

KHẢO SÁT BẤT THƯỜNG GEN TRONG CÁC BỆNH LÝ HUYẾT HỌC ÁC TÍNH DÒNG TỬY BẰNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ THỂ HỆ MỚI TẠI BỆNH VIỆN TRUYỀN MÁU HUYẾT HỌC

Cao Văn Động¹, Châu Thuý Hà¹, Phan Nguyễn Thanh Vân²,
Ngô Ngọc Ngân Linh^{1,3}, Huỳnh Nghĩa^{1,3},
Nguyễn Tấn Bình¹, Phù Chí Dũng¹, Phan Thị Xinh^{1,3}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Chẩn đoán các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy cần sự kết hợp của nhiều xét nghiệm chẩn đoán và lâm sàng. Trong báo cáo này, chúng tôi xác định các bất thường gen trong các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy bằng kỹ thuật giải trình tự NGS. Các kết quả được sử dụng để hướng dẫn điều trị và cải thiện chăm sóc bệnh nhân.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực hiện trên 14 người bệnh huyết học ác tính dòng tủy, với bộ panel được thiết kế để đánh giá 40 gen (DNA) và 29 gen tổ hợp với hơn 600 đối tác dung hợp gen (RNA). Dữ liệu được so sánh với các kỹ thuật di truyền khác (FISH, RT-PCR, giải trình tự Sanger).

Kết quả: Kết quả của chúng tôi ghi nhận có 30 biến thể gây bệnh mới hoặc có khả năng gây bệnh đã được mô tả, bao gồm các biến thể của các gen ASXL1, DNMT3A, CSF3R, STAG2, RUNX1 và TET2...

Kết luận: Chúng tôi đã ứng dụng thành công kỹ thuật giải trình tự NGS để khảo sát các bất thường di truyền trong các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy, giúp bác sĩ lâm sàng phân nhóm tiên lượng và lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp.

SUMMARY

DETECTION OF GENETIC ABNORMALITIES IN MYELOID MALIGNANCIES USING NEXT GENERATION SEQUENCING AT BLOOD TRANSFUSION HEMATOLOGY HOSPITAL

Objectives: Diagnosis of Myeloid malignancies integrates multiple diagnostic testing and clinical Analysis. In this report, we detected genetic abnormalities in Myeloid malignancies using Next Generation Sequencing. The results were used to guide individualized treatment and improvement of the patient care.

Methods: Fourteen patients with Myeloid malignancies were detected abnormal genetics using NGS panel. The gene panel designed to assess 40 genes (DNA), and 29 fusion driver genes with over 600 gene fusion partners (RNA). Data compared with results of other genetic techniques (FISH, RT-PCR, Sanger Sequencing).

Results: Our results indicate that 30 new or potentially pathogenic variants have been described, including variants of ASXL1, DNMT3A, CSF3R, STAG2, RUNX1 and TET2 genes...

