

## A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. Đặt vấn đề

Lơ xê mi kinh dòng hạt (LXMKDH) là một bệnh lý ác tính hệ tạo máu với đặc điểm chính là tăng sinh dòng bạch cầu hạt có biệt hóa. Nhiễm sắc thể Ph1 là kết quả của chuyển đoạn giữa NST số 9 và 22, NST này có mặt trên 95% bệnh nhân. Chuyển đoạn này tạo nên tổ hợp gen BCR-ABL, mã hoá tổng hợp protein bcr-abl, có hoạt tính tyrosin kinase nội sinh mạnh, dẫn tới hậu quả bất thường về phân bào, quá trình chết theo chương trình và gây tăng sinh tế bào.

LXMKDH thường diễn biến qua ba giai đoạn là giai đoạn mạn tính, tăng tốc và chuyên cấp. Bệnh thường tiến triển kéo dài nhưng cuối cùng bao giờ cũng tiến triển thành lơ xê mi (LXM) cấp. Các biểu hiện lâm sàng giai đoạn này thường nặng hơn trước với các đặc điểm thiếu máu tăng, xuất huyết, nhiễm trùng, gan lách hạch to. Xét nghiệm tế bào máu thấy xuất hiện nhiều tế bào non, tiểu cầu giảm, hồng cầu giảm... Ngoài nhiễm sắc thể Ph1, trong giai đoạn chuyên cấp bệnh nhân có thể xuất hiện thêm nhiều bất thường NST khác. Khi chuyển sang giai đoạn cấp các bệnh nhân phải sử dụng đa hoá trị liệu kết hợp hồi sức huyết học tích cực. Điều trị bệnh giai đoạn này rất phức tạp và khó đạt được lui bệnh. Thời gian từ khi chẩn đoán giai đoạn mạn đến khi chuyển LXM cấp thường từ 3-5 năm, trung bình là 42 tháng. Khi bệnh chuyên cấp, bệnh nhân thường sống thêm một khoảng thời gian rất ngắn trung bình khoảng 2 tháng đối với dòng tủy và 6 tháng đối với dòng lympho.

Việc chẩn đoán sớm giai đoạn chuyên cấp, điều trị kịp thời là rất cần thiết để tái lập lại lui bệnh hoàn toàn, nhằm kéo dài và cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: *“Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm, xếp loại và điều trị lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt”* với hai mục tiêu sau:

1. *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và phân loại bệnh lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt theo F.A.B.*
2. *Đánh giá kết quả và một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị tấn công lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt.*

### 2. Tính cấp thiết của đề tài:

LXMKDH là bệnh máu ác tính khá phổ biến ở các cơ sở điều trị bệnh máu tại Việt Nam. Bệnh tiến triển mạn tính nhưng cuối cùng đều dẫn tới LXM cấp. Hiện nay đã có nhiều tiến bộ trong điều trị bệnh ở giai đoạn mạn tính nhưng khi bệnh đã chuyển cấp thì điều trị hết sức khó khăn. Do đó, nghiên cứu để phát hiện sớm LXMKDH giai đoạn chuyển cấp và đánh giá điều trị rất cần thiết cho các bác sỹ lâm sàng. Nhằm kéo dài thời gian và cải thiện chất lượng sống cho bệnh nhân LXMKDH.

### 3. Những đóng góp mới của luận án:

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam được thực hiện trên cỡ mẫu lớn (215 bệnh nhân), nhằm khảo sát toàn diện về lâm sàng, xét nghiệm, xếp loại thể bệnh và điều trị bệnh nhân LXMKDH giai đoạn chuyên cấp. Công trình này đã phát hiện được những bất thường nhiễm sắc thể thường gặp ở bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH. Đề tài góp phần chẩn đoán sớm, điều trị kịp thời và hiệu quả cho bệnh nhân. Nghiên cứu này cũng đã tìm ra một số yếu tố liên quan đến kết quả điều trị của bệnh.

### 4. Cấu trúc luận án

Luận án có 123 trang, bao gồm: đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 32 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 17 trang, kết quả nghiên cứu 30 trang, bàn luận 39 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận văn có 63 bảng, 2 sơ đồ, 13 biểu đồ, 2 ảnh, 151 tài liệu tham khảo (43 tiếng Việt, 108 tiếng Anh).

## B. NỘI DUNG LUẬN ÁN

### Chương 1. TỔNG QUAN

#### 1.1. Khái quát chung về LXMKDH

LXMKDH được mô tả lần đầu tiên năm 1845 bởi Bennett và Virchow dựa trên những bệnh nhân lách to, thiếu máu và tăng cao bạch cầu trong máu. Năm 1960, Nowel và Hungerfort phát hiện ra sự bất thường của nhiễm sắc thể nhóm G trên các bệnh nhân LXMKDH, đặt tên là Philadelphia (tên thành phố nơi hai ông tìm ra), viết tắt là Ph1. NST Philadelphia là một NST đột biến gặp ở trên 90% bệnh nhân LXMKD, do chuyển đoạn t(9;22)(q34;q11). Gen hỗn hợp bcr-abl được tạo thành do kết quả chuyển đoạn t(9;22)(q34;q11). Gen được tìm thấy trên tất cả BN LXMKDH có NST Ph1 dương tính và âm tính, đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của bệnh.

#### 1.2. Biểu hiện lâm sàng của bệnh LXMKDH

Giai đoạn mạn tính: Bệnh thường bắt đầu từ từ, âm i nên khó xác định thời điểm bắt đầu. Triệu chứng thường mơ hồ và không đặc hiệu. Bệnh thường được phát hiện khi có các triệu chứng thiếu máu, gầy sút cân, lách to, xuất huyết, tắc mạch...

Giai đoạn tăng tốc của LXMKDH: có thể rất nhanh chóng chuyển sang giai đoạn LXM cấp, một số có thể quay trở lại giai đoạn mạn tính. Các biểu hiện như thiếu máu nặng hơn trong giai đoạn mạn tính, lách to không đáp ứng điều trị.

Giai đoạn LXM cấp của LXMKDH: Các triệu chứng lâm sàng đều nặng lên và đặc trưng như lơ xê mi cấp, gồm có: Thiếu máu nặng hơn; Xuất huyết đa hình thái, ở nhiều vị trí; Thường có biểu hiện nhiễm trùng; Hội chứng thâm nhiễm: gan to, lách to hơn, hạch to; Lách to không đáp ứng với điều trị.

#### 1.3. Biểu hiện cận lâm sàng của bệnh LXMKDH

##### 1.3.1. Xét nghiệm tế bào máu ngoại vi và tủy xương:

+ Giai đoạn mạn tính: Xét nghiệm máu ngoại vi rất điển hình và là tiêu chuẩn quan trọng để chẩn đoán. Số lượng HC và nồng độ hemoglobin giảm, thiếu máu bình sắc, thể tích hồng cầu bình thường; SLTC bình thường hoặc tăng; SLBC tăng cao thường trên 100G/l, công thức bạch cầu gặp đủ các lứa tuổi trung gian của dòng bạch cầu hạt, kèm theo có tăng BC ưa axit và bazơ. Tuỷ giàu tế bào: Dòng BC hạt tăng sinh rõ rệt, tỷ lệ dòng BC hạt so với dòng HC tăng cao thường >10:1; Công thức BC hạt trong tuỷ gặp đủ các lứa tuổi trung gian rối loạn hình thái của dòng bạch cầu hạt; Tỷ lệ BC ưa axit và BC ưa bazơ tăng.

+ Giai đoạn tăng tốc của LXMKDH: Máu ngoại vi: SLBC tăng cao hơn, tỷ lệ blast 10-19%; Số lượng HC và nồng độ hemoglobin giảm; SLTC và độ tập trung thường giảm, có thể có tăng rất cao (>1000G/l), không đáp ứng điều trị; Tỷ lệ BC ưa bazơ  $\geq 20\%$ . Tuỷ thường giàu tế bào: Tỷ lệ blast 10-19%; Giảm sinh dòng HC và mẫu TC cầu do sự lấn át của tế bào ác tính.

+ Giai đoạn LXM cấp của LXMKDH: Máu ngoại vi: Số lượng HC và nồng độ hemoglobin giảm; SLTC giảm hoặc tăng cao không đáp ứng với điều trị, độ tập trung TC giảm hoặc tăng; SLBC thường tăng; Công thức BC có tăng tỷ lệ blast (thường tăng  $\geq 20\%$ ), BC ưa bazơ tăng. Tuỷ xương có thể giàu hoặc nghèo tế bào: Tỷ lệ tế bào blast  $\geq 20\%$ ; Giảm sinh dòng HC và mẫu TC.

**1.3.2. Xét nghiệm công thức nhiễm sắc thể:** bệnh phẩm là mẫu tủy hoặc máu ngoại vi với phương pháp nhuộm băng G. Phương pháp lai huỳnh quang tại chỗ (FISH; Fluorescence in situ hybridization): FISH sử dụng các đoạn dò BCR và ABL định vị đặc hiệu trên NST 9 và NST 22 và các đoạn dò này gắn với chất nhuộm huỳnh quang khác nhau.

**1.3.3. Xét nghiệm các bản sao bcr-abl:** Các xét nghiệm sinh học phân tử như RT-PCR, RQ-PCR được dùng để xác định loại bản sao bcr-abl và định lượng số lượng bản sao để giúp theo dõi đáp ứng sinh học phân tử trong quá trình điều trị.

#### 1.4. Chẩn đoán giai đoạn LXMKDH

##### 1.4.1. Giai đoạn mạn tính:

**Máu ngoại vi:** Thiếu máu bình sắc, kích thước HC bình thường, SLBC tăng cao trên 50G/l; Gặp đủ các tuổi dòng BC hạt trong công thức bạch cầu máu ngoại vi, tỷ lệ tế bào blast (hoặc nguyên tuỷ bào và tiền tuỷ bào) dưới 15%, có thể tăng BC đoạn ưa acid và BC đoạn ưa bazơ.

**Tuỷ xương:** Tuỷ rất giàu tế bào, số lượng tế bào tuỷ trên 100G/l, tăng sinh dòng BC đủ các lứa tuổi, tỷ lệ dòng bạch cầu hạt /dòng hồng cầu (tỷ lệ M/E) trên 10/1, tỷ lệ tế bào blast hoặc nguyên tuỷ bào và tiền tuỷ bào dưới 10%.

**1.4.2. Giai đoạn tăng tốc:** Tỷ lệ tế bào blast (hoặc nguyên tuỷ bào và tiền tuỷ bào) trên 10% nhưng dưới 20% ở máu ngoại vi hoặc tuỷ xương.

##### 1.4.3. Giai đoạn chuyển cấp:

**Máu ngoại vi :** Tăng tỷ lệ tế bào blast (hoặc nguyên tuỷ bào và tiền tuỷ bào)  $\geq 20\%$ , giảm số lượng HC và hemoglobin, giảm TC.

**Tuỷ xương:** Giảm sinh dòng HC và dòng mẫu TC do bị lấn át bởi các tế bào non ác tính, tuỷ xương tăng sinh các tế bào non ác tính (tế bào blast), trong đó tỷ lệ tế bào blast (hoặc nguyên tuỷ bào và tiền tuỷ bào)  $\geq 20\%$ .

#### 1.5. Xếp loại Loxêmi cấp:

##### 1.5.1. Xếp loại Loxêmi cấp theo FAB:

Bảng xếp loại Loxêmi cấp của FAB bắt đầu được sử dụng năm 1976, sau đó được điều chỉnh lại năm 1986 và tiếp tục được bổ sung thêm các tiêu chuẩn chẩn đoán dựa trên sự khác biệt về các kháng nguyên màng tế bào non ác tính.

