

V. KẾT LUẬN

Phần lớn các xét nghiệm hoá sinh của Phòng xét nghiệm có giá trị sigma lớn hơn 3 ở cả hai mức nồng độ và cho kết quả tương đồng giữa hai máy phân tích. Có thể sử dụng thang Sigma để thường xuyên đánh giá hiệu năng của các xét nghiệm dựa trên các dữ liệu nội kiểm và ngoại kiểm sẵn có của phòng xét nghiệm. Hiệu năng của các xét nghiệm dựa trên thang Sigma còn hữu ích để so sánh sự tương đồng của các xét nghiệm được thực hiện trên hai hay nhiều máy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Deachen Angmo, Dr. Suman Kant, và PEC University of technology (2015), "Six Sigma Implementation in Healthcare Industry: Past, Present and Future", Int J Eng Res. V4, ((06)), tr. IJERTV4IS060950. .
2. Adiga U.S, Preethika A.and K., và Swathi (2015), "Sigma metrics in clinical chemistry laboratory - A guide to quality control", 8. 7.
3. Nevalainen D, Berte L, Kraft C, et al (2000). Evaluating laboratory performance on quality indicators with the Six sigma scale. Arch Pathol Lab Med, 124: 516-519.
4. JO, Westgard (2010), "Third edition Training in Statistical Quality Control for Medical Lab. ", Basic QC Practices.
5. Hens K., Berth M., Armbruster D. (2014), "Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target", Clin Chem Lab Med CCLM. 52(7).
6. O.Westgard., Jame (2020), "Basic Method Validation: Training in Analytical Quality Management for Healthcare Laboratories, 3rd Edition", BD Education Center. .

ĐẶC ĐIỂM KIỂU HÌNH MIỄN DỊCH VÀ PHÂN LOẠI DƯỚI NHÓM TRONG LƠ-XÊ-MI CẤP DÒNG LYMPHO T

TÓM TẮT

Mục tiêu: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho T bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy

Phương pháp nghiên cứu: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp (LCMC) dòng lympho T bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy trên 144 bệnh nhân tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương từ tháng 12 năm 2009 đến tháng 8 năm 2011

Kết quả: Các dấu ấn đặc trưng dòng T, CD3+ (73,5%), CD2+ (55,9%), cCD3+ (26,5%), CD8+ (26,5%). Kiểu hình xuất hiện các dấu ấn không đồng bộ gặp nhiều nhất CD34+CD3+ (41,2%).

Từ khoá: Kiểu hình miễn dịch, dưới nhóm, lơ-xê-mi cấp, Lympho T

IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS AND SUBCLASSIFICATION OF ACUTE T-CELL LEUKEMIA

1. Trường Đại học Y Dược Thái Bình

*Chịu trách nhiệm chính: Trần Thị Vân Anh

Email: anhttv@tbump.edu.vn

Ngày nhận bài: 14/08/2023

Ngày phản biện: 17/08/2023

Ngày duyệt bài: 19/08/2023

Trần Thị Vân Anh^{1*}, Trần Thị Phương Thanh¹

ABSTRACT

Objective: Immunophenotypic analysis and subclassification of acute T-cell leukemia by flow cytometry

Method: Immunophenotypic analysis and subclassification of T-cell acute leukemia (LCMC) by flow cytometry on 144 patients at the National Institute of Hematology and Blood Transfusion from December 2009 to August 2011.

Results: T line specific markers, CD3+ (73.5%), CD2+ (55.9%), cCD3+ (26.5%), CD8+ (26.5%). The phenotype with the most common asynchronous markers CD34+CD3+ (41.2%).

Keywords: Immunophenotypic characteristics, subclassification, ALL, lympho T.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mỗi năm trên thế giới có thêm khoảng 100.000 bệnh nhân lơ-xê-mi cấp dòng lympho mới, trong đó 70% là trẻ em. Lơ-xê-mi cấp là bệnh có tính chất không đồng nhất nên việc chẩn đoán và phân loại các thể bệnh lơ-xê-mi cấp có ý nghĩa quan trọng trong việc chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh [1], [2], [3]. Vì vậy tìm ra các phương pháp giúp phân loại thể bệnh một cách chi tiết ngày càng được quan tâm nhiều hơn. Cho đến nay đã có các phương pháp phân loại lơ-xê-mi cấp dựa vào: hình

thái tế bào, hóa học tế bào, di truyền học và miễn dịch học; trong đó phương pháp miễn dịch học là phương pháp dựa vào đặc điểm kiểu hình miễn dịch bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng kháng lại các dấu ấn biệt hóa đặc hiệu trong quần thể tế bào lơ-xê-mi, từ đó cho phép phân loại lơ-xê-mi cấp theo dòng tế bào và mức độ biệt hóa của chúng.

