

PHÁT HIỆN CÁC BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN TRÊN BỆNH NHÂN U NGUYÊN BÀO THẦN KINH BẰNG KỸ THUẬT LAI HỆ GEN SO SÁNH

Nguyễn Thanh Tâm, Nguyễn Thị Phương Mai*, Nguyễn Thị Mai Hương, Nguyễn Thùy Trang, Nguyễn Xuân Huy, An Thùy Lan, Ngô Diễm Ngọc, Trần Thị Liên Nhi, Nguyễn Hoài Anh, Lê Đình Công, Lê Thị Kim Ngọc, Hoàng Ngọc Thạch, Phó Hồng Điệp, Nguyễn Thọ Anh, Vũ Mạnh Hoàn, Bùi Ngọc Lan, Cao Việt Tùng, Trần Minh Điển
Bệnh viện Nhi Trung ương

TÓM TẮT

U nguyên bào thần kinh là một trong số các u đặc ác tính thường gặp ở trẻ em, chiếm khoảng 8% các bệnh lý ung thư ở trẻ em, đứng thứ 4 sau bạch cầu cấp, u não và u lympho.

Đối tượng nghiên cứu: 2 bệnh nhân được phát hiện u trung thất và chẩn đoán u nguyên bào thần kinh, không có khuếch đại MYCN đang được điều trị tại Trung tâm Ung thư Nhi, Bệnh viện Nhi Trung ương. Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng kỹ thuật lai hệ gen so sánh aCGH có độ phân giải 60K.

Kết quả: Hai bệnh nhân có phát hiện các biến đổi di truyền thể SCA và SCA kết hợp NCA.

Kết luận: Áp dụng kỹ thuật aCGH có độ phân giải từ 60K có thể phát hiện được các biến đổi di truyền trên các bệnh nhân u nguyên bào thần kinh. Đây là cơ sở cho tiên lượng và điều trị u nguyên bào thần kinh đạt hiệu quả hơn trong tương lai.

Từ khóa: U nguyên bào thần kinh, kỹ thuật lai hệ gen so sánh, NCA, SCA.

DETECT CHROMOSOMAL ALTERATIONS IN PATIENTS WITH NEUROBLASTOMA USING ARRAY COMPARATIVE GENOMICS HYBRIDIZATION TECHNIQUE

Nguyen Thanh Tam, Nguyen Thi Phuong Mai*, Nguyen Thi Mai Huong, Nguyen Thuy Trang, Nguyen Xuan Huy, An Thuy Lan, Ngo Diem Ngoc, Tran Thi Lien Nhi, Nguyen Hoai Anh, Le Dinh Cong, Le Thi Kim Ngoc, Hoang Ngoc Thach, Pho Hong Diep, Nguyen Tho Anh, Vu Manh Hoan, Bui Ngoc Lan, Cao Viet Tung, Tran Minh Dien
Vietnam National Children's Hospital

Neuroblastoma is one of the most common malignancies in children, accounting for about 8% of childhood cancers, ranking 4th after acute leukemia, brain tumors and lymphomas.

Samples: 2 patients with mediastinal tumor detected and diagnosed with neuroblastoma, without MYCN amplification being treated at Center of Children's Cancer, National Children's Hospital.

Methods: We used aCGH comparative genomic hybridization technique with 60K resolution.

Results: Two patients had detected genetic mutations of SCA and SCA combined with NCA.

Nhận bài: 12-3-2025; Phản biện: 15-3-2025; Chấp nhận: 22-4-2025

Người chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Phương Mai

Email: nguyenphuongmai@nch.gov.vn

Địa chỉ: Bệnh viện Nhi Trung ương

Conclusion: Applying aCGH technique with resolution from 60K can detect genetic changes in neuroblastoma patients. This is the basis for more effective prognosis and treatment of neuroblastoma in the future.

Keywords: Neuroblastoma, aCGH, NCA, SCA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U nguyên bào thần kinh (UNBTK) là các u của hệ thần kinh giao cảm có nguồn gốc từ các tế bào thần kinh nguyên thủy tại mào thần kinh. Đây là một trong các u đặc ác tính thường gặp ở trẻ em, chiếm khoảng 8% các bệnh ung thư nhi và 90% các trường hợp được chẩn đoán trong 5 năm đầu đời [1].

