

TỶ LỆ BIẾN THỂ NUDT15 TRÊN TRẺ BỆNH BẠCH CẦU CẤP DÒNG LYMPHO TẠI BỆNH VIỆN NHI ĐỒNG 2

Nguyễn Thị Mai Lan^{1,2}, Hoàng Anh Vũ^{2,3},
Dương Bích Trâm^{2,3}, Phùng Nguyễn Thế Nguyên^{2,4}

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Biến thể NUDT15 là biến thể có tần suất cao tại Châu Á và có liên quan đến chuyển hoá của thuốc 6-mercaptopurine (6-MP), một thuốc chủ lực trong điều trị bệnh bạch cầu cấp dòng lympho. Những trẻ mang biến thể NUDT15 có khả năng chuyển hoá thuốc 6-MP kém hơn và có thể gây ra độc tính nghiêm trọng đe dọa tính mạng. **Mục tiêu:** Xác định tần suất biến thể NUDT15 ở trẻ em bệnh bạch cầu cấp dòng lympho tại bệnh viện Nhi Đồng 2. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 220 bệnh nhi bạch cầu cấp dòng lympho được điều trị tại bệnh viện nhi đồng 2 từ 01/08/2020 đến 31/05/2021 được giải trình tự gen Sanger để xác định các biến thể NUDT15 trên exon 1 và exon 3 trên nhiễm sắc thể số 13. **Kết quả:** Chúng tôi ghi nhận sự hiện diện của các biến thể NUDT15 *1, *2, *3, *5, *6 lần lượt là 87%; 2,7%; 6,9%; 0,9% và 2,5%. Không phát hiện biến thể *4. Có 25% bệnh nhân có mang biến thể NUDT15 bao gồm dị hợp tử (24,1%) và đồng hợp tử / dị hợp tử kép (0,9%). **Kết luận:** Các biến thể gen NUDT15 hiện diện ở một phần tư số bệnh nhân bệnh bạch cầu cấp dòng lympho. Chúng tôi khuyến nghị cần xác định biến thể NUDT15 trước khi điều trị thuốc 6-MP để cá thể hoá điều trị.

Từ khóa: NUDT15, biến thể, 6-mercaptopurine, bạch cầu cấp dòng lympho

SUMMARY

PREVALENCE OF NUDT15 VARIANTS IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA AT CHILDREN'S HOSPITAL 2

Objects: The nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15 genes were high frequency of NUDT15 variants in Asian and affected the metabolism of 6-mercaptopurine, a prolonged backbone of acute lymphoblastic leukemia treatment (ALL). The patients with NUDT15 variants failed in 6-MP metabolism, leading to increased mortality risk. **Aims:** This study reports the frequency of NUDT15 variants in children with ALL at Children's Hospital 2. **Methods:** A total of 220 patients with ALL were identified NUDT15 variants on exon 1 and exon 3 in chromosome 13 by Sanger sequencing. **Results:** We identified five variants of

NUDT15, including *1, *2, *3, *5, *6 (87%; 2,7%; 6,9%; 0,9% và 2,5%; respectively). We didn't identify *4 in our study. The NUDT15 genotyping showed 25% of patients with NUDT15 variants: heterozygous (24.1%) and homozygous/compound heterozygous (0.9%). **Conclusion:** NUDT15 variants were presented in one-fourth of the participants. To the personalized medicine of 6-MP, testing for NUDT15 polymorphisms prior to therapy is warranted.