¹Bệnh viện Truyền máu Huyết học TP.HCM

²Trường Đại học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch

³Đại học Y Dược TP.HCM

Chịu trách nhiệm chính: Phan Thị Xinh

Điện thoại: 0932.728.115

Email: bsphanthixinh92@gmail.com

Ngày nhận bài: 01/8/2022

Ngày phản biện khoa học: 01/8/2022

Ngày duyệt bài: 15/9/2022

Conclusions: We have successfully applied NGS testing to investigate genetic abnormalities in myeloid malignancies. Results of this study help to risk stratification and select suitable treatment protocol.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy bắt nguồn từ các tế bào tiền thân tạo máu và được đặc trưng bởi sự rối loạn biệt hóa của các tế bào đầu dòng tủy [10]. Việc chẩn đoán, điều trị các bệnh lý ác tính dòng tủy đã phát triển đáng kể trong vài thập kỷ qua. Trong các phác đồ, hình thái tế bào máu, di truyền tế bào và các bất thường di truyền phân tử là rất quan trọng để bác sĩ lâm sàng chẩn đoán và tiên lượng bệnh ung thư dòng tủy. Ngày nay, sự gia tăng số lượng các nghiên cứu về đột biến gen, các điều hòa ngoại gen hay biểu hiện gen sẽ giúp xác định các dấu ấn mới trong bệnh lý ác tính dòng tủy. Theo hướng dẫn của Mạng Lưới Ung Thư Quốc Gia của Hoa Kỳ (NCCN: National Comprehensive Cancer Network) và Mạng lưới nghiên cứu bệnh bạch cầu châu Âu (ELN: European Leukemia Net), các bất thường di truyền phân tử được sử dụng để xác định, phân nhóm tiên lượng và/hoặc đánh giá bệnh tồn lưu tối thiểu của các bệnh lý này bao gồm tình trạng bất thường của các gen như JAK2 (Janus Kinase 2), MPL (Myeloproliferative Leukaemia) và CALR (Calreticulin) cho nhóm bệnh tân sinh tăng sinh tủy (TSTST); Các gen ASXL1 (Additional sex combs like 1), CEBPA (CCAAT Enhancer Binding Protein Alpha), DNMT3A (DNA Methyltransferase 3 Alpha), FLT3 (Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 3), IDH1 (Isocitrate Dehydrogenase (NADP(+)) 1), IDH2 (Isocitrate Dehydrogenase (NADP(+)) 2),

KIT (KIT Proto-Oncogene), KMT2A (Lysine Methyltransferase 2A), NPM1 (Nucleophosmin 1), RUNX1 (Runt-related transcription factor 1), TET2 (Ten-Eleven Translocation 2), TP53 (Tumor Protein P53) và WT1 (Wilms' tumor suppressor gene1) đối với bệnh bạch cầu cấp dòng tủy (BCCDT); những bất thường di truyền liên quan đến hội chứng loạn sinh tủy (HCLST) như ASXL1, DNMT3A, EZH2 (Enhancer of zeste homolog 2), RUNX1, SF3B1 (Splicing Factor 3b Subunit 1), SRSF2 (Serine And Arginine Rich Splicing Factor 2), TET2, TP53 và U2AF1 (U2 Small Nuclear RNA Auxiliary Factor 1), và ASXL1, CBL (Casitas B-lineage Lymphoma), EZH2, NRAS (Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog) / KRAS (Kirsten Ras), RUNX1, SETBP1 (SET Binding Protein 1), SRSF2 và TET2 trong bệnh bạch cầu mạn dòng mono tủy [8].

Các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy nói chung là không đồng nhất về mặt di truyền, do đó cần cái nhìn tổng thể về bất thường phân tử để hiểu rõ sinh bệnh học của bệnh cũng như có phác đồ điều trị thích hợp. Giải trình tự thế hệ mới (NGS) đem đến giải pháp cho việc giải trình tự toàn bộ bộ gen, exon và transcriptome của tế bào ung thư trong thời gian ngắn và ít tốn kém với độ nhạy cao, giúp cho việc chẩn đoán, phân nhóm tiên lượng bệnh và trị liệu cá thể. Hiện có nhiều nền tảng NGS được phát triển bao gồm giải trình tự toàn bộ bộ gen (WGS), cho phép giải trình tự toàn bộ bộ gen; giải trình tự toàn bộ exon (WES), tập trung vào các vùng mã hóa (exon), chiếm khoảng 2,5% tổng bộ gen người; và giải trình tự nhắm mục tiêu (NGS mục tiêu, NGS panels), tập trung vào một số gen nhất định, thường liên quan đến sinh bệnh học của một bệnh cụ thể [9].

NGS panel được sử dụng rộng rãi cho các ứng dụng lâm sàng, vì giảm về chi phí, đồng thời chúng cho phép giải trình tự sâu hơn và phát hiện các dòng đột biến có tỷ lệ nhỏ. Trong bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy, đã có nhiều panel NGS khác nhau được phát triển bởi các nhóm nghiên cứu trên toàn thế giới, giúp xác định đột biến soma lặp lại và nhiều đột biến khác nhau xuất hiện ở hầu hết những người bệnh Bạch cầu cấp dòng tủy (BCCDT), cũng như cho phép phát hiện các đột biến ở khoảng 90% bệnh nhân Hội chứng loạn sinh tủy (HCLST) [7].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích 14 người bệnh với các bệnh lý TSTST, BCCDT và HCLST. Những người bệnh này đã được thực hiện phân tích đồng thời các kỹ thuật di truyền tế bào (Karyotype, FISH), di truyền phân tử (RT-PCR, giải trình tự Sanger) và NGS. Panel NGS được sử dụng là Ampliseq Myeloid (Illumina), một kit thương mại có sẵn, để kiểm tra các biến thể của 40 gen (17 gen đầy đủ và 23 gen với các điểm thường xảy ra đột biến), cùng với 29 gen tổ hợp (với hơn 600 đối tác) đã được xác định có liên quan đến cơ chế bệnh sinh và/hoặc là nguyên nhân gây ra các bệnh huyết học ác tính dòng tủy.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện trên 14 người bệnh là bệnh mới, được chẩn đoán là các bệnh Tân sinh tăng sinh tủy, bạch cầu cấp dòng tủy và Hội chứng loạn sinh tủy tại Bệnh viện Truyền máu Huyết học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả hàng loạt ca.