UNBTK có biểu hiện đa dạng về biến đổi sinh học từ thoái triển tự phát, biệt hóa trưởng thành đến tiến triển ác tính mạnh. Do đó, việc phân tầng nguy cơ cho điều trị đóng vai trò quan trọng. Phân nhóm nguy cơ UNBTK dựa vào giai đoạn bệnh, tuổi khởi phát, mô bệnh học và các biến đổi di truyền. Sự khuếch đại của gen *MYCN* là một trong những dấu ấn di truyền đầu tiên được xác định, có thể phát hiện bằng kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH). Các bất thường nhiễm sắc thể (NST) khác trên mẫu UNBTK được chia thành hai nhóm chính: Bất thường số lượng nhiễm sắc thể (NCA) và bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể (SCA). Trong đó, các khối u chỉ có biến đổi NCA thường gặp ở bệnh nhân nhỏ tuổi, giai đoạn sớm, u thường khu trú và có tiên lượng thuận lợi. Ngược lại, các biến đổi SCA như mất đoạn, lặp đoạn, khuếch đại gen lại là dấu ấn tiên lượng xấu [2].

Các kỹ thuật di truyền tế bào và di truyền phân tử đã được ứng dụng để phát hiện các bất thường NCA/SCA trên mẫu UNBTK như kỹ thuật lập công thức nhiễm sắc thể, kỹ thuật MLPA,... Tuy nhiên các kỹ thuật này khó thực hiện và chỉ phát hiện được một số bất thường đặc hiệu.

Hiện nay, kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen (aCGH) đã được ứng dụng để phát hiện các bất thường trong toàn bộ hệ nhiễm sắc thể như vi mất đoạn, vi lặp đoạn có kích thước $\geq 5\text{Mb}$. Việc xác định các biến đổi di truyền kết hợp cùng các yếu tố tiên lượng khác đóng vai trò quan trọng giúp các bác sĩ lâm sàng lựa chọn phác đồ điều trị hiệu quả hơn cho bệnh nhân.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kỹ thuật lai hệ gen so sánh (aCGH) để phát hiện các biến đổi di truyền trên các bệnh nhân UNBTK không có khuếch đại gen *MYCN*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên 2 bệnh nhân được chẩn đoán u nguyên bào thần kinh đang được điều trị tại Trung tâm Ung thư Nhi, Bệnh viện Nhi Trung ương. Hai bệnh nhân có xét nghiệm FISH chẩn đoán không khuếch đại gen *MYCN*. Các bệnh nhân được sinh thiết kim khối u để phát hiện các biến đổi di truyền.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

DNA tổng số được tách chiết từ máu ngoại vi bằng cột lọc chuyên dụng sử dụng kit tách chiết DNA QiaAmp DNA blood mini kit (Qiagen-Đức). Kỹ thuật CGH array được thực hiện trên bộ kit thương mại GenetiSure Cyto 8x60k CGH (Agilent) với 60.000 đầu dò, độ phủ >3644 gen. Kỹ thuật này được thực hiện tại Khoa Di truyền và Sinh học phân tử, Bệnh viện Nhi Trung ương. Quy trình kỹ thuật lai hệ gen so sánh được thực hiện theo sơ đồ sau (Hình 1).

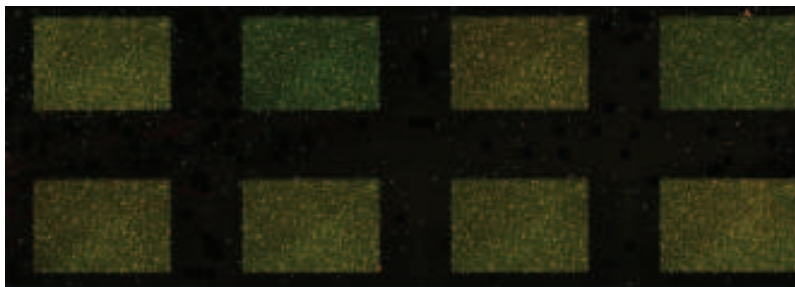


Hình 1. Quy trình thực hiện kỹ thuật aCGH

Các dữ liệu thô sẽ được thu thập và phân tích bởi phần mềm Agilent Feature Extraction và Agilent CytoGenomic.

