

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**



**CÂN THỊ BÍCH NGỌC**

**NGHIÊN CỨU ĐỘT BIẾN GEN,  
LÂM SÀNG VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH  
ĐÁI THÁO ĐƯỜNG SƠ SINH**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI, 2017**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

**CÁN THỊ BÍCH NGỌC**

**NGHIÊN CỨU ĐỘT BIẾN GEN,  
LÂM SÀNG VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH  
ĐÁI THÁO ĐƯỜNG SƠ SINH**

Chuyên ngành : Nhi khoa

Mã số : 62720135

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nguyễn Thị Hoàn**

**HÀ NỘI, 2017**

## LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đối với Phó Giáo sư, Tiến sĩ Nguyễn Thị Hoàn, người thầy đã tận tụy dạy dỗ, hướng dẫn, động viên tôi trong thời gian học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Tiến sĩ, bác sĩ Vũ Chí Dũng, trưởng khoa Nội tiết – Chuyển hóa – Di truyền, người thầy, người lãnh đạo luôn tận tình chỉ bảo, hướng dẫn, động viên và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đối với Ban Giám hiệu Trường Đại học Y Hà Nội, các Thầy, Cô Bộ môn Nhi, các Thầy, Cô và các cán bộ nhân viên Phòng quản lý Đào tạo Sau Đại học Trường Đại học Y Hà Nội đã giúp đỡ tôi tận tình và dành cho tôi sự động viên quý báu trong quá trình làm luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đối với Ban Giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương, các Thầy, Cô, các đồng nghiệp và toàn thể nhân viên Khoa Nội tiết – Chuyển hóa – Di truyền, Khoa Di truyền Sinh học phân tử, Khoa Sinh hóa, Phòng Kế hoạch Tổng hợp và các đồng nghiệp của Bệnh viện Nhi Trung ương đã giúp đỡ, tạo điều kiện và cổ vũ tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đối với Giáo sư Sian Ellard và các đồng nghiệp tại Phòng xét nghiệm Di truyền phân tử, Đại học Y Exeter, Giáo sư Karen Temple và các đồng nghiệp tại phòng xét nghiệm di truyền vùng Wessex, Đại học Southampton, vương quốc Anh đã truyền đạt kiến thức và hỗ trợ xét nghiệm cho tôi trong quá trình làm luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới các Giáo sư, Phó Giáo sư, Tiến sĩ, các Thầy, Cô là thành viên hội đồng bảo vệ luận án cấp Bộ môn, cấp Trường, các nhà khoa học tham gia phản biện độc lập vì những ý kiến góp ý và chỉ bảo quý báu để tôi hoàn thiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các bệnh nhi và các gia đình bệnh nhi, những người đã góp phần lớn nhất cho sự thành công của luận án.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới gia đình gồm bố mẹ, anh chị em và chồng con tôi vì những hy sinh và đã động viên tôi trong quá trình làm việc, học tập và nghiên cứu.

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là CÁN THỊ BÍCH NGỌC, nghiên cứu sinh khóa 31, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nhi khoa xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Phó Giáo sư, Tiến sỹ Nguyễn Thị Hoàn.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này

*Hà Nội, ngày 15 tháng 8 năm 2017*

Cán Thị Bích Ngọc

## MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC CÁC BẢNG

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ .....</b>	<b>1</b>
<b>Chương 1. TỔNG QUAN .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Thuật ngữ, danh pháp và phân loại đái tháo đường sơ sinh .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Lịch sử nghiên cứu đái tháo đường sơ sinh .....</b>	<b>3</b>
1.2.1. Lịch sử nghiên cứu trên thế giới .....	3
1.2.2. Lịch sử nghiên cứu đái tháo đường sơ sinh ở Việt Nam.....	5
<b>1.3. Các gen gây ĐTĐ sơ sinh và cơ chế bệnh sinh .....</b>	<b>5</b>
1.3.1. Các gen gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời và cơ chế bệnh sinh .....	5
1.3.2. Các gen gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn và cơ chế bệnh sinh.....	8
1.3.3. Một số hội chứng kết hợp với ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn: .....	12
<b>1.4. Biểu hiện lâm sàng liên quan đến đột biến gen .....</b>	<b>13</b>
1.4.1. Lâm sàng của đái tháo đường sơ sinh tạm thời.....	13
1.4.2. Đái tháo đường sơ sinh vĩnh viễn.....	17
<b>1.5. Các phương pháp điều trị ĐTĐ sơ sinh .....</b>	<b>24</b>
1.5.1. Nguyên tắc điều trị .....	24
1.5.2. Các thuốc điều trị .....	24
1.5.3. Điều trị cụ thể .....	28
<b>1.6. Kết quả điều trị.....</b>	<b>35</b>
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1. Đối tượng nghiên cứu.....</b>	<b>39</b>
<b>2.2. Phương pháp nghiên cứu.....</b>	<b>39</b>

<b>2.3. Các chỉ số nghiên cứu .....</b>	<b>41</b>
2.3.1. Đặc điểm nhân khẩu học .....	41
2.3.2. Đặc điểm lâm sàng .....	41
2.3.3. Đặc điểm hoá sinh và di truyền phân tử.....	41
2.3.4. Điều trị và đánh giá kết quả điều trị.....	41
<b>2.4. Phương pháp thu thập số liệu .....</b>	<b>42</b>
2.4.1. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 1 .....	42
2.4.2. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 2 .....	44
2.4.3. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 3 .....	47
<b>2.5. Xử lý số liệu.....</b>	<b>52</b>
2.5.1. Cách mã hóa .....	52
2.5.2. Xử lý số liệu .....	52
<b>2.6. Đạo đức trong nghiên cứu .....</b>	<b>53</b>
<b>Chương 3. KẾT QUẢ.....</b>	<b>54</b>
<b>3.1. Phát hiện đột biến một số gen gây đái tháo đường sơ sinh .....</b>	<b>54</b>
3.1.1. Các thể ĐTĐ sơ sinh theo các đột biến gen .....	55
3.1.2. Đột biến gen <i>ABCC8</i> .....	56
3.1.3. Đột biến gen <i>KCNJ11</i> .....	59
3.1.4. Đột biến gen <i>INS</i> .....	60
3.1.5. Bất thường 6q24.....	61
3.1.6. Các đột biến gen trong các hội chứng hiếm gặp .....	66
<b>3.2. Đối chiếu kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh.....</b>	<b>67</b>
3.2.1. Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các thể ĐTĐ sơ sinh .....	67
3.2.2. Mối liên quan giữa kiểu gen, thể lâm sàng và sinh hóa .....	67
<b>3.3. Kết quả điều trị đái tháo đường sơ sinh.....</b>	<b>74</b>
3.3.1. Phương pháp điều trị .....	74
3.3.2. Kết quả kiểm soát glucose.....	77
3.3.3. Kết quả phát triển tâm thần vận động .....	80
3.3.4. Tác dụng không mong muốn khi điều trị.....	81

<b>Chương 4. BÀN LUẬN</b> .....	<b>82</b>
<b>4.1. Xác định đột biến gen ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh</b> .....	<b>82</b>
4.1.1. Đột biến gen <i>ABCC8</i> .....	84
4.1.2. Đột biến gen <i>KCNJ11</i> .....	87
4.1.3. Đột biến gen <i>INS</i> .....	88
4.1.4. Đột biến trên nhiễm sắc thể số 6 .....	89
4.1.5. Đột biến gen trong các hội chứng hiếm gặp .....	92
<b>4.2. Tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của ĐTĐ sơ sinh</b> .....	<b>94</b>
4.2.1. Đột biến gen và đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân khi chẩn đoán	94
4.2.2. Đột biến gen <i>ABCC8</i> và biểu hiện lâm sàng .....	97
4.2.3. Đột biến gen <i>KCNJ11</i> và biểu hiện lâm sàng .....	100
4.2.4. Đột biến gen <i>INS</i> và biểu hiện lâm sàng .....	102
4.2.5. Đột biến NST số 6 và biểu hiện lâm sàng .....	104
4.2.6. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân do đột biến gen trong hội chứng hiếm gặp .....	107
<b>4.3. Kết quả điều trị</b> .....	<b>110</b>
4.3.1. Phương pháp điều trị .....	112
4.3.2. Kết quả kiểm soát glucose máu .....	115
4.3.3. Kết quả phát triển tâm thần, vận động .....	116
4.3.4. Tác dụng không mong muốn khi điều trị bằng insulin hoặc sulfonylureas .....	117
<b>KẾT LUẬN</b> .....	<b>119</b>
<b>KIẾN NGHỊ</b> .....	<b>121</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ VỀ NỘI DUNG LIÊN     QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

<i>ABCC8</i>	ATP Binding Cassette subfamily C member 8
AIHA	AutoImmune Hemolytic Anemia (Thiếu máu tan máu tự miễn)
ANA	AntiNuclear Antibodies (kháng thể kháng nhân)
Cs	Cộng sự
DEND	Developmental delay, Epilepsy, and Neonatal Diabetes (Chậm phát triển tâm thần, động kinh và đái tháo đường sơ sinh - Hội chứng DEND)
DMR	Differentially methylated regions
ĐTĐ	Đái tháo đường
<i>EIF2AK3</i>	Pancreatic Eukaryotic Initiation Factor 2 $\alpha$ Kinase
ER	Endoplasmic Reticulum (lưới nội bào)
<i>FOXP3</i>	Forkhead box protein P3
GAD	Glutamate AntiDecarboxylase (kháng thể kháng Decarboxylase)
<i>GCK</i>	Glucokinase
<i>GLIS3</i>	GLIS family zinc finger 3
HAA	Harmonin AutoAntibodies (kháng thể kháng harmonin)
HbA1C	Hemoglobin A1C
HNF1B	Hepatic Nuclear Factor 1 $\beta$
HSCT	Hematopoietic Stem Cell Transplantation (ghép tế bào gốc tạo máu)
IAA	Insulin Against Autoantibodies (tự kháng thể kháng insulin)
ICA	Islet Cell Antipancreatic (kháng thể kháng tiểu đảo tụy)
IUGR	Intra Uterous Growth Retardation (chậm phát triển trong tử cung)
INS	Insulin
IPEX	Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, and Enteropathy, X-Linked syndrome
$K_{ATP}$	ATP-Sensitive potassium channels (kênh kali nhạy cảm ATP)
<i>KCNJ11</i>	Potassium voltage-gated channel subfamily J member 11



NST	Nhiễm sắc thể
<i>NEUROD1</i>	Neurogenic differentiation 1
<i>NEUROG3</i>	Neurogenin-3
OMIM	Online Mendelian Inheritance in man
<i>PAX6</i>	Paired box gene 6
<i>PDX1</i>	Pancreatic and duodenal homeobox 1
<i>PLAGL1</i>	Pleomorphic adenoma gene - like 1
<i>PDX1</i>	Pancreatic and Duodenal homeobox 1
<i>PTF1A</i>	Pancreas specific Transcription Factor, 1a
SU	Sulfonylurea
SUR1	Sulfonylurea receptor 1 (thụ thể nhận cảm 1 của sulfonylurea)
<i>SLC19A1</i>	Solute carrier family 19, member 1 (folate transporter)
<i>SLC2A2</i>	Solute carrier family 19, member 2 (Thiamin Transporter)
tT <sub>reg</sub>	thymus-derived regulatory T cells (Tế bào T điều hòa có nguồn gốc tuyến ức)
VAA	Villin AutoAntibodies (Tự kháng thể kháng Villin)
WRS	Wolcot Rallison syndrome (Hội chứng Wolcot Rallison)
<i>ZFP57</i>	Zinc finger protein 57

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1.	Đột biến các gen khác và biểu hiện lâm sàng.....	23
Bảng 1.2.	Tóm tắt dữ liệu về các loại insulin hiện có trên thị trường.....	26
Bảng 2.1.	Mục tiêu kiểm soát glucose máu .....	50
Bảng 3.1.	Phân bố tỷ lệ bệnh nhân có đột biến của các gen .....	55
Bảng 3.2.	Đột biến gen <i>ABCC8</i> .....	56
Bảng 3.3.	Đột biến gen <i>KCNJ11</i> .....	59
Bảng 3.4.	Đột biến gen <i>INS</i> .....	60
Bảng 3.5.	Đột biến gen <i>ZFP57</i> .....	61
Bảng 3.6.	Đột biến gen gây ĐTĐ sơ sinh trong các hội chứng hiếm gặp ..	66
Bảng 3.7.	Đột biến gen, đặc điểm lâm sàng và sinh hóa khi chẩn đoán.....	67
Bảng 3.8.	Kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân có đột biến gen <i>ABCC8</i> ....	68
Bảng 3.9.	Kiểu gen và kiểu hình (lâm sàng và sinh hóa) của bệnh nhân có đột biến gen <i>KCNJ11</i> .....	69
Bảng 3.10.	Kiểu gen và kiểu hình (lâm sàng và hóa sinh) của các bệnh nhân có đột biến gen <i>INS</i> .....	70
Bảng 3.11.	Đặc điểm lâm sàng và hóa sinh của các bệnh nhân có đột biến mất methyl hóa vùng imprinting.....	71
Bảng 3.12.	Đột biến gen và phương pháp điều trị sau khi xác định được đột biến.....	74
Bảng 3.13.	Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các bệnh nhân có đột biến gen <i>ABCC8</i> khi chuyển đổi phương pháp điều trị.....	75
Bảng 3.14.	Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các bệnh nhân có đột biến gen <i>KCNJ11</i> khi chuyển đổi phương pháp điều trị .....	76
Bảng 3.15.	Kết quả kiểm soát glucose máu ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời khi chưa ngừng thuốc .....	78
Bảng 3.16.	Phát triển tâm thần vận động của bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh .....	80
Bảng 4.1.	Tần xuất ĐTĐ sơ sinh tạm thời và ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn theo các nghiên cứu .....	110

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

Hình 1.1.	Cơ chế điều hòa bài tiết insulin bình thường của tế bào $\beta$ .....	10
Hình 1.2.	Vị trí các khiếm khuyết di truyền ảnh hưởng đến giải phóng insulin của tế bào $\beta$ .....	11
Hình 1.3.	Cơ chế hoạt động của insulin.....	24
Hình 1.4.	Sơ đồ điều hòa bài tiết insulin và cơ chế tác dụng của SU.....	28
Hình 3.1.	Hình ảnh đột biến dị hợp tử kép c.3403-1G>A/c.4519G>C. ...	57
Hình 3.2.	Hình ảnh đột biến dị hợp tử kép p.E128K/p.E747X.....	58
Hình 3.3.	Hình ảnh đột biến gen <i>KCNJ11</i> : c601C>T (p.R201C).....	60
Hình 3.4.	Hình ảnh đột biến gen <i>INS</i> : c.188-31G>A.....	61
Hình 3.5.	Phả hệ của bệnh nhân số 6 có hai đột biến dị hợp tử c.7450delT (từ mẹ) và c.7812C>T (từ bố) của gen <i>ZFP57</i> .....	62
Hình 3.6.	Đột biến c.7450delT trên <i>ZFP57</i> di truyền từ mẹ ở bệnh nhân số 6. ....	62
Hình 3.7.	Hình ảnh đột biến c.7812C>T trên gen <i>ZFP57</i> di truyền từ bố ở bệnh nhân số 6 .....	63
Hình 3.8.	Phả hệ của bệnh nhân số 11 .....	63
Hình 3.9.	Hình ảnh đột biến c.398delT (p.L133HfsX49) di truyền từ mẹ của bệnh nhân số 11 .....	64
Hình 3.10.	Hình ảnh đột biến c.760C>T (p.L254F) di truyền từ bố của bệnh nhân số 11.....	64
Hình 3.11.	Hình ảnh đột biến c.499C>T (p.R167C) di truyền từ bố của bệnh nhân số 11.....	65
Hình 3.12.	Hình ảnh đột biến c.1894C>T (p.R632W) trên gen <i>EIF2AK3</i> ở bệnh nhân số 7 .....	66
Hình 3.13.	Hình ảnh đột biến c.1133C>T (p.P378L) trên gen <i>FOXP3</i> của bệnh nhân số 29.....	66

Hình 3.14.	Hình ảnh lưỡi to, rốn lồi ở bệnh nhân số 11 .....	72
Hình 3.15.	Hình ảnh theo dõi glucose máu liên tục của bệnh nhân khi điều trị bằng insulin.....	79
Hình 3.16.	Kết quả theo dõi glucose máu liên tục của bệnh nhân sau khi điều trị bằng sulfonylurea .....	79

## **DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ**

Biểu đồ 3.1.	Tỷ lệ phát hiện được đột biến của các gen .....	54
Biểu đồ 3.2.	Kết quả điều trị ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn.....	77
Biểu đồ 3.3.	Kết quả theo dõi glucose khi điều trị bằng insulin và sulfonylurea...	78
Biểu đồ 3.4.	Kết quả HbA1C khi điều trị bằng insulin và SU.....	80
Sơ đồ 2.1.	Tóm tắt sơ đồ nghiên cứu .....	40
Sơ đồ 3.1.	Các gen có đột biến theo thể lâm sàng .....	55

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) sơ sinh là tình trạng tăng glucose máu xuất hiện trong 6 tháng đầu sau đẻ. Đây là bệnh lý bẩm sinh hiếm gặp với tỷ lệ mới mắc là 1/215000 - 1/500000 trẻ sơ sinh đẻ sống và khoảng 50% biểu hiện bệnh trong 4 tuần đầu sau đẻ. Diễn biến của bệnh có thể là tạm thời và đôi khi tái phát sau đó hoặc vĩnh viễn suốt đời. Nguyên nhân của ĐTĐ sơ sinh là do di truyền, đột biến các gen dẫn đến mất chức năng của tuyến tụy hay đảo tụy, giảm số lượng tế bào beta thứ phát, tăng phá huỷ tế bào beta hoặc rối loạn chức năng tế bào beta của tụy nội tiết gây giảm bài tiết insulin [1].

ĐTĐ ở giai đoạn sơ sinh thường biểu hiện triệu chứng kích thích, nôn, thở nhanh và mất nước. Các triệu chứng điển hình như đái nhiều, uống nhiều khó nhận biết. Trẻ dễ được chẩn đoán nhầm là viêm dạ dày, nhiễm khuẩn hô hấp và nhiễm khuẩn huyết trước khi được chẩn đoán nhiễm toan xê tôn. Hơn nữa, tăng glucose máu có thể xuất hiện sau co giật do động kinh, các bệnh lý cấp tính gây sốt và nhiễm khuẩn thần kinh trung ương. Tương tự, xê tôn niệu có thể xuất hiện khi trẻ nôn nhiều hoặc nhịn đói kéo dài. Trẻ mắc ĐTĐ sơ sinh thường được chẩn đoán khi đã có biến chứng nhiễm toan xê tôn nặng. Bệnh ĐTĐ sơ sinh nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời sẽ tử vong hoặc di chứng tâm thần kinh [2].

Nhờ những tiến bộ của sinh học phân tử mà các gen khi có đột biến gây ĐTĐ sơ sinh đã được phát hiện. Nghiên cứu phân tử trong ĐTĐ sơ sinh có ý nghĩa quan trọng trong thực hành lâm sàng: giúp khẳng định chẩn đoán, quyết định phương pháp điều trị, tiên lượng bệnh đối với bệnh nhân cũng như các thành viên khác trong gia đình và tư vấn di truyền. Đặc biệt, phát hiện được các đột biến gen gây ĐTĐ sơ sinh đã làm thay đổi chiến lược điều trị [3]. Những bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* có thể điều trị bằng thuốc uống sulfonylurea thay thế cho tiêm insulin. Điều này góp phần cải thiện chất

lượng sống, giảm đau, giảm gánh nặng tâm lý và giảm chi phí điều trị cho bệnh nhân và gia đình. ĐTĐ sơ sinh tạm thời cần phải được theo dõi chặt chẽ, xác định thời điểm ngừng thuốc điều trị để tránh biến chứng hạ glucose máu, cũng như xác định thời điểm cần sử dụng thuốc điều trị khi bệnh tái phát.

Do đặc thù bệnh hiếm nên rất ít nghiên cứu trên thế giới được tiến hành trên số lượng bệnh nhân đủ lớn được theo dõi tại cùng một trung tâm. Hơn nữa, điều trị bệnh nhân gặp nhiều khó khăn trong kiểm soát glucose máu do đặc thù của lứa tuổi nhỏ. Ở Việt Nam, tại khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương, từ năm 2000 đến nay có 39 bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ trước 6 tháng tuổi, 1 bệnh nhân được chẩn đoán khi 12 tháng tuổi chiếm tỷ lệ 9% trong tổng số 447 bệnh nhân ĐTĐ chẩn đoán trước 15 tuổi. Trong thực hành lâm sàng, kiểm soát glucose máu ở những bệnh nhân nhỏ tuổi này vô cùng phức tạp, và xác định được liều insulin phù hợp là vô cùng khó khăn. Hơn nữa, cho đến nay chưa có nghiên cứu đầy đủ nào về nguyên nhân ở mức độ phân tử, kiểu gen, kiểu hình và kết quả điều trị ở các bệnh nhân Việt Nam mắc ĐTĐ sơ sinh. Xuất phát từ những lý do đó, nghiên cứu được tiến hành với các mục tiêu:

1. Xác định đột biến gen ở các bệnh nhân đái tháo đường sơ sinh.
2. Đối chiếu kiểu gen và kiểu hình của các thể đái tháo đường sơ sinh.
3. Đánh giá kết quả điều trị bệnh đái tháo đường sơ sinh.

## Chương 1

### TỔNG QUAN

#### 1.1. Thuật ngữ, danh pháp và phân loại đái tháo đường sơ sinh

Đái tháo đường sơ sinh (đái tháo đường bẩm sinh): là tình trạng tăng glucose máu không kiểm soát được xuất hiện trong 6 tháng đầu đời sau sinh [1]. Những năm gần đây, khái niệm ĐTD sơ sinh được mở rộng ra là ĐTD xuất hiện trước 12 tháng tuổi [4], [5], [6].

ĐTD sơ sinh vĩnh viễn: là ĐTD sơ sinh phải điều trị thuốc để kiểm soát glucose máu suốt đời [1]. Đái tháo đường sơ sinh tạm thời là tình trạng rối loạn bài tiết insulin sau đẻ có thể hồi phục được nhưng thường tái phát sau đó, ĐTD sơ sinh tạm thời lại được chia thành 3 thể và một thể rất hiếm gặp [7]: *i/* ĐTD sơ sinh tạm thời typ 1 do biểu hiện quá mức của các gen ở vùng imprinting như *PLAGL1* và *HYMAI* trên NST số 6 (6q24); *ii/* ĐTD sơ sinh tạm thời typ 2 (OMIM 610374) do đột biến gen *ABCC8* mã hóa kênh  $K_{ATP}$  [8]; *iii/* ĐTD sơ sinh tạm thời typ 3 (OMIM 610582) [8] do đột biến gen *KCNJ11* mã hóa kênh  $K_{ATP}$ ; *iv/* ĐTD sơ sinh tạm thời hiếm gặp do đột biến insulin và hiếm gặp hơn là đột biến gen *HNF1 $\beta$* .

#### 1.2. Lịch sử nghiên cứu đái tháo đường sơ sinh

##### 1.2.1. Lịch sử nghiên cứu trên thế giới

Năm 1852, Kitsell lần đầu mô tả biểu hiện lâm sàng bệnh ĐTD sơ sinh ở chính con trai tác giả [1]. Năm 1926, Ramsey báo cáo một trường hợp trẻ sơ sinh đẻ đủ tháng, cân nặng thấp, được chẩn đoán ĐTD khi 4 tuần tuổi, cần phải điều trị insulin và hồi phục (ngừng điều trị insulin) khi trẻ 10 tuần tuổi. Bệnh nhân đã được đánh giá lại khi 4 tuổi và hoàn toàn khỏe mạnh [9]. Tuy nhiên trong thời kỳ này, các tác giả chưa phân biệt ĐTD vĩnh viễn và tạm thời.

Năm 1962, Hutchinson và cs [10] lần đầu tiên phân biệt hai thể ĐTD vĩnh viễn và thể ĐTD tạm thời hay tái phát, và ĐTD sơ sinh tạm thời còn được gọi là “ĐTD nhất thời bẩm sinh”.