Keywords: NUDT15, variant, 6-mercaptopurine, acute lymphoblastic leukemia

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạch cầu cấp là loại ung thư máu phổ biến nhất ở trẻ em, chiếm khoảng 30% các ca ung thư mới được chẩn đoán ở những bệnh nhân dưới 15 tuổi. Tỷ lệ mắc cao nhất là từ 2 đến 5 tuổi [3]. Bệnh bạch cầu cấp dòng lympho (BCCDL) chiếm 75% các trường hợp mắc bệnh bạch cầu cấp và tiên lượng rất khả quan với tỷ lệ sống sót lâu dài lên tới 90% [6]. Điều trị bệnh nhi BCCDL được chia thành ba giai đoạn khác nhau: tấn công, củng cố và duy trì. Giai đoạn duy trì thì kéo dài khoảng 2 đến 3 năm nhằm giảm nguy cơ tái phát ở bệnh nhi BCCDL [2]. Thuốc 6-mercaptopurine (6-MP) là thuốc chủ lực được sử dụng trong quá trình điều trị duy trì. Tuy nhiên, thuốc này có thể gây ra độc tính nghiêm trọng và đe dọa tính mạng khi điều trị với liều không phù hợp trên bệnh nhân có chuyển hoá thuốc kém [4]. Việc xem xét tác dụng dược động học của các loại thuốc hoá trị là rất cần thiết, vì nó giúp giảm thiểu nguy cơ độc tính đe dọa tính mạng ở bệnh nhi BCCDL. Enzym NUDT15 là một trong những cơ chế bảo vệ để giảm thiểu tổn thương DNA do thuốc 6-MP. Nó khử phosphoryl các chất chuyển hóa hoạt động của 6-MP là thio-guanine triphosphate (TGTP) và thioguanine diphosphate (TdGTP) và ngăn chặn sự kết hợp của chúng vào DNA, do đó làm giảm tác dụng gây độc tế bào của 6-MP. Những bệnh nhân mang biến thể NUDT15 làm giảm hoạt tính của enzyme NUDT15, liều 6-MP điều trị như bình thường có thể dẫn đến tích lũy TGTP có thể dẫn đến tổn thương DNA rộng và gây độc tế bào [5].

Trên thế giới, các biến thể NUDT15 được xác định khá phổ biến chiếm 9,8% ở người Đông Á; 3,9% ở người gốc Tây Ban Nha và 0,2% ở người Châu Âu, trong khi không tìm thấy biến thể này ở người châu Phi [7]. Do tần suất biến thể

¹Bệnh viện Nhi Đồng 2

²Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

³Trung tâm Y Sinh học Phân Tử

⁴Bệnh viện Nhi Đồng 1

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Mai Lan

Email: mailan1978@gmail.com

Ngày nhận bài: 30.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 28.10.2022

Ngày duyệt bài: 11.11.2022

NUDT15 cao ở người Châu Á nên việc xem xét biến thể này kết hợp với các thông tin liên quan đến lâm sàng khác để chọn liều lượng thuốc 6-MP có hiệu quả tối đa, đồng thời giảm thiểu nguy cơ độc tính trong 2 đến 3 năm điều trị duy trì của bệnh nhi BCCDL [8]. Tại bệnh viện Truyền Máu Huyết Học, nghiên cứu của Huỳnh Hữu Thân "khảo sát đột biến NUDT15 và TPMT trên bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho trẻ em điều trị duy trì" năm 2016-2019 ghi nhận khoảng 33% có mang biến thể NUDT15 trên 70 bệnh nhân được làm xét nghiệm [1]. Tuy nhiên, kết quả này chưa đại diện cho tỉ lệ biến thể NUDT15 trong dân số trẻ BCCDL. Tại bệnh viện Nhi Đồng 2, một số các trường hợp giảm bạch cầu hạt nặng và kéo dài khi đang điều trị 6-MP phải ngưng điều trị hoặc giảm liều thuốc để chờ sự hồi phục bạch cầu nhưng chưa được kiểm tra xét nghiệm NUDT15. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm xác định tỉ lệ biến thể NUDT15 trên bệnh nhi BCCDL tại bệnh viện Nhi Đồng 2 giúp cá thể hoá điều trị thuốc 6-MP.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Tất cả trẻ dưới 16 tuổi được chẩn đoán và điều trị BCCDL tại bệnh viện Nhi Đồng 2 từ ngày 01/08/2020 đến 31/05/2021 được chọn vào nghiên cứu. Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân từ chối điều trị hoặc không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu. Thiết kế nghiên cứu cắt ngang mô tả.

Cỡ mẫu của nghiên cứu được tính theo công thức tính tỉ lệ mang gen NUDT15

$$N = \frac{z^2 \frac{p}{(1-p)} \times p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: p: là tỷ lệ xuất hiện biến thể NUDT15. Chúng tôi chọn p = 15% theo nghiên cứu của tác giả Puangpetch (2020) trên 100 trẻ em ALL [1].

Z(1- α /2): hệ số tin cậy. Độ tin cậy 95%, tương đương chỉ số Z(1- α /2) là 1,96

d: sai số cho phép (d = 0,05).

