn miễn dịch.

Kết quả: Theo hóa học tế bào: AML chiếm 55,45% và ALL chiếm 44,55%. Trong AML hay gặp nhất là M2 (33,92%) và M4 (30,36%). Trong ALL hay gặp nhất là L2 (97,78%), phân nhóm L2 gặp tỷ lệ cao. Theo dấu ấn miễn dịch: AML chiếm 52,47%, ALL chiếm 39,60% và nhóm bệnh ít gặp chiếm 7,92% (trong đó thể null cell 0,99% và thể biphenotype 6,93%). Trong AML, thể M2 chiếm tỷ lệ cao nhất (32,07%). Trong ALL dòng B chiếm tỷ lệ cao (77,50%), dòng T chiếm 22,50%. Sau khi được điều chỉnh bằng dấu ấn miễn dịch: Có 11 trường hợp (10,89%) điều chỉnh chẩn đoán sau khi làm miễn dịch màng tế bào. Phù hợp chẩn đoán giữa hình thái-hóa học tế bào và miễn dịch tế bào là 89,10% (90/101 trường hợp). Phát hiện ra các thể ít gặp gồm thể null cell và biphenotype. Giá trị của phương pháp hóa học tế bào: Đối với AML, độ nhạy là 94,34%, độ đặc hiệu là 66,67%, giá trị dự báo phân dòng tủy là 89,29%. Đối với ALL: độ nhạy là 100%, độ đặc hiệu là 73,77%, giá trị dự báo phân dòng lympho là 88,88%.

Từ khóa: Lơ xê mi cấp, hóa học tế bào, dấu ấn miễn dịch.

ABSTRACT

STUDY ON CYTOCHEMICAL APPLICATIONS AND THE COMPLEMENTARY VALUE OF IMMUNOPHENOTYPE IN DIAGNOSIS, CLASSIFICATION OF ACUTE LEUKEMIA

Tran Ngoc Vu¹, Nguyen Duy Thang¹, Phan Thi Thuy Hoa¹, Tran Thi Phuong Tuy¹,
Phan Hoang Duy¹, Ngo Tu Cuong¹, Hoang Thi Thanh Trang¹, Ton Nu Tra Mai¹

Background: Acute leukemia is a malignant disease of the hematopoietic organs. Special tests should be used to classify in acute leukemia in order to assure an exact and efficient treatment.

1. TT Huyết học - Truyền máu,
Bệnh viện TW Huế

- Ngày nhận bài (received): 21/10/2014; Ngày phản biện (revised): 15/11/2014;
- Ngày đăng bài (accepted): 29/11/2014
- Người phản biện: PGS. TS Phạm Như Hiệp, ThS.BS. Trần Thị Phương Túy
- Người phản hồi (corresponding author): ThS. Trần Ngọc Vũ,
- Email: ngocvutran@gmail.com; ĐT: 0905699633

Objective: Classification of acute leukemia by 2 methods: morphology-cytochemical and immunophenotype.

Patients and method: From June 2012 to June 2013, 101 patients with acute leukemia were classified by using morphology, cytochemical and immunophenotype methods at Hue Central Hospital.

Results: According to morphology – cytochemical: AML accounted for 55.45% and 44.55% ALL accounts. In AML, M2 is the most common (33.92%) and M4 (30.36%). ALL is most common in L2 (97.78%), L2 subgroup having high rates.

According to immunophenotype: AML accounted for 52.47%, ALL accounting for 39.60% and rare disease groups accounted for 7.92% (which may be null cell biphenotype 0.99% and 6.93%). In AML, M2 can account for the highest percentage (32.07%). In line B high percentage (77.50%), the T accounted for 22.50%.

After being corrected by immunophenotype method: 11 cases (10.89%) have been adjusted. Appropriate diagnosis between morphological and cytochemical and immunological is 89.10% (90/101 cases). The value of chemical methods: For AML, the sensitivity was 94.34%, a specificity of 66.67%, the predictive value was 89.29% diversion marrow. For ALL: sensitivity 100%, specificity was 73.77%, the predictive value was 88.88% diversion lymphocytes.