2.2.2. Phương pháp tiến hành

Mẫu tủy của người bệnh trong chống đông bằng EDTA, sẽ được ly trích RNA và DNA bằng các kit hoá chất Maxwell® RSC simplyRNA Blood Kit và ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System kit (Promega, Mỹ). Sản phẩm thu được sau đó được định lượng bằng máy Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific). Những bệnh nhân có báo cáo karyotype và lai tại chỗ huỳnh quang (FISH), RT-PCR và giải trình tự Sanger được ghi nhận kết quả trong nghiên cứu này để đối chiếu so sánh.

Giải trình tự NGS được thực hiện trên 40 gen của ung thư dòng tủy theo kit Ampliseq for Illumina Myeloid panel (Illumina, Mỹ). Các gen được liệt kê trong Bảng 1. Trình tự được tổng hợp và đọc trên hệ thống MiSeq theo hướng dẫn của nhà sản xuất với bộ hóa chất Miseq Reagent Kit V2 (Illumina, San Diego, Mỹ). Phân tích dữ liệu và đánh giá chất lượng để gọi các biến thể đơn nucleotide và phân tích các mất đoạn, chèn đoạn, các tổ hợp gen... được thực hiện trên phần mềm CLC Genomics Workbench 20. Các biến thể được ghi nhận để đưa vào các phân tích tiếp theo nếu độ phủ tại vị trí đó tối thiểu đạt 100x, với tần suất alen trên 2 %.

Các biến thể được phân tích tiếp theo với các cơ sở dữ liệu như Clinvar, InterVar, PolyPhen-2, MutationTaster và Exome Aggregation Consortium (ExAC) và các cơ sở dữ liệu khác. Một số biến thể đã biết tại các vùng thường xảy ra đột biến hoặc các biến thể có liên quan đến lâm sàng hoặc cơ chế bệnh sinh được phát hiện dưới các ngưỡng trên được xác minh bằng các phương pháp giải trình tự Sanger.

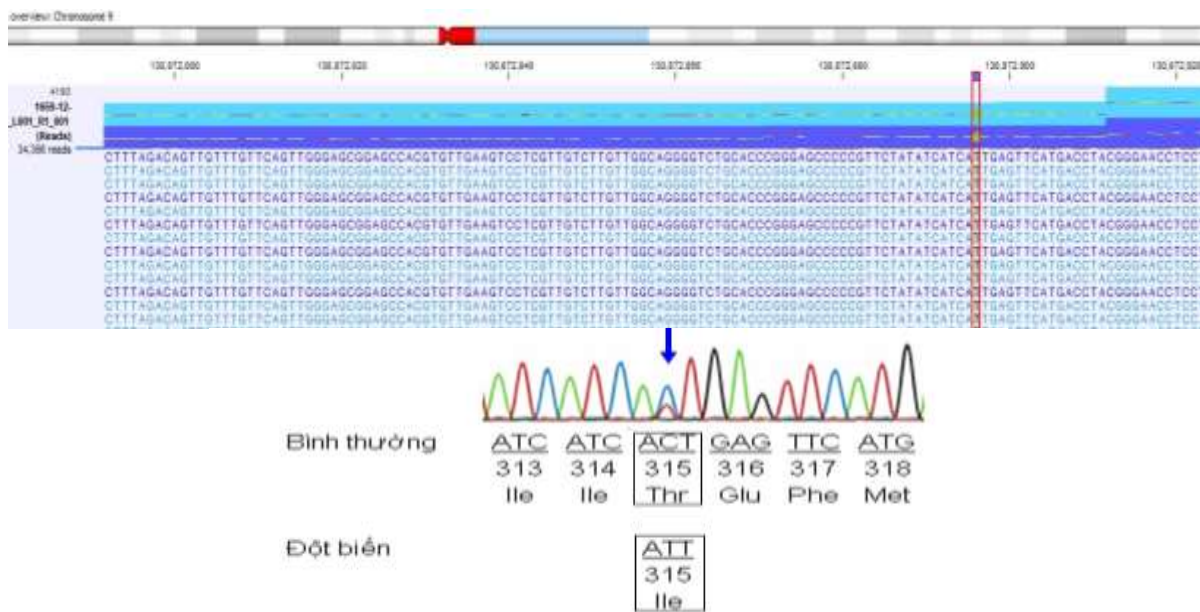
Bảng 1. Danh sách các gen được xác định đột biến bằng NGS.