Từ đó chúng tôi tính được cỡ mẫu N = 196 bệnh nhân.

2.3. Xử lý số liệu: Các biến số định tính được mô tả bằng trung vị và khoảng biến thiên; các biến số định tính được mô tả bằng bảng phân phối tần số và tỷ lệ %.

2.4. Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu đã được phê duyệt của hội đồng y đức bệnh viện Nhi Đồng 2. Nghiên cứu được thực hiện với sự đồng ý của người giám hộ hợp pháp thông qua phiếu đồng thuận.

2.5. Quy trình xét nghiệm giải trình tự gen NUDT15. Quy trình xét nghiệm giải trình tự gen Sanger trên 220 bệnh nhi BCCDL như sau:

Tách chiết DNA từ mẫu máu: Tiến hành lấy 2 ml máu tĩnh mạch, cho vào ống chống đông có EDTA, lắc đều nhẹ nhàng. Mẫu máu có thể để ở nhiệt độ phòng trong vòng 24 giờ hoặc trong tủ mát trong 7 ngày. DNA được tách chiết bằng bộ kit GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, Mỹ), theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

Thiết kế các đoạn mồi: Các đoạn mồi được thiết kế bằng phần mềm Oligo 4.1 dựa trên trình tự chuẩn của gen NUDT15 mang mã số truy cập NG_047021 trong GenBank. Chúng tôi sử dụng 2 cặp mồi NUD-1F (5'-agtgagcgcgtcacttctg-3') và NUD-1R (5'- agatgacctccagggagttg-3') cho exon 1, NUD-3F (5'-gggtgggagtggttcctg-3') và NUD-3R (5'- caaatcttctcgccaccta-3') cho exon 3.

Thiết lập điều kiện cho PCR: Mỗi tube PCR có thể tích 25 μ l chứa các thành phần: PCR buffer, dNTP (250 μ M cho mỗi loại), 2 mồi xuôi và ngược (0,5 μ M cho mỗi loại), 1,25U TaKaRa Taq™ HotStart Polymerase (Takara, Nhật Bản) và 50-100 ng genomic DNA. Chu trình luân nhiệt cho PCR được thực hiện trên máy Mastercycler@Pro S (Eppendorf, Đức). Các phản ứng luôn kèm theo một chứng âm không chứa DNA để kiểm soát ngoại nhiễm.

Kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di trên thạch agarose: Sản phẩm PCR được phát hiện bằng điện di trên thạch agarose 1,5% có nhuộm ethidium bromide và quan sát dưới hệ thống chụp ảnh điện di Geldoc-It™ (UVP, Mỹ).

Tinh sạch sản phẩm: Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Thermo Scientific, Mỹ)

Giải trình tự bằng phương pháp Sanger: Sản phẩm PCR đã được tinh sạch sẽ được thực hiện phản ứng cycle sequencing với BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Mỹ) theo hai chiều xuôi và ngược. Sản phẩm sau đó được kết tủa bằng ethanol, hòa tan trong Hi-Di formamide, biến tính ở 95°C trước khi làm lạnh đột ngột. Trình tự DNA được đọc bằng máy ABI 3500 Genetic Analyzer, với POP-7 polymer và capillary 50 cm (Applied Biosystems, Mỹ).

Phân tích kết quả giải trình tự: Kết quả giải trình tự sẽ được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench, so sánh với trình tự chuẩn của gen NUDT15 để xác định các thay đổi gen.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm dịch tễ và phân nhóm

chẩn đoán bệnh nhi BCCDL

Biến số	Số ca n=220	Tỉ lệ %
Tuổi chẩn đoán (năm)		5 (0,6-15) ⁺
Giới		
Nam	126	57,3
Nữ	94	42,7
Nơi cư ngụ		
Tp Hồ Chí Minh	25	11,4
Tỉnh khác	195	88,6
Chẩn đoán		
BCCDL B	200	90,9
BCCDL T	20	9,1

⁺ trung vị, khoảng giới hạn tuổi

Tuổi trung vị là 5 tuổi. Nhóm tuổi trên 1 tuổi đến dưới 10 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất là 78,4%;