Key word: Acute leukemia, morphological, cytochemical and immunological.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lơ xê mi cấp là bệnh lý ác tính của cơ quan tạo máu, gồm hai nhóm bệnh là lơ xê mi cấp dòng hạt và lơ xê mi cấp dòng lympho. Đây là bệnh lý do sự tăng sinh không kiểm soát của loại tế bào non ác tính (blast), các tế bào này dần dần sẽ ức chế quá trình trưởng thành và phát triển của các dòng tế bào bình thường trong tủy xương. Việc chẩn đoán chủ yếu dựa vào hình thái học nhưng phân loại chính xác đóng vai trò hết sức quan trọng trong kết quả điều trị [3],[10].

Trước đây, việc phân dòng lơ xê mi cấp dựa chủ yếu vào phương pháp hình thái học nhưng phương pháp này gặp nhiều hạn chế do tính chủ quan của người đọc. Vì thế các nhà nghiên cứu đã bổ sung phương pháp hóa học tế bào và sau đó là phương pháp dấu ấn miễn dịch nhằm tăng thêm độ chính xác trong chẩn đoán, phân loại bệnh cho phương pháp hình thái học này. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, khi tế bào đang trong giai đoạn non, ít biệt hóa thì các phương pháp này vẫn còn nhiều bất cập trong công tác phân loại. Việc chỉ sử dụng từng phương pháp riêng biệt không thể mang lại kết quả chẩn đoán và phân loại chính xác mà cần kết hợp với nhau thì mới đem lại hiệu quả cao [1], [2], [8].

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu phương pháp

phân loại theo hình thái học - hóa học tế bào để phân loại lơ xê mi cấp và định hướng cho phương pháp miễn dịch tế bào nhằm xác định chính xác hơn về thể bệnh, đặc điểm và xu hướng biệt hóa của tế bào blast, đây cũng là cơ sở cho bác sỹ lâm sàng lựa chọn phác đồ điều trị tối ưu cho bệnh nhân và tiên lượng bệnh. Chính vì lý do đó, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu:

1. Xác định đặc điểm hóa học tế bào, giá trị bổ sung của dấu ấn miễn dịch trong chẩn đoán và phân loại lơ xê mi cấp.

2. Khảo sát giá trị của hóa học tế bào trong chẩn đoán, phân loại lơ xê mi cấp.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 101 bệnh nhân nhập viện và điều trị tại khoa Huyết học lâm sàng và khoa Nhi - Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 06/2012 đến tháng 06/2013, được chẩn đoán là lơ xê mi cấp lần đầu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: Các trường hợp mà tế bào tủy quá ít (suy tủy).

- 2.2. Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang
- 2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu**
- Tủy đồ (Blast $\geq 30\%$)
 - Nhuộm hóa học tế bào (nhuộm 5 phương pháp: myeloperoxidase, su đan đen B, periodic axit schiff, esterase không đặc hiệu có ức chế và không ức chế bởi NaF)
 - Xác định các dấu ấn miễn dịch (tiêu chuẩn vàng)
- 2.4. Xử lý số liệu:** Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS phiên bản 15.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung

Bảng 3.1. Phân bố về giới

Giới	Nam	Nữ	Tổng
n	62	39	101
%	61,39	38,61	100

Bảng 3.2. Phân bố về tuổi

Nhóm tuổi	Dưới 15	16-30	31-45	46-60	Trên 60	Tổng
n	36	19	10	16	20	101
%	35,64	18,82	9,9	15,84	19,80	100
Tuổi trung bình $\bar{X} \pm SD$	32,09 $\pm$ 25,55					

Tuổi nhỏ nhất là 1 tuổi, tuổi lớn nhất là 86 tuổi

3.2. Đặc điểm hình thái học - hóa học tế bào và miễn dịch tế bào trong chẩn đoán và phân loại lơ xê mi cấp