**Bảng xếp loại lơ xê mi cấp theo FAB có bổ sung phương pháp miễn dịch**

Thể	Đặc điểm hình thái, HHTB	Kháng nguyên màng tế bào
M0	Blast $\geq 90\%$ các tế bào có nhân không thuộc dòng hồng cầu, không có thể Auer, $< 3\%$ MPO+	CD34+
M1	Blast $\geq 90\%$ các tế bào có nhân không thuộc dòng hồng cầu, hiếm thể Auer, $> 3\%$ MPO+	HLA-DR, CD13, CD33, CD15, CD11±
M2	Blast $< 90\%$ các tế bào có nhân không thuộc dòng hồng cầu, nhiều thể Auer	HLA-DR, CD13, CD33, CD15, CD11±
M3	Tiền tuỷ bào $\geq 30\%$ Dưới nhóm: M3v	CD33, CD13, CD15, CD11
M4	20-80 % là mô nô chưa trưởng thành; Dưới nhóm: M4eo	HLA-DR, CD34±, CD33, CD15±, CD14, CD64, CD11
M5	$\geq 80\%$ là mô nô chưa trưởng thành	HLA-DR, CD34±, CD33, CD15±, CD14, CD64, CD11
M6	$\geq 50\%$ là các tiền thân hồng cầu. Blast dòng tủy $\geq 30\%$ các tế bào có nhân không thuộc dòng hồng cầu	Glycophorin A
M7	$\geq 30\%$ là các tiền thân dòng mẫu tiểu cầu	HLA-DR, CD61, CD42, CD34±, CD33±
L1	Tế bào kích thước nhỏ đồng đều, nhân đồng nhất	LXM cấp dòng B: CD10, CD19, TdT
L2	Tế bào kích thước to nhỏ không đồng đều	LXM cấp dòng T: CD3, CD5, TdT
L3	Tế bào kích thước lớn, nguyên sinh chất nhiều không bào	

## 1.6. Điều trị LXM cấp chuyển từ LXMKDH

### 1.6.1. Đa hoá trị liệu

Trong giai đoạn LXM cấp, đa hoá trị liệu là phương pháp điều trị chủ yếu giúp đạt được tình trạng lui bệnh. Đa hoá trị liệu được sử dụng đơn độc, hoặc phối hợp thuốc điều trị nhắm đích, hoặc phối hợp với ghép tủy. Quy trình điều trị LXM cấp bao gồm:

**Điều trị tấn công:** Đối với bệnh nhân chuyển cấp dòng tủy sử dụng phác đồ '3+7'. Các thuốc trên thường gây các tác dụng phụ như suy tủy, rụng tóc, rối loạn tiêu hoá, nôn, chán ăn và bệnh cơ tim. Một số phác đồ khác cũng đã được sử dụng như: Tad (thioguanine - araC - daunorubicine), Ead (etoposide - arac- daunorubicine), mitoxatron, cladribine, fludara, etoposide...Củng cố bằng phác đồ ADE, hidac...Tuy nhiên, tỷ lệ LBHT cũng như thời gian sống thêm khác nhau nhiều giữa các phác đồ. Đối với BN chuyển cấp dòng lympho, sử dụng thuốc điều trị tấn công và củng cố bao gồm daunorubicin, prednisolon, vincristin. Nhìn chung, bệnh nhân chuyển cấp dòng lympho thường có tiên lượng tốt hơn so với dòng tủy.

**Điều trị sau lui bệnh hoàn toàn:** Quy trình điều trị tiến hành đều đặn hàng tháng bằng các thuốc hoá chất nhẹ, kéo dài 2-3 năm sau lui bệnh hoàn toàn gọi là điều trị duy trì. Điều trị củng cố hoặc tái tấn công là sử dụng phác đồ đã sử dụng trong điều trị tấn công hoặc phác đồ khác có độ mạnh tương tự để củng cố LBHT, giảm đến mức tối đa nguy cơ tái phát, kéo dài thời gian lui bệnh hoàn toàn. Các thuốc thường được sử dụng là 6-mercaptopurine, thioguanine, etoposide hoặc ara-C.

### 1.6.2. Đa hóa trị liệu kết hợp thuốc nhắm đích phân tử

Sử dụng Imatinib giúp bệnh nhân đạt được lui bệnh về mặt tế bào di truyền nên tỷ lệ LBHT về huyết học rất cao có thể đến trên 96%. Giai đoạn mạn tính, bệnh nhân thường chỉ cần duy trì liều thuốc từ 400 mg/ngày. Tuy nhiên khi bệnh chuyển sang giai đoạn cấp tính, liều imatinib sử dụng có thể tăng lên gấp đôi, đồng thời tác dụng phụ cũng tăng theo, mức độ đề kháng thuốc cũng tăng lên. Tiếp theo một loạt các thuốc ức chế TKI thế hệ hai ra đời như nilotinib, dasatinib,

ponatinib, bosutinib...đã mang lại những hy vọng lớn cho các bệnh nhân LXMKDH giai đoạn chuyển LXMC.

### 1.6.3. Các phương pháp ghép tủy trong LXMKDH

**Ghép tủy đồng loại:** được coi là phương pháp duy nhất có khả năng giúp điều trị khỏi bệnh LXMKDH. Trong đó, người ta sử dụng hoá chất liều cao và hoặc xạ trị nhằm mục đích tiêu diệt tối đa tế bào ác tính. Sau đó bệnh nhân được ghép tủy của người cho phù hợp HLA. Ghép tủy đồng loại trong giai đoạn mạn tính có thể giúp đạt tỷ lệ sống thêm không tái phát trên năm năm đối với 50 – 80% bệnh nhân, dài hơn so với phương pháp hoá trị liệu kinh điển.

**Ghép tủy tự thân** nhằm làm giảm số lượng tế bào ác tính do đó có thể trì hoãn sự chuyển cấp, diệt tủy đầy đủ sẽ giảm đáng kể tế bào ác tính còn sót lại, tự ghép có thể phục hồi sự tạo máu với tế bào Ph1 âm tính sau hóa trị liệu liều cao hoặc interferon –  $\alpha$ .

**Ghép tế bào gốc máu cuống rốn** có thuận lợi như hệ thống miễn dịch chưa trưởng thành nên đòi hỏi về phù hợp HLA ít hơn, nguồn tế bào tương đối có sẵn trong ngân hàng nên rút ngắn thời gian tìm kiếm. Khó khăn của phương pháp này là số lượng tế bào nguồn thấp có thể gây thất bại.

## Chương 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu.

**2.1.1. Đối tượng nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và phân loại lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt:** Gồm 215 từ 16 tuổi trở lên được chẩn đoán xác định LXM cấp chuyển từ LXMKDH theo WHO 2001 và phân loại thể bệnh LXM cấp theo tiêu chuẩn của FAB năm 1986 có bổ sung phương pháp miễn dịch học. Các bệnh nhân được điều trị tại Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương từ tháng 1/2009 đến tháng 12/2014.

**2.1.2. Đối tượng nghiên cứu đánh giá kết quả điều trị:** Gồm 87 bệnh nhân LXM cấp dòng tủy và 29 bệnh nhân LXM cấp dòng lympho.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:** mô tả lâm sàng hồi cứu kết hợp tiến cứu.

### 2.2.2. Các tiêu chuẩn đánh giá:

- **Tiêu chuẩn chẩn đoán xác định LXM cấp chuyển từ LXMKDH theo WHO-2001**

\***Tiêu chuẩn lâm sàng:** Thiếu máu; nhiễm trùng; xuất huyết; hội chứng thâm nhiễm; lách to không đáp ứng với điều trị.

\* **Tiêu chuẩn cận lâm sàng:** Tế bào blast (nguyên tủy bào và tiền tủy bào)  $\geq 20\%$  ở máu và hoặc ở tủy xương.

- **Tiêu chuẩn chẩn đoán LXM cấp dòng tủy:** Tỷ lệ blast  $\geq 20\%$  tế bào có nhân trong tủy xương; Nhuộm hóa tế bào có P.A.S âm tính, MPO, sudan đen dương tính, các CD dòng lympho (CD3, CD7, CD10, CD19, CD20) âm tính.

- **Tiêu chuẩn chẩn đoán LXM cấp dòng lympho:** Tỷ lệ blast  $\geq 20\%$  tế bào tủy xương. Nhuộm hóa tế bào có PAS dương tính, MPO, sudan đen âm tính, các CD dòng tủy (MPO, CD13, CD14, CD33, CD61, Glycophorin A) âm tính.

- **Tiêu chuẩn xếp loại thể bệnh LXM cấp:** theo FAB 1986 có bổ sung phương pháp miễn dịch học.

- **Phác đồ điều trị tấn công lơ xê mi cấp dòng tủy:**

- Bệnh nhân LXM cấp dòng tủy không phải thể M3: sử dụng phác đồ "3+7": Daunorubicin: 45 mg/m<sup>2</sup> da ngày 1-3; Cytosar: 100 mg/m<sup>2</sup> da ngày 1-7.

- Bệnh nhân LXM cấp dòng tủy thể M3: Daunorubicin: 45 mg/m<sup>2</sup> da ngày 1-3; ATRA 45 mg/m<sup>2</sup> da uống hàng ngày.

- **Phác đồ điều trị tấn công LXM cấp dòng lympho:** phác đồ LALA 94 có điều chỉnh: Doxorubicin 30 mg/m<sup>2</sup> da ngày 1,8,15,22;

Vincristin 1,4 mg/m<sup>2</sup> da ngày 1,8,15,22; Prednisolon 40 mg/m<sup>2</sup> da từ ngày 1-15, sau giảm liều và kết thúc vào tuần thứ 5. (nếu SLBC >10G/l, dùng thêm Cyclophosphamid 200 mg/ngày từ ngày 1-14). Điều trị dự phòng thâm nhiễm thần kinh trung ương: Tiêm tủy sống methotrexate vào tuần thứ 2 và 4 của đợt điều trị.

-**Tiêu chuẩn đánh giá kết quả điều trị:** Đánh giá kết quả sau 4 tuần điều trị theo tiêu chuẩn của Viện Ung thư quốc gia Hoa Kỳ.

+ LBHT: bệnh nhân ổn định trên lâm sàng, có SLBC trung tính > 1G/l, Hct >0,31/l, số lượng tiểu cầu >100 G/L, không còn blast ở máu ngoại vi, blast trong tủy xương < 5% trên một nền các dòng tế bào sinh máu phát triển bình thường.

+ LBKHT: blast trong tủy xương từ 5- 25%.

+ KLB: blast ở tủy xương >25%.

### 2.2.3. Các kỹ thuật xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu

– Kỹ thuật xét nghiệm huyết đồ, tủy đồ

– Nhuộm hoá học tế bào: Tiến hành nhuộm hoá học tế bào bằng 5 phương pháp bao gồm: nhuộm peroxidase (MPO), sudan đen, P.A.S, esterase đặc hiệu và không đặc hiệu.

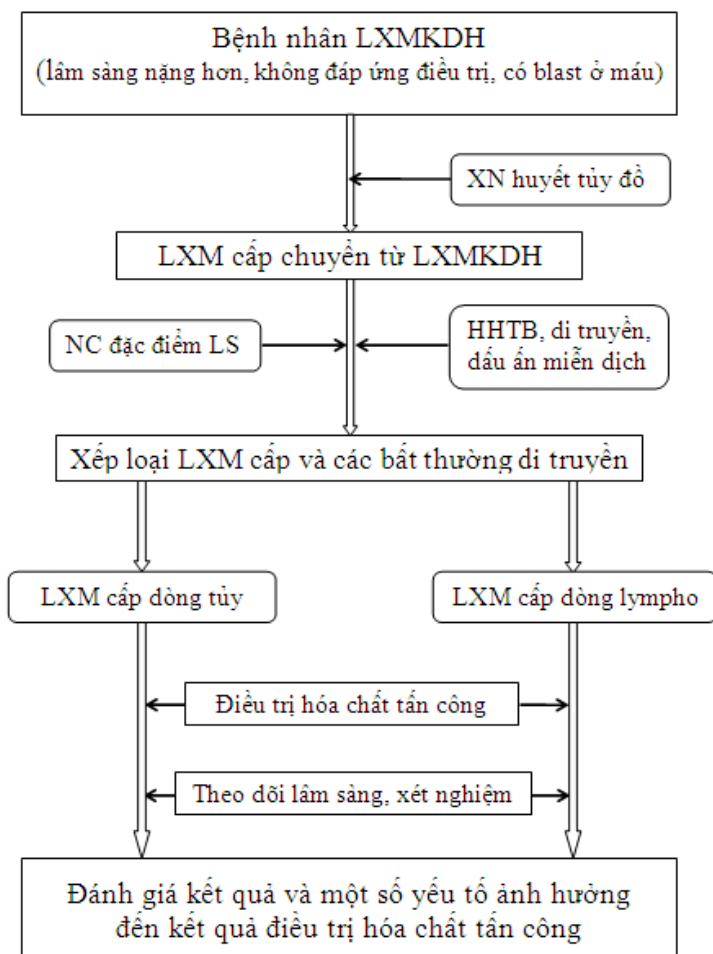
– Kỹ thuật xác định kháng nguyên màng tế bào bằng kháng thể đơn dòng dựa trên phương pháp flow cytometry với Panel gồm: MPO; CD13; CD33; CD34; CD117; CD14; CD61; CD64; glycophorin A; HLA-DR; CD19; cyCD22; CD10; CD20; CyCD3; CD2; CD7; CD5; CD16, CD56; Tdt.