Bảng 2. Tỉ lệ các kiểu biến thể NUDT15 trên trẻ bệnh BCCDL

NUDT15	Biến thể gen	Biến thể Protein	Tỉ lệ %
*1	Wild-type	Wild-type	87
*2	c.36-37insGGAGTC/ c.415C>T	p.Val18_Val19insGlyVal/ p.Arg139Cys	2,7
*3	c.415C>T	p.Arg139Cys	6,9
*4	c.416G>A	p.Arg139His	0
*5	c.52G>A	p.Val18Ile	0,9
*6	c.36-37insGGAGTC	p.Val18_Val19insGlyVal	2,5

Chúng tôi ghi nhận sự hiện diện của các biến thể NUDT15 *1, *2, *3, *5, *6 trên mỗi alen, trong đó có 13% có biến thể bất thường trên alen. Biến thể *3 chiếm tỉ lệ cao nhất khoảng một nửa số bệnh nhân có biến thể. Chúng tôi không ghi nhận sự xuất hiện của biến thể *4.

Bảng 3. Các kiểu tổ hợp biến thể NUDT15 trên trẻ BCCDL

	Kiểu hợp tử	Số bệnh	Tỉ lệ %
Nhóm bình thường	*1/*1	165	75
Nhóm có biến thể NUDT15 dị hợp tử	*1/*2	11	5
	*1/*3	27	12,3
	*1/*5	4	1,8
	*1/*6	11	5
Nhóm có biến thể NUDT15 dị hợp tử	*3/*3	1	0,45
	*2/*3	1	0,45

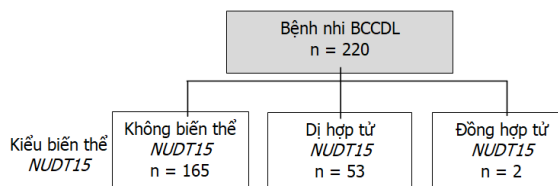
Tổ hợp biến thể *1/*3 chiếm tỉ lệ cao nhất khoảng một nửa số bệnh nhân có biến thể (27/55 bệnh nhân). Nếu xét riêng những bệnh nhi có mang biến thể gen c.415C>T (có trong *2 và *3), chúng tôi ghi nhận có 18,2% bệnh nhân (40/220) có mang tổ hợp gen chứa c.415C>T bao gồm 17,3% là dạng dị hợp tử và 0,9% đồng hợp tử.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 220 bệnh nhi bệnh bạch cầu cấp dòng Lympho (BCCDL) tại khoa Ung Bướu Huyết học bệnh viện Nhi Đồng 2, chúng tôi ghi

nhóm tuổi dưới 1 tuổi chiếm 2,8% và nhóm trên 10 tuổi chiếm 18,8%.

Tỉ lệ và đặc điểm các loại biến thể NUDT15



Hình 1. Sơ đồ phân bố tổ hợp biến thể NUDT15 trên trẻ bệnh BCCDL

Nhận xét: có 25% bệnh nhân bạch cầu cấp dòng lympho có mang biến thể NUDT15.

nhận tuổi thường gặp nhất là 5 tuổi (từ 7 tháng đến 15 tuổi), tuổi trung bình của bệnh nhi BCCDL là 6,2 ± 0,2 tuổi. Tuổi là một trong những yếu tố đánh giá phân nhóm nguy cơ của BCCDL dòng B: tuổi trên 1 tuổi đến dưới 10 tuổi được xếp vào nhóm nguy cơ chuẩn, nhóm này chiếm tỉ lệ cao nhất là 78,4%; khoảng ¼ các trường hợp thuộc nhóm nguy cơ cao theo tuổi. Bệnh nhi nam thường gặp hơn bệnh nhân nữ (nam chiếm 57,3%). Tỉ lệ này cũng tương đương với nghiên cứu của Hữu Thân tại bệnh viện Truyền máu huyết học là 54%, nghiên cứu của Puangpetch (2020) tại Thái Lan là 54% [7]. Đa số các bệnh nhân BCCDL cư ngụ tại các tỉnh thành chiếm tỉ lệ 88,6% do bệnh viện Nhi Đồng 2 là một trong những bệnh viện Nhi điều trị Ung thư cho trẻ em khu vực phía Nam, còn lại 11,4% bệnh nhân tại thành phố Hồ Chí Minh. Bệnh nhi BCCDL B là thường gặp nhất với tỉ lệ 90,9%, còn lại là BCCDL T. Tỉ lệ này cũng phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới về tỉ lệ BCCDL, tương tự nghiên cứu Puangpetch (2020) tại Thái Lan tỉ lệ BCCDL T chiếm 10% [7]. Chúng tôi ghi nhận bệnh nhi BCCDL B thuộc nhóm nguy cơ chuẩn chiếm 48,2% và nhóm nguy cơ cao chiếm 42,2%.