Bảng 3.3. Phân bố các thể lơ xê mi cấp dòng hạt AML và dòng lympho ALL

Các thể		n	%
	M1	9	8,91
	M2	19	18,81
	M3	5	4,95
	M4	17	16,83
	M5	5	4,95
	M6	1	0,99
ALL	L1	1	0,99
	L2	44	43,56
Tổng		101	100

Bảng 3.4. Phân bố các thể AML

Thể AML	n	%
M0	1	1,89
M1	12	22,64
M2	17	32,07
M3	2	3,77
M4	16	30,19
M5	4	7,55
M6	1	1,89
Tổng	53	100

Bảng 3.5. Phân bố các thể ALL

Thể ALL	n	%
B	31	77,50
T	9	22,5
Tổng	40	100

Bảng 3.6. Phân bố các thể ít gặp

Thể ít gặp	n	%
Null cell	1	12,50
Biphenotype	7	87,50
Tổng	8	100

3.3. Giá trị của dấu ấn miễn dịch và hóa học tế bào trong chẩn đoán, phân loại lơ xê mi cấp

Bảng 3.7. Đối chiếu chẩn đoán bằng

hình thái học - hóa học tế bào và miễn dịch tế bào

Miễn dịch tế bào	Hình thái học - Hóa học tế bào		p
	AML	ALL	
AML	50	3	<0,01
ALL	0	40	
Null cell	0	1	
Biphenotype	6	1	
Tổng	56	45	

Bảng 3.8. Giá trị dự báo phân dòng của hóa học tế bào

Miễn dịch tế bào	Hình thái học - Hóa học tế bào		p
	AML	ALL	
AML	50	3	<0,01
ALL	0	40	
Ít gặp	6	2	
Tổng	56	45	

IV. BÀN LUẬN

4.1. Về ứng dụng phân loại lơ xê mi cấp

Phân loại theo FAB: Kết quả nghiên cứu cho thấy AML chiếm 55,45% và ALL chiếm 44,55%. Trong đó nhóm AML gặp nhiều hơn nhóm ALL. Tiến hành khảo sát sự phân bố các thể của AML và ALL theo tiêu chuẩn FAB chúng tôi gặp hầu hết các thể của AML M1, M2, M3, M4, M5, M6, chưa gặp các thể M0 và M7. Trong nhóm AML, chiếm tỷ lệ cao là thể M2 (33,92%) và thể M4 (30,36%). Trong nhóm ALL gặp các thể L1 và L2, chưa gặp thể L3. Thể L2 thường gặp nhất (97,78%). Như vậy với kết quả phân dòng AML hoặc ALL có thể định hướng trước cho phương pháp nhuộm miễn dịch tế bào thực hiện các CD tương ứng với các thể và phân dòng chính xác cho các bệnh nhân lơ xê mi cấp.

Phân loại theo miễn dịch tế bào: Bên cạnh 2 nhóm AML và ALL như trong phân loại FAB đã xuất hiện thêm nhóm bệnh mới gọi là nhóm bệnh ít gặp. Tỷ lệ nhóm bệnh ít gặp trong nghiên cứu này là 7,92%. Nhóm AML gặp tất cả các thể M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, không gặp thể M7. Đối với nhóm ALL gặp các thể B và T. Trong nhóm bệnh ít gặp có 2 thể được phát hiện là thể null cell và thể biphenotype. Có tổng cộng 53 ca AML, thể bệnh gặp nhiều nhất là thể M2 (chiếm tỷ lệ 32,07%) và thể M4 (chiếm tỷ lệ 30,19%), thể M1 (chiếm tỷ lệ 22,64%). Các thể chưa được tìm thấy trong nghiên cứu này là thể M4eo và M7. Các phân nhóm ALL (bảng 3.3) có 40 ca ALL, trong đó dòng B có tỷ lệ 50%.