–**Xét nghiệm di truyền tế bào gồm:** Công thức nhiễm sắc thể (nhuộm băng G) và phương pháp lai huỳnh quang tại chỗ (FISH).

–**Xét nghiệm sinh học phân tử:** Sử dụng kỹ thuật PCR với các cặp mồi đặc hiệu xác định sự có mặt biến đổi gen.

**2.4. Phân tích số liệu:** Quản lý, phân tích và tính toán các số liệu bằng chương trình Excel 2010 và SPSS 13.0.

## Sơ đồ nghiên cứu



## Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

## 3.1. Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Tuổi trung bình là  $43,1 \pm 14,1$ . Trong đó, tuổi trung bình của 168 bệnh nhân LXMC dòng tủy là  $44,8 \pm 13,9$ ; 42 bệnh nhân LXMC dòng lympho là  $37,8 \pm 13,4$  và 5 bệnh nhân LXMC lai tủy lympho là  $39,8 \pm 15,6$ .

Trong 215 bệnh nhân, nam có 143 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 66,5% và nữ có 72 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 33,5%. Tỷ lệ nam/nữ là 1,99. Trong đó, nhóm LXMC dòng tủy có tỷ lệ nam/nữ là 108/60 (1,8); Dòng lympho là 30/12(2,5).

## 3.2. Đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và xếp loại thể bệnh theo F.A.B.

**3.2.1. Đặc điểm lâm sàng khi vào viện:** Triệu chứng hay gặp nhất là lách to chiếm 100% (Lách to độ IV chiếm tỷ lệ cao nhất là 46,1%) và thiếu máu (99%). Hội chứng nhiễm trùng, hội chứng xuất huyết, gan to và hạch to gặp lần lượt với tỷ lệ 24,6%; 26,5%; 33,0% và 14,9%. Lách to đơn thuần gặp ở 123 bệnh nhân (57,2%). Lách to và gan to có 60 bệnh nhân (27,9%); Lách to và hạch to có 21 bệnh nhân (9,8%); Cả lách to, gan to và hạch to có 11 bệnh nhân (5,1%).

## 3.2.2. Đặc điểm xét nghiệm huyết học khi vào viện

+ Chỉ số tế bào máu ngoại vi: số lượng HC thấp (trung bình:  $2,72 \pm 0,79$  T/l) và lượng Hb giảm (trung bình:  $84,6 \pm 22,0$ , lượng Hb giảm dưới 100 g/l chiếm 72,6%). SLTC giảm (trung bình là  $82,9 \pm 132,1$  G/l); 48,1% có số lượng TC dưới 50G/l; 2,8% có số lượng TC cao trên 450G/l). SLBC tăng cao (trung bình:  $65,5 \pm 81,9$  G/l). Trong đó SLBC từ 10 đến 50G/l là 42,8%, từ 50 đến 100 G/l là 17,7 % và 20,4% bệnh nhân có SLBC tăng trên 100G/l. 01 bệnh nhân có SLBC < 1,0 G/l). Trong công thức bạch cầu, tỷ lệ tế bào blast trung bình

50,6 ± 26,4 %; tỷ lệ % BC ưa bazơ tăng (trung bình 3,2 ± 5,9%); 9,8% bệnh nhân có BC ưa bazơ tăng trên 10%.

+ Xét nghiệm tủy xương: số lượng tế bào tủy trung bình là 282,8 ± 243,5 G/l. Tỷ lệ tế bào non ác trung bình 60,5%; các tế bào sinh máu bình thường đều giảm sinh.

+ Xét nghiệm công thức NST của 173 bệnh nhân: 97,7% có bất thường NST. Bất thường NST ở nhóm LXM cấp dòng tủy là 97,9% và LXM cấp dòng lympho là 96,7%. 37,6% có bất thường về số lượng NST hay gặp là 2 NST Ph1 (chiếm 12,7%), trisomy 8 (5,2%), trisomy 21 (4,6%) và trisomy 7 (4,0%). Bất thường về số lượng NST ở nhóm LXM cấp dòng tủy là 37,9% và dòng lympho là 36,7%. 97,7% bệnh nhân có bất thường cấu trúc NST như: chuyển đoạn, mất đoạn... 35,8% bệnh nhân có bất thường cả số lượng và cấu trúc NST. Trong đó, nhóm LXM cấp dòng tủy là 35,7% và dòng lympho là 36,7%.

+ Xét nghiệm gen abl-bcr cho 137 bệnh nhân: Tỷ lệ gen abl-bcr dương tính chiếm 97,8%. Kiểu đột biến gen thường gặp nhất là Major abl-bcr chiếm tỷ lệ 92,7 %. Đặc biệt có 5 bệnh nhân (chiếm 3,6%) có cả hai đột biến Major abl-bcr và Minor abl-bcr.

### 3.2.3. Phân loại lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt theo F.A.B có bổ sung phương pháp miễn dịch:

LXM cấp chuyển từ LXMKDH gặp ở hầu hết các thể và các dòng tế bào. Trong đó, LXM cấp thể M2 chiếm tỷ lệ cao nhất 49,3 %, tiếp đến là thể L2 18,6%, sau đó đến thể M4 là 14,4% và thể M1 là 7,0%. Đặc biệt, chúng tôi gặp 5/215BN (chiếm 2,3%) thể lai tủy - lympho. Trong số BN chuyển cấp dòng lympho có 90,9% là lympho B.

### 3.3. Kết quả điều trị và một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị tấn công bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH

Gồm 116 bệnh nhân trong đó 87 bệnh nhân LXM cấp dòng tủy (75%) và 29 bệnh nhân LXM cấp dòng lympho (25%).

#### 3.3.1. Đặc điểm tuổi và giới nhóm bệnh nhân điều trị hóa chất tấn công.

Bệnh nhân LXM cấp dòng tủy có tuổi trung bình là 39,3 ± 12,3 tuổi, nam chiếm 71,3% và nữ 28,7%. Bệnh nhân LXM cấp dòng lympho có tuổi trung bình là 33,9 ± 10,2; nam chiếm 75,9% và nữ 24,1%.

#### 3.3.2. Phân bố thể bệnh nhóm bệnh nhân điều trị

87 bệnh nhân LXM cấp dòng tủy được điều trị tấn công có thể M2 chiếm tỷ lệ cao nhất (47,4%), sau đó là thể M4 (14,6%) và thể M1 (5,2%).

29 bệnh nhân LXM cấp dòng lympho điều trị đều là LXM cấp thể L2.

#### 3.3.3. Kết quả điều trị tấn công bệnh nhân LXM cấp dòng tủy chuyển từ LXMKDH

- **Về đặc điểm lâm sàng:** Các triệu chứng thiếu máu, nhiễm trùng, xuất huyết, gan to, lách to, hạch to sau điều trị giảm hơn có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị ( $p < 0,05$ ).

- **Chỉ số tế bào máu ngoại vi:** Sau điều trị, số lượng HC, lượng Hb, SLTC và tỷ lệ % hồng cầu lưới tăng lên so với trước điều trị: lần lượt là: 2,79 T/L so với 3,62 T/L; 86,6 g/l so với 114 g/l; 88,2 G.L so với 129 G/L, với  $p < 0,05$ . SL BC, tỷ lệ % blast sau điều trị giảm so với trước khi điều trị, lần lượt là: 57,7 G/L so với 10,2 G/L và 48,6 % so với 12,5 %, với  $p < 0,01$ . Tế bào blast chủ yếu gặp ở các bệnh nhân không lui bệnh hoặc lui bệnh không hoàn toàn.

- **Tủy xương:** Số lượng tế bào tủy trước điều trị trung bình là 169,9 ± 114,7 G/l. Sau điều trị, số lượng tế bào tủy ở giới hạn bình thường, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Trước điều trị tế bào blast chiếm tỷ lệ rất cao 57,6%; dòng HC và BC hạt giảm sinh. Sau điều trị tế bào blast giảm xuống còn trung bình là 26,3%, chủ yếu gặp ở bệnh nhân KLB hoặc LBKHT; dòng HC và BC hạt hồi phục và trở về mức độ bình thường, với  $p < 0,05$ .

– **Về đáp ứng điều trị hóa chất tấn công:** 19,5% bệnh nhân đạt LBHT, 13,8% bệnh nhân LBKHT, 55,2% KLB và 11,5% tử vong. Trong đó, 3 trường hợp tử vong do xuất huyết não (30%), 4 trường hợp tử vong do nhiễm khuẩn huyết gây sốc nhiễm khuẩn (40%) và 3 trường hợp tử vong do viêm phổi gây suy hô hấp (30%). Các bệnh nhân tử vong ở giai đoạn suy tủy nặng sau điều trị hóa chất tấn công.

### **3.3.4. Kết quả điều trị bệnh nhân lơ xê mi cấp dòng lympho sau lơ xê mi kinh dòng hạt.**

– **Về đặc điểm lâm sàng:** sau điều trị các triệu chứng thiếu máu, nhiễm trùng, xuất huyết và hội chứng thâm nhiễm giảm rõ rệt so với trước điều trị. Triệu chứng thiếu máu trước điều trị có 93,1% bệnh nhân, nhưng sau điều trị chỉ còn 24,1% bệnh nhân, với  $p < 0,05$ .

– **Về chỉ số tế bào máu ngoại vi trước và sau điều trị:** Lượng Hb và SLTC trước điều trị là  $85,3 \pm 22,8$  và  $78,4 \pm 88,6$ , còn sau điều trị tăng lên  $116 \pm 12,4$  và  $151,3 \pm 81,6$ , với  $p < 0,05$ . SLBC trước điều trị là  $53,4 \pm 73,4$  G/l còn sau điều trị là  $11,2 \pm 4,2$  G/l; tỷ lệ % blast trước điều trị là  $52,3 \pm 28,9$  và sau điều trị là  $9,5 \pm 14,7$  (tế bào blast chủ yếu gặp ở bệnh nhân không lui bệnh). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

– **Về chỉ số xét nghiệm tủy xương trước và sau điều trị:** Số lượng tế bào tủy xương của bệnh nhân trước khi điều trị rất cao, trung bình là  $198,2 \pm 125,1$  G/l. Sau điều trị số lượng tế bào tủy xương trở về giới hạn bình thường là  $69,1 \pm 36,9$ , với  $p < 0,05$ . Trước điều trị, tế bào blast chiếm 69,6%; dòng HC và BC hạt giảm sinh. Sau điều trị, tế bào blast giảm xuống còn 19,1%, gặp ở các bệnh nhân KLB hoặc LBKHT; Tỷ lệ % dòng HC và BC hạt trở về giới hạn bình thường. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

– **Về đáp ứng điều trị hóa chất tấn công:** 37,9% bệnh nhân đạt LBHT, 17,3% bệnh nhân LBKHT, 37,9% KLB và 6,9% tử vong.

### **3.3.5. Một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị tấn công bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH**

– Tỷ lệ đạt lui bệnh hoàn toàn giữa các nhóm bệnh nhân theo tuổi, giới và thời gian giai đoạn mạn tính tuy có khác nhau nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

- Nhóm bệnh nhân có tế bào blast ở máu ngoại vi trên 30% có tỷ lệ đạt lui bệnh hoàn toàn cao hơn nhóm có tế bào blast ở máu ngoại vi dưới 30% (18,2% so 42,9%, với  $p < 0,01$ ).

- Tỷ lệ bệnh nhân đạt LBHT có khác nhau giữa nhóm có huyết sắc tố trên và dưới 100g/l, TC trên và dưới 100G/l, BC trên và dưới 20G/l, tỷ lệ % blast tủy trên và dưới 30%, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

– Nhóm bệnh nhân LXM cấp dòng tủy có tỷ lệ đạt lui bệnh hoàn toàn thấp hơn dòng lympho (19,5% so với 37,9%), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

– Tỷ lệ bệnh nhân đạt lui bệnh hoàn toàn ở nhóm có thêm bất thường NST khác ngoài bất thường nhiễm sắc thể Ph1 ban đầu thấp hơn nhóm chỉ có bất thường NST Ph1 (5,1% so với 37,1%, với  $p < 0,01$ ).

– Khả năng lui bệnh của nhóm không có thêm bất thường NST khác ngoài bất thường nhiễm sắc thể Ph1 cao hơn gấp 5,1 lần so với nhóm có thêm bất thường NST khác ngoài NST Ph1 ban đầu.