Năm 1966, Lawrence nhấn mạnh ĐTĐ sơ sinh không phải ĐTĐ bẩm sinh, Cornblath và Schwartz đặt tên bệnh là ĐTĐ sơ sinh tạm thời [9]. Năm 1986, Briggs và cs [11] đã ghi nhận một trường hợp ĐTĐ sơ sinh tạm thời sau một thời gian đã tiến triển thành ĐTĐ không phụ thuộc insulin. Shield và Baum nhấn mạnh ĐTĐ sơ sinh tạm thời sẽ có nguy cơ ĐTĐ trở lại sau một thời gian [12].

Năm 1994, Soliman và cs [13] nghiên cứu tỷ lệ mới mắc và tỷ lệ lưu hành ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn ở Ấn Độ dựa trên biểu hiện lâm sàng và xét nghiệm (2/1989 - 12/1994), tỷ lệ mới mắc là  $1,788 \pm 0,82/100.000$  trẻ sơ sinh đẻ sống, tỷ lệ lưu hành là  $2,4/100000$  trẻ dưới 5 tuổi vào cuối tháng 12/1994.

Năm 1995, Muhlendahl và Herkenhoff [14] công bố 13 bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời có biểu hiện ĐTĐ tái phát sau nhiều năm theo dõi. Cũng trong năm này, lần đầu tiên hai trẻ ĐTĐ sơ sinh tạm thời được xác định nguyên nhân là do các trẻ này nhận được hai NST số 6 có nguồn gốc từ bố (Uniparental isodisomy of chromosom 6 - UPD6). Một trường hợp xuất hiện ĐTĐ lúc 24 giờ tuổi, hồi phục ở 4 tuần tuổi, có chậm phát triển trong tử cung, chậm phát triển tâm thần nhẹ, bộ mặt bất thường và lưỡi to. Năm 1996, Temple và cs đã phát hiện bất thường nhân đôi NST 6q24 có nguồn gốc từ bố gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời [9].

Năm 1997, Shield và cs [15] cũng công bố tỷ lệ mắc ĐTĐ sơ sinh là  $1/400.000$ , tương đương với kết quả nghiên cứu của Muhlendahl và Herkenhoff ở Đức là  $1/450.000$  trẻ sơ sinh đẻ sống. Trong 2 nghiên cứu này tỷ lệ ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn chiếm dưới 50% tổng số ĐTĐ sơ sinh. Tuy nhiên, nghiên cứu của Shield được thực hiện dựa trên số liệu được thu thập trong thời gian ngắn là 1 năm và nghiên cứu của Muhlendahl và Herkenhoff lại không bao phủ trên dân số của toàn nước Đức.



Năm 2007, Stanik và cs [16] lần đầu tiên đã nghiên cứu tỷ lệ ĐTĐ sơ sinh dựa trên số liệu thu thập trong 23 năm từ Trung tâm lưu trữ Quốc gia về ĐTĐ trẻ em ở Slovakia, kết quả cho thấy tỷ lệ ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn là 1/215.417 trẻ sơ sinh cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn ước tính trong những nghiên cứu trước là 1/800.000 trẻ sơ sinh để sống. Trong nghiên cứu này, số liệu được thu thập từ năm 1981-2004, có 2812 bệnh nhân ĐTĐ, trong đó có 8 bệnh nhân có biểu hiện ĐTĐ trong vòng 6 tháng sau đẻ, 6 bệnh nhân được chẩn đoán trước 3 tháng tuổi. Trong đó 3 bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* (p.R201H, p.H46Y, và p.L164P), 3 bệnh nhân có đột biến p.R201H và p.H46Y trên *KCNJ11* được điều trị chuyển đổi từ insulin tiêm sang uống sulfonylure, kết quả HbA1C giảm từ 9,3÷11,0% xuống còn 5,7 ÷ 6,3%; một bệnh nhân có đột biến mới p.V86A của gen *ABCC8* cũng đã được điều trị chuyển đổi thành công từ insulin tiêm sang uống sulfonylurea.

### ***1.2.2. Lịch sử nghiên cứu đái tháo đường sơ sinh ở Việt Nam***

Các công bố về nghiên cứu đái tháo đường sơ sinh ở Việt Nam còn rất hạn chế trước năm 2012. Trong một nghiên cứu cắt ngang đa trung tâm (Bệnh viện Nhi Trung ương, Bệnh viện Nhi Đồng 1 và 2) năm 2009 về kết quả kiểm soát glucose máu ở bệnh nhân trẻ em mắc bệnh ĐTĐ có đề cập đến dữ liệu của 12 trẻ ĐTĐ sơ sinh. Chỉ số HbA1C của các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh ở nghiên cứu cắt ngang này là 7,5±2,5%. Nghiên cứu này chưa đề cập đến nguyên nhân và tổn thương ở mức độ phân tử của các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh, cũng như chưa đề cập đến các biểu hiện lâm sàng và hóa sinh của các bệnh nhân này tại thời điểm được chẩn đoán. Đặc biệt, nghiên cứu chưa đề cập đến ứng dụng kết quả của phân tích phân tử vào điều trị và đánh giá diễn biến, kết quả điều trị của các bệnh nhân Việt Nam mắc bệnh ĐTĐ sơ sinh [17].

## **1.3. Các gen gây ĐTĐ sơ sinh và cơ chế bệnh sinh**

### ***1.3.1. Các gen gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời và cơ chế bệnh sinh***

Tăng glucose máu trong ĐTĐ sơ sinh tạm thời là do giảm hoặc mất hoàn toàn tác dụng của insulin trong thời kỳ bào thai kéo dài cho đến sau sinh.

Đột biến của các gen có liên quan là nguyên nhân của hơn 90% các trường hợp ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng sự biến đổi biểu hiện của các gen di truyền đơn allele trên NST số 6 đã gây chậm trưởng thành tế bào  $\beta$  và đảo tụy dẫn đến rối loạn chức năng tế bào  $\beta$  và giảm bài tiết insulin. Giảm insulin của bào thai dẫn đến hậu quả chậm phát triển trong tử cung vì insulin hoạt động như yếu tố tăng trưởng.

Nguyên nhân chính của ĐTĐ sơ sinh tạm thời là do đột biến vùng di truyền đơn allele trên NST số 6. Một tỷ lệ nhỏ do đột biến gen *ABCC8*, *KCNJ11* mã hóa cho kênh  $K_{ATP}$  hoặc gen insulin [8] và hiếm gặp hơn là do đột biến gen *HNF1 $\beta$* .

ĐTĐ sơ sinh do đột biến ở NST 6 thường kết hợp với sự biểu hiện quá mức của ít nhất 2 gen hoạt động theo quy luật di truyền đơn allele: *PLAGL1* (Pleomorphic adenoma gene - like 1) và *HYMAI* (imprinted in hydatidiform mole). Ở thai nhi bình thường thì cả hai gen *PLAGL1/HYMAI* có nguồn gốc từ bố sẽ hoạt động ở mức độ bình thường, và các gen có nguồn gốc từ mẹ bị methyl hóa nên bất hoạt. Bất kỳ cơ chế di truyền hoặc ngoại di truyền nào gây biểu hiện quá mức của 2 gen này đều gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời.

*PLAGL1* là yếu tố phiên mã “zinc finger” có vai trò trong quá trình chết theo chương trình của tế bào. Những hiểu biết về vai trò của *PLAGL1* trong ĐTĐ hiện nay còn hạn chế. Ma và cs [18] đã tiến hành thực nghiệm gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời ở chuột bằng cách tạo nên sự biểu hiện quá mức của *PLAGL1* và *HYMAI*. *HYMAI* nằm trên cánh dài NST số 6 (6q24.2) (OMIM 603044) trong vùng quan trọng gây ĐTĐ sơ sinh (OMIM 606546). Cơ chế di truyền gây nên sự biểu hiện quá mức của *PLAGL1* và *HYMAI* đã được nghiên cứu rộng rãi và gồm 3 cơ chế [19]: i) bệnh nhân nhận được hai NST số 6 đều có nguồn gốc từ bố (UPD6) mà không nhận được NST nào có nguồn gốc từ mẹ. Trong trường hợp này cả hai NST tương đồng đều có biểu hiện sự sao

chép của gen *PLAGL1* và *HYMAI*; ii) nhân đoạn 6q24 trên NST số 6 có nguồn gốc từ bố: bất thường này dẫn đến sự xuất hiện hai bản sao của các gen *PLAGL1* và *HYMAI* trên NST số 6 từ bố. Hiện tượng nhân đoạn này có thể là mới xuất hiện (de novo) hoặc được di truyền từ bố. Đột biến nhân đôi vùng tương tự trên NST số 6 nguồn gốc từ mẹ thường không gây biến đổi kiểu hình. Điều này có nghĩa là con của người bố có mang đột biến nhân đôi 6q24 thì 50% có khả năng nhận được đột biến nhân đoạn và có nguy cơ cao mắc ĐTD sơ sinh. Người mẹ mang đột biến nhân đoạn cũng có nguy cơ 50% truyền lại đột biến cho con nhưng không biểu hiện hiện kiểu hình ĐTD; iii) đột biến mất methyl hóa (loss of methylation mutation - LOM) trong vùng biệt hóa methyl: mất methyl hóa của *PLAGL1/HYMAI* có nguồn gốc từ mẹ sẽ ảnh hưởng đến sự biểu hiện của hai gen này. Đột biến có thể là đơn độc hoặc có thể là một phần của nhiều phức hợp mất methyl hóa hoặc thiếu hụt methyl hóa ở nhiều vị trí trên vùng in dấu di truyền.

Nguyên nhân của đột biến mất methyl hóa đơn thuần (đột biến di truyền đơn allele) chưa được rõ, và sự lặp lại bất thường này chưa được ghi nhận ở anh chị em và cũng chưa thấy bất thường methyl hóa ở bố mẹ. Gần đây, Mackay và cs [20] đã nhấn mạnh rằng đột biến mất methyl hóa ở 6q24 có thể là một phần của nhiều phức hợp methyl hóa ở nhiều vị trí trên vùng in dấu di truyền. Các tác giả nhận thấy có 13/20 trường hợp đột biến mất methyl hóa ở 6q24 có ĐTD sơ sinh tạm thời.

Biểu hiện bất thường của các gen ở vùng in dấu di truyền trên 6q24 là nguyên nhân chính gây ĐTD sơ sinh tạm thời [9]. Tuy nhiên, có khoảng 20% các trường hợp có giảm methyl hóa DNA ở vùng biệt hóa methyl (DMR) gây ĐTD sơ sinh tạm thời nằm trong vùng khởi đầu in dấu di truyền của các gen chỉ điểm gây ĐTD sơ sinh tạm thời [21]. Thử khám có kèm theo giảm methyl hóa ở các locus khác trên vùng in dấu di truyền chiếm hơn 50% các trường

hợp ĐTD sơ sinh tạm thời do giảm methyl hóa 6q24 [20]. Các gen chỉ điểm cho những trường hợp giảm methyl hóa ở những locus trên vùng in dấu di truyền (hypomethylation of multiple imprinted loci -HIL) gồm *ZFP57*, *POU5F1*, *HMGAI* và *RNF8*. Trong đó, *ZFP57* là gen chỉ điểm phổ biến nhất đã được mô tả trong y văn. Gen này biểu hiện ở dòng tế bào mầm chưa biệt hóa và có chức năng điều hòa xuôi sự biệt hóa tế bào mầm [22]. Gen *ZFP57* nằm trên cánh ngắn NST số 6 (6p22.1) (OMIM 612192) và có kích thước 8,5kb, cấu trúc bao gồm 6 exon và mã hóa cho protein 516 acid amin bao gồm 1 vùng domain KRAB và 7 ngón tay kẽm (fingers zinc) [22]. Cho đến nay, chỉ 4 đột biến sai nghĩa/vô nghĩa và 4 đột biến mất đoạn nhỏ của gen *ZFP57* đã được xác định gây ĐTD sơ sinh tạm thời tít 1 (The Human Gene Mutation Database-www.hgmd.cf.ac).

### **1.3.2. Các gen gây ĐTD sơ sinh vĩnh viễn và cơ chế bệnh sinh**

ĐTD sơ sinh vĩnh viễn là tình trạng tăng glucose máu dai dẳng xuất hiện trong vòng 6 tháng đầu sau đẻ phải điều trị suốt đời bằng insulin hoặc sulfonylureas. Cho đến nay nhiều gen đã được xác định gây ĐTD sơ sinh vĩnh viễn, các gen phổ biến hơn bao gồm [23]: *KCNJ11*, *ABCC8*, *INS*, *GCK*, *PDX1*.

Hai gen *KCNJ11* và *ABCC8* nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể số 11 (11p15.1) cách nhau 4,5 kb [24]. Gen *KCNJ11* có kích thước xấp xỉ 3,4 kb trên phân tử DNA và có 1 exon mã hóa cho protein gồm 390 acid amin (GenBank NM\_000525.2) [25]. *KCNJ11* mã hóa cho tiểu đơn vị Kir6.2 của kênh  $K_{ATP}$ . Kir6.2 gồm hai vùng xuyên màng và tạo nên cấu trúc dạng ống của kênh  $K_{ATP}$  [26]. Cho đến nay có khoảng 56 đột biến khác nhau của gen *KCNJ11* gây ĐTD sơ sinh và các đột biến này đều tuân theo quy luật di truyền trội nhiễm sắc thể thường (OMIM 600937).

Gen *ABCC8* có kích thước xấp xỉ 84 kb và bao gồm 39 exon [27]. *ABCC8* mã hóa cho tiểu đơn vị SUR1 của kênh  $K_{ATP}$  trên màng tế bào  $\beta$  của

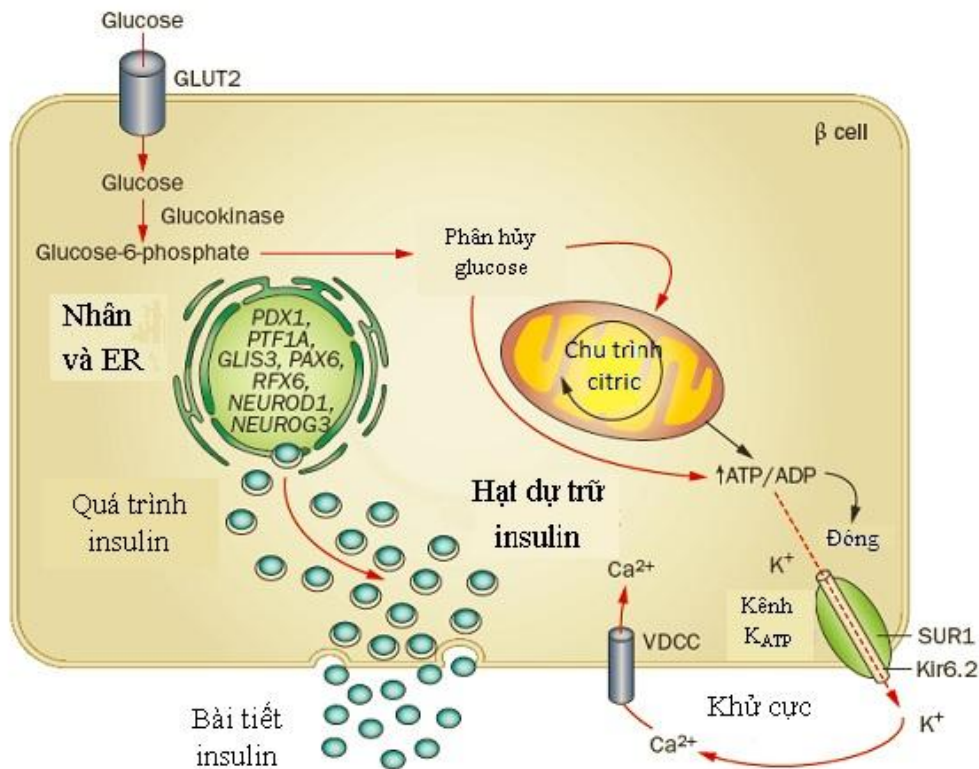
tụy. SUR1 cDNA người mã hóa cho protein gồm 1581 axit amin với trọng lượng phân tử là 177 kD (GenBank NM\_000352.2). Cho đến nay, đã có 60 đột biến khác nhau của gen *ABCC8* gây ĐTĐ sơ sinh, hầu hết các đột biến này tuân theo quy luật di truyền trội nhiễm sắc thể thường (OMIM 600509).

Kênh  $K_{ATP}$  trên tế bào  $\beta$  của tụy là một phức hợp gồm 4 tiểu đơn vị nhạy cảm với kali (Kir6.2) tạo thành cấu trúc lỗ ở trong, và được bao quanh bởi 4 tiểu đơn vị nhạy cảm với sulfonylurea (SUR1) ở phía ngoài. Kênh  $K_{ATP}$  đóng vai trò then chốt trong quá trình kích thích bài tiết insulin bởi glucose từ tế bào  $\beta$  của tụy [28]. Kir6.2 và SUR1 cần thiết cho việc điều chỉnh chuyển hóa của kênh. SUR1 có mặt ở tế bào  $\beta$  đảo tụy và hệ thần kinh. SUR2A có mặt ở tế bào tim và SUR2B có mặt ở cơ trơn. Kir6.2 có mặt chủ yếu ở các mô như tế bào  $\beta$  của tụy, não, tim và cơ xương, trong khi Kir6.1 chỉ thấy ở cơ trơn thành mạch và tế bào hình sao.

Gần đây, Gloyn và cs [28] đã báo cáo 6 đột biến dị hợp tử của gen *KCNJ11* mã hóa cho Kir6.2 của tế bào  $\beta$  đảo tụy gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn. Một số đột biến kết hợp với chậm phát triển tâm thần vận động, yếu cơ và bại não.

Khi chức năng của tế bào  $\beta$  bình thường, glucose được vận chuyển vào trong tế bào nhờ GLUT-2, được phosphoryl hóa thành glucose-6-phosphat bởi glucokinase. Sự giáng hóa glucose sẽ làm tăng tỷ số ATP/ADP dẫn đến đóng kênh  $K_{ATP}$  dẫn đến kali không đi ra ngoài tế bào và gây khử cực màng tế bào. Màng tế bào bị khử cực sẽ mở kênh canxi, canxi tràn vào trong tế bào gây giải phóng insulin từ các hạt dự trữ (hình 1.1).

Trong nhân, các gen *PDX1*, *PTF1A*, *GLIS3*, *PAX6*, *RFX6*, *NEUROD1*, *NEUROG3* mã hóa cho các yếu tố phiên mã có vai trò điều hòa quá trình tổng hợp insulin [23].

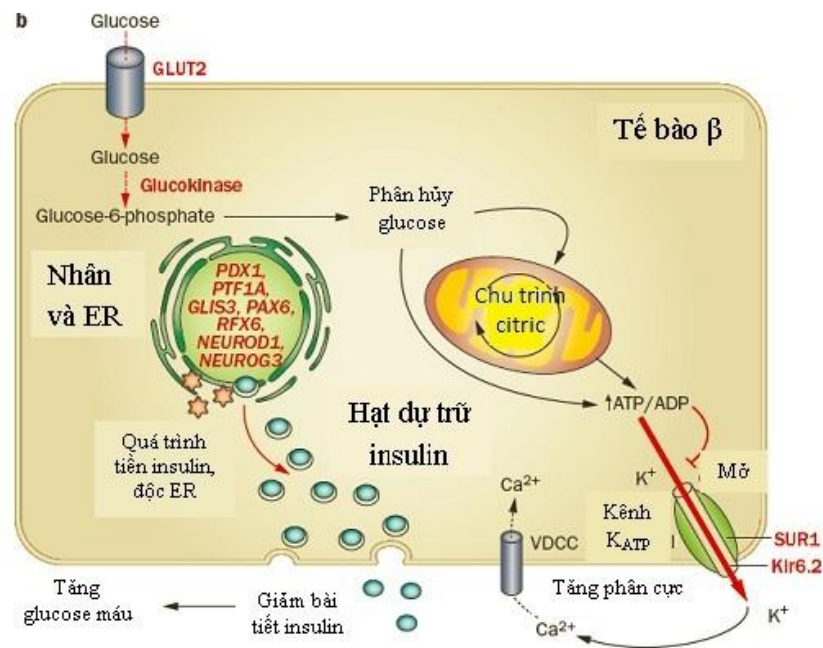


**Hình 1.1. Cơ chế điều hòa bài tiết insulin bình thường của tế bào  $\beta$  [23]**

Bất thường GLUT-2 sẽ dẫn đến giảm glucose vào trong tế bào  $\beta$ . Thiếu hụt glucokinase sẽ dẫn đến giảm phosphoryl hóa glucose dẫn đến giảm ATP được tạo ra. Đột biến kích hoạt gen *ABCC8/KCNJ11* mã hóa cho hai tiểu đơn vị SUR1 và Kir6.2 của kênh  $K_{ATP}$  sẽ dẫn đến mở kênh  $K_{ATP}$ , kali ra ngoài tế bào nhiều dẫn đến tăng phân cực màng tế bào và ổn định điện thế màng làm insulin không được giải phóng.

Đột biến gen *INS* gây bất thường quá trình tổng hợp proinsulin trong lưới nội bào và gây độc cho tế bào  $\beta$ . Gen *INS* nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể 11 (11p15.5), gen gồm có 3 exon và 2 intron. Exon 2 mã hóa cho peptid chuỗi B và một phần C-peptid, exon 3 mã hóa cho C peptid và chuỗi A. Hiện nay, 48 đột biến di truyền trội đã được xác định là nguyên nhân gây ĐTD sơ sinh (OMIM 176730) trong đó có ít nhất 10 đột biến sai nghĩa (missense) của gen *INS* đã được xác định gây nên ĐTD sơ sinh vĩnh viễn [8]. Insulin được

tổng hợp ở tế bào  $\beta$  của tụy bao gồm 2 chuỗi polypeptid khác nhau, chuỗi A và chuỗi B được nối với nhau bằng các cầu nối disulfua. Chuỗi A và B có nguồn gốc từ chuỗi mở đầu, proinsulin. Proinsulin biến đổi thành insulin khi đoạn C peptid, đoạn nối acid amin tận cùng của chuỗi A với carboxyl tận cùng của chuỗi B được tách ra. Đột biến gen *INS* sẽ phá vỡ cấu trúc bình thường của cầu nối disulfua (p.Cys43Gly và p.Cys96Tyr) hoặc thêm vào một cystein không ghép cặp (p.Arg89Cys và p.Gly90Cys) ở chỗ phân cắt của chuỗi A và C-peptid. Đột biến p.Tyr108Cys có thể gây nên không ghép cặp của cystein ở vùng quyết định đóng cầu nối disulfua. Tất cả những đột biến này có thể là đột biến trội gây rối loạn sinh tổng hợp insulin dẫn đến stress trong lưới nội bào.



**Hình 1.2. Vị trí các khiếm khuyết di truyền ảnh hưởng đến giải phóng insulin của tế bào  $\beta$  [23]**

Đột biến các gen mã hóa cho các yếu tố phiên mã *PDX1*, *PTF1A*, *RFX6*, *GLIS3*, *PAX6*, *NEUROD1* và *NEUROG3* gây bất thường phát triển của tuyến tụy hoặc các tế bào nội tiết gây ĐTD sơ sinh (hình 1.2) [23].

### 1.3.3. Một số hội chứng kết hợp với ĐTD sơ sinh vĩnh viễn:

Không có tuyến tụy và đột biến gen mã hóa yếu tố khởi phát insulin 1 (IPFI-1). IPFI-1 có vai trò kiểm soát sự phát triển của tụy nội và ngoại tiết, điều hòa sự biểu hiện của gen mã hóa insulin và somatostatin. Bệnh nhân có đột biến mất nucleotide đơn độc đồng hợp tử ở vị trí mã hóa cho codon 63 của IPF-1 (Pro63fsdelC) [29].

Đột biến đồng hợp tử của gen glucokinase là nguyên nhân không phổ biến gây ĐTD sơ sinh vĩnh viễn [30] do glucokinase có vai trò điều hòa chuyển hóa glucose trong tế bào đảo tụy, kiểm soát sự bài tiết insulin.