Tỉ lệ các biến thể NUDT15. Chúng tôi nhận thấy biến thể *3 là thường gặp nhất, kể đến là biến thể *2, biến thể *6 và cuối cùng là biến thể *5. Trong nghiên cứu này, chúng tôi không ghi nhận biến thể *4.

Bảng 4. So sánh các kiểu biến thể NUDT15 của các nghiên cứu

Kiểu biến thể	Chúng tôi (Việt Nam 2021) n=220	Hữu Thân (Việt Nam 2019) n=70	Puangpetch (Thái Lan 2020) n=100	Yi E.S (Hàn Quốc 2018) n=258	Kim (Hàn Quốc 2017) n=920
*1	87	82,8	92	85,5	86,7
*2	2,7	2,9	3	5,2	4,4
*3	6,9	10,7	2	7,9	6,9
*4	0	0	0	0,2	0,4
*5	0,9	0	0	0,8	1,1
*6	2,5	2,9	3	0,4	0,5
R11Q	0	0,7	0	0	0

So sánh số liệu với các nghiên cứu khác tại Châu Á, tỉ lệ có biến thể NUDT15 trong nghiên cứu của chúng tôi là 13% gần tương đương với nghiên cứu tại Hàn Quốc là 14,5%, cao hơn nghiên cứu tại Thái Lan (8%) [7]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của tác giả Hữu Thân tại bệnh viện Truyền Máu Huyết học (17,2%) có thể do nghiên cứu của tác giả này được thu thập trên những bệnh nhi BCCDL đã được làm xét nghiệm NUDT15 nếu có điều kiện chỉ trả xét nghiệm hoặc bị giảm BCH trong điều trị duy trì, do đó chưa đại diện cho dân số bệnh nhi BCCDL [2].

Tỉ lệ bệnh nhân mang tổ hợp biến thể NUDT15 trong nghiên cứu của chúng tôi là 25% (55/220 bệnh nhân) gần giống các nước Đông Nam Á và Đông Á như Thái Lan, Hàn Quốc, Nhật Bản. Tỉ lệ này cao hơn nhiều so với các nước Châu Âu. Các nghiên cứu trên thế giới ghi nhận biến thể NUDT15 thường gặp nhất ở dân số Đông Á là 22,6%; Nam Á (Ấn Độ, Pakistan, Bangladesh, Sri Lanka) là 13,6%; người Mỹ bản xứ (người Peru là 21,2%, người Mexico là 12,5%), hiếm gặp ở người Châu Âu (1,8-2,7%) và Châu Phi (0,48%). Jena và cộng sự (2021) phân tích gộp trên 26 nghiên cứu ghi nhận tỉ lệ biến thể NUDT15 tại Nam Á là 16,5%.

Bảng 5. Tỉ lệ mang tổ hợp biến thể NUDT15 trên thế giới

Dân số	Số bệnh nhân	Bình thường %	Dị hợp NUDT15 %	Đồng hợp/dị hợp kép NUDT15
Europeans (Schaeffeler và cộng sự 2019)	689	100	0	0
Guatemalans (Moriyama và cộng sự 2016)	159	87,4	12	0,6
Singaporean (Moriyama và cộng sự 2016)	79	76	21,5	2,5
Japanese (Moriyama và cộng sự 2016)	32	68,8	28,1	3,1
Japanese (Moriyama và cộng sự 2017)	55	80	18,2	1,8
Koreans (Yi và cộng sự 2018)	258	73,6	23,7	2,7
Koreans (Kim và cộng sự 2017)	920	75,2	22,7	2,1
Thai (Puangpetch và cộng sự 2020)	100	85	14	1
Hữu Thân (2019)	70	67,1	30	2,9
Chúng tôi (2021)	220	75	24,1	0,9