Trong nghiên cứu chúng tôi đã gặp 2 thể ít gặp với 8 bệnh nhân bao gồm 1 ca thể null cell (12,5%) và 7 ca biphenotype (87,5%), chưa gặp thể tế bào gốc chưa biệt hóa, thể NK và thể tương bào (bảng 3.4). Một số tác giả cũng đã gặp thể ít gặp và tỷ lệ như nghiên cứu của chúng tôi [8], [14], [16]

4.2. Về giá trị bổ sung của miễn dịch tế bào

Lấy phương pháp miễn dịch tế bào làm tiêu chuẩn chính, chúng tôi nhận thấy có 3 trường hợp ALL chuyển thành AML, có 1 trường hợp null cell chuyển thành ALL, 1 trường hợp biphenotype chuyển thành ALL, có 6 trường hợp biphenotype chuyển thành AML. Kết quả phù hợp chuẩn đoán cả 2 phương pháp là 90/101 trường hợp (89,10%). Nhiều tác giả cũng đã nhận định phương pháp hình thái học - hóa học tế bào vẫn còn nhiều hạn chế [3], [8].

4.3. Giá trị của phương pháp hóa học tế bào trong dự đoán phân dòng lơ xê mi cấp

So sánh phân dòng giữa hình thái học - hóa học tế bào với miễn dịch tế bào qua kết quả ở bảng 3.7 và 3.8 cho thấy đối với dòng lympho: độ nhạy là $40/40=100\%$, độ đặc hiệu là $45/60=75,77\%$, giá trị dự báo phân dòng lympho là $40/45=88,88\%$. Đối với dòng tủy, độ nhạy là $50/53=94,34\%$, độ đặc hiệu là $32/48=66,67\%$, giá trị dự báo phân dòng tủy là $50/56=89,29\%$.

V. KẾT LUẬN

Qua 101 ca được chẩn đoán lần đầu là lơ xê mi

cấp tại Bệnh viện TW Huế, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

5.1. Đặc điểm hóa học tế bào trong phân loại và giá trị bổ sung của dấu ấn miễn dịch màng tế bào

5.1.1. Phân loại lơ xê mi cấp theo FAB

- Hai nhóm bệnh là AML chiếm 55,45% và ALL chiếm 44,55%.

- Trong AML hay gặp nhất là M2 (33,92%) và M4 (30,36%).

- Trong ALL hay gặp nhất là L2 (97,78%).

5.1.1.1. Phân loại miễn dịch màng tế bào

- AML chiếm 52,47%, ALL chiếm 39,60% và nhóm bệnh ít gặp chiếm 7,92% (trong đó thể null cell 0,99% và thể biphenotype 6,93%)

- Trong AML, thể M2 chiếm tỷ lệ cao nhất (32,07%). Trong ALL dòng B chiếm tỷ lệ cao (77,50%), dòng T chiếm 22,50%.

5.1.1.2. Giá trị bổ sung của miễn dịch màng tế bào

- Có 11 trường hợp (10,89%) điều chỉnh chẩn đoán sau khi làm miễn dịch màng tế bào. Phù hợp chẩn đoán giữa hình thái-hóa học tế bào và miễn dịch tế bào là 89,10% (90/101 trường hợp)

- Phát hiện ra các thể ít gặp gồm thể null cell và biphenotype.

5.2. Giá trị của phương pháp hóa học tế bào trong dự đoán phân dòng lơ xê mi cấp

- Đối với AML, độ nhạy là 94,34%, độ đặc hiệu là 66,67%, giá trị dự báo phân dòng tủy là 89,29%.