Hội chứng hiếm gây đái tháo đường sơ sinh có tên là IPEX: đây là hội chứng di truyền lặn liên kết NST X bao gồm rối loạn điều hòa miễn dịch, tổn thương nhiều tuyến nội tiết, tổn thương ruột non với biểu hiện lâm sàng là bong da, ỉa chảy khó điều trị, teo lông mao ruột, thiếu máu tan máu, bệnh tuyến giáp tự miễn và ĐTD sơ sinh. Hầu hết trẻ tử vong trong năm đầu do nhiễm khuẩn. Một số trường hợp không có tiểu đảo Langerhans. Một hoặc hai trường hợp đáp ứng với điều trị bằng cyclosporin A. Nguyên nhân của hội chứng này là do đột biến của gen *FOXP3* mã hóa cho protein chuỗi nhánh [31]. Gen *FOXP3* nằm trên cánh ngắn NST X (Xp11.23) gồm 11 exon và mã hóa cho protein có 431 acid amin. Cho đến nay, 62 đột biến khác nhau trên gen *FOXP3* đã được phát hiện, trong đó đột biến sai nghĩa chiếm 46,7% (29/62), đột biến vùng cắt nối là 22,6% (14/62), đột biến mất đoạn nhỏ là 12,9% (8/62) và đột biến vùng promoter là 8,1% (5/62). Trong các đột biến này có 54 đột biến gây nên ĐTD sơ sinh trong hội chứng IPEX ([www.hgmd.cf.ac](http://www.hgmd.cf.ac)).

Một hội chứng hiếm khác gây ĐTD sơ sinh là Wolcott - Rallison (WRS) do đột biến gen *EIF2AK3*. Đây là bệnh di truyền lặn NST thường đặc trưng bởi ĐTD xuất hiện trong giai đoạn trẻ nhỏ (thường trong giai đoạn sơ



sinh), kết hợp với loạn sản đầu xương đốt sống. Hơn nữa, bệnh còn có các biểu hiện khác như gan to, chậm phát triển tâm thần, suy thận và tử vong sớm. Gen *EIF2AK3* nằm trên cánh ngắn NST số 2 (2p11.2) và gồm 17 exon. Cho đến nay đã có 46 đột biến được xác định chủ yếu là các đột biến sai nghĩa/vô nghĩa 25/46 (54,3%), đột biến mất đoạn nhỏ 13/46 (28,3%), thêm đoạn nhỏ 5/46 (10,8%) ([www.hgmd.cf.ac](http://www.hgmd.cf.ac)). Gen *EIF2AK3* biểu hiện cao ở tế bào tụy và hoạt động như yếu tố điều hòa tổng hợp protein. Protein và insulin được sản xuất ở lưới nội bào. WRS do đột biến gen mã hóa yếu tố 2a kinase 3 khởi phát sự phiên mã của nhân. *EIF2AK3*, còn gọi là enzyme lưới nội bào giống PKR (PERK). PERK là một protein vận chuyển màng của lưới nội bào đóng vai trò then chốt trong quá trình kiểm soát sự phiên mã để bộc lộ protein, phosphoryl hóa EIF2A ở ser51 để điều hòa tổng hợp protein bộc lộ trong lưới nội bào. Đột biến gen này ở chuột gây nên ĐTĐ do ứ đọng protein không gấp cuộn gây thúc đẩy quá trình chết theo chương trình của tế bào  $\beta$  [32].

#### **1.4. Biểu hiện lâm sàng liên quan đến đột biến gen**

##### ***1.4.1. Lâm sàng của đái tháo đường sơ sinh tạm thời***

Chậm phát triển trong tử cung là triệu chứng thường gặp trong ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Tỷ lệ cao trẻ có biểu hiện chậm phát triển trong tử cung phù hợp với vai trò của insulin, trong giai đoạn thai nhi thì insulin hoạt động như một yếu tố tăng trưởng đặc biệt trong 3 tháng cuối của thai kỳ. Tăng glucose máu, chậm phát triển và trong một số trường hợp có dấu hiệu mất nước xuất hiện ngay sau sinh. Do giảm bài tiết insulin nên cần phải điều trị bằng tiêm insulin thay thế. Các xét nghiệm kháng thể kháng tiểu đảo tụy và HLA haplotype cho đái tháo đường typ 1 đều âm tính [15]. Nguyên nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời cũng có thể do bất thường trong quá trình trưởng thành của tế bào  $\beta$  [29]. Một điều đặc biệt là suy tụy ngoại tiết cũng gặp ở một số bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời nhưng cơ chế đến nay còn chưa được biết rõ. Hầu

hết bệnh nhân hồi phục trong năm đầu, nhưng một số trẻ còn tình trạng không dung nạp glucose và/hoặc ĐTĐ tái phát ở giai đoạn muộn của thời kỳ thiếu niên hoặc ở tuổi trưởng thành. Điều này có thể lý giải là sau một thời gian vì lý do nào đó (hiện nay chưa được biết rõ) các allele có nguồn gốc từ mẹ lại trở nên hoạt động và bệnh sẽ hồi phục. Đến tuổi vị thành niên, tuổi dậy thì hoặc khi mang thai, do nhu cầu insulin tăng nhưng cơ thể không đáp ứng được do cơ chế đột biến nên bệnh lại tái phát. Mặc dù tình trạng tái phát này phù hợp với ĐTĐ typ 1 không phải tự miễn, tuy nhiên nguyên nhân có phải là do thiếu hụt insulin và/hoặc kháng insulin hay không thì đến nay vẫn còn chưa được rõ ràng [29].

Một số trường hợp đột biến gen *ABCC8*, *KCNJ11* và hiếm gặp hơn là đột biến một số gen khác như *HNF1 $\alpha$*  cũng có thể gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Vì vậy ĐTĐ sơ sinh tạm thời được chia thành 3 thể: typ 1, typ 2, typ 3 và thể hiếm gặp hơn, các thể này có biểu hiện lâm sàng nhìn chung là giống nhau gồm 3 giai đoạn: giai đoạn sơ sinh, giai đoạn lui bệnh và tái phát.

#### 1.4.1.1. Biểu hiện ở giai đoạn sơ sinh

Biểu hiện chủ yếu của ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 1 là tăng glucose máu phải điều trị bằng insulin ngoại sinh và biểu hiện chậm phát triển trong tử cung. Temple và cs (2000) [33] nhận thấy rằng tăng glucose máu biểu hiện sau sinh nhưng có thể không được chẩn đoán ngay mà thường được chẩn đoán muộn hơn, thường xuất hiện trong tuần đầu sau đẻ, tuổi trung vị là 3 ngày và tuổi trung bình là 7 ngày. Đây có thể là lý do làm thay đổi tuổi chẩn đoán của bệnh nhân. Giảm hoặc không có insulin nội sinh được xác định ở bệnh nhân tại thời điểm chẩn đoán [33],[34], mặc dù hiếm khi những bệnh nhân này có biểu hiện toan xê tôn. Điều này chứng tỏ mức insulin rất thấp đã kéo dài từ lâu. Một số nghiên cứu trên các gia đình có bệnh nhân mắc ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 1 đã phát hiện ra một số cá thể có bất thường về gen phù

hợp với ĐTĐ sơ sinh tạm thời nhưng không biểu hiện ĐTĐ. Flanagan và cs (2007) [8] nhận thấy chậm phát triển trong tử cung gặp ở > 95% bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời, cân nặng lúc sinh ở trẻ đủ tháng chỉ 1,5 - 2,5 kg. Chậm phát triển trong tử cung điển hình thường xuất hiện trong quý thứ 3 của thai kỳ, dẫn đến giảm nặng lớp mỡ dưới da ở trẻ sơ sinh. Đây là do hậu quả của thiếu insulin như một yếu tố tăng trưởng quan trọng trong tử cung. Nếu được chẩn đoán và điều trị insulin phù hợp, trẻ sẽ nhanh chóng bắt kịp đà tăng trưởng chiều cao, cân nặng và đạt được chuẩn tăng trưởng bình thường ở khoảng 2 tuổi [34].

Biểu hiện khác được chú ý là biểu hiện lưỡi to, gặp ở 1/3 số bệnh nhân trong nghiên cứu của Temple và cs không liên quan đến cơ chế của gen. Biểu hiện thoát vị rốn cũng được mô tả. Những triệu chứng này không giải thích được mặc dù biểu hiện lưỡi to và thoát vị rốn cũng gặp trong các hội chứng khác liên quan đến cơ chế in dấu di truyền như Beckwith-Wiedemann [33].

Chậm phát triển tâm thần gặp ở một số bệnh nhân có thể do di truyền, hoặc hậu quả của tình trạng tăng glucose máu được chẩn đoán muộn. Các biểu hiện hiếm gặp khác là bất thường về tim, não, bất thường về nội tiết và chuyển hóa.

Xét nghiệm để chẩn đoán ĐTĐ sơ sinh một cách có hệ thống gặp nhiều khó khăn vì bệnh rất hiếm gặp. Tuy nhiên, định lượng nồng độ insulin có thể thấp hoặc không đo được ở thời điểm chẩn đoán nhưng không có xê tôn niệu [9]. Thường không tìm thấy kháng thể kháng HLA như trong ĐTĐ typ 1 [15] và không tìm thấy yếu tố tự miễn trong ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Kháng thể kháng tế bào đảo tụy âm tính [33].

#### *1.4.1.2. Giai đoạn hồi phục*

Nhu cầu insulin ngoại sinh giảm sau điều trị trung bình là 3 tháng. Tuy nhiên, nhu cầu điều trị insulin đến 18 tháng tuổi gặp ở một số hiếm các trường

hợp, mặc dù tình trạng này cũng có thể do điều trị quá mức. Trong giai đoạn này, ĐTĐ được hồi phục và bệnh nhân có nồng độ glucose máu bình thường và tốc độ tăng trưởng cũng bình thường [35]. Tuy nhiên, một số bệnh nhân có biểu hiện tăng glucose máu nhẹ tái phát trong những ngày bị ốm.

#### *1.4.1.3. Giai đoạn tái phát*

ĐTĐ tái phát trong giai đoạn vị thành niên hoặc giai đoạn sớm của người trưởng thành gặp ở 50% các trường hợp ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 1 [33],[34]. Trong một số nghiên cứu, ĐTĐ tái phát gặp sớm hơn ở trẻ 4 tuổi nhưng trung bình là 14 tuổi. Tuy nhiên, tái phát ĐTĐ thường gặp hơn ở những giai đoạn cần nhu cầu insulin cao như dậy thì hoặc mang thai. Khi tái phát, ĐTĐ biểu hiện giống như ĐTĐ typ 2. Một số trường hợp chỉ cần điều trị bằng điều chỉnh chế độ ăn, một số phải sử dụng thuốc uống hạ đường huyết như sulfonylurea hoặc tiêm insulin nhưng liều insulin thường thấp hơn trong ĐTĐ typ 1. Nếu điều trị không hiệu quả sẽ dẫn đến tăng glucose máu mạn tính [36].

Những bất thường về gen như nhau có thể gây gián đoạn bài tiết và tổng hợp insulin trong bào thai (thuyết “insulin trong bào thai”) và có thể sẽ là nguyên nhân kháng insulin sau này, vì vậy ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 1 có thể dự đoán trước được tình trạng ĐTĐ tái phát sau đó [37]. Như vậy, cần phải theo dõi sát lâm sàng để xác định giai đoạn tái phát của bệnh nhân.

Tóm lại, ĐTĐ sơ sinh tạm thời là tình trạng tăng glucose máu sơ sinh, hồi phục ở trẻ nhỏ và tái phát ở tuổi trưởng thành. Chậm phát triển trong tử cung và tăng glucose máu ở trẻ sơ sinh đã chỉ ra rằng những trẻ sơ sinh mắc ĐTĐ sơ sinh tạm thời có rất ít hoặc không có khả năng bài tiết insulin.

ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 2 và type 3 cũng có biểu hiện lâm sàng tương tự như ĐTĐ sơ sinh tạm thời typ 1. Tuy nhiên trong hai thể ĐTĐ sơ sinh tạm thời này có giai đoạn điều trị bằng sulfonylurea và giai đoạn phải điều trị

thuốc insulin hoặc SU kéo dài hơn [8]. Ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời do đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* thì ĐTĐ thường hồi phục muộn hơn và tái phát sớm hơn so với những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh do đột biến 6q24 [8].

#### **1.4.2. Đái tháo đường sơ sinh vĩnh viễn**

Cho đến nay nhiều gen đã được biết đến gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn khi có đột biến bao gồm: *KCNJ11* (30%), *ABCC8* (19%) *INS* (20%), *GCK* (4%) và *PDX1* (<1%) [38].

##### **1.4.2.1. Đái tháo đường do đột biến gen mã hóa kênh $K_{ATP}$**

Đột biến *KCNJ11* thường gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn hơn ĐTĐ sơ sinh tạm thời (90% và 10% tương ứng). Ngược lại, đột biến *ABCC8* thường gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời ( $\approx 66\%$ ) [39]. Tuy nhiên, không có sự khác biệt giữa hai nhóm về mức độ chậm phát triển trong tử cung và tuổi chẩn đoán ĐTĐ [8], [40]. Bệnh nhân có đột biến gen mã hóa cho các tiểu đơn vị của kênh  $K_{ATP}$  có mức độ chậm phát triển trong tử cung nhẹ hơn và được chẩn đoán muộn hơn so với những bệnh nhân có bất thường NST 6q24. Điều này chứng tỏ những bệnh nhân này thiếu insulin nhẹ hơn trong những tháng cuối của thai kỳ và khi sinh so với những bệnh nhân có bất thường 6q24.

Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân có đột biến kích hoạt gen mã hóa cho các tiểu đơn vị của kênh  $K_{ATP}$  gợi ý phụ thuộc insulin với mức C-peptide thấp hoặc không đo được và thường biểu hiện toan xê tôn [41]. Ngoài ĐTĐ, khoảng 20% bệnh nhân mang đột biến *KCNJ11* có biểu hiện triệu chứng thần kinh [28],[40],[41] do kênh  $K_{ATP}$  không chỉ có mặt ở màng tế bào  $\beta$  của tụy mà còn có mặt ở nơ ron thần kinh và tế bào cơ [42]. Biểu hiện lâm sàng nặng bao gồm chậm phát triển tâm thần, động kinh xuất hiện sớm và được gọi là hội chứng DEND (developmental delay, epilepsy, and neonatal diabetes). Hội chứng DEND trung gian thường hay gặp hơn và đặc trưng bởi ĐTĐ sơ sinh, chậm phát triển tâm thần nhẹ hơn và không có động kinh. Biểu hiện thần kinh

ít gặp hơn và nhẹ hơn ở những bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* [43],[44]. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng các bất thường tâm thần kinh nhẹ bao gồm rối loạn phối hợp với phát triển tâm thần (đặc biệt là loạn phối hợp động tác, không gian, thị giác) hoặc giảm chú ý có thể gặp ở những bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$  [39].

Đột biến kích hoạt *KCNJ11* gây ĐTĐ sơ sinh thường di truyền trội (dị hợp tử). Khoảng 90% các đột biến này là mới xuất hiện ở cá thể (*de novo*) và vì vậy thường không có tiền sử gia đình. Nguy cơ xuất hiện bệnh ở thế hệ tiếp theo là 50%. Điều này đúng với hầu hết bệnh nhân có đột biến *ABCC8*. Tuy nhiên một số bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép (ĐTĐ sơ sinh là di truyền lặn) thì nguy cơ xuất hiện bệnh ở lần sinh tiếp theo là 25% [39].

#### 1.4.2.2. Đái tháo đường sơ sinh do đột biến gen insulin

Đột biến dị hợp tử gen insulin (*INS*) là nguyên nhân phổ biến thứ hai gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn sau đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$  [39],[40]. Đột biến làm cho phân tử proinsulin không gấp cuộn, bị giữ lại và ứ đọng trong lưới nội bào dẫn đến stress trong lưới nội bào và chết theo chương trình của tế bào  $\beta$ .

Mức độ nặng của chậm phát triển trong tử cung ở bệnh nhân có đột biến dị hợp tử gen *INS* tương tự như ở bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$ . Ngược lại ĐTĐ biểu hiện ở tuổi muộn hơn, nhẹ hơn và bệnh nhân không có biểu hiện thần kinh. Đột biến gen *INS* thường là dị hợp tử và là đột biến mới xuất hiện (*de novo*) đơn phát lẻ tẻ. Khoảng 20% các bệnh nhân có tiền sử gia đình của ĐTĐ di truyền trội NST thường [40]. Đôi khi đột biến gen *INS* gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn sau 6 tháng tuổi, vì vậy xét nghiệm phân tích gen cần được cân nhắc chỉ định trong trường hợp này đặc biệt khi bệnh nhân có kháng thể ĐTĐ typ 1 âm tính [39]. Ngoài đột biến dị hợp tử của gen *INS*, đột biến đồng hợp tử hoặc đột biến dị hợp tử kép của gen *INS* gây ĐTĐ sơ sinh cũng đã được mô tả. Đột biến hai allele không gây phá hủy tế bào  $\beta$  từ

từ nhưng dẫn đến thiếu hụt sinh tổng hợp insulin trước và sau sinh. Điều này giải thích vì sao cân nặng lúc sinh thấp hơn và biểu hiện ĐTĐ sớm hơn ở những trẻ mang đột biến. Trong trường hợp di truyền lặn thì có 25% nguy cơ xuất hiện bệnh ở lần sinh tiếp theo. Ở những gia đình không kết hôn cùng huyết thống thì nguy cơ rất thấp ở thế hệ sau của bệnh nhân.

#### 1.4.2.3. Đái tháo đường trong các hội chứng

##### i/ Hội chứng Wolcot-Rallison

Là hội chứng hiếm gặp do đột biến gen *EIF2AK3* mã hóa cho enzyme xúc tác quá trình dịch mã nhân điển hình 2 $\alpha$  kinase 3 (eukaryotic translation initiation factor 2 $\alpha$  kinase 3). Cho đến nay chỉ có < 60 bệnh nhân được mô tả trong y văn [45],[46]. Hầu hết các bệnh nhân đều đến từ các gia đình kết hôn cùng huyết thống như ở Trung Đông, Nam Phi, Pakistan và Thổ Nhĩ Kỳ. Hội chứng Wolcot-Rallison (WRS) là nguyên nhân phổ biến gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn ở những gia đình kết hôn cùng huyết thống. Ba biểu hiện lâm sàng chính được mô tả lần đầu tiên trong nghiên cứu của Wolcott và Rallison [45]: ĐTĐ, bất sản xương và rối loạn chức năng gan.

ĐTĐ là một biểu hiện chính trong hội chứng WRS và phụ thuộc insulin hoàn toàn từ khi khởi phát bệnh. Mặc dù cân nặng lúc sinh phổ biến là bình thường, tuy nhiên hiện nay có bằng chứng cho thấy giảm nhẹ cân nặng lúc sinh ở bệnh nhân WRS (trung vị là -1,4SD) [45]. Nguyên nhân của ĐTĐ trong WRS không phải là tự miễn vì không có kháng thể đặc hiệu.

*Bất sản xương*: đặc trưng bởi bất sản nhiều đầu xương và hành xương, chủ yếu ở những xương dài, xương chậu và cột sống trong khi xương sọ thường là không tổn thương. Chất khoáng của xương cũng bị ảnh hưởng và được chú ý mô tả sớm trong hội chứng WRS. Khuyết xương kết hợp với vỏ xương mỏng và kém canxi hóa ở đầu xương không tiến triển, có thể gặp gãy xương nhiều nơi và gãy nhiều lần. Ở cột sống, thường có biểu hiện đẹt đốt

sống, đầu trên và đầu dưới đốt sống không đều, bất thường cốt hóa ở bờ trước đốt sống, dẫn đến gù cột sống ngực và ưỡn cột sống thắt lưng, bệnh nhân khó đi hoặc chạy với tư thế đi giống vịt liên quan đến cứng khớp háng và hạn chế động tác dạng của khớp háng. Trong một số trường hợp biến dạng xương nặng cùng với tình trạng cột sống không ổn định sẽ dễ dẫn đến đè nén ống sống gây nên bệnh thần kinh vận động ở tay và chân.

*Rối loạn chức năng gan:* tổn thương gan biểu hiện điển hình bởi các đợt suy tế bào gan cấp tính tái diễn, có hoặc không có ứ mật kèm theo và thậm chí có thể suy gan hoặc rối loạn chức năng gan mạn tính ở những bệnh nhân lớn tuổi. Lâm sàng điển hình có các đợt tổn thương gan tái diễn và thuyên giảm, mức độ nặng khác nhau. Những đợt cấp này sẽ làm kích thích gan to lên có hoặc không kèm theo tăng bilirubin. Bệnh có thể tự thoái lui hoặc cũng có thể rất nặng kết hợp với suy các cơ quan khác và dẫn đến tử vong. Những đợt cấp tính thường được kích hoạt bởi những bệnh nhiễm khuẩn như viêm đường hô hấp trên, tiêu chảy, có thể kết hợp với vàng da, hạ glucose máu và thậm chí hôn mê ở những trường hợp nặng. Các đợt cấp tính có thể làm trầm trọng thêm tình trạng chung của bệnh [47].

*Các biểu hiện lâm sàng khác:* suy chức năng thận hoặc suy thận hạn chế đã được mô tả cùng với biểu hiện suy chức năng gan. Hiếm gặp rối loạn chức năng toàn bộ tụy, teo tuyến tụy có thể phát hiện được trên siêu âm, chụp cắt lớp vi tính hoặc chụp cộng hưởng từ [45], và suy tụy ngoại tiết đã được báo cáo ở 8/30 bệnh nhân trong nghiên cứu của Ozbek và cs [46], 4 trong số này có đợt biến động hợp tử giống nhau. Trong nghiên cứu của Rubio-Cebezcas và cs [32], 2/29 bệnh nhân cần điều trị enzyme tụy thay thế.

Về phát triển tâm thần kinh, suy giảm trí thông minh hoặc chậm phát triển tâm thần gặp ở 18/29 bệnh nhân với các mức độ khác nhau có thể kèm theo bệnh não bé với các rãnh cuộn não đơn giản và động kinh [48]. Suy giảm



trí thông minh có thể là biến chứng của hôn mê nhiễm toan xê tôn, hạ glucose máu nặng và các đợt suy gan tái diễn hoặc do các cơ chế khác trong diễn biến của bệnh. Ozbek và cs [46] báo cáo 6/28 bệnh nhân có suy giáp trung ương trong cơn cấp, không phải thành phần của hội chứng nhưng phản ánh hội chứng tuyến giáp bị bệnh (Eurothyroid sick syndrome) trong suốt cơn cấp nặng. Hội chứng này được cho là do cơ chế tiết kiệm năng lượng trong suốt tình trạng stress. Giảm bạch cầu trung tính gặp ở một số bệnh nhân và thường kết hợp với nhiễm trùng tái diễn. Một số ít bệnh nhân có biểu hiện mất màu răng, bất thường về da và bộ mặt bất thường [49].

*ii/ Hội chứng rối loạn miễn dịch, tổn thương nhiều tuyến nội tiết, tổn thương ruột non di truyền liên kết nhiễm sắc thể X (hội chứng IPEX)*

Nguyên nhân của hội chứng này là do đột biến gen *FOXP3* nằm ở vùng trung tâm của NST X (Xq11.3-q13.3). Gen *FOXP3* mã hóa yếu tố phiên mã cần thiết cho sự duy trì hoạt động của tế bào T điều hòa (tT<sub>reg</sub>) có nguồn gốc từ tuyến ức. Rối loạn chức năng của tế bào tT<sub>reg</sub> sẽ gây bệnh tự miễn ở nhiều tạng trong hội chứng IPEX.

*Biểu hiện lâm sàng:* thể xuất hiện sớm và nặng của hội chứng IPEX có thể nhanh chóng dẫn đến tử vong nếu không được chẩn đoán và điều trị. Những trường hợp nặng nhất thường đặc trưng bởi bộ ba biểu hiện lâm sàng xuất hiện sớm: tiêu chảy khó kiểm soát, ĐTĐ typ 1 và viêm da cơ địa.

Bệnh lý tổn thương ruột non tự miễn là tiêu chuẩn vàng của hội chứng IPEX. Bệnh nhân có các triệu chứng tiêu chảy phân nước ngay từ tuổi sơ sinh hoặc trong thời kỳ bú mẹ, phân có thể có nhầy hoặc máu. Bệnh không đáp ứng với điều trị bằng chế độ ăn hoặc nuôi dưỡng tĩnh mạch, thường dẫn đến suy dinh dưỡng nặng và chậm phát triển. Ngoài biểu hiện tiêu chảy, các biểu hiện khác của dạ dày ruột cũng gặp ở những trường hợp điển hình bao gồm nôn, viêm dạ dày, tắc ruột và viêm kết tràng [31].