## **Chương 4. BÀN LUẬN**

### **4.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu**

#### **4.1.1. Đặc điểm về giới tính.**

Chúng tôi nghiên cứu trên 215 bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH, nam có 143 bệnh nhân (66,5%) và 72 bệnh nhân nữ (33,5%). Tỷ lệ nam/nữ là 1,99. Kantarjian HM nghiên cứu 242 bệnh



nhân LXMKDH chuyển cấp thấy có 155 nam và 87 nữ. Số liệu của Marks, Hernandez JC, Cervantes F và Wadhwa J cũng như vậy.

#### 4.1.2. Đặc điểm về tuổi

Tuổi trung bình của bệnh nhân theo nghiên cứu của Cervantes F, Palandri F, Axdorph U, Wadhwa J, Kantarjian HM lần lượt là 45, 55, 55, 39, 46. Nghiên cứu của chúng tôi thì độ tuổi trung bình là  $43,1 \pm 14,1$  và không khác biệt với nghiên cứu khác. LXM cấp dòng tủy chuyển từ LXMKDH có tuổi trung bình theo nghiên cứu của Wadhwa J, Cortes J, Sacchi S lần lượt là 44, 55, 47 tuổi. Bệnh nhân LXM cấp dòng lympho chuyển từ LXMKDH có tuổi trung bình là 36, 49,5 và 48 tuổi theo các nghiên cứu của Wadhwa J, Cortes J và Strati P. Kết quả của chúng tôi cũng tương đương các tác giả khác.

### 4.2. Đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm huyết học và xếp loại thể bệnh

#### 4.2.1. Đặc điểm lâm sàng khi vào viện

Marks nghiên cứu 50 bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH thấy tỷ lệ thiếu máu là 71%. Derdrian PM theo dõi cho 296 bệnh nhân nhận thấy, thiếu máu chiếm tỷ lệ 43%. Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả hội chứng thiếu máu cao hơn hẳn và có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Như vậy, thiếu máu là một trong những nguyên nhân chính khiến bệnh nhân phải đến nhập viện. Rosenthal S thấy có 6/73 bệnh nhân nhiễm trùng chiếm tỷ lệ 8%. Marks nghiên cứu 45 bệnh nhân có 24,4% nhiễm trùng. Tương tự nghiên cứu của chúng tôi có 24,6% bệnh nhân nhiễm trùng. Nguyên nhân có thể do tế bào blast lần ợt sự phát triển của các dòng tế bào BC trung tính bình thường nên sức đề kháng của bệnh nhân giảm đi. Marks nhận thấy 68% bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH có lách to. Wadhwa J đưa ra kết quả 58% bệnh nhân lách to. So sánh với các tác giả trên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lớn hơn rõ rệt với 100% bệnh nhân lách to, với  $p < 0,01$ . Tỷ lệ gan to theo tác giả Marks, Wadhwa, Derdrian, Cervantes, Rosenthal lần lượt là 26%, 58%, 8%, 69% và 52%. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 33% bệnh nhân có gan to. Lách to có thể do bệnh nhân không còn đáp ứng với điều trị trước đó, hoặc

uống thuốc không đúng chỉ định hoặc bệnh đã chuyển sang giai đoạn tăng tốc hoặc lơ xê mi cấp.

#### 4.2.2. Đặc điểm xét nghiệm huyết học khi chuyển lơ xê mi cấp

Các bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH trong nghiên cứu của chúng tôi có lượng Hb trung bình là  $84,6 \pm 22,0$ g/l thấp hơn so với các tác giả nước ngoài. Lượng Hb trung bình theo nghiên cứu của Wadhwa J, Cervantes F, Palandri F, Griesshammer M lần lượt là 103; 102; 95; 100 g/l. Điều này có lẽ do bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi chưa được theo dõi sát sao giai đoạn mạn tính và tăng tốc hoặc dùng thuốc không đúng chỉ định như tự ý điều chỉnh liều, bỏ thuốc... hoặc chỉ đến bệnh viện khi bệnh đã nặng. Cervantes F có số liệu SLBC trung bình lúc chuyển cấp là 68,0 G/L. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự. Cervantes F thấy tỷ lệ % BC ưa base là 7,6%. Theo Marks nghiên cứu 50 bệnh nhân thì thấy có 16% có BC ưa base  $\geq 10\%$ . Trong nghiên cứu này, 9,8% bệnh nhân có BC ưa base  $\geq 10\%$ . Tỷ lệ % BC ưa base tăng trong máu ngoại vi là một trong những dấu hiệu quan trọng để xác định bệnh đang trong quá trình chuyển sang LXMC. Theo các tác giả như Wadhwa J, Palandri F, Griesshammer M đều nhận thấy khi bệnh nhân bước sang giai đoạn LXM cấp, SLTC trung bình đều giảm hơn bình thường. SLTC trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như các tác giả trên. Nguyên nhân là do gia tăng của tế bào blast lần ợt sự phát triển của dòng mẫu TC hoặc có thêm các rối loạn đông cầm máu gây tiêu thụ TC. Chúng tôi gặp 2,8% SLTC cao trên 450G/L. Marks cũng thấy có tới 8/50 BN (16%) có SLTC trên 400G/l. Có lẽ do một số bệnh nhân ở giai đoạn tăng tốc có SLTC tăng cao và nhanh chóng chuyển sang LXM cấp. Trong nghiên cứu của chúng tôi có số lượng tế bào tủy tăng, trung bình là  $282,8 \pm 243,5$  G/l. Số lượng tế bào tủy dao động rất rộng từ 10 đến 660G/l, trên 70% BN có số lượng tế bào tủy trên 100G/l. Tỷ lệ tế bào blast tăng cao, trung bình là 60,5% còn các tế bào dòng bạch cầu hạt và dòng hồng cầu đều giảm sinh. Tỷ lệ % tế bào blast ở máu ngoại vi theo nghiên cứu của Palandri F, Cervantes F, Griesshammer M lần lượt là 28,5%, 23%, 30%, thấp

hơn so với kết quả của chúng tôi là 50,6%, với  $p < 0,05$ ; Tỷ lệ % tế bào blast ở tủy xương trong kết quả của chúng tôi là 60,5%, cao hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  khi so sánh với kết quả của Cervantes F là 40%, Wadhwa J là 47% nhưng không có sự khác biệt với kết quả của Griesshammer M là 70%. Sự khác biệt này có lẽ do sự hiểu biết và quan tâm đến bệnh còn thấp, điều kiện kinh tế còn khó khăn và cũng có thể còn do chúng ta chưa theo dõi được sát sao.

#### 4.2.3. Đặc điểm bất thường nhiễm sắc thể và gen

Trong số 173 bệnh nhân được phân tích NST, chúng tôi gặp tỷ lệ 12,7% có thêm một NST Ph1 ở giai đoạn LXM cấp. Tỷ lệ này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Kantarjian HM (26,4%), Alimena G (24,6%) với  $p < 0,05$  nhưng không khác biệt so với kết quả của Tang X là 9,7%. 5,2% bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có xuất hiện trisomy 8 thấp hơn Kantarjian HM (25,2%), Alimena G (31,9%), với  $p < 0,05$ . Đột biến i(17q) chiếm tỷ lệ 2,9% theo nghiên cứu của chúng tôi, thấp hơn Kantarjian HM (17,8%), Alimena G (11,6%) và Derdrian PM (15%), với  $p < 0,05$ .

Đột biến abl-bcr được nhận thấy ở khoảng 80% số bệnh nhân. Đột biến abl ở giai đoạn mạn tính muộn với kháng imatinib có liên quan tới tăng nguy cơ chuyển cấp. Các đột biến khác liên quan đến chuyển cấp bao gồm đột biến p53, RUNX-1, IKZF1, ASXL1, WT1, TET2, IDH1, NRAS, KRAS và CBL. Hơn nữa, gen biểu hiện quá mức, giảm điều hòa hoặc mất điều hòa trong chuyển cấp bao gồm SOCS2, CD52, HLA, PRAME, JunB, Fos, FosB, Il8 và gen của con đường Wnt/B-catenin.

#### 4.2.4. Xếp loại LXM cấp sau LXMKDH bằng phương pháp hình thái, hóa học tế bào và miễn dịch

Nghiên cứu của Marks, Wadhwa J, Palandri F, Axdorph U, Cortes J, Palandri F về tỷ lệ chuyển cấp đều gặp đa số chuyển LXM cấp dòng tủy với tỷ lệ khá cao tương ứng là 80%, 77,1%, 83,6%, 69,4%, 77,1%. Sacchi S thấy trong 162 bệnh nhân chuyển cấp không phải dòng lympho: dòng tủy có 109 bệnh nhân (67%) và dòng tiểu cầu 10

bệnh nhân (6%). Kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi cũng tương tự với các tác giả nước ngoài. Điều này cũng là dẫn chứng khẳng định bệnh LXM kinh dòng hạt là bệnh lý tổn thương từ tế bào gốc tạo máu.

#### 4.3. Kết quả điều trị và một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị tân công bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH

##### 4.3.1. Kết quả điều trị về lâm sàng bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH.

Kết quả điều trị về lâm sàng cho thấy các triệu chứng đều được cải thiện hơn so với trước điều trị, với  $p < 0,05$ . Biểu hiện thiếu máu giảm đi là nhờ các bệnh nhân được truyền khối hồng cầu và dòng HC phát triển tốt hơn. Các bệnh nhân LXM cấp rất dễ bị nhiễm trùng do giảm BC đoạn trung tính. Tình trạng nhiễm trùng giảm đi do bệnh nhân được dùng thuốc kháng sinh, chống nấm, chống vi rút trong quá trình điều trị. Tỷ lệ xuất huyết giảm đi là nhờ được truyền các chế phẩm máu và thuốc chống rối loạn đông máu đồng thời SLTC tăng lên do dòng mẫu tiểu cầu hồi phục dần. Hội chứng thâm nhiễm giảm đi sau điều trị là do SLBC và tỷ lệ blast giảm.

##### 4.3.2. Đặc điểm một số chỉ số xét nghiệm huyết học trước và sau điều trị hóa chất tân công

Một số nghiên cứu của tác giả như: Phạm Nguyễn Văn Nga, Lê Văn Yên, Nguyễn Thị Thu Hòa... nhận thấy rằng lượng Hb, SLBC, SLTC, tỷ lệ tế bào blast lúc chuyển cấp có liên quan tới đáp ứng điều trị. Như vậy sau điều trị tân công, khả năng tạo máu của tủy xương được phục hồi, các tế bào ác tính bị tiêu diệt đồng thời chức năng các cơ quan gan lách...được cải thiện không bị xâm lấn bởi các tế bào ung thư nữa.

##### 4.3.3. Đáp ứng điều trị hoá chất tân công BN lơ xê mi cấp dòng tủy chuyển từ LXMKDH

Sacchi S tổng kết điều trị 162 bệnh nhân LXM cấp dòng tủy chuyển từ LXMKDH với nhiều phác đồ khác nhau nhận thấy tỷ lệ LBHT chung cho tất cả các phác đồ là 22%. Tỷ lệ này trong nghiên

cứ của Cervantes F là 21,1%. Kết quả của Marks thấp hơn là 13%. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ LBHT là 19,5%, tương đương kết quả nghiên cứu của các tác giả khác ( $p>0,05$ ). So sánh với các nghiên cứu điều trị LXM cấp dòng tủy nguyên phát, tỷ lệ LBHT theo Vogler WR, Wiernick PH, Weick JK, Zittoun RA lần lượt là 58%, 49%, 54% và 66%. Một nghiên cứu của Huỳnh Văn Mẫn cho thấy 59,7% LBHT. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ LBHT thấp hơn nhiều, với  $p<0,01$ . Theo các nghiên cứu về biến đổi NST ở bệnh nhân LXM cấp dòng tủy thì có NST Ph1 nằm trong nhóm tiên lượng xấu. Mà hầu hết bệnh nhân LXM cấp dòng tủy chuyển từ LXMKDH có bất thường nhiễm sắc thể tiên lượng xấu do kèm theo NST Ph1.