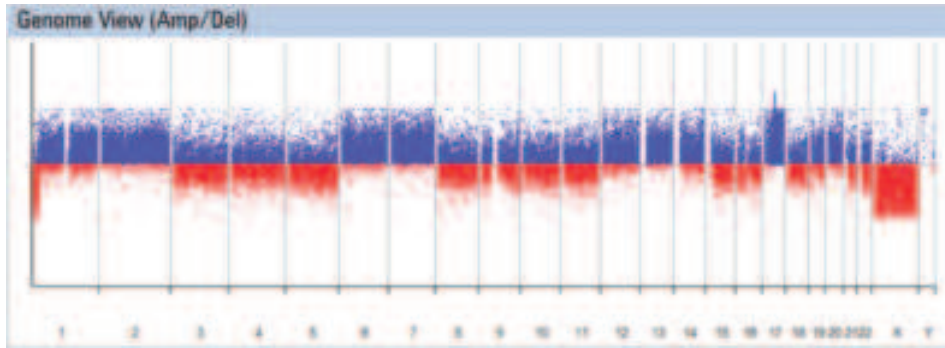
III. KẾT QUẢ

Các dữ liệu sau khi chạy máy sẽ được xử lý và phân tích bằng phần mềm chuyên dụng. Kết quả cho thấy chất lượng của các mẫu xét nghiệm đạt tiêu chuẩn để phân tích (Hình 2).



Hình 2. Hình ảnh dữ liệu các mẫu CGH array phân tích bằng phần mềm Agilent Feature Extraction

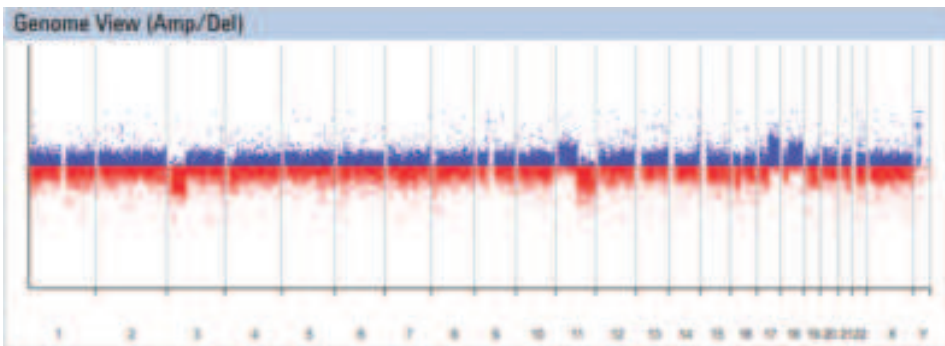
Bệnh nhân thứ nhất là bệnh nhân nam 1 tuổi, phát hiện khối u sau phúc mạc và được chẩn đoán u nguyên bào thần kinh kém biệt hóa, giai đoạn MS. Kết quả phát hiện bệnh nhân có bất thường dạng gần tam bội với thêm các nhiễm sắc thể số 1, 2, 6, 7, 12, 13, 14, 17 và mất đoạn trên NST số 1p36.33-35.3 (kích thước 27,7Mb; 743 probe).



Hình 3. Các biến đổi di truyền về số lượng NST trên mẫu u của bệnh nhân số 1

Bệnh nhân thứ hai là bệnh nhân nữ 5 tuổi, phát hiện có khối u vùng tuyến thượng thận và được chẩn đoán u NBTK thể nốt, kém biệt hóa. Bệnh nhân được sinh thiết kim để xác định các biến đổi di truyền. Kết quả phát hiện các biến đổi trên khối u bao gồm:

- Mất đoạn: 3p26.3-p14.1 (67Mb; 1438 probe); 11q13.4-25.3 (63,5Mb; 1293 probe);
- Thêm đoạn: 11p15.5-p11.2 (50,6Mb; 1029 probe); 17q21.2-q25.3 (40,7Mb; 1020 probe); 18q12.1-q23 (51,8Mb; 925 probe)