Trong số các kỹ thuật phân tích kiểu hình miễn dịch, kỹ thuật tế bào dòng chảy (flow cytometry-FCM) cho phép phân tích đồng thời nhiều thông số của tế bào cần nghiên cứu bao gồm: kích thước tế bào, tính chất hạt trong bào tương và nhân, mức độ biểu hiện của các dấu ấn cả trên bề mặt tế bào hoặc trong bào tương hay nhân tế bào..., từ đó cho phép phân loại các dưới nhóm của bệnh lơ-xê-mi cấp như: lơ-xê-mi cấp dòng lympho B, lơ-xê-mi cấp dòng lympho T, lơ-xê-mi cấp dòng tủy và đặc biệt là những trường hợp không biệt hóa [3], [4], [5]. Kỹ thuật này đã được áp dụng thường quy ở một số trung tâm lớn tại Việt Nam như Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương giúp tiên lượng cũng như lựa chọn phác đồ điều trị thích hợp.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm mục tiêu: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho T bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm xuất hiện dấu ấn HLA-DR và CD34 trong thể bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho

Thể bệnh \ Dấu ấn	HLA-DR+		CD34+		HLA-DR+ và CD34+	
	n	%	n	%	n	%
Lympho B (n = 110)	74	67,3	68	61,8	52	47,3
Lympho T (n = 34)	6	17,6	20	58,8	6	17,6
Lympho chung (n = 144)	80	55,6	88	61,1	58	40,3

Dấu ấn CD34 ở nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho B chiếm tỷ lệ 61,8%, dòng lympho T chiếm tỷ lệ 58,8%. Dấu ấn HLA-DR xuất hiện tỷ lệ cao trong thể bệnh lympho B (chiếm 67,3%), xuất hiện thấp hơn ở thể bệnh lympho T (chiếm 17,6%). Cùng xuất hiện các dấu ấn CD34 và HLA-DR trong thể bệnh lympho B chiếm tỷ lệ 47,3%, trong thể bệnh lympho T chiếm tỷ lệ 17,3%.

Bảng 2. Các dấu ấn non dấu dòng trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho T (n=34)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
CD34+	20	58,8
TdT+	10	29,4
HLA-DR+	6	17,6

II. ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu

Gồm 144 bệnh nhân được chẩn đoán LXMC (có tỷ lệ % tế bào Blast $\geq 20\%$ so với tổng số tế bào có nhân trong tủy - phân loại theo WHO- 2001) và được chẩn đoán xác định LXMC dòng lympho bằng kỹ thuật FCM tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương từ tháng 12 năm 2009 đến tháng 8 năm 2011. Loại ra những bệnh nhân được chẩn đoán lơ-xê-mi kinh chuyển cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Áp dụng phương pháp mô tả cắt ngang kết hợp với hồi cứu dữ liệu

- Cỡ mẫu: Lựa chọn toàn bộ các bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán trong thời gian nghiên cứu.

- Phân tích kiểu hình miễn dịch trên dịch tế bào tủy xương bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy được thực hiện ở khoa Miễn dịch, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Sử dụng dàn kháng thể đơn dòng có gắn màu huỳnh quang.

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được nhập bằng Epi-data 3.1, xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0

2.3. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học, kết quả nhằm phục vụ quá trình chẩn đoán và điều trị cho bệnh nhân.

Trong LXMC dòng lympho tỷ lệ xuất hiện dấu ấn non chiếm tỷ lệ cao nhất là CD34 (58,8%), tiếp đó là các dấu ấn TdT (29,4%), HLA-DR (17,6%).

Bảng 3. Đặc điểm xuất hiện các dấu ấn non đầu dòng trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho T

Các dấu ấn miễn dịch			n	Tỷ lệ %
CD34+	8 bệnh nhân chiếm 23,5%	TdT+HLA-DR+	2	5,9
		TdT-HLA-DR+	4	11,8
		TdT+HLA-DR-	2	5,9
		TdT-HLA-DR-	0	0
CD34-	26 bệnh nhân chiếm 76,5%	TdT+HLA-DR+	11	32,3
		TdT-HLA-DR+	1	2,9
		TdT+HLA-DR-	4	11,8
		TdT-HLA-DR-	10	29,4
Tổng số			34	100

Trong 34 trường hợp mắc LXMC dòng lympho T tỷ lệ mang dấu ấn non đầu dòng có kiểu hình miễn dịch CD34-TdT+HLA-DR+ chiếm tỷ lệ cao nhất, không có bệnh nhân nào chỉ mang dấu ấn CD34+TdT-HLA-DR-.