#### 4.3.4. Đáp ứng điều trị hoá chất tấn công bệnh nhân LXM cấp dòng lympho chuyển từ LXMKDH

Derderian PM điều trị cho 59 bệnh nhân LXM cấp dòng lympho chuyển từ LXMKDH ghi nhận một tỷ lệ đáp ứng LBHT là 49%. Tỷ lệ này theo nghiên cứu của Sales V thấp hơn là 14,3%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 37,9% đạt LBHT. Các tỷ lệ LBHT khác nhau không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ . Theo các nghiên cứu cả trong nước và nước ngoài, các bệnh nhân LXMC dòng lympho nguyên phát có tỷ lệ LBHT cao: Bạch Quốc Khánh (82,6%), Fiere D (76%), Rowe J (91%), Thomas X (84%)... Như vậy so với nhóm LXM cấp dòng lympho nguyên phát, tỷ lệ LBHT của chúng tôi thấp hơn hẳn, với  $p<0,01$ . Nguyên nhân có lẽ cũng liên quan tới các bệnh nhân này thường có các đột biến NST kèm theo, đặc biệt là các đột biến NST Ph1.

\* *So sánh đáp ứng điều trị hoá chất tấn công trong nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu điều trị hóa chất tấn công có sử dụng phối hợp thêm thuốc nhắm đích phân tử:*

Nghiên cứu của Palandri F, Sawyers CL, Kantarjian HM, Sureda A sử dụng imatinib cho các bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH thấy tỷ lệ lui bệnh về huyết học đạt trên 50% ở đa số các nghiên cứu. Đối với bệnh nhân LXMKDH ở giai đoạn tăng tốc và chuyển cấp điều trị bằng imatinib, kết quả thử nghiệm lâm sàng pha II cho thấy tỷ lệ bệnh nhân đạt đáp ứng huyết học là 82% và tỷ lệ đáp

ứng tế bào di truyền là 24%. Giles FJ tiến hành điều trị nilotinib cho 137 bệnh nhân chuyển cấp đạt được tỷ lệ LBHT về huyết học là 60% bệnh nhân dòng tủy và 59% bệnh nhân dòng lympho. So sánh với kết quả điều trị của nhóm bệnh nhân không được sử dụng thêm thuốc nhắm đích trong nghiên cứu của chúng tôi (dòng tủy có 19,5% BN lui bệnh hoàn toàn; dòng lympho có 37,9% BN lui bệnh hoàn toàn; còn tỷ lệ chung cho cả dòng tủy và dòng lympho là 24,1%) cho thấy có sự khác biệt rõ rệt với  $p<0,01$ . Như vậy, rõ ràng kết hợp hóa chất cùng với các thuốc nhắm đích đã mang lại một triển vọng điều trị khả quan hơn.

#### 4.3.5. Một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị tấn công bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH

– **Theo tuổi, giới và thời gian giai đoạn mạn tính:** Kantarjian HM nhận thấy bệnh nhân trên 50 tuổi có tỷ lệ LBHT thấp hơn nhóm bệnh nhân khác. Nghiên cứu của Schneller, Sacchi S, Bauduer, thì tỷ lệ LBHT không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố tuổi, giới, thời gian giai đoạn mạn tính, tương tự nhận định trong nghiên cứu của chúng tôi.

– **Theo một số chỉ số huyết học:** Kantarjian HM nhận thấy bệnh nhân có số lượng TC dưới 50G/l lúc chẩn đoán chuyển cấp có tỷ lệ LBHT thấp hơn ( $p<0,01$ ). Nghiên cứu của Schneller, Sacchi S, Bauduer thì tỷ lệ LBHT không bị ảnh hưởng bởi các chỉ số tế bào máu ngoại vi, tương tự nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, các bệnh nhân có tỷ lệ tế bào blast tăng cao có tỷ lệ lui bệnh hoàn toàn thấp hơn và là một yếu tố tiên lượng không tốt cho đáp ứng điều trị.

– **Theo xếp loại bệnh:** kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự tác giả Kantarjian HM và Derderian cho thấy: bệnh nhân chuyển LXM cấp dòng lympho có tỷ lệ đáp ứng điều trị tốt hơn so với bệnh nhân chuyển LXM cấp dòng tủy.

– **Theo biến đổi NST:** Các tác giả khác đều nhận thấy rằng BN có thêm bất thường NST khác ngoài nhiễm sắc thể Ph1 ban đầu có tỷ lệ LBHT thấp hơn, đặc biệt là các bất thường như hai NST Ph1, trisomy 8 và isochromosome 17. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu 215 bệnh nhân LXM cấp chuyển từ LXMKDH, trong đó có 116 bệnh nhân được điều trị hóa chất tấn công từ tháng 01/2009 đến 10/2014, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

### 1. Đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và phân loại LXM cấp chuyển từ LXMKDH.

- Tuổi trung bình nhóm bệnh nhân nghiên cứu là  $43,1 \pm 14,1$ ; tỷ lệ nam/nữ là 1,99.

- Thiếu máu (99,0%) và lách to (100%). Lách to độ IV chiếm 46,1%.

- Số lượng HC, lượng Hb và SLTC giảm. SLBC tăng cao; tỷ lệ tế bào blast máu và tủy trung bình là 50,6% và 60,5%.

- 94,8% bệnh nhân có NST Ph1 và 97,8% có gen bcr-abl. 37,6% bệnh nhân có bất thường số lượng NST. Kiểu đột biến gen thường gặp nhất là Major bcr-abl.

- LXM cấp chuyển từ LXMKDH gặp ở tất cả các dòng tế bào. ThỂ M2 chiếm tỷ lệ cao nhất (49,3%), thỂ L2 (18,6%) và thỂ M4 (14,4%).

### 2. Kết quả điều trị tấn công lơ xê mi cấp chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt (gồm 87 bệnh nhân LXM cấp dòng tủy và 29 bệnh nhân dòng lympho).

- Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng như thiếu máu, nhiễm trùng, xuất huyết, thâm nhiễm giảm nhiều so với trước khi điều trị.

- Số lượng HC, lượng Hb và SLTC tăng lên so với trước điều trị; SLBC và tế bào tủy xương trở về giới hạn bình thường.

- LXM cấp dòng tủy có 19,5% LBHT, 13,8% LBKHT, 55,2% KLB và 11,5% bệnh nhân tử vong khi điều trị.

- LXM cấp dòng lympho có 37,9% đạt LBHT, 17,3% LBKHT, 37,9% không lui bệnh và 2 bệnh nhân tử vong (chiếm 6,9%).

- Tỷ lệ lui bệnh hoàn toàn của nhóm LXM cấp dòng lympho cao hơn nhóm LXM cấp dòng tủy.

- Tỷ lệ lui bệnh hoàn toàn của nhóm bệnh nhân không có thêm bất thường NST khác ngoài Ph1 cao hơn so với nhóm có thêm bất thường NST khác ngoài Ph1 ban đầu.

## KIẾN NGHỊ

- Chỉ định xét nghiệm Huyết tủy đồ khi bệnh nhân có một trong các dấu hiệu sau: thiếu máu nặng hơn, xuất huyết, lách to không đáp ứng với điều trị, xét nghiệm tế bào máu có lượng huyết sắc tố giảm so với trước, số lượng tiểu cầu giảm hoặc xuất hiện tế bào non ác tính ở máu ngoại vi.

- Áp dụng phác đồ điều trị hóa chất tấn công cho bệnh nhân lơ xê mi cấp dòng tủy và dòng lympho chuyển từ lơ xê mi kinh dòng hạt tại các cơ sở điều trị.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ**

1. Nguyễn Ngọc Dũng, Lê Xuân Hải, Nguyễn Triệu Vân & cs (2014). Nghiên cứu một số đặc điểm nhiễm sắc thể và gen BCR-ABL bệnh nhân loxêmi cấp sau loxêmi kinh dòng hạt. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 423, 213 – 218.
2. Nguyễn Ngọc Dũng, Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Hà Thanh & cs (2014). Nghiên cứu một số đặc điểm huyết học và xếp loại loxêmi cấp sau loxêmi kinh dòng hạt tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 423, 737 – 742.

**B. INTRODUCTION TO DOCTORAL THESIS**

**1. BACKGROUND**

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a hematopoietic neoplasm with the main feature as proliferation of myeloid lineages with differentiation. Ph1 chromosome results from translocation between the 9 and 22 chromosomes, which can be found in 95% of patients. This translocation then produces the fusion gen bcr-abl, which encodes the bcr-abl protein with strong intrinsic tyrosine kinase activity and lead to abnormalities in cellular mitosis, apoptosis and proliferation.

CML often has three phases including chronic phase, accelerated phase and blast phase. The disease usually has a long progression which always transforms into acute leukemia. The clinical features in this stage are commonly more severe than the other phases such as anemia, hemorrhage, infection, hepatosplenomegaly, lymphadenopathy. Peripheral blood shows blasts, thrombocytopenia, low erythrocyte... Besides Ph1 chromosome, in blast phase (or acute leukemia transformation), patients may have additional chromosome defects. In acute leukemia transformation, patients must receive chemotherapy in association with hematological intensive cares. Treatment in this stage is complicated and remission is very difficult to achieve. The progression from chronic phase at diagnosis to acute leukemia commonly lasts for 3-5 years, with median as 42 months. When transformed into acute leukemia, the overall survival is very short, approximately 2 months for myeloid and 6 months for lymphoid transformation.

It is very necessary to have acute leukemia transformation diagnosed early, treated timely so that complete remission can be obtained to improve patient survival and quality of life. So we carried out the research topic: ***“Study on clinical and laboratory features, classification and results of induction treatment of chronic myeloid leukemia in blast crisis”*** with two objectives:

3. *To study the clinical and laboratory features and classification of chronic myeloid leukemia in blast crisis according to F.A.B.*
4. *To evaluate the outcomes and some factors that affect the results of induction treatment of chronic myeloid leukemia in blast crisis.*

### **2. Necessity of the research:**

CML is a common hematopoietic neoplasm at many hematological centers in Vietnam. The disease has a chronic progression with acute leukemia transformation after all. Today, there have been many advances in treatment in chronic phase but it is still difficult for blast phase. Therefore, it is very necessary for clinical doctors to do studies in order to diagnose acute leukemia transformation of CML early and to evaluate the treatment, from that overall survival and quality of life of patients can be improved.

### **3. Contributions of the thesis:**

This was the first research in Vietnam which was carried out with big sample size (215 patients) and allowed comprehensive finding about clinical and laboratory features, classification and treatment of CML in blast phase. This research has identified chromosomal abnormalities commonly seen in acute leukemia transformation of CML. This research also contributed to establish early diagnosis, timely and effective treatment for patients. It also detected some factors related to treatment outcomes.

### **4. Thesis structure**

The thesis consists of 123 pages, including: Background 2 pages, Literature review 32 pages, Subjects and Methodology 17 pages, Results 30 pages, Discussion 39 pages, Conclusion 2 pages, Recommendation 1 pages. There are 63 tables, 2 diagrams, 13 charts, 2 pictures, 146 references (43 in Vietnamese, 108 in English).

## **B. CONTENT OF THE THESIS**

### **Chapter 1. OVERVIEW**

#### **1.4. Summary about CML**

CML was first described in 1845 by Bennett and Virchow based on patients with splenomegaly, anemia and leukocytosis. In 1960, Nowel and Hungerford discovered abnormalities of group G chromosomes in CML patients, which was named Philadelphia (name of the city where they found), or Ph1 in short. Philadelphia chromosome is a mutated chromosome which can be seen in 90% of CML patients and derived from t(9;22)(q34;q11) translocation. The fusion gene bcr-abl is produced as a result of t(9;22)(q34;q11) translocation. The gene is found in all CML patients with positive and negative Ph1 chromosome, which has a very important role in pathology of the disease.

#### **1.5. Clinical features of CML**

Chronic phase: the disease often has a slow and indolent expression so it is difficult to identify the beginning exactly. The symptoms are also vague and unspecific. The diagnosis is commonly made when there are symptoms such as anemia, weight loss, splenomegaly, hemorrhage, thrombosis...

Accelerated phase: the progression from this to acute leukemia may be very short, or turning back to chronic phase may occur in some cases. The symptoms in this phase includes more severe anemia than chronic phase, splenomegaly unresponsive to treatment...

Blast phase of CML: all clinical symptoms are more aggressive and typical like acute leukemia, including severe anemia, polymorphic subcutaneous hemorrhage in multiple sites, infection more often, infiltration syndrome with hepatosplenomegaly, lymphadenopathy; splenomegaly unresponsive to treatment.

#### **1.6. Laboratory findings of CML**

### 1.3.1. Peripheral blood and bone marrow analysis:

+ Chronic phase: peripheral blood analysis is very typical which can be used as important criteria for diagnosis. The red blood cell (RBC) count and hemoglobin (Hb) level are all reduced which present a normochromic normocytic anemia; platelet count is normal or elevated; white blood cell (WBC) count is commonly higher than 100 G/l, which usually shows neutrophils in different stages of maturation accompanied by eosinophilia and basophilia. Bone marrow cellularity is increased: granulocytic lineages show proliferation, the myeloid/erythroid ratio is often higher than 10:1; marrow granulocytic lineages also show different stages of maturation as well as morphological dysplasia; the proportion of eosinophil and basophil often rise.