ĐTĐ typ 1 có thể xuất hiện trước viêm ruột, thường khó kiểm soát, biểu hiện ở số lượng lớn bệnh nhân bao gồm cả trẻ sơ sinh và thường có kháng thể đặc biệt [31].

Bệnh da thường xuất hiện trong tháng đầu sau đẻ có thể là dạng eczema (thường là viêm da dị ứng), bệnh vẩy cá hoặc vẩy nến. Tình trạng tổn thương da có thể từ viêm nhẹ đến nặng và biểu hiện lan tỏa với từng đám ban đỏ rỉ dịch tiến triển đến sừng hóa. Tổn thương da thường không đáp ứng với corticoid tại chỗ và có thể có biến chứng nhiễm trùng (thường là nhiễm *Staphylococcus aureus* và *S. epidermidis*). Các biểu hiện khác bao gồm: viêm môi, teo móng và rụng tóc lông [31].

Ngoài các biểu hiện lâm sàng trên, bệnh còn biểu hiện ở các cơ quan khác là hậu quả của quá trình tự miễn: giảm tế bào máu tự miễn, thiếu máu tan máu tự miễn; bệnh thận tự miễn như viêm màng mao mạch tiểu cầu thận (MGN) và viêm thận kẽ, hiếm gặp hội chứng thận hư [50]; viêm gan tự miễn, viêm khớp bao gồm một hoặc nhiều khớp; lách to và bệnh của hạch bạch huyết; bệnh phổi kẽ hoặc viêm phổi có đáp ứng với corticoid; dị ứng nặng với thức ăn hoặc những tác nhân dị ứng khác gây hen phế quản.

Tăng IgE và tăng bạch cầu ưa acid ở bệnh nhân mắc thể nặng. Các globulin miễn dịch trong huyết thanh bình thường trừ khi bệnh nhân có suy dinh dưỡng nặng. Công thức bạch cầu thường bình thường. Ở một số trường hợp có thể có tăng bạch cầu vì tăng sinh mô bạch huyết đa dòng chủ yếu là tế bào CD4+ T và CD8+ T có thể tăng mà không tương xứng với tế bào T nhớ, và sự phân bố tương xứng của các tế bào lympho có thể nhận diện được vẫn còn được duy trì. Sự ngăn cách tế bào B (CD19+) và NK (CD16+CD56+) vẫn còn nguyên vẹn. Hầu hết bệnh nhân dương tính với tự kháng thể: tự kháng thể kháng harmonin (HAA) và tự kháng thể kháng villin (VAA) được sử dụng để sàng lọc ban đầu cho bệnh nhân mắc hội chứng IPEX [51].

Ở trẻ sơ sinh được chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và phát hiện được kháng thể kháng insulin (IAA), tế bào tiểu đảo tụy (ICA), kháng thể kháng decarboxylase (GAD) hoặc zinc transporter 8 (ZNT8), để loại trừ hội chứng IPEX thì phân tích gen là bắt buộc. Trong quá trình tiến triển của bệnh, ĐTĐ liên quan đến tự kháng thể và các kháng thể khác (bao gồm kháng thể kháng thyroglobulin, kháng thể kháng tiểu thể, peroxidase, test coombs, kháng tiểu cầu, kháng bạch cầu trung tính, kháng nhân, kháng thể kháng cơ trơn, kháng thể kháng cơ - thận - gan có thể dương tính [31].

#### 1.4.2.4. Đái tháo đường do đột biến các gen hiếm gặp khác

Danh mục các gen gây ĐTĐ sơ sinh nhưng rất hiếm gặp, kiểu di truyền, thể lâm sàng ĐTĐ sơ sinh và các triệu chứng kèm theo được mô tả ở bảng 1.1.

**Bảng 1.1. Đột biến các gen khác và biểu hiện lâm sàng [39]**

Gen	Kiểu di truyền	Thể lâm sàng	Các biểu hiện kèm theo
<i>GCK</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Chậm phát triển trong tử cung
<i>NEUROD1</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Tiêu chảy khó điều trị
<i>NEUROG3</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Chậm phát triển trong tử cung, ỉa chảy
<i>GLIS3</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Suy giáp, tắc mật, tăng nhãn áp, thận đa nang, nhiễm trùng tái phát, điếc
<i>PAX6</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Bất thường mắt, não
<i>SLC19A1</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn xuất hiện muộn	Thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ, điếc, bất thường tim, giảm thị lực
<i>SLC2A2</i>	Lặn NST thường	Hiếm khi khởi phát thời kỳ sơ sinh	Hội chứng Fanconi-Bickel, rối loạn chức năng thận, tăng galactose máu
<i>PDX1</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Suy tụy ngoại tiết
<i>PTF1A</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Giảm sản tiểu não
<i>RFX6</i>	Lặn NST thường	ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn	Teo ruột non, bất sản bàng quang, ỉa chảy khó điều trị

## 1.5. Các phương pháp điều trị ĐTĐ sơ sinh

### 1.5.1. Nguyên tắc điều trị

#### Điều trị theo cơ chế bệnh sinh

Trong trường hợp nhiễm toan xê tôn do đái tháo đường, phải điều trị bằng insulin. Insulin regular được truyền tĩnh mạch để điều chỉnh glucose máu và tình trạng nhiễm toan. Khi bệnh nhân không còn tình trạng nhiễm toan xê tôn thì điều trị bằng insulin tiêm dưới da hoặc thuốc uống sulfonylurea tùy theo kết quả phân tử.

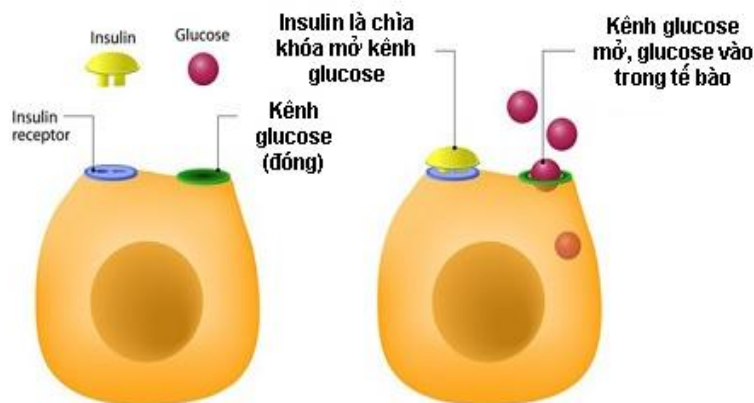
ĐTĐ sơ sinh do các đột biến gen gây phá hủy tế bào  $\beta$  hoặc bất thường sự phát triển của tuyến tụy dẫn đến giảm bài tiết insulin, giảm nhạy cảm với insulin hoặc giảm hiệu suất của insulin thì phải điều trị bằng tiêm insulin

ĐTĐ sơ sinh do các đột biến gây bất thường kênh  $K_{ATP}$  có thể điều trị bằng uống sulfonylurea thay thế cho tiêm insulin. Thuốc sulfonylurea gắn vào kênh  $K_{ATP}$  làm đóng kênh và giải phóng insulin nội sinh [52].

### 1.5.2. Các thuốc điều trị

#### 1.5.2.1. Insulin

Vai trò quan trọng nhất của insulin là cho phép tế bào sử dụng glucose để tạo năng lượng. Insulin được tuyến tụy bài tiết khi glucose tăng cao như sau khi ăn một bữa ăn giàu năng lượng. Khi đó insulin hoạt động như một chìa khóa để mở cửa tế bào giúp tế bào sử dụng glucose để tạo năng lượng.



Hình 1.3. Cơ chế hoạt động của insulin [53]

Khi glucose tăng cao trong máu, insulin giúp quá trình dự trữ glucose dưới dạng glycogen ở gan, cơ và tế bào mỡ để cơ thể sử dụng khi cần nhu cầu cao về năng lượng. Insulin kích thích dự trữ glycogen ở gan, nhưng khi gan đã bão hòa glycogen, glucose sẽ được dự trữ ở mô mỡ (tổng hợp lipoprotein).

Nếu không có insulin, cơ thể không thể sử dụng glucose để tạo năng lượng trong tế bào dẫn đến glucose tăng cao trong máu gây ĐTĐ, nếu không được điều trị sẽ gây nhiều biến chứng nặng về thần kinh, mắt, thận và chi. Trong trường hợp nặng, thiếu insulin sẽ dẫn đến tế bào không sử dụng được glucose để sinh năng lượng, vì vậy phải sử dụng chất béo dự trữ để tạo ra năng lượng. Quá trình đốt cháy chất béo để tạo năng lượng sẽ giải phóng thể xê tôn vào máu, điều này có thể dẫn đến tình trạng nhiễm toan xê tôn gây nguy hiểm đến tính mạng.

Năm 1922, Banting và Best [54] đã chiết xuất insulin từ động vật để điều trị cho người bị ĐTĐ typ 1, những insulin này mang tên loài động vật được chiết xuất như insulin bò, insulin lợn hoặc insulin bò/lợn. Năm 1986, insulin người tái tổ hợp lần đầu tiên được lưu hành trên thị trường. Vì được sản xuất qua *Escherichia coli*, nên tính kháng nguyên yếu hơn so với insulin động vật và phần lớn đã thay thế việc sử dụng insulin động vật.

**Bảng 1.2. Tóm tắt dữ liệu về các loại insulin hiện có trên thị trường [55].**

Loại	Bắt đầu tác dụng (phút)	Đỉnh tác dụng (phút)	Thời gian tác dụng (giờ)
Tác dụng rất nhanh			
Lispro	5-15	30-90 30-	< 5
Aspart	5-15	90	<5
Glulisine	5-15	30-90	<5
Insulin người (rDNA) dạng bột hít	5-15	30-90	5-8
Tác dụng nhanh: Regular	30-60	2-3	5-8
Tác dụng bán chậm: NPH	2-4	4-10	10-16
Tác dụng chậm (kéo dài)			
Glargine (Lantus)	2-4	Không	20-24
Detemir (Levemir)	3-8	Không	6-23*
Insulin trộn:			
- Humalog Mix 75/25	5-15	Kép	10-16
- Humalog Mix 50/50	5-15	Kép	10-16
- NovoLog Mix 70/30	5-15	Kép	10-16
- 70% NPH/30 insulin regular	30-60	Kép	10-16

\* Thời gian tác dụng phụ thuộc vào liều; NPH: neutral protamine Hagedorn

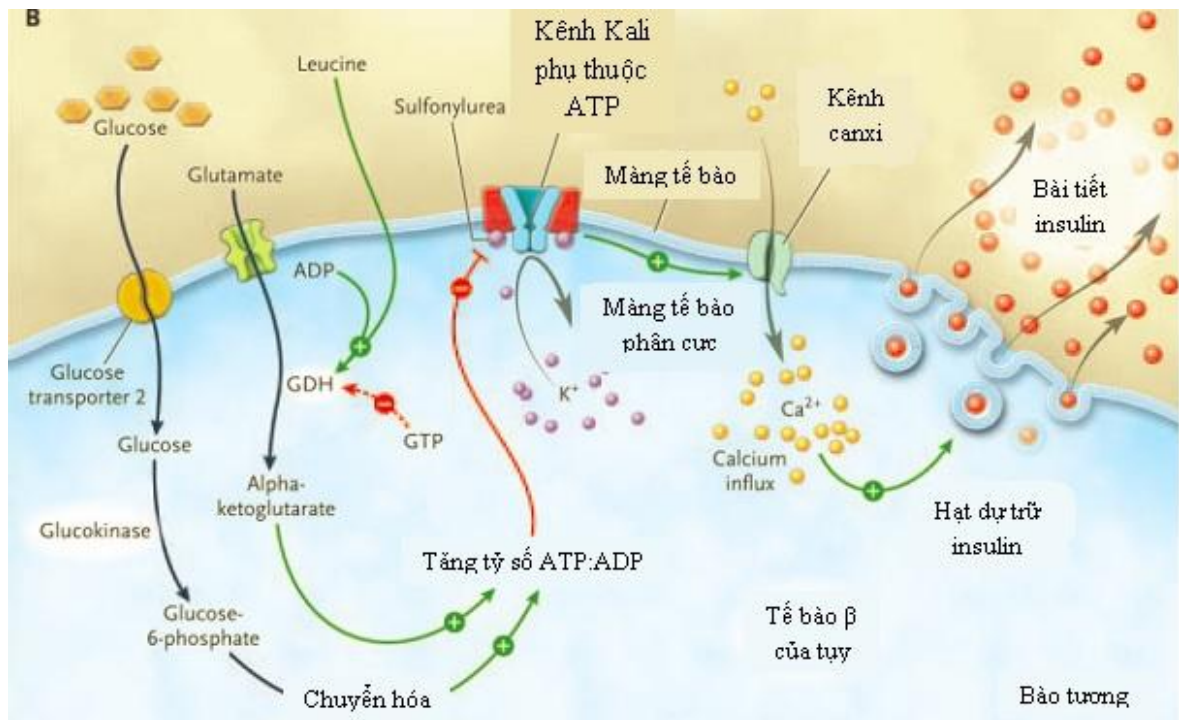
#### 1.5.2.2. Sulfonylureas

Cấu trúc chung của sulfonylurea gồm gốc sulfonyl và ure khác nhau ở vị trí R. Tỷ lệ Ar và R đặc trưng cho tính hấp thu lipid trong khi gốc  $-SO_2-NH-CO-NH-$  đặc trưng cho tính hấp thụ nước. Những nhóm cấu trúc này cần cho hoạt động của thuốc, nhưng số lượng nhóm hấp thu lipid Ar và R khác nhau về (gắn với receptor của SU) chuyển hóa, tác dụng và thải trừ thuốc [56].

Tất cả các SU có tính acid yếu và tính ion mạnh ở pH sinh lý. Tính ion hóa chi phối khả năng của thuốc (ái lực), khả năng gắn với protein huyết tương (>95%) và tương tác thuốc [56].

SU thế hệ thứ nhất đã ra đời vào năm 1966 với chlorpropamide, tolbutamide, tolazamide và acetohexamide. Thế hệ SU thứ nhất có một số tác dụng ngoại ý và bắt đầu bị phê phán chỉ vài năm sau khi được lưu hành trên thị trường. Thời gian bán hủy kéo dài, tính chọn lọc kém trên tế bào beta tụy, và làm tăng khả năng nhiễm acid lactic nếu kết hợp với phenformin, một dẫn xuất biguanide được sử dụng rộng rãi tại Hoa Kỳ lúc bấy giờ, là những hạn chế chính của nhóm SU thế hệ thứ nhất. Tình trạng hạ glucose máu nặng và kéo dài, gây tăng cân cũng là các lo ngại làm cho các bác sĩ lâm sàng hạn chế dần việc sử dụng nhóm SU thế hệ thứ nhất. Chính các bất lợi này đã tạo điều kiện cho nhóm SU thế hệ thứ hai ra đời vào năm 1972 với glibenclamide (glyburide), glipizide, gliclazide và glimépiride. Sự ra đời của thế hệ thứ hai được xem như phiên bản hoàn hảo hơn và khắc phục gần như triệt để các bất lợi của thế hệ đầu tiên; đặc biệt là hai thuốc glimépiride và gliclazide [57].

Cơ chế tác dụng tại tuyến tụy diễn ra một khi SU gắn kết với các SUR đặc hiệu trên màng tế bào  $\beta$  tụy, kênh  $K_{ATP}$  vận chuyển  $K^+$  sẽ bị đóng lại. Kênh này cũng sẽ bị đóng lại dưới tác dụng của một số chất mà sự chuyển hóa cần đến vai trò của insulin như glucose và acid amin qua cơ chế làm tăng nồng độ ATP hay tăng tỉ lệ ATP/ADP nội bào. Sự đóng kênh  $K^+$  sẽ gây ra hiện tượng khử cực do giảm tính thấm  $K^+$  của tế bào  $\beta$  tụy. Để cân bằng điện tích hai bên màng tế bào  $\beta$ , kênh  $Ca^{++}$  sẽ được mở ra. Khi kênh  $Ca^{++}$  được mở ra,  $Ca^{++}$  sẽ đi vào tế bào làm tăng nồng độ  $Ca^{++}$  nội bào. Một protein nội bào là calmodulin sẽ kết hợp với  $Ca^{++}$  qua phản ứng phosphoryl-hóa. Phức hợp  $Ca^{++}$ - calmodulin sẽ đưa các hạt chế tiết insulin đến sát màng tế bào beta tụy và kết quả là insulin sẽ được phóng thích [58].



**Hình 1.4. Sơ đồ điều hòa bài tiết insulin và cơ chế tác dụng của SU [59]**

Hiệu quả hạ glucose máu và tác dụng ngoại ý của các SU phụ thuộc vào ái lực và tốc độ gắn kết của từng loại SU với thụ thể trên bề mặt tế bào  $\beta$  tụy. Ái lực thấp và tốc độ gắn kết nhanh sẽ làm tăng hiệu quả kiểm soát glucose máu và hạn chế tác dụng ngoại ý (gây hạ glucose máu quá mức) của SU. Tính đặc hiệu của SUR đối với từng loại SU vẫn chưa được chứng minh rõ.

Ngoài ra còn có cơ chế tác dụng ngoài tụy: Sulfonylureas làm giảm glucagon trong máu. Cơ chế gây nên tác dụng này hiện nay chưa được rõ nhưng có thể do tác dụng ức chế gián tiếp do giải phóng insulin và somatostatin; Sulfonylureas cũng có thể làm tăng tác dụng của insulin tại các mô đích.

### **1.5.3. Điều trị cụ thể**

#### **1.5.3.1. Điều trị toan xê tôn**

ĐTĐ sơ sinh có thể biểu hiện tăng glucose máu, rối loạn điện giải, mất nước và toan xê tôn. Chỉ định điều trị đầu tiên cũng theo quy tắc chung. Mục đích điều trị là điều chỉnh nước điện giải, thăng bằng kiềm toan, điều chỉnh áp



lực thẩm thấu, đưa glucose máu về gần bình thường, theo dõi phát hiện và điều trị kịp thời các biến chứng do điều trị. Sau khi đảm bảo hô hấp cho bệnh nhân, ngay lập tức bù dịch có điện giải với nồng độ đẳng trương. Dịch được bù chậm trong vòng 24-48 giờ để tránh phù não. Tổng lượng dịch được tính theo lượng dịch duy trì và dịch mất đi. Ban đầu sử dụng dung dịch natriclorua 0,9%; tiếp theo tùy nồng độ glucose máu có thể sử dụng natriclorua 0,45% (pha natriclorua 0,9% với glucose 5% hoặc 10% , 20% với tỷ lệ 1:1).

Insulin tĩnh mạch bằng dụng cụ định giờ bắt đầu với liều 0,05-0,1 đơn vị/kg/giờ sau khi bắt đầu truyền dịch 1-2 giờ. Ở những bệnh nhân có tăng kali thì trì hoãn bù kali cho đến khi bệnh nhân có nước tiểu. Các trường hợp khác bắt đầu bù kali 40 mmol kali/l dịch truyền hoặc 20 mmol kali/l ở những bệnh nhân được truyền dịch với tốc độ >10 ml/kg/giờ. Bicarbonat không được khuyến cáo, chỉ dùng để điều trị tình trạng tăng kali máu có đe dọa tính mạng 1-2 mmol/kg trong 60 phút.

Trong quá trình điều trị cần theo dõi các dấu hiệu phù não (thường xuất hiện 12 giờ sau điều trị, hiếm khi xuất hiện trước điều trị hoặc sau điều trị 24 - 48 giờ): đau đầu, nhịp tim chậm, thay đổi nhận thức (kích thích, lơ mơ,...) dấu hiệu thần kinh khu trú (liệt dây thần kinh sọ), tăng huyết áp và giảm oxy tổ chức [60].

#### *1.5.3.2. Điều trị duy trì*

Sau khi điều trị toan xê tôn bằng insulin regular truyền tĩnh mạch, insulin sẽ được chuyển sang tiêm dưới da khi bệnh nhân hết tình trạng toan, không còn các biểu hiện mất nước. Bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh sẽ được chỉ định insulin nền hoặc kết hợp giữa insulin nền và insulin tác dụng nhanh (insulin regular hoặc insulin analogues tác dụng rất nhanh).

Insulin nền có thể là insulin bán chậm như Neutral Protamine Hagedorn (NPH) hoặc insulin chậm như insulin glargine hoặc insulin detemir. Insulin

bán chậm không cung cấp được tác dụng phù hợp với bữa ăn dễ dẫn đến mức glucose giao động và hạ glucose máu. Insulin glargine có tác dụng trái dài trong 24 giờ đã khắc phục được nhược điểm của insulin bán chậm, nhưng tính an toàn và hiệu quả của insulin glargine lại chưa được thiết lập ở trẻ dưới 6 tháng tuổi. Tuy nhiên thuốc này đã được chỉ định ở trẻ bú mẹ, trẻ mắc ĐTĐ typ 1 và đã được chứng minh là phù hợp để điều trị cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ mắc ĐTĐ với mức kiểm soát glucose máu tốt hơn, ít biến chứng hạ glucose máu hơn. Glargine thường được bắt đầu với liều 0,5-1 đơn vị/ngày và được chia thành 2 liều để cung cấp tác dụng nền phù hợp [61] vì trẻ thường bú mẹ liên tục 2-3 giờ/lần [62].

Một insulin analogue tác dụng kéo dài khác được sử dụng ở trẻ ĐTĐ sơ sinh là insulin detemir. Không giống như glargine, insulin detemir có đỉnh tác dụng nên có thể gây hạ glucose máu. Tác dụng kéo dài của detemir là do gắn với acid béo và albumin huyết tương. Vì vậy lớp mỡ dưới da mỏng và albumin huyết tương thấp ở trẻ ĐTĐ sơ sinh sẽ ảnh hưởng đến dược động học của thuốc này. Nhiều trẻ ĐTĐ sơ sinh có thể kiểm soát glucose máu tốt bằng insulin nền mà không cần insulin bolus.

Insulin bolus là tiêm insulin tác dụng ngắn như insulin regular hoặc insulin tác dụng rất nhanh như insulin lispro hoặc insulin aspart. Tuy nhiên những insulin này có thể gây hạ glucose máu do có đỉnh tác dụng. Để khắc phục nhược điểm này và để điều chỉnh glucose máu cho trẻ sơ sinh hoặc trẻ bú mẹ, tỷ số insulin và cacbonhydrate được sử dụng để tính liều insulin bolus. Hơn nữa, tỷ số của liều insulin và mức glucose máu có thể sử dụng để điều chỉnh mức glucose máu cao. Khi áp dụng những tỷ số này trong điều trị ĐTĐ cho trẻ nhỏ thì lượng insulin trong một ngày rất ít, vì vậy rất khó để thao tác được liều chuẩn bằng xi lanh [63]. Nhân viên y tế chỉ có thể thao tác được nửa đơn vị khi sử dụng bằng kim tiêm insulin 3/10cc. Glucose máu bị ảnh

hưởng bởi sự biến đổi của nhiều trạng thái nên tăng hoặc giảm glucose máu đều rất khó kiểm soát. Casella và cs [63] đã gợi ý sử dụng insulin pha loãng nếu liều cần dưới 2 đơn vị để tránh sai sót khi thao tác liều thuốc. Insulin pha loãng được sử dụng để dễ dàng thao tác được liều thuốc chính xác cho trẻ nhỏ [64]. Thường sử dụng dung dịch insulin pha loãng 1:10 cho phép định liều chính xác. Sử dụng insulin 1 đơn vị/10ml cho phép dễ dàng xác định liều nhỏ thuốc cần thiết cho trẻ sơ sinh. Việc pha loãng insulin nên do dược sỹ thực hiện. Do tính không ổn định, insulin pha loãng có thể biến chất nhanh hơn insulin tiêu chuẩn vì vậy nên sử dụng trong vòng 30 ngày kể từ khi được pha loãng [64]. Cùng với cách sử dụng insulin, bố mẹ bệnh nhân cần được hướng dẫn cách theo dõi glucose máu để tránh hạ glucose máu có thể gây tổn thương não cho trẻ. Nên kiểm tra glucose máu ban đêm và thường xuyên trong ngày.