Trong các bệnh nhân mang biến thể, đa số các trường hợp là dị hợp tử chiếm tỉ lệ 24,1%. Chỉ có 0,9% (2 bệnh nhân) bệnh nhân mang biến thể NUDT15 đồng hợp tử/ tổ hợp biến thể, kết quả này tương tự trong nghiên cứu của Puangpetch tại Thái Lan có tỉ lệ đồng hợp tử chiếm 1% [1]. Một bệnh nhân dạng đồng hợp tử trong nghiên cứu của chúng tôi là dạng *3/ *3 và một bệnh nhân dị hợp tử kép là *2/*3. Các dạng biến thể này đều mang hoạt tính rất thấp trong chuyển hoá thuốc 6-MP nên rất dễ bị tác dụng phụ của thuốc khi sử dụng liều chuẩn. Cả 2 trường hợp này đều chưa bước vào giai đoạn điều trị duy trì ở thời điểm tham gia nghiên cứu. Vì vậy, bệnh nhân sẽ được giảm liều thuốc 6-MP

khi bắt đầu điều trị duy trì. Điều này sẽ giúp giảm được tác dụng phụ gây ra do 6-MP trên những bệnh nhân này vì liều điều trị chỉ bằng 10% liều bình thường.

Trong những năm gần đây, các công trình nghiên cứu trên thế giới về biến thể NUDT15 xác định có sự liên quan giữa sự hiện diện biến thể c.415C>T với tác dụng phụ giảm BCH cũng như dung nạp với liều điều trị 6-MP thấp hơn liều điều trị chuẩn theo phác đồ điều trị giai đoạn duy trì. Do đó, nhiều công trình nghiên cứu tập trung vào việc xác định biến thể c.415C>T và tìm mối liên quan của nó với điều trị 6-MP, nhằm giúp bệnh nhi có mang biến thể c.415C>T điều trị đúng liều để giảm tác dụng phụ do thuốc,

nhất là giảm BCH.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ bệnh nhi có mang biến thể c.415C>T là 40/220 ca (chiếm 18,2%). So sánh với các nghiên cứu trên thế giới được trình bày ở bảng bên dưới, tỉ lệ mang biến thể c.415C>T của chúng tôi tương đương dân số của các nước Đông Á (18%), Nhật Bản (19,6%), Thái Lan (15%-19,7%), Ấn Độ (19,2%), Hàn Quốc (19,3%). Tỉ lệ của chúng tôi thấp hơn dân số Đài Loan 22%, cao hơn Tây ban Nha (7,7%) và Châu Âu (0,5%). Tỉ lệ biến thể c.415C>T dạng dị hợp tử trong nghiên cứu của

chúng tôi là 17,3% cũng tương đương với các nghiên cứu tại Châu Á dao động quanh mức 20% và cao hơn các nước Châu Âu. Tỉ lệ biến thể c.415C>T dạng đồng hợp tử/ dị hợp tử kép trong nghiên cứu của chúng tôi là 0,9% tương đương với các nghiên cứu tại Châu Á là quanh mức 1%. Tuy nhiên, nghiên cứu của Tanaka và cộng sự tại Nhật Bản có tỉ lệ đồng hợp tử biến thể c.415C>T là 6,5% cao hơn nghiên cứu của chúng tôi, có thể do nghiên cứu này cỡ mẫu nhỏ (92 bệnh nhân) nên chưa đại diện cho dân số.

Bảng 6. Tỉ lệ tổ hợp biến thể c.415C>T trên thế giới

Dân số	Số ca	Không c.415C>T	c.415C>T dị HT	c.415C>T đồng HT
European (Yang và cộng sự 2015)	205	99,5%	0,5%	0%
Hispanics (Yang và cộng sự 2015)	222	92,3%	7,2%	0,5%
East Asian (Yang và cộng sự 2015)	61	82%	16,4%	1,6%
Taiwan (Liang và cộng sự 2016)	404	78%	20,8%	1,2%
Thai (Chiengthong và cộng sự 2016)	82	85%	12,2%	2,8%
Thai (Puangpetch và cộng sự 2020)	100	91%	8%	1%
Japanese (Tanaka và cộng sự 2015)	92	73,9%	19,6%	6,5%
Koreans (Lee và cộng sự 2016)	83	80,7%	19,3%	0%
Guatemalans (Moriyama và cộng sự)	144	96,5%	2,8%	0,7%
Singaporean (Moriyama và cộng sự)	72	83,3%	15,3%	1,4%
Japanese (Suzuki và cộng sự 2016)	51	80,4%	19,6%	0%
Indian (Sunitha và cộng sự 2020)	73	80,8%	19,2%	0%
Indian (Swarup và cộng sự 2018)	73	80,8%	19,2%	0%
Hữu Thân (2019)	70	74,3%	24,3%	1,4%
Chúng tôi (2021)	220	81,8%	17,3%	0,9%