Bảng 4. Các dấu ấn xuất hiện đặc trưng trong thể bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho T (n = 34)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
cCD3+	9	26,5
CD3+	25	73,5
CD5+	20	58,8
CD7+	24	70,6
CD2+	19	55,9
CD8+	9	26,5

Trong 34 trường hợp LXMC dòng lympho T có 73,5% trường hợp mang dấu ấn CD3 chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp đến là CD7 chiếm tỷ lệ 70,6% và dấu ấn biểu lộ thấp nhất là cCD3, CD8 chiếm tỷ lệ 26,5%.

Bảng 5. Đặc điểm xuất hiện các dấu ấn đặc trưng trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho T (n = 34)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
CD3+CD2+	11/34	32,4
CD3+CD5+	14/34	41,2
CD3+CD7+	14/34	41,2
CD2+CD5+	6/34	17,6
CD2+CD7+	11/34	32,4
CD5+CD7+	15/34	44,1
cCD3+CD2+	2/34	5,9

Kiểu hình miễn dịch xuất hiện nhiều nhất trong LXMC dòng lympho T là CD5+CD7+ chiếm tỷ lệ 44,1%.

Bảng 6. Các dấu ấn xuất hiện không đồng bộ trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho T (n = 34)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
CD34+CD3+	14	41,2
CD3+TdT+	6	17,6
Tổng số	20	58,2

Tỷ lệ xuất hiện các dấu ấn không đồng bộ trong LXMC dòng lympho T gặp trong 14 trường hợp mang kiểu hình không đồng bộ CD34+CD3+ chiếm 41,2%, và 6 trường hợp mang kiểu hình không đồng bộ CD3+TdT+ chiếm 17,6%.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu 144 trường hợp LXMC dòng lympho, bảng 1 cho thấy: Tỷ lệ bệnh nhân LXMC dòng lympho B chiếm đa số (76,4%), dòng lympho T chiếm 23,6%. Nhiều nghiên cứu của các tác giả khác cũng cho thấy dòng lympho B chiếm tỷ lệ chủ yếu [2], [4].

Quan sát bảng kết quả bảng 3.2 và bảng 3.3 nhận thấy: dấu ấn CD34 (58,8 %) xuất hiện với tỷ lệ cao nhất, tiếp đến là dấu ấn TdT (29,4%) và HLA-DR (17,6%). Dấu ấn HLA-DR chỉ xuất hiện khi có sự kích hoạt non hóa trở lại, bình thường thì dấu ấn này không xuất hiện. Như vậy với kết quả trên nhận thấy trong LXMC dòng lympho T có hiện tượng các tế bào non hóa trở lại một cách mạnh mẽ. Trong các trường hợp mắc LXMC dòng lympho có 32,3% trường hợp đồng dương tính với TdT và HLA-DR nhưng lại âm tính với CD34 (CD34-TdT+HLA-DR+). Tuy nhiên cũng gặp 29,4 % trường hợp âm tính với tất cả các dấu ấn non đầu dòng, nói cách khác dấu ấn non đầu dòng lympho thường xuất hiện không đồng thời trên tế bào lympho T, và có những trường hợp không ghi nhận được dấu ấn non nào. Điều này tạo ra sự khác biệt với LXMC dòng lympho B hay dòng tủy, đa số trường hợp LXMC dòng lympho T được chẩn đoán không dựa vào sự xuất hiện các dấu ấn non đầu dòng mà phải dựa vào sự xuất hiện các dấu ấn đặc trưng của dòng [5], [6]