Trẻ bị ĐTĐ sơ sinh thường có cân nặng thấp so với tuổi thai, vì vậy lớp mỡ dưới da rất mỏng và kèm theo mất nước. Chăm sóc và điều trị trẻ mắc ĐTĐ sơ sinh là một vấn đề hết sức khó khăn. Trẻ bú liên tục, glucose máu có thể liên tục cao không đo được, trong khi lượng calo từ bú mẹ khó có thể đo được. Hơn nữa lớp mỡ dưới da mỏng không chỉ gây ảnh hưởng đến sự hấp thu insulin mà còn rất khó khăn khi tiêm insulin. Sử dụng insulin pha loãng thì lượng dung dịch thuốc đưa vào dưới da trẻ lại tăng lên [65]. Trung bình trẻ phải tiêm 4 mũi/ngày, kèm theo định lượng glucose máu mao mạch ít nhất là 5 lần, trong khi mỡ dưới da của trẻ rất mỏng. Để khắc phục những vấn đề này, một số tác giả đề nghị sử dụng bơm insulin và hệ thống theo dõi glucose máu liên tục. Trong y văn, có rất ít các báo cáo liên quan đến sử dụng bơm insulin cho trẻ trong giai đoạn sơ sinh [66] trong khi việc sử dụng bơm insulin tăng lên ở trẻ em và trẻ vị thành niên. Khi so sánh với tiêm nhiều mũi hàng ngày, sử dụng bơm insulin đã được chứng minh là có hiệu quả giảm HbA1c và giảm các cơn hạ glucose máu. Sử dụng bơm insulin ở trẻ ĐTĐ sơ sinh được coi là tiêu chuẩn vàng trong điều trị insulin vì nó có thể cung cấp liều insulin rất nhỏ

và linh hoạt cùng với lượng ăn vào không đo được lại luôn thay đổi. Những trường hợp ĐTĐ sơ sinh tạm thời gần đây chỉ sử dụng glargine nhưng cũng có thể chỉ sử dụng insulin analog tác dụng nhanh với bơm là an toàn cho nhóm trẻ dưới 2 tuổi [67]. Một thuận lợi khác của bơm có thể cải thiện kỹ năng là nhiều bơm có thể cung cấp liều nền 0,025 đơn vị/giờ và liều bolus 0,025 đơn vị/liều cho phép sử dụng liều linh hoạt hơn ở trẻ nhỏ thậm chí không cần pha loãng. Hơn nữa sử dụng hệ thống đo glucose máu liên tục giúp cho việc kiểm soát glucose máu tốt hơn với tỷ lệ liều nền được điều chỉnh nhiều hơn. Đồng thời khi điều trị chuyển đổi từ insulin sang uống glibenclamide ở những bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$ , bơm insulin cũng sẽ giúp giảm insulin dần dần trong quá trình chuyển đổi. Có thể thêm liều nhỏ insulin trong trường hợp tăng glucose máu để tránh nguy cơ nhiễm toan xê tôn trong quá trình chuyển đổi. Tuy nhiên trong y văn có rất ít báo cáo sử dụng bơm insulin trong điều trị ĐTĐ sơ sinh hoặc trong quá trình chuyển đổi từ insulin sang uống glibenclamide [68].

Về khía cạnh chế độ ăn thì liều insulin tác dụng nhanh thông thường phải dựa vào tổng lượng carbohydrate. Điều này rất quan trọng khi sử dụng insulin truyền tĩnh mạch cùng với ăn và lượng carbohydrate ăn vào phải được đo chính xác nhất có thể. Lượng carbohydrate được tính dựa vào bảng chuyển đổi carbohydrate của từng loại thức ăn (ví dụ lượng carbohydrate trong sữa mẹ là 70-75 g/l) và tổng lượng thức ăn trẻ ăn trong 1 bữa [62]. Sau đó tính tỷ số insulin/carbohydrate theo quy tắc 500. Từ tỷ số insulin/carbohydrate, tính độ nhạy cảm insulin theo quy tắc 1800. Ví dụ, một quy tắc phổ biến để tính tỷ số insulin/carbohydrate là chia tổng liều insulin hàng ngày cho 500. Nếu trẻ cần 3 đơn vị insulin trong 24 giờ, thì tỷ số insulin/carbohydrate bằng  $3/500 (=1/166)$  nghĩa là tỷ số insulin/carbohydrate sẽ là 1 đơn vị insulin/166g carbohydrate. Sử dụng insulin pha loãng U-10, mỗi 0,1 đơn vị insulin sẽ tác dụng cho 16g carbohydrate - tổng lượng carbohydrate

trong 300 ml sữa. Insulin tác dụng nhanh không chỉ tác dụng cho lượng carbohydrate ăn vào mà còn để điều chỉnh glucose máu cao. Để điều chỉnh đường máu, quy tắc 1800 được sử dụng: chia 1800 cho tổng liều insulin hàng ngày. Trong trường hợp này, chia 1800 cho 3 được 600. Mỗi đơn vị insulin sẽ làm giảm glucose máu xuống 33,3 mmol/l (600 mg/dl). Sử dụng insulin U-10, mỗi đơn vị sẽ làm giảm glucose máu xuống 3,3 mmol/l (60 mg/dl), một lượng để sử dụng hơn [63].

**Điều trị Sulfonylurea ở trẻ ĐTĐ sơ sinh** được chỉ định cho những bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8/KCNJ11*. Điều trị sulfonylurea đã đem đến kết quả kiểm soát glucose máu tốt hơn ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh có đột biến gen mã hóa cho các tiểu đơn vị của kênh  $K_{ATP}$ . Khoảng 90% bệnh nhân có đột biến kích hoạt gen *ABCC8/KCNJ11* có thể chuyển từ insulin tiêm sang uống sulfonylurea [58],[69]. Chuyển sang điều trị bằng sulfonylurea thường cải thiện kiểm soát glucose máu mà không tăng nguy cơ hạ glucose máu. Liều tính trên kilogram thể trọng thường cao hơn so với liều điều trị ở người lớn bị ĐTĐ tít 2, thường là 0,5 mg/kg glibenclamide, liều cao có thể là 2,3 mg/kg/ngày đã được báo cáo [39],[70]. Nhiều bệnh nhân có thể giảm dần liều sulfonylurea sau khi chuyển đổi mà vẫn kiểm soát glucose máu tốt [39], [70]. Tác dụng phụ đã được báo cáo là tiêu chảy thoáng qua và nhuộm màu răng [71]. Một số nghiên cứu hình ảnh não đã chỉ ra rằng sulfonylurea có thể qua được hàng rào máu não [72] và một số trường hợp ca bệnh được báo cáo đã cho thấy sulfonylurea có thể cải thiện một phần triệu chứng thần kinh.

Một vấn đề quan trọng là có nên bắt đầu chỉ định sulfonylurea cho trẻ mắc bệnh ĐTĐ sơ sinh trước khi có chẩn đoán di truyền hay không. Nhiều ý kiến cho rằng có thể bắt đầu ngay lập tức hoặc cũng có thể chờ đợi nếu kết quả xét nghiệm di truyền không chậm trễ đáng kể. Ở một số bệnh nhân cần ngừng insulin để đánh giá hiệu quả của sulfonylurea, điều này có thể dẫn đến

một số rủi ro nếu bất thường về di truyền không phải là đột biến kênh  $K_{ATP}$ . Có một số báo cáo về sự nhạy cảm với SU ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh do đột biến 6q24 trong giai đoạn tái phát, mặc dù hiệu quả điều trị trong giai đoạn đầu sẽ rất khó khăn để chứng minh do bản chất vốn đã thoáng qua của quá trình bệnh [52]. Trí tuệ và sự phát triển có thể được cải thiện với sulfonylurea, nên tránh sự chậm trễ trong việc điều trị những trường hợp thích hợp. Ở những bệnh nhân có đột biến gen đã được báo cáo và dự đoán là có đáp ứng với sulfonylurea, nhưng kết quả thực tế lại không đáp ứng tốt hoặc hoàn toàn với sulfonylurea thì có thể xem xét đến phối hợp thuốc. Các thuốc này nên là những thuốc đã được thử nghiệm lâm sàng hoặc đã được đăng ký, ở bệnh nhân lớn tuổi là chất ức chế dipeptidyl peptidase-IV (DPPIV), incretin mimetics, hoặc agonist và các thuốc tăng nhạy cảm insulin ở những bệnh nhân có chỉ số khối cơ thể cao.

Quá trình chuyển đổi từ điều trị insulin sang uống sulfonylurea được tiến hành theo phác đồ và được thực hiện tại bệnh viện: bắt đầu liều sulfonylurea 0,1mg/kg/lần, 2 lần/ngày. Xét nghiệm glucose máu mao mạch sáng, tối, nếu kết quả glucose máu  $> 7$  mmol/l thì tăng dần liều sulfonylurea, mỗi lần tăng 0,1mg/kg, và giữ nguyên liều insulin. Nếu glucose máu sáng, tối  $< 7$  mmol/l thì giảm liều insulin 1 nửa. Tiêm insulin thường trong các bữa ăn nếu cần.

Các phương pháp điều trị khác được chỉ định trong tương lai ở những trường hợp ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn phải điều trị bằng insulin suốt đời. Ghép toàn bộ tuyến tụy [73], thường gặp nhất là ghép cùng với ghép thận, mặc dù đôi khi cũng có trường hợp ghép tuyến tụy đơn thuần đã được thực hiện trong 20 năm qua. Ghép tuyến tụy được chỉ định cho bệnh nhân mắc ĐTĐ typ 1 để thay đổi mức độ phụ thuộc insulin theo thời gian. Ghép tuyến tụy truyền thống rất khó thực hiện do tính mỏng manh vốn có của tổ chức tuyến tụy đồng thời cần phải kiểm soát tụy ngoại tiết trong suốt quá trình phẫu thuật.

Nghiên cứu những cá thể nhận ghép trong khoảng 1982-1993 và gần đây về tỷ lệ nhận ghép cho thấy ít nhất tỷ lệ thái ghép trong năm đầu sau ghép là 76% và 33% tương ứng. Tỷ lệ nhận ghép tuyến tụy tăng lên theo thời gian. Với những thuốc ức chế miễn dịch hiện nay, tỷ lệ nhận ghép trong 3 năm đã đạt 80%. Ghép đồng thời thận tụy thu được kết quả tốt hơn ghép tuyến tụy đơn thuần mặc dù tỷ lệ sống sau ghép tuyến tụy đơn thuần cải thiện rõ rệt. 25% ghép tuyến tụy là ghép đơn thuần ở Mỹ với tỷ lệ nhỏ là ghép tuyến tụy người cho sống. Do nguy cơ phẫu thuật kết hợp với nguy cơ của thuốc ức chế miễn dịch nên chỉ chỉ định hạn chế ghép cho những người không thể sử dụng insulin an toàn hoặc những người cần thuốc ức chế miễn dịch cho ghép thận.

Ghép chọn lọc đảo tụy cũng được nghiên cứu điều trị ĐTĐ. Do có những nguy cơ khi dùng thuốc ức chế miễn dịch nên hầu hết những trường hợp được chỉ định ghép tiểu đảo tụy cho những bệnh nhân ĐTĐ typ 1 không ổn định và hạ glucose máu không triệu chứng. Ghép đảo tụy giúp cho những bệnh nhân này kiểm soát glucose máu tốt hơn, HbA1C bình thường, phòng ngừa hạ glucose máu và cải thiện chất lượng cuộc sống. Tỷ lệ phụ thuộc insulin 1 năm sau ghép tiếp tục tăng, sau đó duy trì thấp, xấp xỉ 50% trong năm đầu và 33% trong năm thứ hai.

Sự tiến bộ vượt bậc đã đạt được trong việc phân lập tế bào  $\beta$  từ dịch ối hoặc từ nguồn tế bào gốc của người lớn. Tế bào có nguồn gốc trung mô, hệ tạo máu và ống tuyến tụy có thể biệt hóa thành tế bào  $\beta$ . Tế bào gốc từ phôi thai người có thể tạo ra tế bào bài tiết insulin khi có kích thích của glucose trên in vivo. Những phát hiện này đã mở ra một hướng mới cho điều trị ĐTĐ và tiềm năng lớn không chỉ trong việc cung cấp nguồn ghép chắc chắn cho ghép đảo tụy mà còn cho việc ghép tự thân [73].

## **1.6. Kết quả điều trị**

Do bệnh hiếm gặp nên số lượng bệnh nhân được theo dõi và điều trị tại cùng một trung tâm hạn chế, hầu hết các nghiên cứu đều là các báo cáo

trường hợp bệnh hoặc một số các trường hợp bệnh với cỡ mẫu nhỏ, vì vậy khó đánh giá được kết quả điều trị lâu dài trên số lượng bệnh nhân đủ lớn có thể đại diện cho nhóm bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh.

ĐTĐ sơ sinh được chẩn đoán lần đầu năm 1789 [70]. Keidan (1955) [74] đã hồi cứu 22 bệnh nhân được báo cáo năm 1947, trong đó có 5 bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời được chẩn đoán trước 6 tuần tuổi. Trước khi insulin được ứng dụng điều trị thì những bệnh nhân này đều không được cứu sống. Việc điều trị ĐTĐ sơ sinh và ĐTĐ typ 1 không có gì khác biệt cho đến khi nguyên nhân về đột biến các gen của ĐTĐ sơ sinh được làm sáng tỏ. Các phát hiện này đã làm cho phương pháp điều trị ĐTĐ sơ sinh và ĐTĐ typ 1 có sự khác biệt rõ rệt: những bệnh nhân ĐTĐ do đột biến gen *ABCC8* hoặc *KCNJ11* có thể điều trị bằng uống sulfonyleurea thay thế cho insulin tiêm. Các nghiên cứu báo cáo ca bệnh và nghiên cứu hàng loạt ca bệnh đã khẳng định hiệu quả của uống sulfonyleurea. Trong một nghiên cứu lớn nhất gồm 49 bệnh nhân được điều trị bằng sulfonyleurea [58], có 90% bệnh nhân có cải thiện kiểm soát glucose máu. Việc điều trị bằng uống sulfonyleurea không những đơn giản hơn, dễ dàng hơn so với tiêm insulin mà nhiều năm sau đó bệnh nhân vẫn duy trì được mức HbA1c gần bình thường. Trong nghiên cứu này, chỉ có một lần duy nhất gặp hạ glucose máu nặng (ở bệnh nhân có vấn đề về tâm thần) ngay cả khi dùng liều rất cao (>2 mg/kg/ngày glyburide).

Nghiên cứu trên chuột đã hỗ trợ cho giả thuyết rằng khi không có sulfonyleurea thì chức năng của tế bào  $\beta$  bị suy giảm và sulfonyleurea đã giúp cho tế bào  $\beta$  khỏe mạnh. Những bệnh nhân có hội chứng DEND nặng nói chung là kém đáp ứng với sulfonyleurea. Ngược lại, những bệnh nhân có hội chứng DEND ít nặng hơn như trong trường hợp có đột biến p.V59M thường đáp ứng tốt với sulfonyleurea. Những trường hợp không đáp ứng với sulfonyleurea thường do hậu quả của việc không đóng được kênh  $K_{ATP}$  là



những trường hợp có hội chứng DEND nặng, phản ánh mức độ ức chế nơ ron thần kinh. Hầu hết bệnh nhân cho dù có lớn tuổi hoặc có biểu hiện thần kinh thì ít nhất cũng đáp ứng một phần với sulfonylurea được thể hiện qua sự cải thiện mức glucose máu khi giảm liều insulin mặc dù một số bệnh nhân cần liều cao sulfonylurea hoặc phải dùng thêm thuốc khác. Nhiều nghiên cứu báo cáo ca bệnh đã chứng minh sự cải thiện tâm thần kinh ở những bệnh nhân có hội chứng DEND trung bình bao gồm những bệnh nhân có đột biến p.V59M, p.G53D và p.H46L. Bệnh nhân có biểu hiện chậm vận động nặng, hoặc chậm nhận thức và ngôn ngữ ở nhiều độ tuổi khác nhau đã cải thiện đáng kể những triệu chứng này sau điều trị vài tháng, tuy nhiên không thể hồi phục hoàn toàn. Hơn nữa một trường hợp bệnh nhân có hội chứng DEND nặng đã cải thiện có ý nghĩa các biểu hiện thần kinh đặc biệt khi dùng sulfonylurea liều cao (2,3 mg/kg/ngày glyburide/glibenclamide) so với liều thông thường (<1 mg/kg/ngày) [70].

Muhlendahl và cs [14] nghiên cứu 57 bệnh nhân ĐTD sơ sinh: 26/57 bệnh nhân ĐTD sơ sinh vĩnh viễn, 18 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời, 13 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời tái phát khi 7-20 tuổi. Nghiên cứu đã đánh giá 123 công bố khoa học về ĐTD sơ sinh từ 64 trung tâm của 17 quốc gia cho thấy: 20 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời chưa có biểu hiện tái phát, giai đoạn ĐTD kéo dài từ 17-1914 ngày. 8 trẻ được theo dõi đến 7-19 tuổi, 4 bệnh nhân tuổi từ 4 tháng - 4 tuổi có phát triển tâm thần bình thường. Hai bệnh nhân song sinh chậm phát triển tâm thần nhẹ trong đó có một bệnh nhân có biểu hiện co giật và tim bẩm sinh phức tạp. Không có bệnh nhân nào có bệnh não bé. Nghiên cứu đánh giá 13 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời [14], 12 trẻ gái và một trẻ trai có biểu hiện ĐTD tái phát muộn, cả 13 trẻ này đều có chậm phát triển trong tử cung, giai đoạn ĐTD kéo dài 14 - 325 ngày và giai đoạn hồi phục kéo dài 7-20 tuổi. Chậm phát triển tâm thần nhẹ gặp ở hai trẻ song sinh.

Khi nghiên cứu các báo cáo về ĐTD sơ sinh vĩnh viễn, có 8/18 bệnh nhân khởi phát ĐTD khi 3 ngày tuổi. Bệnh nhân được theo dõi đến 8-32 tuổi, 1 bệnh nhân tử vong khi 15 tuổi không rõ nguyên nhân, 9 bệnh nhân phát triển tâm thần bình thường. Có hai bệnh nhân có chậm phát triển tâm thần trung bình, một trong hai bệnh nhân này có chậm phát triển trong tử cung nhưng anh trai sinh đôi khỏe mạnh bình thường với cân nặng lúc sinh bình thường. Hai bệnh nhân chậm phát triển tâm thần nặng. Không có thông tin về phát triển tâm thần ở 5 bệnh nhân. Một bệnh nhân có vi phình mạch ở vùng quanh giác mạc của mắt phải khi 15 tuổi nhưng sau đó tự mất. Không có báo cáo về bệnh mao mạch [14].

## Chương 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu bao gồm 40 bệnh nhân nhỏ hơn 12 tháng tuổi được chẩn đoán ĐTĐ tại Khoa Nội tiết - Chuyên hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương từ 1/2000 ÷ 1/2017.

- **Tiêu chuẩn lựa chọn:** những bệnh nhân có đủ các tiêu chuẩn sau sẽ được chọn vào nghiên cứu:

+ Tăng glucose máu xuất hiện trước 12 tháng tuổi [5],[72];

+ Glucose máu đói  $\geq 126$  mg/dl (7,0 mmol/l) (đói được định nghĩa là không ăn ít nhất 4 giờ ở trẻ 0 ÷ 1 tuổi) hoặc glucose máu bất kỳ  $> 200$  mg/dl ( $>11,1$  mmol/l) [75];

+ Tình trạng tăng glucose máu đói kéo dài trên 2 tuần phải điều trị bằng insulin [76];

+ Bệnh nhân và gia đình chấp thuận tham gia nghiên cứu

- **Tiêu chuẩn loại trừ:**

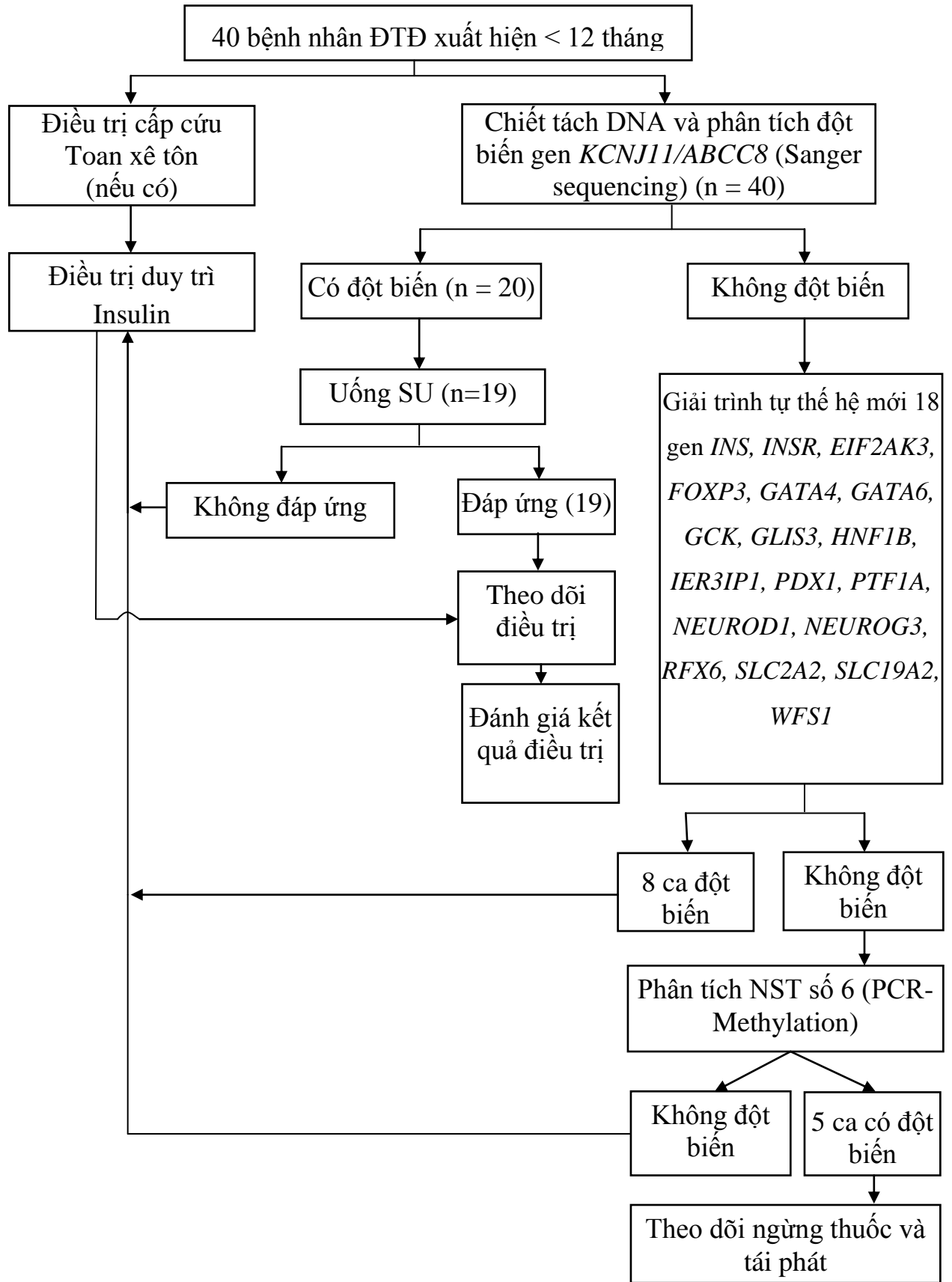
+ Những trường hợp tăng glucose máu do truyền dung dịch có glucose, do nhiễm trùng hoặc stress khác.

+ Bệnh nhân và gia đình không đồng ý tham gia nghiên cứu.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu một loạt các ca bệnh bao gồm: phát hiện đột biến một số gen, kiểu hình (lâm sàng, xét nghiệm hóa sinh), can thiệp điều trị và đánh giá kết quả điều trị. Chọn mẫu theo phương thức tiện ích. Theo dõi tiến cứu các bệnh nhân mới được chẩn đoán ( $n = 36$ ) và sử dụng các dữ liệu hồi cứu nếu cần thiết ( $n = 4$ ) và tiếp tục theo dõi theo chiều dọc.

Các bước tiến hành nghiên cứu được mô tả tại sơ đồ 2.1.