Hotspot-Gene (23)									
ABL 1	BRAF	CBL	CSF3R	DNMT 3A	FLT3	GAT A2	HRA S	IDH1	IDH 2
JAK2	KIT	KRAS	MPL	MYD8 8	NPM1	NRAS	PTPN 11	SETB P1	SF3 B1
SRSF 2	U2AF 1	WT1							
Full Gene (17)									
ASX L1	BCOR	CALR	CEBPA	ETV6	EZH2	IKZF1	NF1	PHF6	PRP F8
RB1	RUN X1	SH2B 3	STAG2	TET2	TP53	ZRSR 2			
Fusion-diver Gene (29)									
ABL 1	ALK	BCL2	BRAF	CCND 1	CREB BP	EGFR	ETV6	FGF R1	FG FR2
FUS	HMG A2	JAK2	KMT2A (MLL)	MECO M	MET	MLLT 10	MLLT 3	MYB L1	MY H11
NTR K3	NUP2 14	PDGF RA	PDGFRB	RARA	RBM1 5	RUN X1	TCF3	TFE3	
Expressions gene (5)					Expressions controll gene (5)				
BAA LC	MEC OM	MYC	SMC1A	WT1	EIF2B 1	FBX W2	PSMB 2	PUM 1	TRI M2 7

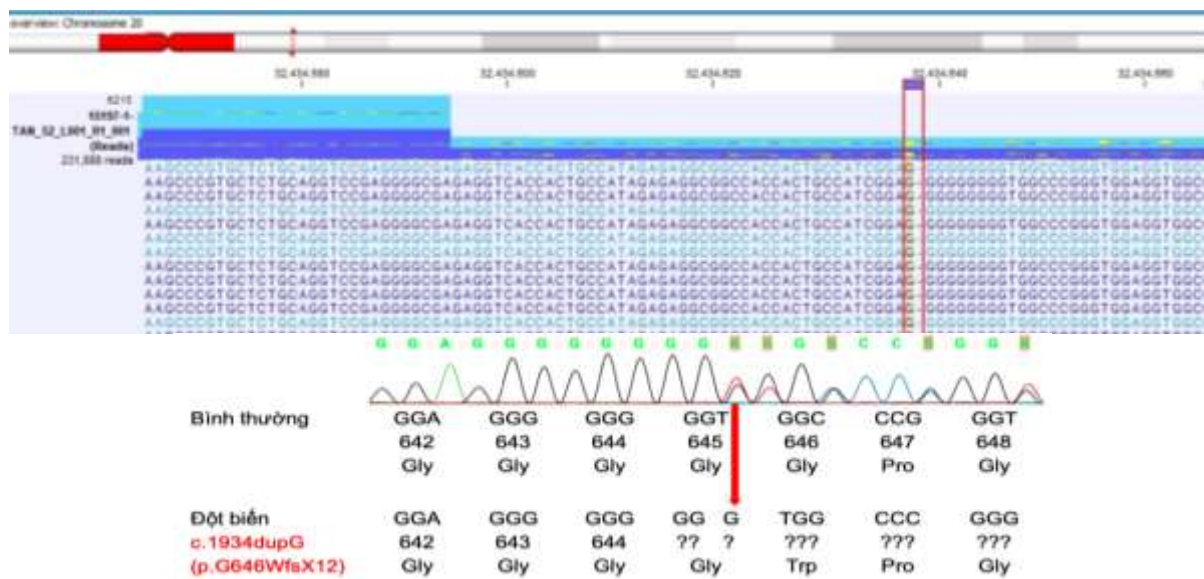
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 6 năm 2020 đến tháng 8 năm 2020 có 14 người bệnh là bệnh mới được chẩn đoán TSTST hoặc BCCDT hoặc HCLST, thoả điều kiện của nghiên cứu, trong đó có 03 TSTST, 06 người bệnh BCCDT và 05 người bệnh HCLST. Thu thập các mẫu tủy tại các thời điểm chẩn đoán, chúng tôi ly trích RNA, DNA của các người bệnh và thực hiện xét nghiệm giải trình tự NGS trên hệ thống Miseq. Tất cả các mẫu từ