- Đối với ALL: độ nhạy là 100%, độ đặc hiệu là 73,77%, giá trị dự báo phân dòng lympho là 88,88%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thái Bình, Lâm Thị Mỹ (2005), "Giá trị phương pháp hình thái học - hóa tế bào so với phương pháp Dấu ấn miễn dịch trong chẩn đoán phân dòng leucemie cấp ở trẻ em", *Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 9(1), tr. 58- 63.
2. Huỳnh Thị Bích Huyền, Nguyễn Hữu Nhân, Đỗ Văn Lắm (2012), "So sánh phương pháp Hình thái học-Hóa học tế bào và Dấu ấn tế bào trong chẩn đoán phân dòng bạch cầu cấp tại Bệnh viện Truyền máu Huyết học Thành phố Hồ Chí Minh", *Y học Việt Nam*, 497, tr. 209- 213.
3. Nguyễn Phương Liên, Nguyễn Tấn Bình (2007), "Phân loại bệnh bạch cầu cấp bằng dấu ấn miễn dịch tế bào", *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 11(1), tr. 34- 38.
4. Nguyễn Ngọc Minh (2007), *Bài giảng Huyết học-Truyền máu sau Đại học*, Nhà xuất bản Y học, tr. 46- 63, 64- 103, 189- 211, 212- 221.
5. Đỗ Trung Phần (2005), *Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr. 37- 44, 100- 118, 210- 214.
6. Thái Quý (1990), "Ứng dụng các phản ứng hóa

- học tế bào trong chẩn đoán loxemi cấp”, *Y học Việt Nam*, 150(1), tr. 35- 37.
7. Trần Văn Tính (2012), *Tổng hợp cơ chất, chế tạo kit và nghiên cứu điều kiện tối ưu để nhuộm tế bào phục vụ chẩn đoán bệnh ung thư bạch cầu*, Luận án Tiến sĩ ngành Hóa hữu cơ, Hà Nội, tr. 1- 5.
 8. Lê Phan Minh Triết (2008), *Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang xác định dấu ấn màng tế bào trong phân loại Lơ xê mi cấp tại Huế*, Luận văn Thạc sỹ y học, Đại học Y Dược Huế, tr. 18- 21.
 9. Nguyễn Thạc Tuấn (2008), *Phân loại theo tiêu chuẩn FAB bổ sung và bước đầu xây dựng atlas trực tuyến bệnh Lơ xê mi cấp tại Viện Huyết học-Truyền máu Trung ương*, Luận văn Thạc sỹ y học, Hà Nội, tr. 48- 63.
 10. Bain B. J. (2001), “Morphological, Immunophenotypic, Cytogenetic, Molecular genetic (MIC-M) classification of acute leukemia”, *Experimental Oncology* 23, pp. 11- 16.
 11. Bain Barbara J., Bates Imelda, Laffan Michael A., Lewis Mitchell S. (2011), *Dacie and Lewis Practical Haemtology 11th edition*, Elsevier Churchill Livingstone, pp. 333- 352, 353- 371.
 12. Browman GP, Neame PB, Soamboonsrup P. (1986), “Contribution of cytochemistry and immunophenotyping to the reproducibility of the FAB classification in acute leukemia”, *Blood*, 68(4), pp. 900- 905.
 13. Matutes E., Pickl Winfried F., Veer Mars V. (2011), “Mixed-phenotype acute leukemia : clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classificaiton”, *Blood*, 117, pp. 3163- 3171.
 14. Mukda E., Pintaraks K., Komvilaisak Patharee, Wiangnon (2011), “Cytochemistry and Multi-color Flow cytometri Immunophenotype for diagnosis of childhood acute leukemia”, *Journal of Hematology and Transfusion Medicine*, 21(1), pp. 23- 31.
 15. Neam P. B., Soamboonsrup P., Browman G. P., Meyer R. M., Bengner A., Wilson W. E., Walker I. R., Saeed N., McBride J. A. (1986), “Classifying acute leukemia by immunophenotyping ; a combined FAB-immunologic classification of AML”, *Blood*, pp. 1355-1362.
 16. Qadir M., Barcos M., Stewart C. C. (2006), “Routine Immunophenotyping in acute leukemia: Role in lineage assignment and Reassignment”, *International Society for analytical cytology, Cytometry part B (clinical Cytometry)* 70B, pp. 329- 334.