Sơ đồ 2.1. Tóm tắt sơ đồ nghiên cứu

## **2.3. Các chỉ số nghiên cứu**

### **2.3.1. Đặc điểm nhân khẩu học**

- Tuổi chẩn đoán bệnh
- Giới nam, nữ

### **2.3.2. Đặc điểm lâm sàng**

- Cân nặng khi sinh, khi chẩn đoán bệnh: tính theo gram
- Tuổi thai: tính theo tuần
- Tuổi chẩn đoán bệnh: tính theo ngày
- Các triệu chứng: nhiễm toan xê tôn (thở nhanh, dấu hiệu mất nước, nôn, kích thích, li bì hoặc hôn mê), các triệu chứng khác như: co giật, chậm phát triển tâm thần vận động, vàng da, lưỡi to, thoát vị rốn, test đánh giá trí tuệ (DQ/IQ).

- Tiền sử: gia đình có người bị bệnh ĐTĐ, vỡ phả hệ gia đình, ĐTĐ thai nghén ở mẹ, bố mẹ kết hôn cùng huyết thống

### **2.3.3. Đặc điểm hoá sinh và di truyền phân tử**

- Xét nghiệm sinh hóa máu: ure, glucose, creatinin, điện giải đồ, AST, ALT, khí máu, insulin, C-peptide, HbA1c, bilirubin, T4, TSH
- Xét nghiệm nước tiểu: glucose niệu, xê tôn niệu
- Xét nghiệm glucose máu mao mạch tại nhà
- Phát hiện các đột biến của các gen có liên quan.

### **2.3.4. Điều trị và đánh giá kết quả điều trị**

Điều trị bằng insulin.

Điều trị bằng sulfonyleurea.

Không phải điều trị thuốc lâu dài.

Kết quả điều trị sau khi có kết quả phân tích gen: tiếp tục phải điều trị bằng insulin, điều trị bằng sulfonyleurea, không phải điều trị lâu dài.

Khi điều trị bằng sulfonyleureas: thời gian chuyển đổi thành công từ insulin sang sulfonyleureas, liều điều trị sulfonyleureas, glucose, HbA1C sau khi điều trị bằng sulfonyleurea.

Khi ngừng điều trị insulin: thời gian phải điều trị insulin, thời gian sau ngừng điều trị insulin, đường huyết, HbA1C khi ngừng tiêm insulin.

Đánh giá sự phát triển tâm thần, vận động và kiểm soát glucose máu, HbA1C ở thời điểm hiện tại.

## **2.4. Phương pháp thu thập số liệu**

Mỗi bệnh nhân có một hồ sơ nghiên cứu theo mẫu bệnh án thống nhất. Các thông tin được thu thập qua phỏng vấn trực tiếp, thăm khám lâm sàng, và xét nghiệm hóa sinh tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

### **2.4.1. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 1**

#### *2.4.1.1. Chiết tách DNA*

Bệnh nhân và bố mẹ bệnh nhân được tách chiết DNA theo quy trình chuẩn từ bạch cầu lympho máu ngoại vi tại Khoa Di truyền và Sinh học phân tử, Bệnh viện Nhi Trung ương (phụ lục I). Để đảm bảo nồng độ DNA, bệnh phẩm của bệnh nhân được chiết tách DNA 3 lần, sau đó được phân tích phát hiện đột biến trên các gen *KCNJ11*, *ABCC8*, *INS*, *INSR*, *EIF2AK3*, *FOXP3*, *GATA4*, *GATA6*, *GCK*, *GLIS3*, *HNF1B*, *IER3IP1*, *PDX1*, *PTF1A*, *NEUROD1*, *NEUROG3*, *RFX6*, *SLC2A2*, *SLC19A2*, *WFS1* tại Phòng xét nghiệm Di truyền phân tử, Đại học Y, Đại học Exeter, Vương quốc Anh bằng phương pháp PCR và giải trình tự gen hoặc phương pháp PCR methylation với bất thường trên NST số 6.

#### *2.4.1.2. Phương pháp phân tích phát hiện đột biến các gen*

Các kỹ thuật sinh học phân tử để phát hiện đột biến các gen có liên quan được tiến hành tại Phòng xét nghiệm di truyền phân tử, Đại học Y Exeter, Vương quốc Anh

Exon đơn độc của *KCNJ11* được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự trực tiếp theo quy trình của Ellard và Flanagan (trình tự môi trong phụ lục II). Giải trình tự được thực hiện bởi hệ thống ABI 3100 capillary

sequencing (Applied Biosystems) và kết quả được so sánh với các trình tự gen đã được công bố (NM\_000525.3).

Những bệnh nhân không có đột biến trên gen *KCNJ11* sẽ được phân tích gen *ABCC8*: 39 exon và vùng nối exon-intron được khuếch đại bằng các cặp primer đặc hiệu (trình tự mỗi trong phụ lục II), sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự bằng hệ thống ABI 3730 capillary sequencer (Applied Biosystems, Warrington, UK) và được so sánh với trình tự gen đã được công bố (NM\_000525 và NM\_000352.2).

Những bệnh nhân không có đột biến trên gen *KCNJ11* và *ABCC8* sẽ được phân tích để phát hiện đột biến của các gen *INS*, *INSR*, *EIF2AK3*, *FOXP3*, *GATA4*, *GATA6*, *GCK*, *GLIS3*, *HNF1B*, *IER3IP1*, *PDX1*, *PTF1A*, *NEUROD1*, *NEUROG3*, *RFX6*, *SLC2A2*, *SLC19A2*, *WFS1* bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới (Agilent custom capture v5/Illumina HiSeq; reference sequences at [www.exeterlaboratory.com/genetics/tngs](http://www.exeterlaboratory.com/genetics/tngs)). Sau đó những gen mà phát hiện được đột biến (*FOXP3* hoặc *EIF2AK3*) sẽ được khẳng định lại bằng phương pháp giải trình tự Sanger.

Những bệnh nhân không có đột biến của 20 gen kể trên sẽ được phân tích để phát hiện bất thường trên NST số 6 bằng phương pháp PCR-Methylation đặc hiệu (Methylation-specific PCR) và kỹ thuật khuếch đại đầu dò đa môi dựa vào phản ứng nối đặc hiệu methyl hóa (Methylation-Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification: MS-MLPA) sử dụng kit thương mại MRCHolland ME033. Kỹ thuật này cho phép phát hiện số lượng bản sao và dạng methyl hóa. Đồng thời 7÷12 dấu ấn ở vùng microsatellite của nhiễm sắc thể số 6 cũng được phân tích.

Quá trình phân tích methyl hóa cũng được tiến hành cho các locus đặc hiệu theo đích như: ĐTD sơ sinh tạm thời, *GRB10*, *PEG1/MEST*, *KCNQ1OT1*, *H19*, *DLK1* (14q32), *SNRPN* (15q12), *PEG3/ZIM2*, và

NESPAS/GNAS-AS1 (20q13.2) DMRs sử dụng PCR methyl hóa đặc hiệu và pyrosequencing nếu cần đã được mô tả bởi Mackay và cs [21],[22].

Những bệnh nhân có bất thường methyl hóa trên những locus đặc hiệu cho ĐTD sơ sinh tạm thời sẽ được phân tích để phát hiện đột biến của gen *ZFP57*. Sự thay đổi trình tự gen *ZFP57* được xác định bằng giải trình tự trực tiếp hai sản phẩm khuếch đại PCR bao gồm exon 1 (49bp) và các exon từ 2-6 (4,8kb) tương ứng. Vì exon 6 có chứa đoạn “finger zinc” có trình tự lặp lại nên sẽ có các vấn đề xảy ra khi khuếch đại. Vì vậy để khắc phục vấn đề này, các exon 2-6 sẽ được khuếch đại cùng nhau.

- Trình tự primer để khuếch đại exon 1:
  - + 59-AGAGGAGTGGGGACAACAT-39
  - + 59-CTAGCGCTACTTGGGACCAG-39
- Trình tự primer để khuếch đại các exon 2-6:
  - + 59-CCCAGGCTGGTGTGTTACT-39
  - + 59-ATGCTCACTGCCTCCTTTGT-39.

Trình tự các primer đặc hiệu cho phản ứng khuếch đại và cho giải trình tự cũng như điều kiện phản ứng PCR theo quy trình được mô tả bởi Ellard và cs [22]. Ngay sau đó, DNA được khuếch đại sử dụng chất phóng xạ Phusion bắt đầu với phản ứng polymerase có độ chính xác cao (New England Biolabs) và chất đệm GC được cung cấp cùng với DMSO để được nồng độ cuối cùng là 3%. Điều kiện PCR lúc này là: 98<sup>0</sup>C/3 phút, [98<sup>0</sup>C/10 giây, 50<sup>0</sup>C/10 giây, 72<sup>0</sup>C/1 phút 45 giây] x 29 chu kỳ, 72<sup>0</sup>C/5 phút.

## **2.4.2. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 2**

### **2.4.2.1. Đặc điểm lâm sàng**

Nghiên cứu lâm sàng được tiến hành tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương.



Khi trẻ nhập viện sẽ được cân, đo chiều dài nằm với trẻ < 2 tuổi bằng thước SECA, khám phát hiện các triệu chứng của nhiễm toan xê tôn: thở nhanh, dấu hiệu và mức độ mất nước, li bì, hôn mê, các triệu chứng khác: co giật, vàng da, bở bủ, lưỡi to, thoát vị rốn, sự phát triển tâm thần vận động.

Phòng vấn bố mẹ và gia đình để phát hiện tiền sử chậm phát triển trong tử cung, chậm lớn, chậm tăng cân hoặc gầy sút, chậm phát triển tâm thần vận động.

#### 2.4.2.2. Đặc điểm sinh hóa

Các xét nghiệm sinh hóa được tiến hành tại Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương.

Định lượng glucose máu, HbA1c, ure, creatinin, điện giải đồ, khí máu động mạch, tổng phân tích nước tiểu ở thời điểm chẩn đoán:

+ Định lượng glucose máu tĩnh mạch: Sử dụng phương pháp hexokinase trên máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU5800/AU680 và thuốc thử định lượng glucose ORS 6221 của hãng OLYMPUS. 2 ml máu tĩnh mạch được thu thập vào buổi sáng sớm khi bệnh nhân ngủ dậy hoặc thời điểm bệnh nhân đến khám. Trị số bình thường 3,3 - 5,5 mmol/l. Tăng khi > 7,1 mmol/l (lúc đói) theo khuyến cáo của hiệp hội Đái tháo đường trẻ em và vị thành niên thế giới (ISPAD) [39].

+ Phương pháp định lượng HbA1c: Sử dụng máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU680 và thuốc thử định lượng HbA1c ORS6192 (hãng olympus). Xét nghiệm bao gồm 2 quy trình: định lượng HbA1c bằng phương pháp miễn dịch ức chế cạnh tranh, định lượng Hb toàn phần bằng kỹ thuật so màu, từ đó tính ra tỷ lệ HbA1c/Hb toàn phần để có % HbA1c. Trị số bình thường 4 - 6,2%. Tăng khi > 6,5%, theo khuyến cáo của của hiệp hội Đái tháo đường trẻ em và vị thành niên thế giới (ISPAD) [39].

+ Định lượng ure máu bằng phương pháp đo màu, creatinin máu bằng phương pháp đo màu động học (phương pháp Jaffé động học) trên máy hóa sinh

tự động Beckman Coulter AU5800/AU640. Trị số bình thường: ure máu bình thường 2,5 - 6,4 mmol/l; creatinin máu bình thường 27-88  $\mu\text{mol/l}$  [77].

+ Điện giải đồ: sử dụng phương pháp điện cực chọn lọc ion trên máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU5800/AU640. Trị số bình thường: natri 130-147 mmol/l, kali 3,7-5,1 mmol/l [77].

+ Phương pháp đo khí máu động mạch: sử dụng phương pháp điện hóa (điện cực chọn lọc) trên máy GASTAT-603ie. Trị số bình thường pH 7,35 - 7,45,  $\text{HCO}_3^-$ : 13-28 mEq/l. pH giảm khi  $<7,30$ ;  $\text{HCO}_3^-$  giảm khi  $< 15$  mmol/l [77], [78].

- Định lượng insulin, C-peptid (đối với bệnh nhân chẩn đoán lần đầu chưa điều trị insulin):

+ Định lượng insulin theo phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy sinh hóa tự động Hitachi 704 của Mỹ. Trị số bình thường: 5- 25 mU/L (18- 150 pmol/L) [79].

+ Định lượng nồng độ C-peptid bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang theo nguyên lý IRMA (Radioimmunometric assay). Được thực hiện trên máy sinh hóa tự động Hitachi 704 của Mỹ. Trị số bình thường: 0,26- 0,62 nmol/l (0,78- 1,89 ng/ml) [79].

- Tổng phân tích nước tiểu: nước tiểu giữa dòng được phân tích các thông số: hồng cầu, bilirubin, urobilinogen, xê tôn, glucose, protein, pH, bạch cầu, tỷ trọng, nitrite, sử dụng phương pháp đo quang trên máy Strip Analyser 500.

- Định lượng glucose máu mao mạch bằng máy đo glucose máu One Touch Ultra: sử dụng phương pháp điện hóa. Que thử có một mao mạch hút một số lượng rất ít máu. Lượng glucose trong máu phản ứng với một điện cực enzyme có chứa glucose oxidase (hoặc dehydrogenase). Enzyme này được tái oxy hóa với lượng dư của một thuốc thử, chẳng hạn như một ferricyanide ion, một dẫn xuất ferrocen hoặc osmium phức tạp bipyridyl. Những chất này được

oxy hóa bằng phản ứng ở điện cực tạo ra một dòng điện. Tổng số phí đi qua các điện cực tỷ lệ thuận với lượng glucose trong máu đã phản ứng với các enzyme.

- Để đánh giá chính xác sự giao động glucose máu, một số bệnh nhân được theo dõi glucose máu liên tục 24 giờ trong nhiều ngày bằng máy đo glucose máu liên tục Ipro. Nguyên lý hoạt động của máy này tương tự như thử glucose máu bằng que thử, tuy nhiên máy có thể thử 288 mẫu/ngày và biểu diễn kết quả bằng đồ thị.

### **2.4.3. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 3**

#### **2.4.3.1. Chuyển đổi điều trị từ tiêm insulin sang uống sulfonylurea**

Được tiến hành tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương.

Những bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* sẽ được nhập viện nội trú để điều trị chuyển đổi từ insulin tiêm sang uống sulfonylurea theo phác đồ:

#### **• Điều trị nội trú**

**Ngày 1:** Tiêm insulin tác dụng nhanh trước ăn sáng 30 phút và uống liều glibenclamide đầu tiên 0,1 mg/kg ngay trước bữa ăn. Định lượng glucose máu trước bữa ăn và trước khi đi ngủ đêm. Tiêm liều insulin tác dụng nhanh trong bữa ăn nếu cần thiết.

- Buổi tối: uống glibenclamide: 0,1mg/kg trừ khi glucose máu mao mạch < 7 mmol/l. Tiêm insulin tác dụng kéo dài như bình thường.

**Ngày 2:** ngừng tiêm insulin tác dụng kéo dài trong suốt thời kỳ chuyển đổi, tiêm insulin tác dụng nhanh trong bữa ăn (nếu cần).

- Nếu glucose máu mao mạch >7 mmol/l trước khi uống glibenclamide thì uống 0,2 mg/kg/lần glibenclamide vào buổi sáng và buổi tối trong bữa ăn (tổng liều 0,4 mg/kg/ngày).

- Nếu glucose máu mao mạch < 7 mmol/l trước khi uống glibenclamide thì uống liều 0,1 mg/kg/lần (tổng liều 0,2 mg/kg/ngày) và giảm liều insulin trước ăn xuống còn 50%.

**Ngày 3:** Xét nghiệm glucose máu mao mạch trước khi uống glibenclamide

- Nếu  $> 7$  mmol/l thì uống liều 0,3 mg/kg/lần glibenclamide vào bữa sáng và bữa tối (tổng liều 0,6 mg/kg/ngày). Nếu  $< 7$  mmol/l thì uống liều 0,2 mg/kg/lần (tổng liều 0,4 mg/kg/ngày) và giảm liều insulin xuống còn 50%.

**Ngày 4:** Xét nghiệm glucose máu mao mạch trước khi uống glibenclamide. Nếu  $> 7$  mmol/l thì cho liều 0,4 mg/kg/lần glibenclamide vào bữa sáng và bữa tối (tổng liều 0,8 mg/kg/ngày). Nếu  $< 7$  mmol/l thì tiếp tục 0,3 mg/kg/lần x 2 lần/ngày và giảm liều insulin xuống 50%.

**Ngày 5:** Xét nghiệm glucose máu mao mạch trước khi uống glibenclamide. Nếu  $> 7$  mmol/l thì uống liều 0,5 mg/kg/lần glibenclamide vào bữa sáng và tối (tổng liều 1,0 mg/kg/ngày). Nếu  $< 7$  mmol/l thì tiếp tục liều 0,4 mg/kg/lần (tổng liều 0,8 mg/kg/ngày) và giảm liều insulin trước ăn xuống 50%.

**Ngày thứ 6 trở đi:** Duy trì liều 1,0 mg/kg/ngày trong ít nhất 4 tuần và có thể cho bệnh nhân điều trị ngoại trú. Liều có thể tăng 2,0 mg/kg/ngày để đạt kết quả nếu không có tác dụng phụ và nhu cầu insulin giảm thì có thể tiếp tục tăng liều.

- Nhu cầu insulin và nồng độ glucose máu sẽ tiếp tục giảm ngay cả khi bệnh nhân điều trị liều cố định sulfonylureas.

- Khi đã ngừng insulin mà glucose máu giảm  $< 4$  mmol/l (72 mg/dl) thì có thể tiếp tục giảm liều glibenclamide.

**Xuất viện:** bệnh nhân được điều trị nội trú khi không cần điều trị insulin duy trì, hoặc tình trạng bệnh nhân ổn định khi điều trị phối hợp insulin và glibenclamide ( $\geq 1$  mg/kg). Bệnh nhân cần được theo dõi glucose máu mao mạch 4 lần/ngày và trước khi đi ngủ, để có thể tiếp tục giảm liều insulin hoặc glibenclamide.

• **Phác đồ điều trị ngoại trú**

**Tuần 1:** Tiếp tục tiêm insulin nhưng giảm liều khi cần thiết dựa theo kết quả glucose máu. Uống liều glibenclamide 0,2 mg/kg/ngày với 0,1 mg/kg trước bữa ăn sáng (8h) và 0,1 mg/kg trước bữa ăn tối (18h). Giữ liều hằng

định trong suốt cả tuần.

**Tuần 2:** Xét nghiệm glucose máu mao mạch trước ăn: nếu  $> 7$  mmol/l, tăng glibenclamide lên 0,4 mg/kg/ngày (0,2 mg/kg/lần, 2lần/ngày); nếu  $< 7$  mmol/l, giữ liều glibenclamide 0,2 mg/kg/ngày và giảm liều insulin. Nếu sau giảm liều insulin glucose máu tăng lên thì tăng glibenclamide lên 0,4 mg/kg/ngày (0,2 mg/kg/lần, 2 lần/ngày).

**Tuần 3:** Nếu glucose máu mao mạch trước ăn  $> 7$  mmol/l, tăng liều glibenclamide lên 0,6 mg/kg/ngày (0,3 mg/kg/lần, 2 lần/ngày); Nếu  $< 7$  mmol/l, giữ nguyên liều glibenclamide 0,4 mg/kg/ngày và giảm liều insulin. Nếu sau giảm liều insulin mà glucose máu mao mạch lại tăng lên thì tăng liều glibenclamide lên 0,8 mg/kg/ngày (0,4 mg/kg/lần, 2 lần/ngày).

**Tuần 4** (hầu hết bệnh nhân không cần phải tiếp tục đến giai đoạn này): Nếu glucose máu mao mạch trước ăn thường  $> 7$  mmol/l tăng liều glibenclamide lên 0,8 mg/kg/ngày (0,4 mg/kg/lần, 2 lần/ngày); nếu  $< 7$  mmol/l, giữ nguyên liều glibenclamide 0,6 mg/kg/ngày và giảm liều insulin. Nếu sau giảm liều insulin mà glucose máu mao mạch tăng lên thì tăng liều glibenclamide lên 0,8 mg/kg/ngày (0,4 mg/kg/lần, 2 lần/ngày).

**Tuần 5 và sau đó:** phần lớn bệnh nhân có thể ngừng insulin ở thời điểm này với liều glibenclamide 0,8 mg/kg/ngày. Nếu không, tăng liều glibenclamide lên 1mg/kg/ngày. Khi đáp ứng chậm, có thể 4 tuần hoặc lý tưởng là 6 tuần sử dụng liều này trong khi có thể vẫn cần phải điều trị insulin

- Nếu sau 4-6 tuần mà không đáp ứng với liều insulin tương tự như khi bắt đầu giai đoạn này thì có thể lại trở lại điều trị insulin đơn thuần như trước.

**Đánh giá:** Quá trình chuyển đổi thành công nếu bệnh nhân chỉ cần điều trị bằng SU và dừng được insulin. Chuyển đổi thất bại nếu bệnh nhân vẫn phải sử dụng insulin đơn thuần hoặc phối hợp SU với liều glibenclamide ít nhất 0,8 mg/kg/ngày (hoặc tương đương) trong 4 tuần [58].

### 2.4.3.2. Đánh giá kết quả kiểm soát glucose máu

Sau khi điều trị chuyển đổi, bệnh nhân tiếp tục được theo dõi glucose máu, HbA1C, C-peptide, phát triển tâm thần vận động và phát triển thể chất. Liều glibenclamide sẽ được điều chỉnh theo kết quả glucose máu.

Những bệnh nhân có bất thường trên NST số 6 sẽ được theo dõi sát để ngừng điều trị tiêm insulin dựa trên kết quả glucose máu.

Kết quả điều trị sẽ được đánh giá qua các chỉ số: glucose máu mao mạch 5 mẫu/ngày: trước ăn sáng, trước ăn trưa, trước ăn tối, trước khi đi ngủ và 2 giờ sáng, HbA1c 3 tháng/lần, DQ/IQ 6 tháng/lần.

Kết quả điều trị được đánh giá theo hướng dẫn của hiệp hội Đái tháo đường trẻ em và vị thành niên thế giới (ISPAD) [80].

**Bảng 2.1. Mục tiêu kiểm soát glucose máu**

Mức độ kiểm soát	Lý tưởng (không ĐTD)	Tốt	Trung bình	Kém (nguy cơ cao)
<b>Biểu hiện lâm sàng</b>				
Tăng glucose máu	Không tăng	Không triệu chứng	Đái nhiều, uống nhiều, đái dầm	Nhìn mờ, tăng cân kém, tăng trưởng chậm, chậm dậy thì, giảm chú ý, nhiễm trùng da và tiết niệu, dấu hiệu của biến chứng mạch máu
Glucose máu thấp	Không thấp	Hạ glucose máu không nặng	Cơ hạ glucose máu nặng, hôn mê hoặc co giật	Cơ hạ glucose máu nặng, hôn mê hoặc co giật
<b>Xét nghiệm sinh hóa</b>				
Glucose lúc đói buổi sáng hoặc trước ăn mmol/L (mg/dL)	3,6-5,6 (65-100)	4-8 (70-145)	>8 (>145)	>9 (>162)
Glucose máu sau ăn	4,5-7,0 (80-126)	5-10 (90-180)	10-14 (180-250)	>14 (>250)
Glucose máu trước khi ngủ	4,0-5,6 (80-100)	6,7-10 (120-180)	<4,2 hoặc >9 (<75 hoặc >162)	<4,4 hoặc >11 (<80 hoặc >200)
Glucose máu ban đêm	3,6-5,6 (65-100)	4,5-9 (80-162)	<4,2 hoặc >9 (<75 hoặc >162)	<4,0 hoặc >11 (<70 hoặc >200)
HbA1c (%)	<6,5	<7,5	7,5-9,0	>9,0

### 2.4.3.3. Đánh giá phát triển tâm thần

Tất cả bệnh nhân được đánh giá phát triển tâm thần bởi chuyên gia tâm lý theo quy trình thống nhất.

Bệnh nhân dưới 6 tuổi được đánh giá bằng test DENVER II (DDST-Denver Developmental Screening Test) đã được áp dụng tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ năm 2004. Các trắc nghiệm Denver đánh giá trên bốn khả năng hoạt động của bệnh nhân: vận động thô sơ, ngôn ngữ, vận động tinh tế - thích ứng, cá nhân - xã hội. Các trắc nghiệm do các cử nhân tâm lý của Bệnh viện Nhi Trung ương tiến hành khi bệnh nhân đến khám định kỳ (phụ lục III).