+ Accelerated phase of CML: WBC count in peripheral blood is higher, with blast accounting for 10-19%. RBC count and Hb are decreased, platelet count and aggregation are usually reduced but sometimes they rise very high (>1000 G/l) unresponsive to treatment. Basophil proportion is  $\geq 20\%$ . Bone marrow is always hypercellular with blast accounting for 10-19%, erythroid and megakaryocytic lineages are hypoplastic due to infiltration of malignant cells.

+ Blast phase of CML: in peripheral blood, the level of RBC and Hb are decreased, platelet count is reduced or elevated unresponsively to therapy, platelet aggregation may be higher or lower, WBC count is usually high in which blast percentage often rises  $\geq 20\%$ ; basophilia commonly occurs. Bone marrow may be hypercellular or hypocellular with blasts accounting for  $\geq 20\%$ , erythroid and megakaryocytic lineages show hypoplasia.

**1.3.2. Karyotyping examination:** with samples from bone marrow aspiration or peripheral blood draw, using G banding procedure. FISH (Fluorescence in situ hybridization) uses probes of BCR and ABL to identify specific position on chromosome 9 and 22 and these probes also bind to variety of fluorescent stains.

**1.3.3. Bcr-abl copies testing:** molecular biology tests such as RT-PCR, RQ-PCR are used to determine type of bcr-abl as well as to quantify the copies to help monitor molecular response during treatment.

### 1.4. Stage diagnosis of CML

#### 1.4.1. Chronic phase:

Peripheral blood: Normochromic normocytic anemia, leukocytosis with WBC count  $\geq 50\text{G/l}$ ; granulocyte shows all different stages of maturation, blasts (or myeloblasts plus promyelocytes) account for  $< 15\%$ , eosinophilia and basophilia may occur.

Bone marrow: Hypercellularity, marrow cell count is over  $100\text{G/l}$ , myeloid lineages show all different stages of maturation, myeloid/erythroid ratio (M/E) is more than 10/1, blasts or myeloblasts plus promyelocytes account for less than 10% .

**1.4.2. Accelerated phase:** Blast (or myeloblast plus promyelocyte) percentage is more than 10% but less than 20% of WBCs in peripheral blood or bone marrow.

#### 1.4.3. Acute leukemia (blast phase):

Peripheral blood: The proportion of blasts (or myeloblasts plus promyelocytes) is elevated  $\geq 20\%$ , RBC and Hb levels are reduced with thrombocytopenia.

Bone marrow: Erythroid and megakaryocytic lineages are hypoplastic due to malignant cells infiltration; proliferation of blasts which account for  $\geq 20\%$  (or myeloblast plus promyelocyte).

### 1.7. Acute leukemia classification:

#### 1.5.1. FAB classification of acute leukemia:

Acute leukemia classification of FAB was first used in 1976, then modified in 1986 with the addition of some criteria based on antigen variation of blast membrane.

**FAB classification of acute leukemia with immunophenotype.**

Subtype	Morphology and cytochemistry	Membrane antigens
M0	Blasts $\geq 90\%$ of non-erythroid nucleated cells, no Auer bodies, $< 3\%$ MPO+	CD34+
M1	Blasts $\geq 90\%$ of non-erythroid nucleated cells, Auer bodies are rare, $> 3\%$ MPO+	HLA-DR, CD13, CD33, CD15, CD11±
M2	Blasts $< 90\%$ of non-erythroid nucleated cells, Auer bodies are plenty	HLA-DR, CD13, CD33, CD15, CD11±
M3	Promyelocytes $\geq 30\%$ Subgroup (variant): M3v	CD33, CD13, CD15, CD11
M4	20-80 % are monoblasts; Subgroup: M4eo	HLA-DR, CD34±, CD33, CD15±, CD14, CD64, CD11
M5	$\geq 80\%$ are monoblasts	HLA-DR, CD34±, CD33, CD15±, CD14, CD64, CD11
M6	$\geq 50\%$ are erythroblasts, myeloblasts $\geq 30\%$ of non-erythroid nucleated cells.	Glycophorin A
M7	$\geq 30\%$ are megakaryocytic precursors	HLA-DR, CD61, CD42, CD34±, CD33±
L1	Small cells with homogeneity of size and nuclear shape	ALL B cell: CD10, CD19, TdT
L2	Heterogenous cell sizes.	ALL T cell : CD3, CD5, TdT
L3	Large cells with prominent vacuolation	

**1.8. Treatment for acute leukemia transformation from CML****1.8.1. Chemotherapy**

In acute leukemia, chemotherapy is the mainstay of treatment to achieve remission. Chemotherapy can be used alone or in combination with targeted drug or with bone marrow transplantation. The treatment protocol of acute leukemia includes:

**Induction:** For acute myeloid leukemia transformation, '3+7' regimen is often used. The side effects of this may involve bone marrow failure, hair loss, digestive dysfunction, vomiting, anorexia and cardiomyopathy. Some other regimens can be used such as Tad (thioguanine - araC - daunorubicine), Ead (etoposide - arac-daunorubicine), mitoxatron, cladribine, fludara, etoposide... Consolidation therapy may include ADE, hidac... However, the remission rate as well as overall survival is not significantly different among those. For acute lymphoid leukemia, induction and consolidation therapy may involve daunorubicin, prednisolon, vincristin. Overall, patients with acute lymphoid leukemia have better prognosis than myeloid acute leukemia.

**Post-remission treatment:** the protocol is taken regularly every month by mild form of chemotherapy, lasting for 2-3 years post-remission, called maintenance therapy. Consolidation or re-induction therapy is to re-use the regimens of induction or apply a new regimen with the same strength in order to maintain remission state, reduce the risk of relapse, prolong the duration of complete remission. Common drugs used include 6-mercaptopurine, thioguanine, etoposide or ara-C.

**1.8.2. Chemotherapy in combination with molecular targeted drug**

Imatinib is used to help patients achieve cytogenetic remission so the rate of hematological remission is very high, approximately 96%. In chronic phase, the required daily dose for patients is only 400 mg. However, when the disease transforms into acute leukemia, imatinib dose may double and side effects as well as drug resistance also increase simultaneously. Since then, series of second-generation TK



inhibitors such as nilotinib, dasatinib, ponatinib, bosutinib... have brought about new prospects for patients with acute leukemia transformation from CML.

### 1.8.3. Types of bone marrow transplantation for CML

**Allogeneic transplantation:** considered as the only curative treatment for CML. By this method, high intensive chemotherapy and/or irradiation are used in order to eliminate the maximum malignant cells. Then the patient will be transplanted using stem cells from HLA matched donors. Allogeneic transplantation in chronic phase can help attain 5-year relapse free survival for 50-80% patients, longer than conventional chemotherapy.

**Autologous transplantation:** to reduce the level of malignant cells and delay acute leukemia transformation, myeloablative therapy may eliminate significantly residual blasts, autologous transplantation may regenerate hematopoiesis with negative Ph1 cells after high dose chemotherapy or interferon –  $\alpha$ .

**Cord blood stem cell transplantation** has some advantages such as immature immune system which requires less strictly HLA matched, the stem cell source is relatively available in cord blood banks so the searching time can be shortened. The main problem of this method is the low cell dose which may lead to graft failure.

## Chapter 2. STUDY SUBJECTS AND METHODS

### 2.1. Study subjects.

#### 2.1.1. Study subjects for clinical and laboratory features and classification of acute leukemia transformation from chronic myelogenous leukemia:

Including 215 patients aged 16 and above, who have been diagnosed as acute leukemia transformation from chronic myelogenous leukemia according to criteria of WHO 2001 and FAB 1986 classification with additional immunophenotypes. All the patients were treated at the National Institute of Hematology and Blood transfusion from 1/2009 to 12/2014.

### 2.1.2. Study subjects for evaluation of treatment outcomes:

Including 87 AML and 29 ALL transformation patients.

### 2.2. Study methods

**2.2.1. Study design:** clinical descriptive combined with retrospective and prospective studies.

#### 2.2.2. Evaluation criteria:

- **Confirmed diagnosis of acute leukemia transformation from chronic myelogenous leukemia according to WHO-2001.**

**\*Clinical criteria:** Anemia; infection; hemorrhage; infiltration syndrome; splenomegaly unresponsive to treatment.

**\*Laboratory criteria:** Blasts (myeloblasts plus promyelocytes)  $\geq$  20% in peripheral blood and/or bone marrow.

- **Criteria of acute myeloid leukemia:** Blasts account for  $\geq$  20% of bone marrow nucleated cells. Cytochemical stains show negative with P.A.S, positive with MPO and Sudan Black, expressions of lymphoid CD (CD3,7,10,19,20) are negative.

- **Criteria of acute lymphoid leukemia:** Blasts account for  $\geq$  20% of bone marrow nucleated cells. Cytochemical stains show positive with P.A.S, negative with MPO and Sudan Black, expressions of myeloid CD (CD33,14,15) are negative.

- **Criteria of acute leukemia subtypes:** according to FAB 1986 classification with additional immunophenotypes.

- **Induction regimen for acute myeloid leukemia:**

- For acute myeloid leukemia subtypes other than M3: use "3+7" regimen: Daunorubicin: 45 mg/m<sup>2</sup> body surface/day from day 1-3; Cytosar: 100 mg/m<sup>2</sup> body surface/day from day 1-7.

- For acute promyelocytic leukemia (M3): Daunorubicin: 45 mg/m<sup>2</sup> body surface/day from day 1-3; ATRA 45 mg/m<sup>2</sup> body surface as daily dose.

- **Induction regimen for acute lymphoid leukemia:** Modified LALA 94 regimen: Doxorubicin 30 mg/m<sup>2</sup> body surface/day on day 1,8,15,22; Vincristin 1.4 mg/m<sup>2</sup> body surface/day on day 1,8,15,22;

Prednisolon 40 mg/m<sup>2</sup> body surface/day from day 1-15, then taper and end in the fifth week, (if leukocyte count >10 G/l, addition of Cyclophosphamide 200mg/day from day 1-14 is required). Central nervous system infiltration prevented by intrathecal injection with methotrexate in the second and the fourth week of the treatment course.

- **Evaluation criteria of the treatment outcomes:** evaluate after 4 weeks of treatment using criteria from National Cancer Institute of the United States.

+ Complete remission: the patient is clinically stable, with neutrophil count > 1 G/l, Hct 0.3 l/l, platelet count >100 G/l, no blast in peripheral blood, blasts in bone marrow account for <5% on a normal hematopoiesis background.

+ Incomplete remission: blasts in bone marrow 5- 25%.

+ No remission: blasts in bone marrow >25%.

### 2.2.3. Laboratory procedures applied in the study

– Hemogram and myelogram testing.

– Cytochemical staining: performed by 5 methods: Peroxidase (MPO), Sudan Black, P.A.S, specific and unspecific Esterase staining.

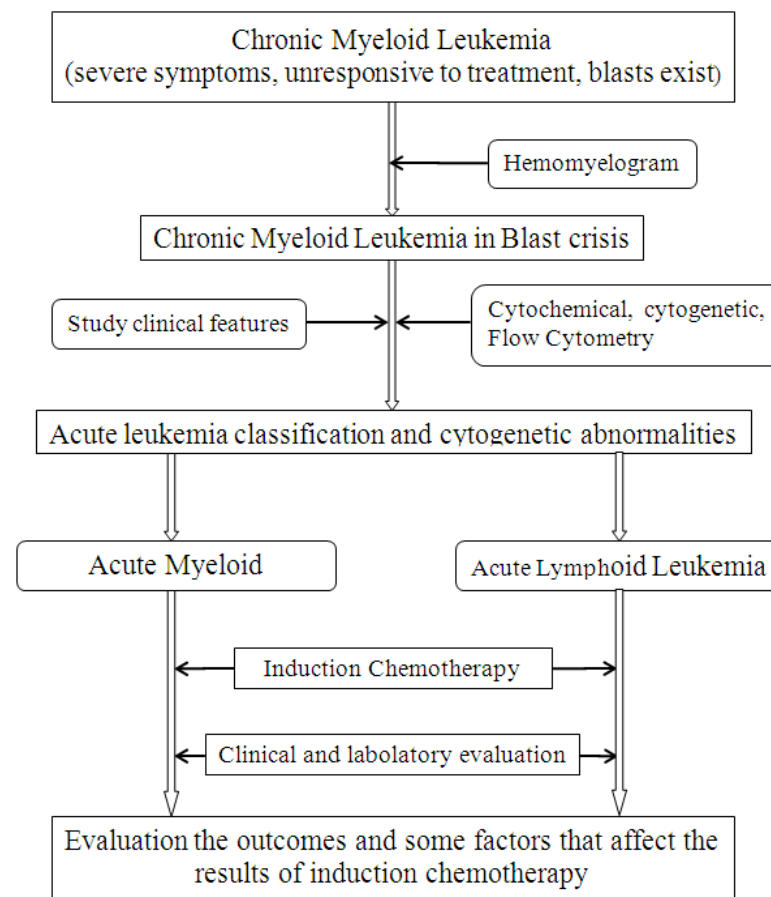
– Membrane antigens identification using monoclonal antibodies by flow cytometry with Panel including: MPO; CD13; CD33; CD34; CD117; CD14; CD61; CD64; glycophorin A; HLA-DR; CD19; cyCD22; CD10; CD20; CyCD3; CD2; CD7; CD5; CD16, CD56; Tdt.