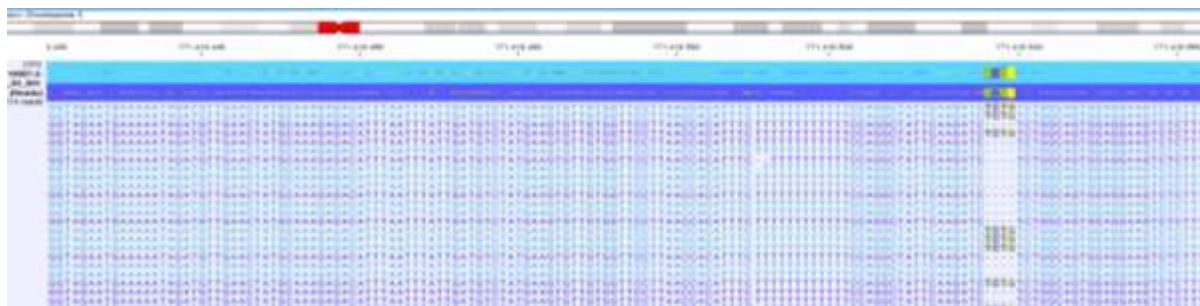
14 người bệnh đều được thực hiện thành công giải trình tự NGS với các thông số như độ phủ thấp nhất là 500 và cao nhất lên tới 3376, bao phủ toàn bộ các vùng gen quan tâm. Các biến thể có độ sâu bao phủ trên 100x và tần suất alen trên 5% được xác nhận bằng giải trình tự Sanger (hình 1), sau đó được phân loại là có khả năng gây bệnh hoặc có ý nghĩa lâm sàng hay không dựa trên các cơ sở dữ liệu uy tín đã được công bố.

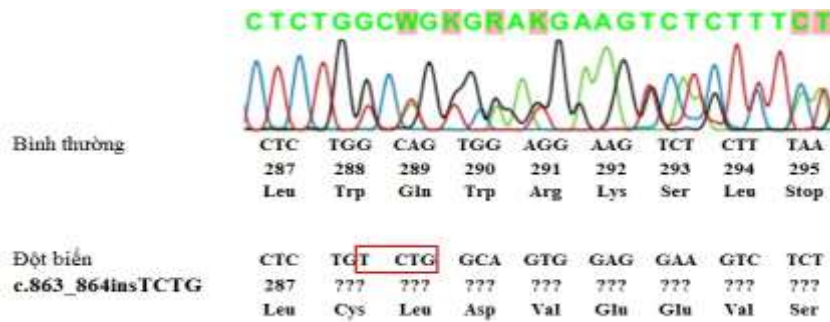


A. Đột biến T315I gen ABL1



B. Đột biến c.1934dupG, gen ASXL1





C. Đột biến c.863_864insTCTG, gen NPM1

Hình 1. Đột biến gen xác định bằng NGS và Sanger

Có ít nhất 02 hoặc nhiều biến thể gây bệnh được xác định trên mỗi người bệnh. Danh sách các biến thể được trình bày tại bảng 02. Tổng cộng có 30 biến thể gây bệnh mới hoặc có khả năng gây bệnh đã được mô tả. Ở BCCDT, các biến thể gây bệnh mới và

có khả năng gây bệnh đã được xác định trong các gen ASXL1, DNMT3A, CSF3R. Trong HCLST, các biến thể gây bệnh mới và có khả năng gây bệnh đã được xác định trong các gen ASXL1, STAG2, RUNX1 và TET2 (Bảng 2).