Bệnh nhân > 6 tuổi được đánh giá bằng test Raven: cấu trúc khuôn hình tiếp diễn Raven chuẩn (standard progressive matrices PMS) gồm có 5 bộ (A, B, C, D và E), mỗi bộ có 12 bài, các bài được sắp xếp có độ khó tăng dần. Tất cả các mục được trình bày bằng mực đen trên nền trắng. Phạm vi sử dụng của test này rất rộng từ trẻ nhỏ đến người già. Các đối tượng trẻ nhỏ và người quá cao tuổi chỉ nên giải các bài trong bộ A, B và các bài mở đầu của bộ C, D.

Khuôn hình tiếp diễn Raven màu gồm các bộ A, A<sub>B</sub>, và B được xây dựng cho trẻ từ 3-10 tuổi và người già bằng cách xen vào giữa bộ A và B của khuôn hình tiếp diễn Raven chuẩn là bộ A<sub>B</sub> gồm 12 bài. Các bài này có mức độ khó hơn các bài từ 7-10 của bộ A và dễ hơn các bài từ 1-7 của bộ B. Mỗi bài đều in trên nền màu tươi để thu hút sự chú ý của trẻ.

Cách tiến hành: người điều tra hướng dẫn trẻ quan sát hình và chỉ vào phần bị thiếu, yêu cầu trẻ hãy tìm một trong các hình phía dưới phù hợp để ghép vào chỗ bị thiếu ở hình phía trên. Nếu trẻ chưa hiểu thì giải thích và nhấn mạnh yếu tố phù hợp, tránh định hướng trẻ vào kích thước của hình. Sau khi trẻ đã hiểu cách làm thì không giải thích gì thêm.

Xử lý kết quả: đối chiếu kết quả của bệnh nhân với đáp án (trong phụ lục IV). Mỗi bài tập giải đúng được 1 điểm. Tính tổng điểm của từng loại bài và của

cả trắc nghiệm. Đối chiếu với bảng điểm kỳ vọng (phụ lục IV), kết quả được xem là đủ độ tin cậy nếu sự chênh lệch ở từng loạt bài không vượt quá 2 và tổng các chênh lệch không vượt quá 6.

Kết quả được đánh giá cụ thể theo bốn khả năng trên và tính theo thương số phát triển theo công thức: Chỉ số phát triển IQ (DQ) = tuổi phát triển/ tuổi thực x 100%.

Kết quả phân loại dựa theo % trẻ làm được, chia theo bốn mức độ và trên từng khả năng như sau [81]:

- + Chỉ số phát triển  $\geq 75\%$ : Bình thường
- + Chỉ số phát triển từ  $> 66,7 \div < 75\%$ : Chậm phát triển mức độ nhẹ
- + Chỉ số phát triển từ  $> 50 \div \leq 66,7\%$ : Chậm phát triển mức độ vừa
- + Chỉ số phát triển  $\leq 50\%$ : Chậm phát triển mức độ nặng trầm trọng

## **2.5. Xử lý số liệu**

Các bệnh án nghiên cứu đã thu thập số liệu phải được kiểm tra trước và sau khi nhập số liệu, các phiếu bệnh án không rõ ràng hoặc không phù hợp phải được hoàn thiện hoặc loại bỏ.

### **2.5.1. Cách mã hóa**

Số liệu được nhập vào máy tính trên phần mềm SPSS, các thông tin được mã hóa bằng số hoặc các ký tự riêng, đồng thời được kiểm tra tính logic.

### **2.5.2. Xử lý số liệu**

Các số liệu mà nghiên cứu đã thu thập sẽ được xử lý theo thuật toán thống kê y học trên máy tính bằng chương trình phần mềm SPSS 12.0 để tính toán các thông số thực nghiệm. Các biến định lượng phân bố chuẩn sẽ thể hiện dưới dạng trung bình, độ lệch chuẩn. Nếu biến định lượng phân bố không chuẩn sẽ thể hiện dưới dạng trung vị và tứ phân vị. Các biến số định tính được trình bày theo tần suất, tỷ lệ phần trăm (%). Số liệu được trình bày bằng bảng và biểu đồ minh họa.



Test kiểm định sử dụng: Chi - square test ( $\chi^2$ ) (được hiệu chỉnh Fisher's exact test khi thích hợp) để so sánh các tỷ lệ. T-test để so sánh hai trung bình có phân bố chuẩn, test Kruskal-Wallis để so sánh trung vị nếu không phải là phân bố chuẩn. Các phép kiểm định, so sánh có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

## 2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Thu thập mẫu bệnh phẩm máu, nước tiểu và các xét nghiệm là cần thiết để chẩn đoán bệnh, điều trị và theo dõi. Các thủ thuật thu nhận bệnh phẩm đơn giản và an toàn cho bệnh nhân.

Việc phân tích để phát hiện đột biến của các gen có liên quan sẽ giúp chẩn đoán xác định, và lựa chọn phương pháp điều trị thích hợp: bệnh nhân có đột biến *ABCC8*, *KCNJ11* sẽ được chuyển đổi từ thuốc tiêm insulin sang uống sulfonylureas, sẽ làm giảm đau, giảm sang chấn tâm lý cho bệnh nhân và giảm chi phí điều trị. Đồng thời dựa vào kết quả phân tích gen để theo dõi và ngừng insulin phù hợp ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời, tránh điều trị không cần thiết gây nguy cơ cao hạ glucose máu cho bệnh nhân.

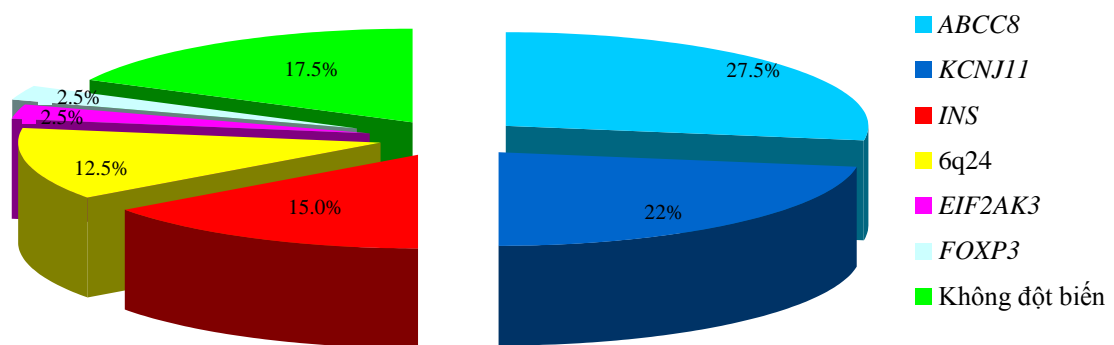
Xét nghiệm phân tích phát hiện đột biến gen được hoàn toàn miễn phí nhờ dự án hợp tác quốc tế về chẩn đoán phân tử cho các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh. Nghiên cứu được sự đồng ý của bệnh nhân và gia đình. Mọi thông tin về bệnh nhân được đảm bảo giữ bí mật. Trong thời gian nghiên cứu, bệnh nhân có thể dừng tham gia nghiên cứu nếu bệnh nhân không muốn với bất cứ lý do nào. Nghiên cứu được phê chuẩn bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh của Bệnh viện Nhi Trung ương.

## Chương 3

### KẾT QUẢ

#### 3.1. Phát hiện đột biến một số gen gây đái tháo đường sơ sinh

Trong nghiên cứu này, 40 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTD sơ sinh trong 17 năm (2000-2017) tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương. Trong đó, 22 bệnh nhân nam (55%) và 18 bệnh nhân nữ (45%). Tất cả 40 bệnh nhân được phân tích để phát hiện đột biến của các gen có liên quan, kết quả có 33 bệnh nhân phát hiện được đột biến. Trong phạm vi đề tài này, các dữ liệu thu được từ 33 bệnh nhân có đột biến gen sẽ được phân tích. Hơn nữa, phân tích để phát hiện đột biến các gen có liên quan cũng được tiến hành cho 25 người bố và 29 người mẹ trong nhóm 33 bệnh nhân có đột biến. Kết quả có 9/25 người bố và 9/29 người mẹ có mang đột biến. Tỷ lệ bệnh nhân phát hiện được đột biến của các gen khác nhau được trình bày tại biểu đồ 3.1.



**Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ phát hiện được đột biến của các gen**

Nhận xét: tổng cộng 82,5% bệnh nhân phát hiện được đột biến của các gen khác nhau.

Phân bố về tỷ lệ trong số 33 bệnh nhân có đột biến của các gen khác nhau được trình bày tại bảng 3.1.

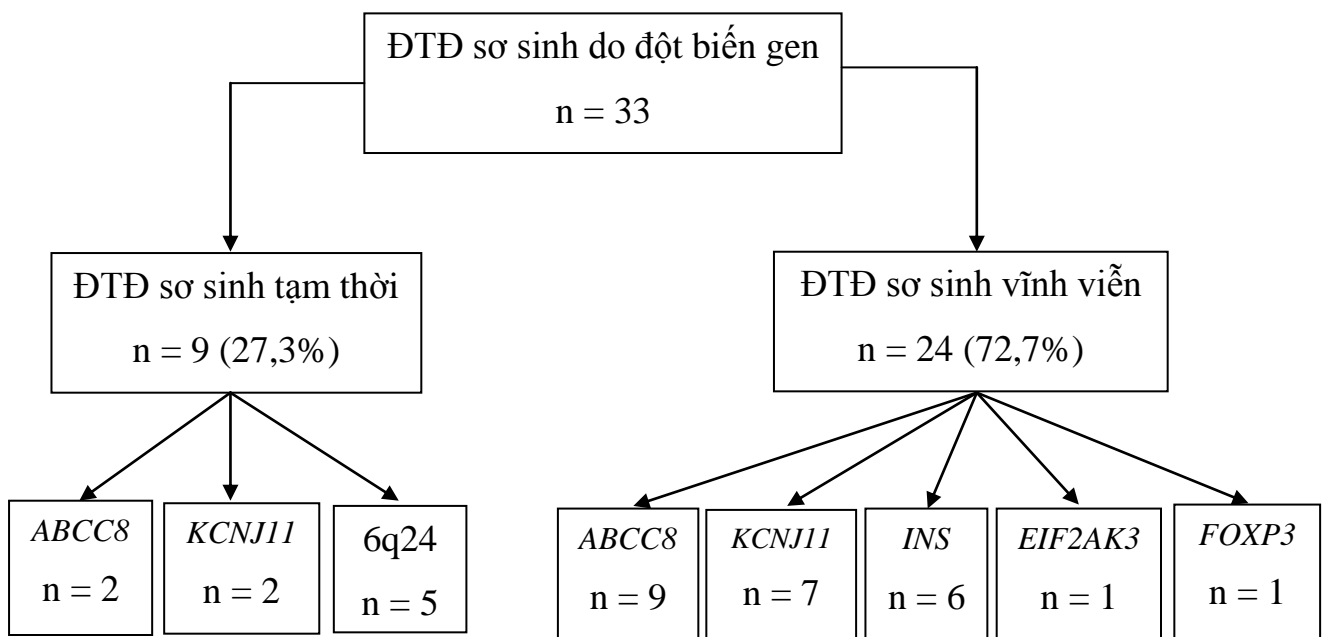
**Bảng 3.1. Phân bố tỷ lệ bệnh nhân có đột biến của các gen**

Gen đột biến	N	%
<i>ABCC8</i>	11	33,3
<i>KCNJ11</i>	9	27,3
<i>INS</i>	6	18,2
<i>6q24</i>	5	15,2
<i>EIF2AK3</i>	1	3,0
<i>FOXP3</i>	1	3,0
Tổng cộng	33	100

Nhận xét: đột biến gen *ABCC8* và *KCNJ11* chiếm tỷ lệ cao nhất.

### 3.1.1. Các thể ĐTD sơ sinh theo các đột biến gen

Phân bố các bệnh nhân có đột biến các gen khác nhau theo thể lâm sàng được trình bày tại sơ đồ 3.1.



**Sơ đồ 3.1. Các gen có đột biến theo thể lâm sàng**

*Nhận xét:* Bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn chiếm tỷ lệ cao, trong đó chủ yếu là do đột biến gen *ABCC8/KCNJ11*.

### 3.1.2. Đột biến gen *ABCC8*

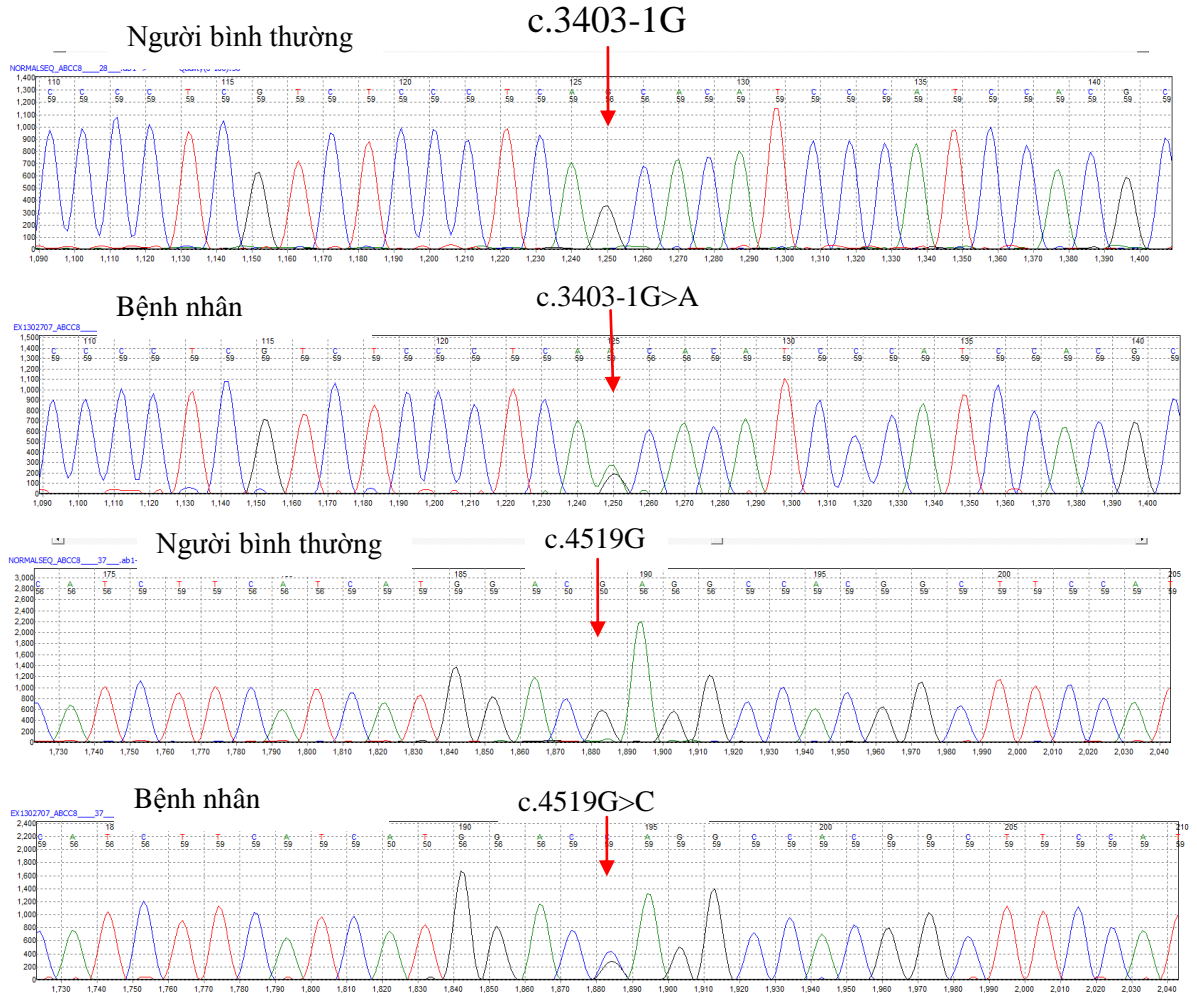
**Bảng 3.2. Đột biến gen *ABCC8***

BN	Kiểu đột biến	Vị trí đột biến	Đột biến allele 1	Đột biến allele 2	Đột biến từ bố	Đột biến từ mẹ
3	Sai nghĩa	Exon 28	c.3547C>T p.R1183W		c.3547C>T p.R1183W	Không có đột biến
4	Vô nghĩa	Exon 17	c.2239 G>T p.E747X	c.2239G>T p.E747X	c.2239 G>T p.E747X	c.2239 G>T p.E747X
5	Sai nghĩa/ Vô nghĩa	Exon 3 Exon 17	c.382G>A p.E128K	c.2239G>T p.E747X	c.2239G>T p.E747X	c.382G>A p.E128K
13	Sai nghĩa	Exon 28	c.3458C>G p.A1153G		Không có đột biến	c.3458C>G p.A1153G
14	Vùng cắt nối/ Sai nghĩa	Intron 27/ Exon 37	c.3403-1G>A p?	c.4519G>C p.E1507Q	c.4519G>C p.E1507Q	c.3403-1G>A p?
23	Sai nghĩa	Exon 8	c.1303T>C p.C435R		c.1303T>C p.C435R	Không có đột biến
24	Sai nghĩa	Exon 28	c.3547C>T p.R1183W		c.3547C>T p.R1183W	Không có đột biến
25	Sai nghĩa	Exon 29	c.3596C>T p.P1199L		Không có đột biến	Không có đột biến
27	Sai nghĩa	Exon 28	c.3547C>T p.R1183W		Không có đột biến	Không có đột biến
32	Sai nghĩa	Exon 34	c.4139G>A p.R1380H		Không phân tích	Không có đột biến
33	Sai nghĩa	Exon 12 & 20	c.1793G>A (p.R598Q) c.2476C>T (p.R826W)		Không có đột biến	c.1793G>A p.R598Q

*Ghi chú:* màu đỏ là các đột biến mới (*novel mutation*) và chưa được báo cáo (*unreported mutation*) trong y văn.

*Nhận xét:* Phát hiện được 11 đột biến khác nhau gồm cả 4 đột biến mới (p.R598Q, p.E747X, p.A1153G, p.E1507Q) ở 11 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8*.

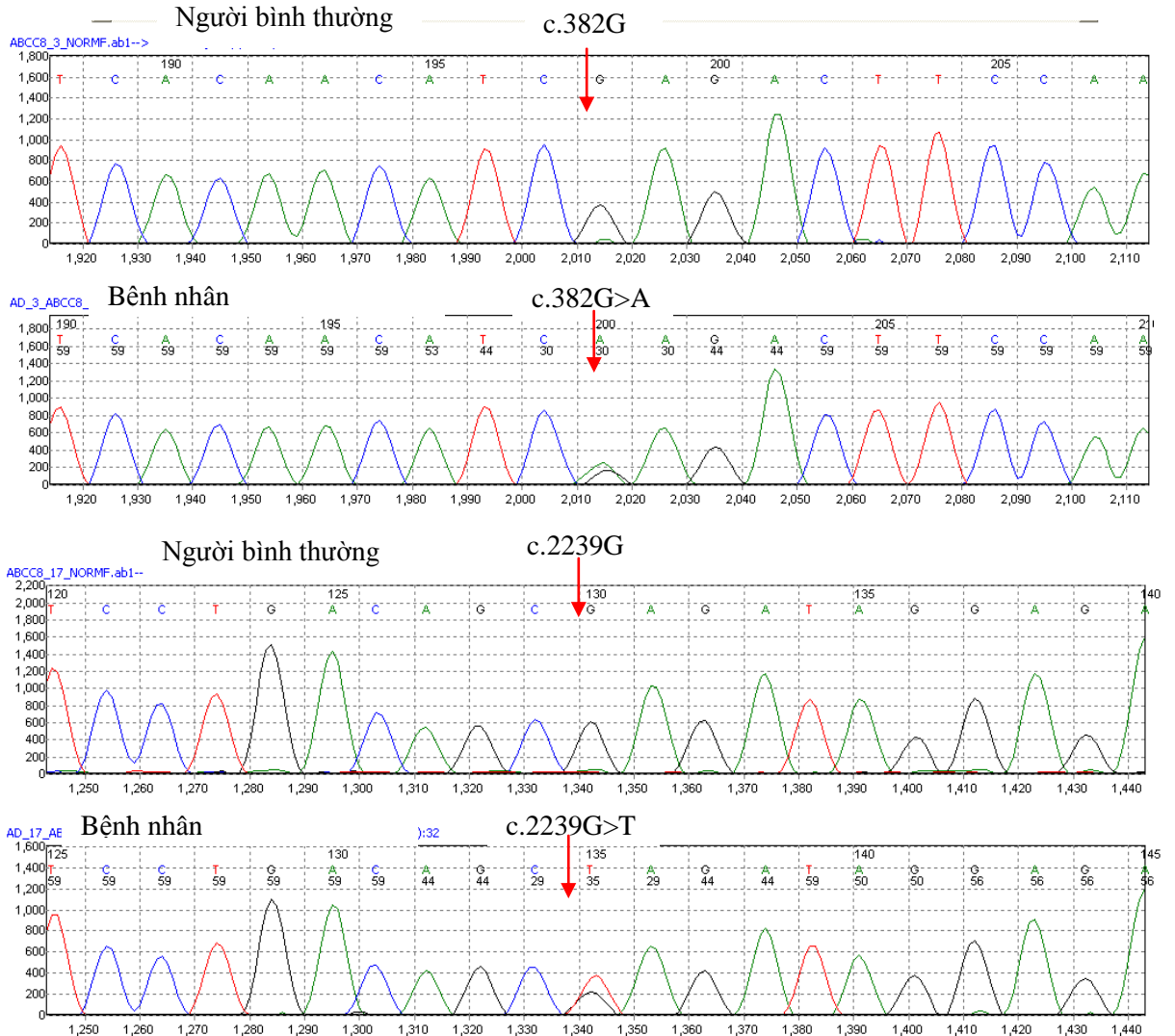
**Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép của gen *ABCC8*: đột biến vùng cắt nối (c.3403-1G>A) và đột biến mới (p.E1507Q)**



**Hình 3.1. Hình ảnh đột biến dị hợp tử kép c.3403-1G>A/c.4519G>C.**

*Nhận xét:* Đột biến thay thế nucleotid ở vị trí c.3403-1G>A trên intron 27 và đột biến mới thay thế nucleotid 4519G>C trên exon 37 làm cho bộ ba thứ 1507 GAG mã hóa glutamic acid chuyển thành CAG mã hóa cho glutamin.

**Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép của gen *ABCC8*:  
c.382G>A/c.2239G>T (p.E128K/p.E747X)**



**Hình 3.2. Hình ảnh đột biến dị hợp tử kép p.E128K/p.E747X**

*Nhận xét:* bệnh nhân số 5 có đột biến dị hợp tử kép p.E128K/p.E747X. Đột biến thay thế nucleotid 382G>A làm cho bộ ba thứ 128 GAG mã hóa cho glutamic acid chuyển thành AAG mã hóa lysine. Đột biến thay thế nucleotid 2239G>T làm cho bộ ba thứ 747 GAG mã hóa glutamic acid chuyển thành TAG là bộ ba kết thúc (stop codon) (E747X).