Hình 4. Các biến đổi di truyền trên các đoạn NST trên mẫu u của bệnh nhân số 2

IV. BÀN LUẬN

Bệnh nhân thứ nhất là trẻ trai 1 tuổi, được chẩn đoán UNBTK, giai đoạn MS. Kết quả aCGH cho thấy bệnh nhân được kết luận là có biến đổi di truyền dạng NCA và có thêm 1 bất thường dạng SCA (mất đoạn 1p), vì vậy có thể đáp ứng thuốc điều trị của bệnh nhân sẽ kém hơn. Bệnh nhân hiện đang điều trị hóa chất định kỳ và theo dõi đáp ứng thuốc trong quá trình điều trị. Bệnh nhân thứ hai là trẻ gái 5 tuổi, được chẩn đoán UNBTK giai đoạn IV, có di căn xương, tủy xương, đang được điều trị hóa trị liều cao và đã được ghép tế bào gốc. Chụp CT ổ bụng thấy sau phúc mạc có khối u lớn 86x81x124mm, bao quanh các mạch máu lớn vùng sau phúc mạc như động mạch chủ bụng, động mạch thân tạng, cuống thận hai bên. Vì vậy, khối u rất khó cắt bỏ hoàn

toàn. Bệnh nhân được sinh thiết kim khối u làm xét nghiệm aCGH và phát hiện các biến đổi di truyền ở dạng SCA. Đây là các biến đổi di truyền liên quan đến tiên lượng xấu.

Trong chẩn đoán và điều trị UNBTK, các biến đổi di truyền có liên quan chặt chẽ đến kết quả điều trị lâm sàng. Đối với nhóm không có khuếch đại gen *MYCN*, các yếu tố về tuổi khởi phát, giai đoạn bệnh và mô bệnh học có thể chưa đủ để phân nhóm nguy cơ UNBTK một cách toàn diện và chính xác. Việc xác định các bất thường di truyền khác ngoài *MYCN* có ảnh hưởng đến tiên lượng bệnh sẽ giúp phân tầng nguy cơ điều trị tốt hơn. Sự hiện diện của các bất thường dạng SCA hoặc SCA kết hợp với NCA đều cho kết quả điều trị có tiên lượng xấu, và sự tiến triển của khối u thường liên quan đến các bất thường SCA do

các bất thường này có liên quan đến con đường bảo tồn hoặc sửa chữa DNA [3]. Các bất thường SCA thường liên quan đến các vùng 1p, 1q, 2p, 3p, 4p, 11q và 17q, các dạng đứt gãy trên các NST khác hiếm gặp hơn [4].

Kỹ thuật aCGH bao gồm 60,000 probe được phủ đều trên toàn bộ các nhiễm sắc thể, bao phủ khoảng 3644 gen đã được làm rõ các chức năng và ý nghĩa trên các dữ liệu di truyền thế giới, các vùng nối nhiễm sắc thể. Vì vậy, sử dụng kỹ thuật aCGH có thể phát hiện được các thay đổi mất, thêm, lặp trên nhiễm sắc thể có kích thước từ 5Mb trở lên. Nhờ khả năng phát hiện các biến đổi số lượng bản sao trên toàn bộ hệ gen, kỹ thuật aCGH đóng vai trò quan trọng trong việc phân tích đặc điểm di truyền trên mẫu UNBTK, đặc biệt ở các trường hợp không có khuếch đại gen *MYCN*.

V. KẾT LUẬN

Kỹ thuật lai hệ gen so sánh CGH array có độ phân giải từ 60K trở lên là phương pháp hiệu quả, có độ đặc hiệu cao, có thể phát hiện các biến đổi di truyền trên các mẫu u đặc hoặc trên các mẫu u sinh thiết kim. Lần đầu tiên tại Bệnh

viện Nhi trung ương đã áp dụng thành công kỹ thuật aCGH trong chẩn đoán di truyền trên các bệnh nhân u đặc. Việc phát hiện các biến đổi di truyền này sẽ góp phần giúp các bác sĩ lâm sàng tiên lượng và điều trị hiệu quả cho các bệnh nhân u nguyên bào thần kinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Colon NC, Chung DH.** Neuroblastoma. *Adv Pediatr* 2011;58(1):297-311. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2011.03.011>
2. **Ambros IM, Brunner B, Aigner G et al.** A Multilocus Technique for Risk Evaluation of Patients with Neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2011;17(4):792-804. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-10-0830>
3. **Attiyeh EF, London WB, Mossé YP et al.** Chromosome 1p and 11q-dels and outcome in NB. *N Engl J Med.* 2005; 353:2243-53. <https://doi.org/10.1056/nejmoa052399>
4. **Barr EK, Applebaum MA.** Genetic Predisposition to Neuroblastoma. *Children (Basel)* 2018;5(9):119. <https://doi.org/10.3390/children5090119>