Bảng 2: Kết quả xác định bất thường di truyền trên người bệnh huyết học ác tính dòng tủy

Mã NB	Thể bệnh	Kết quả NGS	
		Đột biến gen	Tổ hợp gen
MPN-01	Bạch cầu mạn dòng tủy, tiến triển	ABL1: c.944C>T/ p.T315I, (39,7 %). ASXL1: c.1934dupG/ p.Gly646fs, c.2026G>T/p.Glu676*, (39,2 %).	BCR/ABL1, (99,8%)
MPN-02	Xơ tủy nguyên phát	JAK2: c.1849G>T/p.Val617Phe (V617F), (87,8%); TET2: c.2839C>T/p.Gln947* (30,6%)	Không phát hiện
MPN-03	Xơ tủy nguyên phát	JAK2: c.1849G>T/p.Val617Phe (V617F), (80,8%); TET2: c.1887_1888insTC/p.Lys630SerfsTer10, (7,7%).	Không phát hiện
AML-01	BCCDT	ASXL1: c.1249C>T/p.Arg417Ter, (37,7 %); NRAS: c.35G>A/p.Gly12Asp, (5,7 %); KRAS: c.436G>C/p.Ala146Pro, (23,5 %).	AML1-ETO, (97,7 %)
AML-02	BCCDT	CEBPA: c.68dupC/p.His24fs (Mono allelic), (44,65 %); NPM1: c.860_863dupTCTG/p.Trp288fs (Type A), (43%)	Không phát hiện
AML-03	BCCDT	CSF3R: c.2427dupC/p.Ser810GlnfsTer6, (29,49 %)	AML1-ETO, (98,5 %)

			(%)
AML-04	BCCDT	CEBPA: c.584_589dupACCCGC/p.Pro196_Pro197insHisPro, (45,3%)	CBFB-MYH11, (99%)
AML-05	BCCDT	DNMT3A: c.2185C>T/p.Arg729Trp, (46,1%); NPM1: c.860_863dupTCTG/p.Trp288fs (Type A), (45,9%)	Không phát hiện
AML-06	BCCDT	FLT3: c.2503G>T/p.Asp816Tyr (D835Y), (38,7%); WT1: c.1141_1144dup/p.A382VfsTer4, (39,7%).	KMT2A-ELL, (90%)
MDS-01	HCLST	ASXL1: c.3068delT/p.Val1023GlyfsTer24, (5,1%); SH2B3: c.1573_1580delATCTTCCA/p.Ile525ProfsTer18, (9,2%).	Không phát hiện
MDS-02	HCLST	SETBP1: c.2676delC/p.Ser893Leufs68, (8%); RUNX1: c.1070delA/p.Asn357Thrfs146, (31,4%).	Không phát hiện
MDS-03	HCLST	ASXL1: c.1934dupG/ p.Gly646fsTer12, (36,3%); RUNX1: c.327T>A/p.Asn109Lys, (38,2%); STAG2: c.2857C>T/p.Arg953*, (36,2%).	Không phát hiện
MDS-04	HCLST	ASXL1: c.1900_1922del/p.Glu635ArgfsTer15, (7,7%); c.1905_1906insA/p.Ala636SerfsTer22, (25,3%); c.1898_1900delinsGAG/p.His633_Arg634delinsArgGly, (25,1%); TET2: c.3967G>T/p.Glu1323*, (27,2%).	Không phát hiện
MDS-05	HCLST	NRAS: c.182_183delinsGG/p.Gln61Arg, (30,7%); RUNX1: c.1186_1187insA/p.Arg396GlnfsTer177, (38,8%); c.1183G>T/p.Glu358*, (38,8%); c.1162C>T/p.Gln403*, (38,1%).	Không phát hiện

Ngoài các biến thể gây bệnh trên, chúng tôi cũng ghi nhận các gen tổ hợp được phát hiện dựa trên giải trình tự RNA như tổ hợp gen BCR-ABL1 gặp trong người bệnh bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn tiến triển, các tổ hợp gen thường gặp trong BCCDT: AML1-ETO (2 người bệnh), CBFB-MYH11 (01 người bệnh) và KMT2A-ELL (01 người bệnh) (bảng 2). Ngoài trừ KMT2A-ELL xác định gián tiếp có tái sắp xếp nhiễm sắc thể 11q23, tất cả những gen tổ hợp còn lại đều được khẳng định lại bằng kỹ thuật FISH và RT-PCR.