– **Cytogenetic testing:** Karyotyping (G banding) and fluorescence in situ hybridization (FISH).

– **Molecular biology testing:** use PCR technique with specific primers for detection of gene mutation.

**2.4. Statistical analysis:** data management, analysis and processing by Excel 2010 and SPSS 13.0.

### Study diagram



## Chapter 3. STUDY RESULTS

### 3.1. Some general features of study subjects

Median age was  $43.1 \pm 14.1$ . In detail, median age of 168 AML patients was  $44.8 \pm 13.9$ ; median age of 42 ALL patients was  $37.8 \pm 13.4$  and it was  $39.8 \pm 15.6$  for 5 mixed phenotype myeloid-lymphoid leukemia patients.

Among 215 patients, there were 143 males which account for 66.5% and 72 females which account for 33.5%. The male/female ratio was 1.99. Among those, AML group had male/female ratio as 108/60 (1.8), and this was 30/12 (2.5) for ALL.

### 3.2. Clinical and laboratory features and classification according to FAB.

**3.2.1. Clinical features at the time of hospitalization:** The most common symptoms were splenomegaly which accounted for 100% cases (class IV splenomegaly was the most common type-46.1%) and anemia (99%). Infection, hemorrhage, hepatomegaly and lymphadenopathy were seen in 24.6%; 26.5%; 33.0% and 14.9% of the patients respectively. Solitary splenomegaly was seen in 123 patients (57.2%), hepatosplenomegaly seen in 60 patients (27.9%) while splenomegaly combined with lymphadenopathy was seen in 21 patients (9.8%); 11 patients had all splenomegaly, hepatomegaly and lymphadenopathy (5.1%).

### 3.2.2. Laboratory features at the time of hospitalization:

+ Peripheral blood cell counts: low RBC counts (median:  $2.72 \pm 0.79$  T/l) and low Hb level (median:  $84.6 \pm 22.0$  g/l, proportion of cases with Hb  $<100$  g/l was 72.6%). Platelet counts were also reduced (median:  $82.9 \pm 132.1$  G/l, 48.1% of the patients had platelet count below 50 G/l, 2.8% had platelet count over 450 G/l). WBC counts were high (median:  $65.5 \pm 81.9$  G/l, 42.8% of the cases had WBC from 10-50 G/l, 17.7% had WBC from 50-100 G/l and 20.4% had WBC over 100 G/l. 01 patients had WBC  $< 1$  G/l). In WBC components, blasts accounted for median  $50.6 \pm 26.4$  %; basophilia

was seen in median  $3.2 \pm 5.9$ % of the cases; 9.8% of the patients had basophil percentage over 10%.

+ Bone marrow analysis: median cell count was  $282.8 \pm 243.5$  G/l, the median proportion of blast was 60.5%; all normal hematopoietic lineages showed hypoplasia.

+ Karyotyping of 173 patients: 97.7% had chromosomal abnormalities. These were seen in 97.9% of AML patients and 96.7% of ALL patients. 37.6% of the patients were detected changes in chromosome number and the most common forms were the existence of two Ph1 chromosomes (12.7%), trisomy 8 (5.2%), trisomy 21 (4.6%) and trisomy 7 (4.0%). Numerical chromosome aberration of AML patients was seen in 37.9% cases and 36.7% for ALL. 97.7% of the patients had structural anomaly such as: translocation, deletion...35.8% of the cases had both numerical and structural aberrations of chromosomes. Among those, AML patients accounted for 35.7% and ALL patients accounted for 36.7%.

+ 137 patients were tested for identifying bcr-abl gene: the rate of positive was 97.8%. The most common mutation was Major bcr-abl which accounted for 92.7% of the cases. Especially, 5 patients (3.6%) had both Major bcr-abl and Minor bcr-abl.

### 3.2.3. Classification of acute leukemia transformation from CML according to F.A.B with additional criteria.

Acute leukemia transformation from CML may originate from almost all subtypes and cellular lineages. Among those, M2 was the most common subtype with the rate 49.3%, the next common subtype was L2 - 18.6%, then M4 - 14.4% and M1 - 7.0%. Especially, we recognized 5/215 patients (2.3%) had myeloid-lymphoid mixed phenotype leukemia. Acute lymphoid leukemia transformation from CML has 90.9% B - lympho.

### 3.3. The outcomes of induction chemotherapy for patients with acute leukemia transformation from CML.

Including 116 patients with 87 patients classified as AML (75%) and 29 patients classified as ALL (25%).

#### 3.3.1. Age and gender of treated patients.

The mean age was  $39.3 \pm 2.3$  for AML patients in which the rate of males was 71.3% and females was 28.7%. For ALL patients, the mean age was  $33.9 \pm 10.2$ ; males accounted for 75.9% and female 24.1%.

#### 3.3.2. Distribution of leukemia subtypes among treated patients

87 treated AML patients were classified as M2 subtype with the highest proportion (47.4%), then followed by M4 (14.6%) and M1 (5.2%).

29 ALL patients were all classified as L2 subtype.

#### 3.3.3. The outcomes of chemotherapy for patients with AML transformation from CML.

- **Clinical features:** symptoms such as anemia, infection, hemorrhage, hepatomegaly, splenomegaly and lymphadenopathy were reduced after treatment with statistical significance ( $p < 0.05$ ).

- **Peripheral blood indexes:** after treatment, the counts of RBCs, Hb, platelets and reticulocytes were raised higher compared with those before treatment, respectively: 2.79 T/L vs 3.62 T/L; 86.6 g/l vs 114 g/l; 88.2 G/L vs 129 G/L, with  $p < 0.05$ . Post-treatment WBC counts, blast percentages were decreased compared with pre-treatment, respectively 57.7 G/L vs 10.2 G/L and 48.6 % vs 12.5 %, with  $p < 0.01$ . Blasts were seen mostly in no remission or incomplete remission patients.

- **Bone marrow:** the pre-treatment mean marrow cell count was  $169.9 \pm 114.7$  G/l. After treatment, it returned within normal limits, with statistical significance ( $p < 0.05$ ). Before treatment, the rate of blast was very high at 57.6%, erythroid and granulocytic lineages were both hypoplastic. After treatment, the rate of blasts was reduced to average 26.3% mostly seen in no remission or incomplete

remission patients; erythroid and granulocytic lineages were recovered to normal with  $p < 0.05$ .

- **Induction chemotherapy response:** 19.5% of patients achieved complete remission, the rate of incomplete remission was 13.8%, no remission 55.2% and mortality 11.5%. Among mortalities, 3 cases were caused by intracranial bleeding (30%), 4 cases by septicemia followed by septic shock (40%) and 3 cases by respiratory failure after pneumonia (30%). All the patients died in the condition of severe marrow failure after induction chemotherapy.

#### 3.3.4. The outcomes of chemotherapy for patients with ALL transformation from CML.

- **Clinical features:** after treatment, symptoms such as anemia, infection, hemorrhage, infiltration syndrome were reduced compared with pre-treatment. 93.1% of the patients had anemia before treatment, but post-treatment this was lowered to 24.1% with  $p < 0.05$ .

- **Pre- and post-treatment peripheral blood indexes:** before treatment, the level of Hb and platelets were  $85.3 \pm 22.8$  g/l and  $78.4 \pm 88.6$  G/l, but after treatment, they were raised to  $116 \pm 12.4$  g/l and  $151.3 \pm 81.6$  G/l. Pre-treatment WBC count mean was  $53.4 \pm 73.4$  G/l and post-treatment was  $11.2 \pm 4.2$  G/l, the proportion of blasts before treatment was  $52.3 \pm 28.9\%$  and after treatment was  $9.5 \pm 14.7\%$  (blasts only seen in no remission patients). All differences were statistically significant ( $p < 0.05$ ).

- **Pre- and post-treatment bone marrow analysis:** the level of marrow cells before treatment was very high, at average  $198.2 \pm 125.1$  G/l. After treatment, it decreased to normal limits as  $69.1 \pm 36.9$  G/l, with  $p < 0.05$ . The pre-treatment blast percentage was 69.6%; erythroid and granulocytic lineages were hypoplastic. After treatment, the rate of blast was reduced to 19.1%, mostly seen in no remission or incomplete remission patients; the proportion of erythroid and granulocytic cells returned to normal limits. These differences were statistically significant ( $p < 0.05$ ).

– **Induction chemotherapy response:** The proportion of complete remission was 37.9%, incomplete remission 17.3%, no remission 37.9% and mortality 6.9%.

### **3.3.5. Some factors that affect the result of treatment with CML in blast crisis.**

– The rate of complete remission showed some differences by age, gender and chronic phase duration but these were not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

- Patients with proportion of blasts over 30% in peripheral blood had better complete remission rate compared with ones who had the rate below 30% (18.2% vs 42.9%, with  $p < 0.01$ ).

- The rate of complete remission is divergent between groups with Hb level higher and lower than 100g/l, platelet counts higher and lower than 100G/l, WBC count higher and lower than 20 G/l, marrow blast percentage higher and lower than 30%, but all these differences were not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

– AML patients had worse complete remission rate compared with ALL patients (19.5% vs 37.9%), this difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ).

– The complete remission rate of group with additional chromosomal aberration other than Ph1 was lower than that with only Ph1 chromosomal aberration (5.1% vs 37.1%, with  $p < 0.01$ ).

– Patients with no additional chromosomal aberration had higher complete remission rate compared with ones with additional chromosomal aberration, the difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). Remission possibility of patients with no additional chromosomal aberration was 5.1 times higher than group with additional chromosomal aberration apart from Ph1.

## **Chapter 4. DISCUSSION**

### **4.1. General features of study subjects**

#### **4.1.1. Features of gender**

We conducted the study on 215 patients with acute leukemia transformation from CML, in which there were 143 males (66.5%) and 72 females (33.5%). The male/female ratio was 1.99. Kantarjian HM studied 242 CML patients in blast phase with 155 males and 87 females. The data from studies of Marks, Hernandez JC, Cervantes F và Wadhwa J was similar.

#### **4.1.2. Features of age**

Median age of patients according to studies of Cervantes F, Palandri F, Axdorph U, Wadhwa J, Kantarjian HM were respectively 45, 55, 55, 39, 46. In our study, the mean age was  $43.1 \pm 14.1$  and this showed no difference compared with previous studies. As reported by Wadhwa J, Cortes J, Sacchi S, the mean ages of patients with acute leukemia transformation from CML were respectively 44, 55, 47 years old. Patients with ALL transformation from CML had mean age as 36, 49.5 and 48 years old as stated in reports of Wadhwa J, Cortes J and Strati P. We had similar results compared with other authors.

### **4.2. Clinical features, hematological testing results and subtype classification.**

#### **4.2.1 Clinical features at the time of hospitalization**

Marks studied 50 patients with acute leukemia transformation from CML and found out the rate of anemia as 71%. Derrdrian PM, after following up 296 patients, reported the anemia rate as 43%. Our study observed a statistically significantly higher anemia rate with  $p < 0.05$ . Therefore, anemia was one of the major causes for patients to be admitted to hospital. Rosenthal S found 6/23 patients suffering from infection with the rate 8% while study of Marks reported the infection rate as 24.4% on 45 patients. Similarly, 24.6% of patients in our study had infection. Etiology may be the overwhelming of blasts to normal neutrophil lineages which lead to weaker resistance of patients against infection. Marks revealed that 68% of patients with acute leukemia transformation from CML had splenomegaly. Wadhwa J also realized this symptom in 58% of cases. Compared

with those, the rate in our study is obviously higher with 100% of patients having splenomegaly ( $p < 0.01$ ). The hepatomegaly rates as reported by Marks, Wadhwa J, Derdrian PM, Cervantes F, Rosenthal S were respectively 26%, 58%, 8%, 69% and 52%. Our results showed 33% of the patients with hepatomegaly. Splenomegaly might result from unresponsiveness to previous treatment or taking medicine without following prescription or the disease had transformed into advanced stage.