Hạn chế của đề tài: Trong phương pháp giải trình tự gen này, chúng tôi không phân biệt được biến thể nằm trên 1 alen hay trên 2 alen khác nhau. Ví dụ 2 loại biến thể gen c.36-37insGGAGTC và c.415C>T nếu cùng nằm trên 1 nhiễm sắc thể chỉ được gọi tên là biến thể *2, nhưng nếu nằm trên 2 nhiễm sắc thể khác nhau thì gọi là biến thể dị hợp kép *3/*6. Về mặt chức năng, 2 loại biến thể này cũng sẽ khác nhau về chức năng chuyển hoá trung bình (*1/*2) và chức năng chuyển hoá kém (*3/*6). Trong kết quả nghiên cứu này, những bệnh nhân có c.36-37insGGAGTC và c.415C>T được chúng tôi xếp vào nhóm *2. Một nghiên cứu tại Nhật, 37 trường hợp đã được chẩn đoán *2 trước đây được thực hiện giải trình tự trúng đích để phân biệt biến thể gen trên một hay hai alen và ghi nhận có 35 trường hợp là *2 (trên một alen) và 2 trường hợp là dị hợp tử kép (trên hai alen). Hai bệnh nhân dị hợp tử kép này dung nạp với liều rất thấp của 6-MP tương tự như dạng đồng hợp tử [8].

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 220 bệnh nhi BCCDL tại

bệnh viện Nhi Đồng 2 chúng tôi ghi nhận có 25% bệnh nhi mang biến thể NUDT15. Tỉ lệ dị hợp tử chiếm 24,1% bao gồm *1/*2, *1/*3, *1/*5, *1/*6. Tỉ lệ đồng hợp tử và dị hợp tử kép là 0,9% (*3/ *3 và *2/*3). Tỉ lệ bệnh nhân có mang biến thể c.415C>T là thường gặp nhất 18,2% (dị hợp tử và đồng hợp tử).

Tỉ lệ trẻ BCCDL mang biến thể NUDT15 khá cao chiếm 25%. Chúng tôi đề nghị nên làm xét nghiệm tìm biến thể này trên tất cả các bệnh nhi BCCDL trước điều trị 6-MP để giúp tối ưu hoá điều trị trên bệnh nhi khi dùng thuốc 6-MP. Những bệnh nhân không có điều kiện giải trình tự gen tìm các biến thể NUDT15 thì có thể tìm biến thể c.415C>T vì biến thể này thường gặp nhất.

Chúng tôi kiến nghị tiếp tục nghiên cứu lâu dài để đánh giá hiệu quả điều trị, nguy cơ tái phát của những bệnh nhân sau khi đã được điều chỉnh liều theo các dạng biến thể NUDT15 so với nhóm không mang biến thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Huỳnh Hữu Thân, Khảo sát đột biến NUDT15 và TMPT trên bệnh nhân Bạch Cầu cấp dòng Lympho

- trẻ em điều trị duy trì tại bệnh viện Truyền Máu Huyết Học. 2019, Đại học Y Dược Tp Hồ Chí Minh: Tp Hồ Chí Minh.
2. **Cooper, S.L. and Brown, P.A.** (2015), "Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia.", *Pediatr Clin North Am* (62), 61-73
 3. **Horton, T.M. and Steuber, C.P.** (2018), "Overview of the presentation and diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents", *Uptodate*.
 4. **Moriyama, T., Nishiia, R., Lina, T.N., et al.** (2017), "The Effects of Inherited NUDT15 Polymorphisms on Thiopurine Active Metabolites in Japanese Children with Acute Lymphoblastic Leukemia", *Pharmacogenet Genomics*, 27(6), 236-239.
 5. **Puangpetch, A., Tiyasirichokchai, R., Pakakasama, S., et al.** (2020), "NUDT15 genetic variants are related to thiopurine-induced neutropenia in Thai children with acute lymphoblastic leukemia", *Pharmacogenomics*, 21(6), 403-410.
 6. **Ravindranath Y.** (2003), "Recent advances in pediatric acute lymphoblastic and myeloid leukemia", *Curr Opin Oncol* (15), 23-35.
 7. **Yang, J.J., Landier, W., and Yang, W.** (2015), "Inherited NUDT15 Variant Is a Genetic Determinant of Mercaptopurine Intolerance in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia", *Journal Clinical Oncology* (33), 1235-1242.
 8. **Yu, C.-H., Chang, Y.-H., Wang, D.-S., et al.** (2020), "Determination of NUDT15 variants by targeted sequencing can identify compound heterozygosity in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients", *Scientific Reports*, 10(1), 14400.