IV. BÀN LUẬN

Các biến đổi di truyền và điều hoà ngoại gen đóng một vai trò quan trọng trong sinh bệnh bạch cầu [3]. Nhiều kỹ thuật đã được sử dụng để xác định các biến thể di truyền trong các bệnh lý huyết học ác tính, bao gồm Karyotype, FISH, real time-PCR, giải trình tự Sanger, NGS... Những tiến bộ trong công nghệ giải trình tự NGS giúp việc xác định các biến thể gen trở nên nhanh hơn và ít tốn kém hơn đáng kể, đặc biệt là có ý nghĩa thực tế hơn trong thực hành lâm sàng. Do đó, việc thiết kế hoặc chọn panel NGS là rất quan

trọng, phải ưu tiên chọn bao gồm tất cả các gen có giá trị chẩn đoán, tiên lượng và/ hoặc dự đoán cho bệnh lý quan tâm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng panel Ampliseq for Illumina Myeloid và hoá chất chuẩn bị thư viện AmpliSeq Library PLUS for Illumina để khảo sát các bất thường gen trong các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy. Các mẫu của người bệnh được thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán phân tử song song để so sánh, đối chiếu, giúp đưa ra cái nhìn tổng quan về các biến thể trong các thể bệnh rối loạn dòng tủy. Kết quả từ bảng 2 cho thấy, nghiên cứu có thể xác định được các biến thể ở tỷ lệ phần trăm rất thấp (gen ASXL1: c.3068delT/p.Val1023GlyfsTer24 với tần suất 5,1%, ở độ coverage 3249), với các biến thể được nhận diện trên nhiều cluster khác nhau, có độ tin cậy cao.

Trong nhóm bệnh TSTST, các biến thể được xác định phổ biến nhất là c.1849G>T/p.Val617Phe xảy ra trên gen JAK2. Đây là đột biến hiện diện trong khoảng 97% bệnh nhân đa hồng cầu và 50% - 60% bệnh nhân tăng tiểu cầu hoặc xơ tủy nguyên phát [6]. Bất thường tiếp theo được xác định trong nhóm này là tổ hợp gen BCR-ABL1, được tìm thấy trong bệnh nhân bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn tiến triển và đột biến kháng thuốc c.944C>T/ p.T315I, xảy ra trên gen ABL1. Các kết quả này tương tự như các kết quả được thực hiện bằng các phương pháp khác như FISH hay giải trình tự Sanger. Hơn nữa NGS dựa trên panel Ampliseq for Illumina Myeloid có thể phát hiện đồng thời đột biến gen và cả các tổ hợp gen nếu có. Điều này chứng tỏ lợi thế của NGS trong việc phát hiện đồng thời các bất thường gen.

Trong các biến thể trên những người bệnh BCCDT và HCLST chúng tôi ghi nhận

có các đột biến mất đoạn, thêm đoạn hoặc đột biến phức tạp được xác định (bảng 2) như các gen ASXL1 (c.1900_1922del/p.Glu635ArgfsTer15, c.1934dupG/ p.Gly646fsTer12, c.1898_1900delinsGAG/ p.His633_Arg634delinsArgGly), RUNX1 (c.1186_1187insA/ p.Arg396GlnfsTer177), WT1 (c.1141_1144dup/ p.A382VfsTer4), đặc biệt trên gen CEBPA với trình tự giàu GC. Đã có báo cáo cho rằng, giải trình tự NGS với các panel dựa trên amplicon có thể gặp phải những hạn chế khó hoặc không khuếch đại được những đoạn gen mang trình tự giàu GC [1]. Trong nghiên cứu này, panel được sử dụng đã được chứng minh có khả năng khuếch đại gen CEBPA giàu GC với độ phủ cao [4]. Ngoài ra, các tổ hợp gen được phát hiện bởi kỹ thuật NGS trong nghiên cứu này cũng phù hợp với các kết quả của các kỹ thuật khác như Karyotype, FISH hay RT-PCR. Hơn nữa, NGS còn giúp phát hiện tổ hợp gen KMT2A-ELL, được hình thành từ chuyển vị giữa 2 nhiễm sắc thể 11 và 19 mà các kỹ thuật khác không phát hiện được do chúng tôi chưa trang bị được các môi và/ hoặc probe của tổ hợp gen mục tiêu này. Điều này cho thấy độ tin cậy cao của kỹ thuật và có thể tích hợp xác định các biến thể cũng như các tổ hợp gen trên nhóm người bệnh huyết học ác tính dòng tủy.