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 10 trường hợp âm tính với tất cả các dấu ấn non đầu dòng thì có 5 trường hợp âm tính với CD5, CD7, CD8, nhưng đồng dương tính với CD2 và cCD3. Những trường hợp này có chung một đặc điểm khi xác định vùng cửa sổ blast rất khó khăn vì các tế bào ác tính không nằm trùng khu vực giải phẫu bình thường (vùng cửa sổ blast) trên sơ đồ phân tích kết quả, do đó khi phân tích kết quả đòi hỏi các phải kết hợp chẩn đoán hình thái học để xác tỷ lệ % tế bào ác tính. Khi đó sẽ kết hợp giữa hình thái tế bào và biểu đồ phân tích kết quả trên máy đếm

tế bào dòng chảy để xác định đúng vùng có các tế bào ác tính để phân tích một cách chính xác, tránh bỏ sót các trường hợp này. Đây chính là giá trị bổ sung, hỗ trợ cho nhau trong việc xếp loại LXMC giữa 2 phương pháp FAB và FCM. Các trường hợp này khi xem lại kết quả hình thái học và hóa học tế bào nhận thấy có rất nhiều tế bào non nhân chiếm gần hết bào tương, có bóng hạt nhân. Nhuộm hóa học tế bào âm tính với tất cả các 3 phương pháp nhuộm PAS, Sudan Black, Peroxydase. Như vậy nếu chỉ dựa vào hình thái và hóa học tế bào rất khó xác định được LXMC thuộc dòng nào. Tuy nhiên khi phân loại bằng FCM thì lại dương tính rất mạnh với cCD3 (một dấu ấn rất đặc trưng của dòng lympho T có trong bào tương) và dương tính với dấu ấn CD2, còn lại âm tính với tất cả các dấu ấn khác có trong panel nghiên cứu. Điều này đủ cho chúng tôi kết luận các trường hợp trên thuộc LXMC dòng lympho T (tế bào đang trong giai đoạn rất non). Qua kết quả này chúng tôi nhận thấy dấu ấn non không nhất thiết xuất hiện đồng thời trên tất cả các trường hợp LXMC dòng lympho T. Dấu ấn đặc trưng có thể chỉ xuất hiện một hay nhiều dấu ấn trên quần thể tế bào blast, các trường hợp tế bào không xuất hiện dấu ấn CD3, trong bào tương thường xuất hiện dấu ấn đặc trưng nhất của dòng (cCD3). Như vậy trong các trường hợp âm tính với tất cả các dấu ấn non đầu dòng đồng thời âm tính với các dấu ấn đặc trưng bề mặt tế bào cần bổ sung thêm dấu ấn cCD3 một dấu ấn chỉ có trong bào tương của các tế bào non, có như thế mới không chẩn đoán nhầm sang thể tế bào Null (âm tính với tất cả các anti trong panel).

Đặc điểm xuất hiện những dấu ấn đặc trưng

Quan sát bảng 4 nhận thấy trong LXMC dòng lympho T tỷ lệ mang dấu ấn CD3 chiếm cao nhất (73,5%), tiếp đến là CD7 chiếm tỷ lệ 70,6%, CD5 chiếm 58,8%, CD2 chiếm 55,9% và chiếm tỷ lệ thấp nhất là cCD3 và CD8 cùng chiếm 26,5%. Qua bảng so sánh với các tác giả khác chúng tôi nhận

thấy sự xuất hiện các dấu ấn ở các nhóm nghiên cứu có sự khác nhau về tần suất xuất hiện. Điều này có thể giải thích do cỡ mẫu nghiên cứu khác nhau, hay do các thuốc nhuộm khác nhau, cũng có thể do đối tượng nghiên cứu khác nhau về chủng tộc và địa lý. Tuy nhiên điều nhận thấy chung ở các kết quả trên là dấu ấn CD7 chiếm tỷ lệ khá cao (cả 3 nghiên cứu dấu ấn CD7 chiếm trên 70%), tuy nhiên dấu ấn này không được coi là dấu ấn đặc trưng nhất của dòng vì nó xuất hiện trên các cả các bệnh nhân LXMC dòng nguyên bào tủy và trong LXMC thể NK (đây là điểm lưu ý khi phân tích kết quả). Trong trường hợp có CD7 dương tính cần xác định dương tính với các dấu ấn đặc trưng khác của dòng để đưa ra phân loại một cách chính xác về thể bệnh tránh nhầm lẫn [7].