NGHIÊN CỨU SỰ ĐỒNG NHIỄM EPSTEIN-BARR VIRUS VÀ HUMAN PAPILLOMAVIRUS TRÊN UNG THƯ VÒM HỌNG TẾ BÀO VÂY KHÔNG SỪNG HÓA

Nguyễn Văn Hùng¹, Trần Tín Nghĩa^{2,3}, Lê Văn Hưng³,
Ngô Thị Uyên³, Nguyễn Kim Đồng³, Nguyễn Hoàng Việt³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự đồng nhiễm virus EBV và virus HPV trên bệnh nhân ung thư vòm họng tế bào vảy không sừng hóa. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 95 mẫu mô đúc nền của bệnh nhân ung thư vòm họng tế bào vảy không sừng hóa, thu thập tại bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 1/2021- 6/2022. **Kết quả và kết luận:** Độ tuổi mắc bệnh trung bình là 52,75 (16-87), trong đó tỉ lệ mắc ở nam giới cao hơn nữ giới. Đánh giá tỷ lệ nhiễm của EBV và HPV, kết quả cho thấy tỉ lệ nhiễm EBV chiếm 95,8% trong khi HPV chiếm 15,8 % (chủ yếu là chủng HPV16 (86,7%)). Tuy nhiên tỉ lệ đồng nhiễm của HPV và EBV là 13,7%, tỉ lệ chỉ nhiễm EBV là 82,1%, còn lại là 2,1 % chỉ nhiễm HPV và 2,1% âm tính với cả 2 loại virus. Nghiên cứu đã chỉ ra sự đồng nhiễm của EBV và HPV trong ung thư vòm họng tế bào vảy không sừng hóa, đặc biệt bao gồm các chủng HPV nguy cơ cao. Điều này cho thấy HPV có thể được xem là một đồng tác nhân làm gia tăng nguy cơ bị ung thư vòm họng cùng với EBV.

Từ khóa: ung thư vòm họng, Epstein-Barr virus, Human Papillomavirus

SUMMARY

EPSTEIN-BARR VIRUS AND HUMAN PAPILLOMAVIRUS CO-PRESENCE IN NASOPHARYNGEAL NON-KERATINIZING SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Objectives: Evaluated the association between EBV & HPV co-infection in nasopharyngeal non-keratinizing squamous cell carcinoma. **Subjects and methods:** We designed a cross-sectional study, that was realized on 95 FFPE samples from nasopharyngeal non-keratinizing squamous cell carcinoma, were collected at Hanoi Medical University Hospital from 1/2021 to 6/2022. **Results:** the average age of nasopharyngeal carcinoma patients is 52,75 (16-87), and the incidence rate of NPC was greater in men than women. In the association between EBV&HPV, the results showed that the rate of EBV infection was 95.8%, and the rate of HPV infection was 15,8% (mainly HPV16 (86,7%)). However, the rate of EBV/HPV co-infection was 13,7%, the rate of only EBV infection was 82,1%, only HPV was 2,1% and 2,1% of patients were not infected with both viruses. Our results showed EBV and HPV co-presence in nasopharyngeal non-keratinizing squamous cell carcinoma, especially including high-risk HPV types. Results suggested that HPV may be co-factor with high risk factor is EBV will be increased NPC progression.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma, Epstein-Barr virus, Human Papillomavirus

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vòm họng là một trong những loại

¹Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

²Đại học Y dược Cần Thơ

³Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hoàng Việt

Email: hoangviet@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 26.10.2022

Ngày duyệt bài: 8.11.2022