Một trong những thách thức của panel NGS dòng tủy là việc phát hiện các đột biến thêm đoạn của gen FLT3, hay còn gọi là FLT3-ITD. Việc phát hiện và gọi đúng các đoạn lặp trên FLT3 là rất quan trọng trong BCCDT, vì chúng liên quan đến tiên lượng và các phác đồ điều trị. Trong báo cáo này, chúng tôi không ghi nhận đột biến FLT3-ITD trên bệnh nhân nào bằng kỹ thuật NGS, tuy nhiên kết quả giải trình tự Sanger phát hiện

1/6 trường hợp BCCDT có đột biến FLT3-ITD, thêm đoạn 102bp (c.1842_1843ins102bp). Điều này phù hợp với báo cáo của các nghiên cứu đã chứng minh NGS khó hoặc không thể phát hiện FLT3-ITD dài vì các nền tảng NGS hiện tại sử dụng trình tự đọc ngắn (độ dài 50-300bp), làm cho dễ bị mất các biến thể có cấu trúc thêm đoạn hoặc mất đoạn dài [2]. Do đó, chúng tôi kiến nghị cần làm thêm xét nghiệm giải trình tự Sanger cho phát hiện các đột biến thêm đoạn như FLT3-ITD hoặc mất đoạn trên gen CALR. Các nghiên cứu trước đây cho thấy việc xác định tình trạng đột biến gen CEBPA cũng quan trọng đối với bệnh nhân BCCDT, vì người bệnh mang đột biến CEBPA xảy ra trên 2 alen có tiên lượng tốt. Các đột biến gen này thường xảy ra ở 2 vùng đầu C và N của gen, do vậy đây cũng là một thách thức, vì khả năng đọc ngắn nên kỹ thuật NGS không thể phát hiện được tình trạng bialen của gen.

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã xác định được các bất thường di truyền trên người bệnh huyết học ác tính dòng tủy với nhiều kiểu bất thường trên nhiều gen khác nhau (bảng 02). Nghiên cứu đã ứng dụng thành công kỹ thuật giải trình tự NGS để khảo sát các bất thường di truyền trong các bệnh lý huyết học ác tính dòng tủy, giúp bác sĩ lâm sàng phân nhóm tiên lượng và lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Aguilera-Diaz A, Vazquez I, Ariceta B.** Assessment of the clinical utility of four NGS panels in myeloid malignancies. Suggestions for NGS panel choice or design. *PLoS One*. 2020 Jan 24;15(1):e0227986.
2. **Bacher U, Shumilov E, Flach J, Porret N, Joncourt R, Wiedemann G, et al.** Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use. *Blood Cancer J*. 2018; 8: 113.
3. **De Braekeleer, E., Douet-Guilbert, N., & De Braekeleer, M.**; Genetic diagnosis in malignant hemopathies: from cytogenetics to next-generation sequencing, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2014, 14:2, 127-129
4. <https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-myeloid-panel.html#productLongDescription>.
5. **Kuo, F.C., Steensma, D.P., Dal Cin, P.;** Conventional cytogenetics for myeloid neoplasms in the era of next generation sequencing. *AmJHematol*. 2017;92:227229.
6. **Langabeer SE, Andrikovics H, Asp J, et al.** Molecular diagnostics of myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol*. 2015;95(4):270-279.
7. **Palumbo, G.A. et al.;** The Role of New Technologies in Myeloproliferative Neoplasms. *Front Oncol*. 2019 Apr 26;9:321.
8. **Patnaik MM, Tefferi A.** Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood Cancer J*. 2016; 6: 1-8.
9. **Serrati S, De Summa S, Pilato B, Petriella D, Lacalamita R, Tommasi S, et al.** Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis. *Onco Targets Ther*. 2016; 9: 7355-7365.
10. **Visconte V., O Nakashima, M., Rogers, H.;** Mutations in Splicing Factor Genes in Myeloid Malignancies: Significance and Impact on Clinical Features. *Cancers (Basel)*. 2019 Nov 22;11(12). pii: E1844.