Dấu ấn CD3 là đặc trưng nhất cho dòng lympho T khi nó xuất hiện trên bề mặt tế bào, tuy nhiên ở các giai đoạn tế bào còn rất non nó chỉ xuất hiện trong bào tương (cCD3) do đó khi xác định LXMC dòng lympho T nên xác định một trong 2 dấu ấn đặc trưng này. Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận một trường hợp chỉ dương tính với duy nhất dấu ấn cCD3, còn lại âm tính với tất cả các dấu ấn còn lại trong panel nghiên cứu kể cả các dấu ấn non đầu dòng. Như vậy nếu không sử dụng dấu ấn cCD3 thì dễ bị bỏ sót trường hợp này và lại xếp nhầm sang LXMC thể Null (thể âm tính với tất cả các anti CD có trong panel). Dấu ấn CD2 tuy tỷ lệ dương tính có khác nhau giữa các tác giả nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, dấu ấn này xuất hiện với tần suất cũng khá cao (đây là dấu ấn thường đi cùng với CD3). Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận được 2 trường hợp đồng dương tính với 2 dấu ấn cCD3 và CD2 trong khi đó âm tính với tất cả các anti CD khác có trong panel. Qua các kết quả trên chúng tôi nhận thấy dấu ấn CD2 và cCD3 nên đưa vào panel giúp chẩn đoán LXMC dòng lympho T không bị bỏ sót.

Quan sát bảng 5 nhận thấy tỷ lệ xuất hiện đồng dương tính với CD5+CD7+ chiếm tỷ lệ cao nhất (44,1%), tiếp đến là CD3+CD5+, CD3+CD7+ cùng chiếm tỷ lệ 41,2%, CD2+CD7+, CD3+CD2+ cùng chiếm tỷ lệ 32,4%, và chiếm tỷ lệ thấp nhất là kiểu hình cCD3+CD2+ (5,9%).

Đặc điểm xuất hiện kiểu hình không đồng bộ

Kiểu hình kết hợp CD3 với một dấu ấn non (như CD34, HLA-DR và TdT) là kiểu hình liên quan đến sự xuất hiện không đồng bộ của các kháng nguyên dòng lympho T [6], [7]. Trong nghiên cứu này chúng tôi ghi nhận được 14 trường hợp mang kiểu

hình không đồng bộ CD34+CD3+ chiếm 41,2%, và 6 trường hợp mang kiểu hình không đồng bộ CD3+TdT+ chiếm 17,6%. Như vậy có 58,8% bệnh nhân mang kiểu hình không đồng bộ, đây là những kiểu hình có độ đặc hiệu cao vì không tìm thấy trên mẫu máu hoặc tủy ở những người bình thường [6], [7]. Dựa vào sự xuất hiện các kiểu hình không đồng bộ này cũng có thể giúp theo dõi lượng tồn dư các tế bào ác tính trong quá trình điều trị bệnh.

V. KẾT LUẬN

Các dấu ấn đặc trưng dòng T, CD3+ (73,5%), CD2+ (55,9%), cCD3+ (26,5%), CD8+ (26,5%). Kiểu hình xuất hiện các dấu ấn không đồng bộ gặp nhiều nhất CD34+CD3+ (41,2%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Đỗ Trung Phấn (2003)**, "Leukemia cấp: Phân loại, chẩn đoán, điều trị", Bệnh lý tế bào nguồn tạo máu, Nhà xuất bản Y học, tr 243-255.
- 2. Nguyễn Triệu Vân (2008)**, "Nghiên cứu giá trị một số dấu ấn biệt hóa tế bào máu trong chẩn đoán phân loại và tiên lượng bệnh lơ-xê-mi cấp người lớn tại Viện Huyết học-Truyền máu", Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
- 3. Behm FG . (2006)**, "Immunophenotyping. Childhood Leukemias", 2nd edition; Cambridge University Press, pp150-209
- 4. Thomas DA, Cortes J, Giles FJ et al (2002)**, "Rituximab and hyper-CVAD for adult Burkitt's (BL) or Burkitt's Like (BL) leukemia or lymphoma", Blood. 100:763a. Abstract.
- 5. Cui W, Ma W, Lin Q. (2000)**, "CD45-gating for flow cytometric immunophenotyping of leukemia", Acta Academiae Medicinae Sinicae, 22(2), pp 199-203.
- 6. Thomas DA, Cortes J, Giles FJ et al (2002)**, "Rituximab and hyper-CVAD for adult Burkitt's (BL) or Burkitt's Like (BL) leukemia or lymphoma", Blood. 100:763a. Abstract.
- 7. Porwit-MacDonald A, Bjorklund E, Lucio P, van Lochem EG, Mazur J, Parreira A, van den Beemd MW, van Wering ER, Baars E, Gaipa G, Biondi A, Ciudad J, van Dongen JJ, San Miguel JF, Orfao A, (2000)**, "BIOMED-1 cocerted action report: Flow cytometric characterization of CD7+ cell subsets in normal bone marrow as a basis for the diagnosis and follow-up of T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL)", Leukemia; 14 (5), pp.816-825.