#### **4.2.2. Hematological testing features of patients with acute leukemia transformation**

Patients with acute leukemia transformation from CML in our study had mean Hb level as  $84.6 \pm 22.0$  g/l which was lower than that reported by other authors. The mean Hb levels according to studies of Wadhwa J, Cervantes F, Palandri F, Griesshammer M were 103; 102; 95; 100 g/l respectively. The explanation for this maybe patients in our study were not strictly followed up in chronic and accelerated phase, or they took medicine without following prescription such as dose self-adjustment, quitting... or be admitted to hospital at advanced stage. Cervantes F reported the mean WBC count of blast phase as 68.0 G/L. This was similar to our results. Cervantes F also noticed that the rate of basophils was 7.6%. As stated in Marks' study on 50 patients, 16% of them had basophil proportion  $\geq 10\%$ . In our study, 9.8% of the patients had basophil proportion  $\geq 10\%$ . Raised basophil proportion in peripheral blood is one of important signs for recognizing the disease in process of acute leukemia transformation. Results from studies of Wadhwa J, Palandri F, Griesshammer M revealed that patients with acute leukemia transformation from CML had mean platelets count lower than usual. The platelet levels of patients in our study were similar to those. This may resulted from the proliferation of blast which then overwhelmed the growth of megakaryocytes or produced coagulation disorders leading to platelets consumption. We observed that 2.8% of patients had platelet counts over 450 G/L. Marks also found out 8/50 patients (16%) with

platelet counts higher than 400 G/L. Possibly, patients in accelerated phase had high platelet counts and acute leukemia transformation occurred rapidly. In our study, the marrow cellularity was elevated, mean count was  $282.8 \pm 243.5$  G/l. The marrow cell counts varied in a very wide range from 10 to 660 G/l and more than 70% of patients had cell count over 100 G/l. The blast percentages were high, at average 60.5% while granulocytic and erythroid lineages were hypoplastic. The blast rates in peripheral blood as reported by Palandri F, Cervantes F, Griesshammer M were respectively 28.5%, 23%, 30% and they were all lower than the result of our study (50.6%), with  $p < 0.05$ ; the bone marrow blasts proportion in our study was 60.5% which was significantly higher than the results by Cervantes F (40%), Wadhwa J (47%) ( $p < 0.05$ ) but not different from report of Griesshammer M (70%). These differences may be caused by lacking of knowledge and warning about the disease, low economic condition and maybe due to our non-stringent following up.

#### **4.2.3. Features of genetic and chromosomal aberrations**

From karyotyped 173 patients, we found that 12.7% of them had an additional Ph1 chromosome when in acute leukemia stage. This proportion was lower than the results of Kantarjian HM (26.4%), Alimena G (24.6%) with  $p < 0.05$  but not significantly different from that of Tang X (9.7%). In our study, 5.2% of the cases had trisomy 8 which was higher than the results observed by Kantarjian HM (25.2%), Alimena G (31.9%), with  $p < 0.05$ . We noticed that i(17q) mutation accounted for 2.9% of the cases, significantly lower than reports from Kantarjian HM (17.8%), Alimena G (11.6%) and Derdrian PM (15%), with  $p < 0.05$ .

Bcr-abl mutation was identified in 80% of the patients. Abl mutation in the late chronic phase with imatinib resistance is considered to be associated with higher risk of blast phase transformation. Other mutations which have relationship with blast phase transformation include p53, RUNX-1, IKZF1, ASXL1, WT1, TET2, IDH1, NRAS, KRAS and CBL mutation. Moreover, gene

overexpression, reduction or loss of gene regulation commonly seen in blast phase include SOCS2, CD52, HLA, PRAME, JunB, Fos, FosB, I18 and genes of Wnt/B-catenin pathway.

#### **4.2.4. Classification of acute leukemia transformation from CML by morphology, cytochemistry and immunophenotype**

As stated in studies of Marks, Wadhwa J, Palandri F, Axdorph U, Cortes J, Palandri F, the rate of acute leukemia transformation were very high respectively as 80%, 77.1%, 83.6%, 69.4%, 77.1%. Sacchi S realized that among 162 acute non-lymphoid leukemia transformed patients: 109 belonged to myeloid subtypes (67%), 10 classified as megakaryocytic subtype (6%). The results in our study were similar to previous reports. This was an evidence to confirm that CML originates from hematopoietic stem cell defects.

#### **4.3. Some factors that affect the result of treatment with CML in blast crisis**

##### **4.3.1. Clinical outcomes of treatment for patients with acute leukemia transformation from CML**

Clinical results showed that all symptoms were significantly improved compared with pre-treatment condition,  $p < 0.05$ . Anemia was lessened because of RBC transfusion and better development of erythroid lineage. Acute leukemia patients are often susceptible to infection due to declined neutrophils. Infection was limited because patients were treated with antibiotics, antifungal and antivirus agents for the whole courses of therapy. Hemorrhage proportion was reduced thanks to blood products transfusion and application of coagulation modifiers, and platelet levels were concomitantly raised due to gradually recovery of megakaryocytic lineage. Infiltration syndrome was reduced because of decreased WBC counts and blasts rate.

##### **4.3.2. Features of some hematological indexes pre- and post-induction chemotherapy.**

According to some studies of Pham Nu Van Nga, Le Van Yen, Nguyen Thi Thu Hoa..., the levels of Hb, WBC, platelets, blast rate at the time of acute leukemia transformation were all associated with

treatment response. Thus, after induction chemotherapy, bone marrow hematopoiesis was recovered, malignant cells were eliminated and functions of organs such as the liver, spleen... were improved and no longer infiltrated by cancer cells.

##### **4.3.3. Induction chemotherapy response of patients with acute myeloid leukemia transformation from CML**

Sacchi S, after evaluation of treatment for 162 patients with AML transformation from CML using a variety of regimens, revealed that overall complete remission rate was 22% for all regimens. This rate as reported by Cervantes F was 21.1%. The result in Marks's study was lower as 13%. In our study, the complete remission rate was 19.5%, similar to results from other authors ( $p > 0.05$ ). In comparison with results from studies about primary AML treatment of Vogler WR, Wiernick PH, Weick JK, Zittoun RA, the complete remission rates were respectively 58%, 49%, 54% and 66%. As reported by Huynh Van Man, 59.7% of patients achieved complete remission. Our study observed a much lower rate, with  $p < 0.01$ . According to studies about chromosomal mutation in AML patients, presence of Ph1 chromosome provided a poor prognosis. In fact, almost all patients with acute leukemia transformation from CML had poor prognosis chromosomal aberration because of Ph1 chromosome.

##### **4.3.4. Induction chemotherapy response of patients with acute lymphoid leukemia transformation from CML**

Derderian PM after having 59 patients treated for ALL transformation from CML reported a complete remission rate as 49%. This rate was lower as stated in study of Sales V (14.3%). In our study, 37.9% of the patients achieved complete remission. The differences amongst complete remission rates were not statistically significant with  $p > 0.05$ . According to domestic studies as well as foreign studies, primary ALL patients had high complete remission rates such as: Bach Quoc Khanh (82.6%), Fiere D (76%), Rowe J (91%), Thomas X (84%)... Thus, compared with primary ALL group, the complete remission rates of patients in our study was significantly

lower with  $p < 0.01$ . This may be explained by the relationship between these patients with accompanying chromosomal aberrations, especially Ph1 chromosome.

\* *Comparison between induction chemotherapy response for acute leukemia transformation from CML and the outcomes of trials using molecular targeted therapy:*

As reported by Palandri F, Sawyers CL, Kantarjian HM, Sureda A, the usages of imatinib for acute leukemia transformation from CML provided a complete hematological remission rate over 50% in the majority of studies. For patients with accelerated phase and blast phase of CML treated with imatinib, phase II trials results showed a hematological response at 82% and cytogenetic response at 24%. Giles FJ after using nilotinib for 137 patients with blast phase noticed a complete hematological remission rate as 60% for AML and 59% for ALL transformation patients. Compared with our study, there were statistically significant differences with  $p < 0.01$ . Apparently, the combination of chemotherapy and targeted drugs provided a better prospect for treatment of the disease.

#### **4.3.5. Factors associated with remission rates**

– **Ages, gender and duration of chronic phase:** Kantarjian HM realized that patients over 50 years old had worse complete remission rate than other groups. According to Schneller, Sacchi S, Bauduer, complete remission rates were not affected by factors including ages, gender, duration of chronic phase, which shared the same opinion with our study.

– **Some hematological indexes:** Kantarjian HM observed that patients with platelet counts below 50 G/l at the time of acute leukemia diagnosis had significantly lower complete remission rate ( $p < 0.01$ ). As reported from studies of Schneller, Sacchi S, Bauduer, the rates of complete remission were not impacted by hematological indexes, similarly to our study. However, patients with high percentages of blast had lower complete remission rates and this was a poor prognosis factor for treatment response.

– **Subtype classification:** Our study shared the same results with other authors such as Kantarjian HM and Derderian that patients with ALL transformation had better treatment response compared with AML transformation.

– **Chromosomal aberrations:** all authors reported that patients with additional chromosomal aberrations beside the original Ph1 chromosome had lower complete remission rates, especially second Ph1 chromosome, trisomy 8, isochromosome 17. Our study had the same results.



## CONCLUSION

After studying 215 patients with acute leukemia transformation from CML including 116 patients undergone induction chemotherapy from 01/2009 to 10/2014, we have concluded that:

### 1. Clinical and laboratory features and classification of acute leukemia transformation from CML.

- The mean age of study group was  $43.1 \pm 14.1$  y.o., male/female ratio was 1.99.

- Anemia (99.0%) and splenomegaly (100%). Class IV splenomegaly consisted of 46.1%.

- The levels of RBCs, Hb and platelets were reduced. WBC counts were highly elevated; peripheral blood and bone marrow blast rates were 50.6% and 60.5%.

- 94.8% of patients had Ph1 chromosome and 97.8% had bcr-abl gene. 37.6% of patients had numerical chromosomal aberrations. The most common genetic mutation was Major bcr-abl.

- Acute leukemia transformation from CML can be classified into all subtypes. M2 subtype accounted for the highest rate (49.3%), L2 subtype (18.6%) and M4 (14.4%).

### 2. The outcomes of induction chemotherapy for acute leukemia transformation from CML (including 87 AML patients and 29 ALL patients).

- The proportions of patients with clinical symptoms such as anemia, infection, hemorrhage, infiltration were highly reduced compared with pre-treatment conditions.

- The levels of RBC, Hb, platelets were increased compared with pre-treatment conditions. WBC counts and bone marrow cellularity returned to normal ranges.

- For AML patients, 19.5% achieved complete remission, 13.8% incomplete remission, 55.2% no remission and mortality 11.5% after treatment.

- For ALL patients, 37.9% achieved complete remission, 17.3% incomplete remission, 37.9% no remission and mortality occurred in 2 patients (6.9%).

- Complete remission rate of ALL patients was significantly higher than AML patients.

- Complete remission rates of patients without additional chromosomal abnormality other than Ph1 was higher than patients with additional chromosomal abnormality other than Ph1.

## RECOMMENDATIONS

- Hemomyelogram should be tested when the patients have one of these symptoms: more severe anemia, hemorrhage, splenomegaly unresponsive to treatment, Hb level reduced compared with before, platelets counts decreased or blast appearance in peripheral blood.

- Induction chemotherapy regimen should be applied for patients with AML and ALL transformation from CML at medical centers.

**THE LIST OF WORKS RELATED TO THE THESIS  
THAT HAS BEEN PUBLISHED**

1. Nguyen Ngoc Dung, Nguyen Anh Tri, Nguyen Ha Thanh & al (2014). Study on some chromosome and bcr-abl gene of chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Vietnam Medical Journal*, 423, pp. 213-218.
2. Nguyen Ngoc Dung, Le Xuan Hai, Nguyen Trieu Van & al (2014). Study on some hematology and classification of chronic myeloid leukemia in blast crisis at NIHBT. *Vietnam Medical Journal*, 423, pp. 737 – 742.