### 3.1.3. Đột biến gen *KCNJ11*

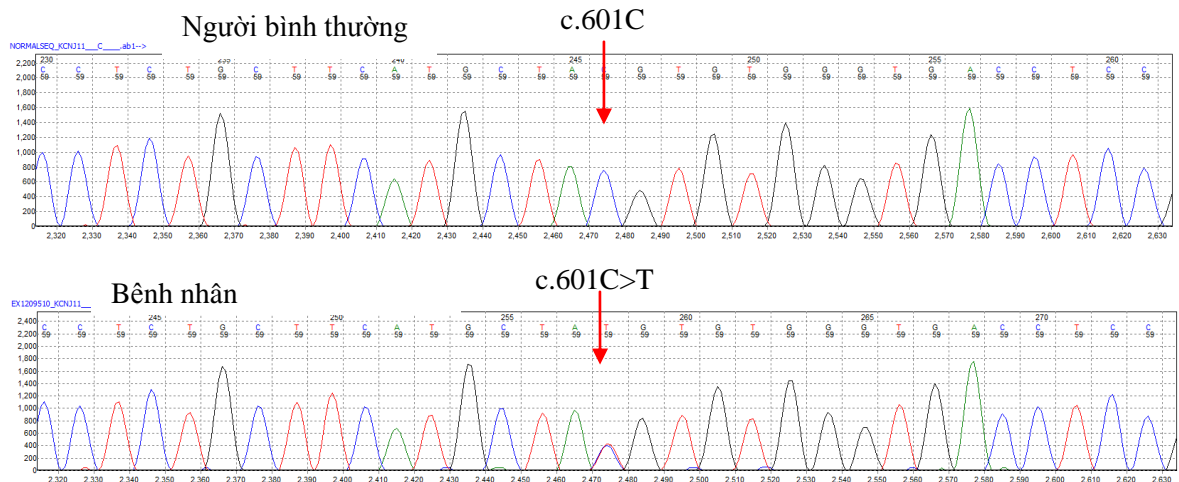
Đột biến gen *KCNJ11* được phát hiện ở 9 bệnh nhân nghiên cứu và được trình bày tại bảng 3.3

**Bảng 3.3. Đột biến gen *KCNJ11***

BN	Kiểu đột biến	Vị trí đột biến	Allele đột biến c.DNA (protein)	Đột biến từ bố	Đột biến từ mẹ
1	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c.602G>A (p.R201H)	Không có đột biến	Không có đột biến
2	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c.601C>T (p.R201C)	Không làm	Không có đột biến
10	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c.149G>A (p.R50Q)	Không có đột biến	Không có đột biến
12	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c.601C>T (p.R201C)	Không có đột biến	Không có đột biến
15	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon1	c.875A>G (p.E292G)	Không làm	Không có đột biến
16	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c. 685 G>A (p.E229K)	Không có đột biến	Không có đột biến
26	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon1	c.602G>A (p.R201H)	Không có đột biến	Không có đột biến
28	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon1	c.553A>C (p.K185Q)	Không làm	Không có đột biến
30	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 1	c.157G>A (p.G53S)	Không có đột biến	Không có đột biến

*Nhận xét:* 7 đột biến khác nhau phát hiện được ở 9 bệnh nhân. Tất cả các đột biến là sai nghĩa ở dạng dị hợp tử và không phát hiện được ở bố hoặc mẹ của các bệnh nhân có phân tích cho cả bố/mẹ.

### Bệnh nhân có đột biến sai nghĩa dị hợp tử *KCNJ11*: c.601C>T (p.R201C)



**Hình 3.3. Hình ảnh đột biến gen *KCNJ11*: c601C>T (p.R201C)**

*Nhận xét:* Đột biến thay thế nucleotid 601C>T làm cho bộ ba thứ 201 CGT mã hóa cho arginine chuyển thành TGT mã hóa cystein.

#### 3.1.4. Đột biến gen *INS*

Đột biến của gen *INS* được phát hiện ở 6 bệnh nhân và được trình bày tại bảng 3.4

**Bảng 3.4. Đột biến gen *INS***

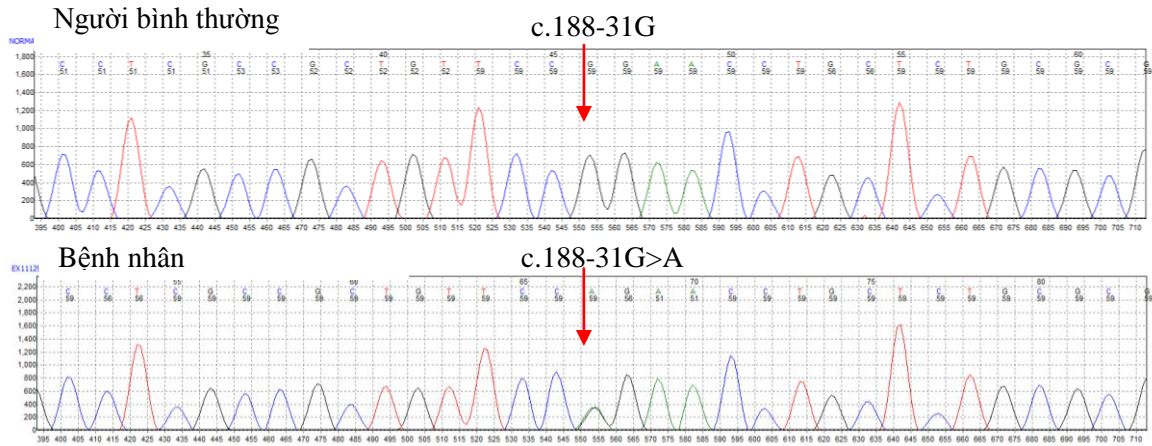
BN	Kiểu đột biến	Vị trí đột biến	Allele đột biến c.DNA (protein)	Đột biến từ bố	Đột biến từ mẹ
7	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 2	c.127T>A (p.C43S)	Không	Không làm
9	Vùng gắn nối Dị hợp tử	Intron 2	c.188-31G>A (p?)	Không	Không
18	Vùng gắn nối Dị hợp tử	Intron 2	c.188-31G>A (p?)	Không	Không
19	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 3	c.286T>C (p.C96R)	Không	Không
21	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 3	c.265C>T (p.R89C)	Không	Không
22	Sai nghĩa Dị hợp tử	Exon 3	c.265C>T (p.R89C)	Không	Không

*Ghi chú:* Màu đỏ là đột biến mới chưa được báo cáo trong y văn



*Nhận xét:* 4 đột biến khác nhau ở 6 bệnh nhân trong đó có 1 đột biến mới (novel mutation) c.127T>A (p.C43S). Tất cả các đột biến phát hiện được đều là những đột biến không di truyền từ bố mẹ (de novo mutation).

**Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử vùng cắt nối ở gen *INS*: c.188-31G>A**



**Hình 3.4. Hình ảnh đột biến gen *INS*: c.188-31G>A**

*Nhận xét:* Đột biến dị hợp tử c.188-31G>A trên intron 2 của gen *INS*.

**3.1.5. Bất thường 6q24**

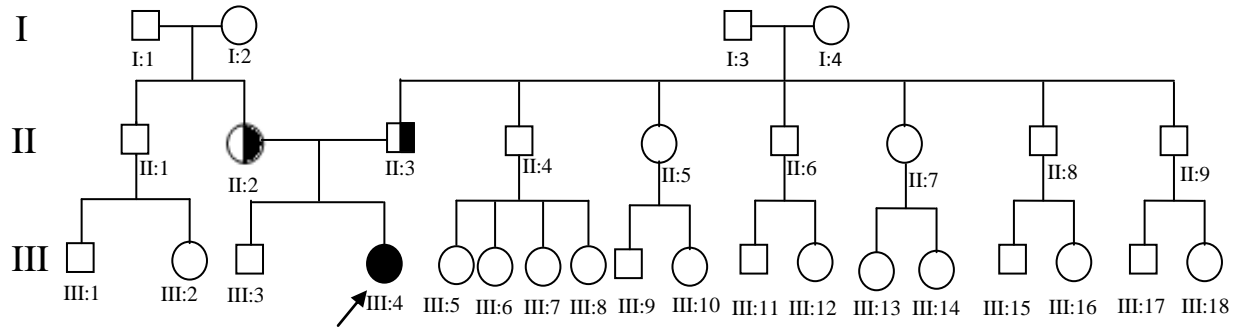
Trong 5 bệnh nhân có đột biến mất methyl hóa hoàn toàn ở vùng biệt hóa methyl trên NST số 6: bệnh nhân số 6 và số 11 có đột biến trên gen *ZFP57*; bệnh nhân số 31 có đột biến gen *PLAGL1*; bệnh nhân số 8 ngoài đột biến trên locus gây ĐTD sơ sinh tạm thời TND (6q24) còn đột biến trên các locus khác *GF2R* (6q27), *SNRPN* (5q11), *GRB10* (7p12); Bệnh nhân số 20 có đột biến trên các locus *GRB10* và *PEG3*.

**Bảng 3.5. Đột biến gen *ZFP57***

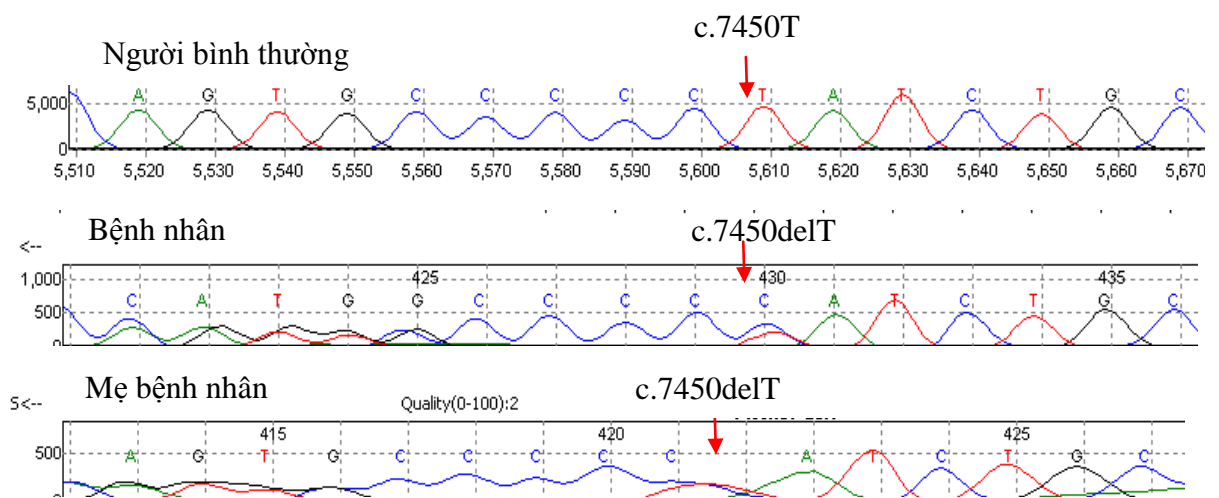
BN	Kiểu đột biến	Đột biến allele 1	Đột biến allele 2	Đột biến từ bố	Đột biến từ mẹ
6	Mất methyl hóa	c.7450delT	c.7812C>T	c.7812C>T	7450delT
11	Mất methyl hóa	c.398delT (p.L133HfsX49)	c.499C>T (p.R167C) c.760C>T (p.L254F)	c.499C>T (p.R167C) c.760C>T (p.L254F)	c.398delT (p.L133HfsX49)

*Nhận xét:* Hai bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép trên gen *ZFP57* và các đột biến này đều được truyền từ bố và mẹ.

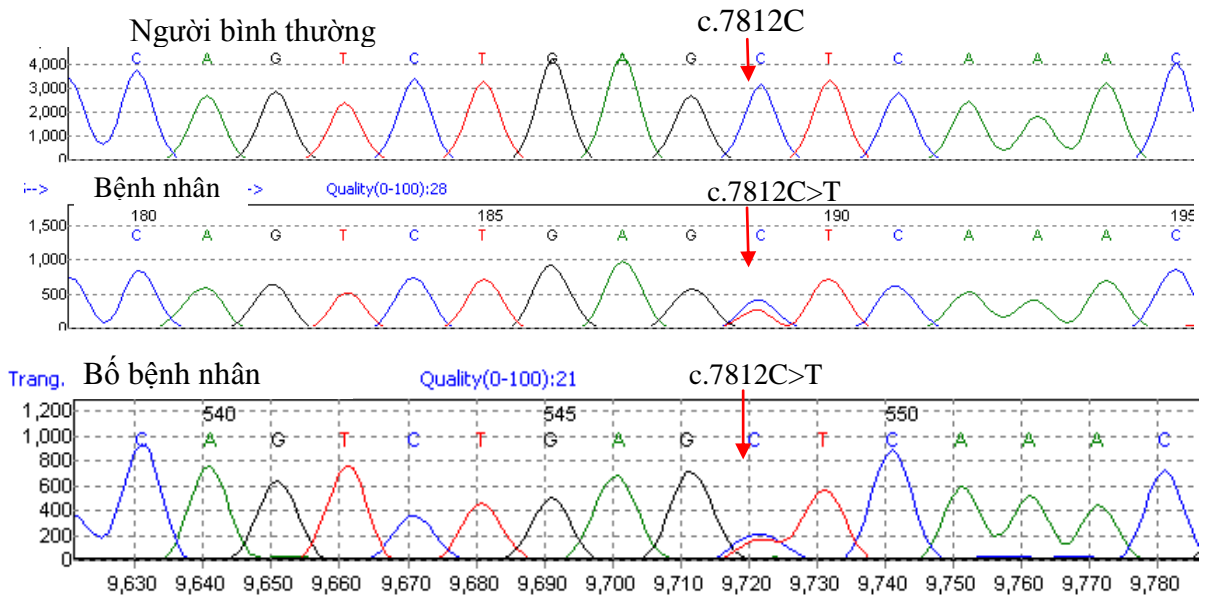
3.1.5.1. Phả hệ và hình ảnh giải trình tự của bệnh nhân số 6 có đột biến gen ZFP57



Hình 3.5. Phả hệ của bệnh nhân số 6 có hai đột biến dị hợp tử c.7450delT (từ mẹ) và c.7812C>T (từ bố) của gen ZFP57



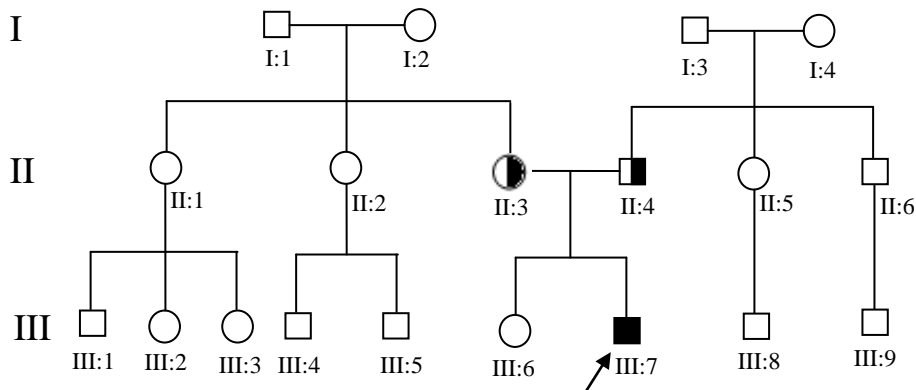
Hình 3.6. Đột biến c.7450delT trên ZFP57 di truyền từ mẹ ở bệnh nhân số 6.



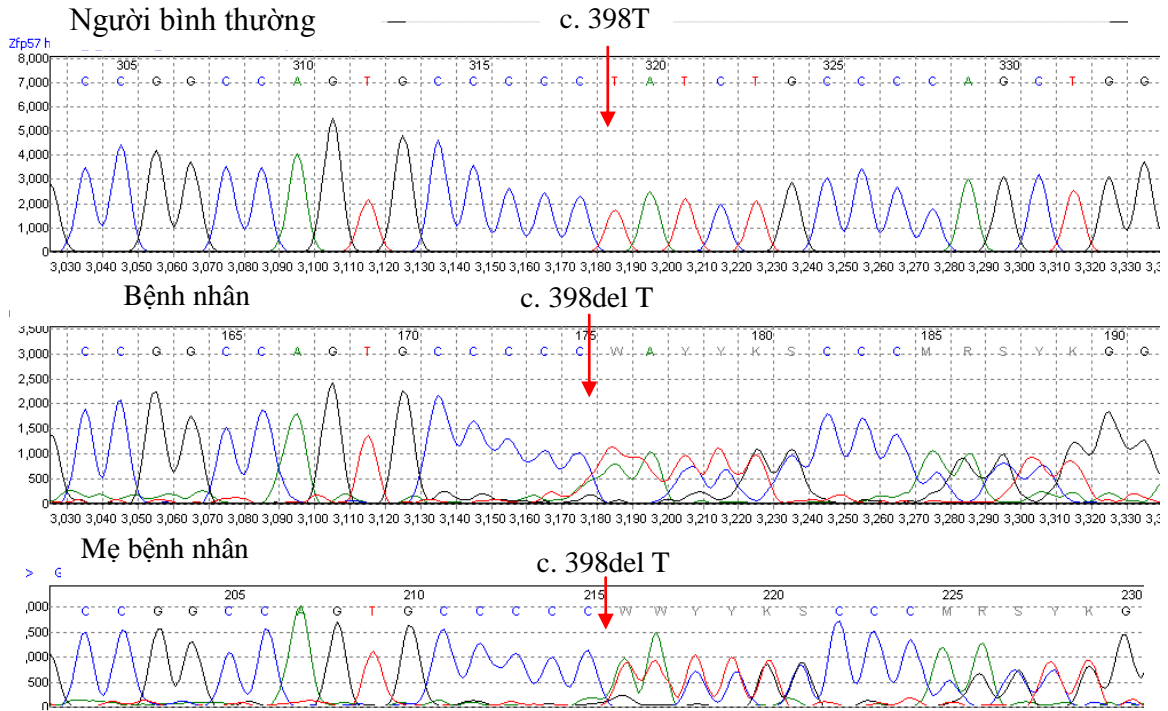
**Hình 3.7. Hình ảnh đột biến c.7812C>T trên gen ZFP57 di truyền từ bố ở bệnh nhân số 6**

Kết quả PCR-methylation đặc hiệu cho thấy giảm methyl hóa ở locus *GRB10* và *PEG3* của allele có nguồn gốc từ mẹ. Tiếp theo đó bệnh nhân được giải trình tự gen *ZFP57* và đã phát hiện được hai đột biến dị hợp tử c.7450delT và c.7812C>T, một đột biến được di truyền từ mẹ và một đột biến được di truyền từ bố. Đây là đột biến dị hợp tử kép trên *ZFP57* do đột biến mất methyl hóa của các locus ở vùng imprinting (hypomethylation of printed loci-HIL) được di truyền từ bố mẹ.

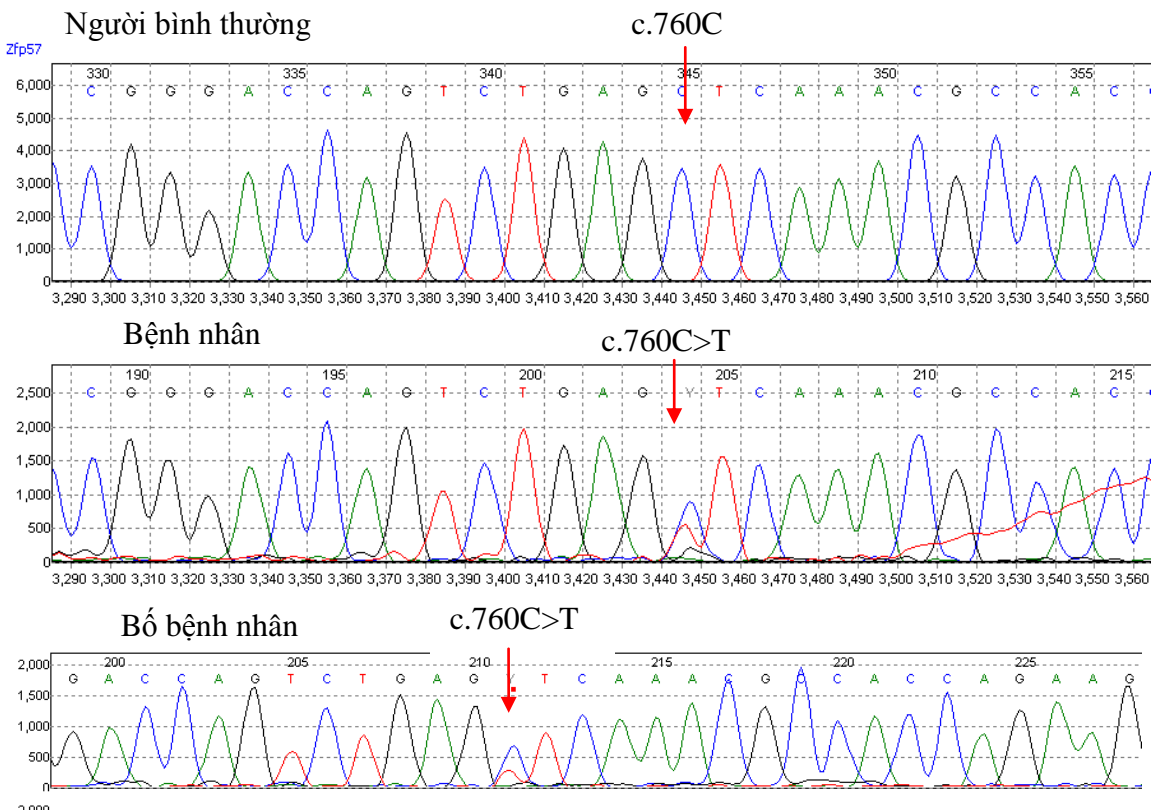
3.4.5.2. Phả hệ và hình ảnh giải trình tự gen của bệnh nhân số 11 có đột biến *ZFP57*



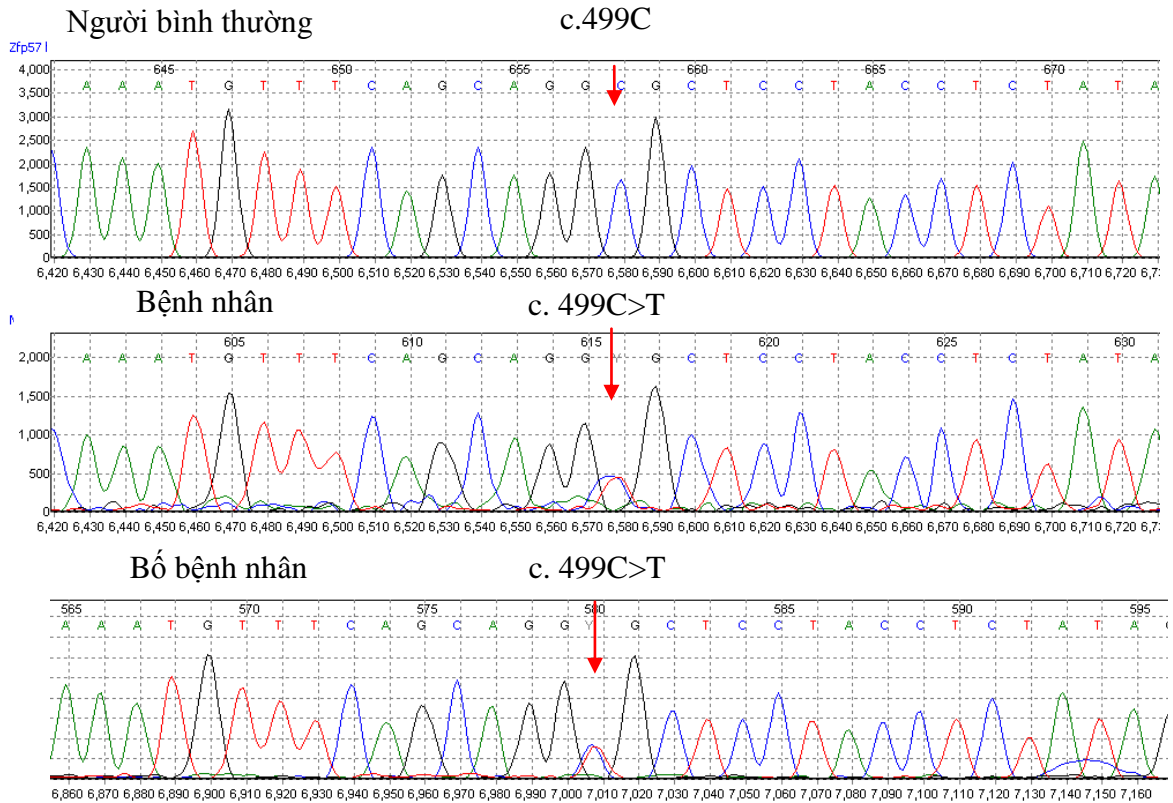
**Hình 3.8. Phả hệ của bệnh nhân số 11**



**Hình 3.9. Hình ảnh đột biến c.398delT (p.L133HfsX49) di truyền từ mẹ của bệnh nhân số 11**



**Hình 3.10. Hình ảnh đột biến c.760C>T (p.L254F) di truyền từ bố của bệnh nhân số 11**



**Hình 3.11. Hình ảnh đột biến c.499C>T (p.R167C) di truyền từ bố của bệnh nhân số 11**

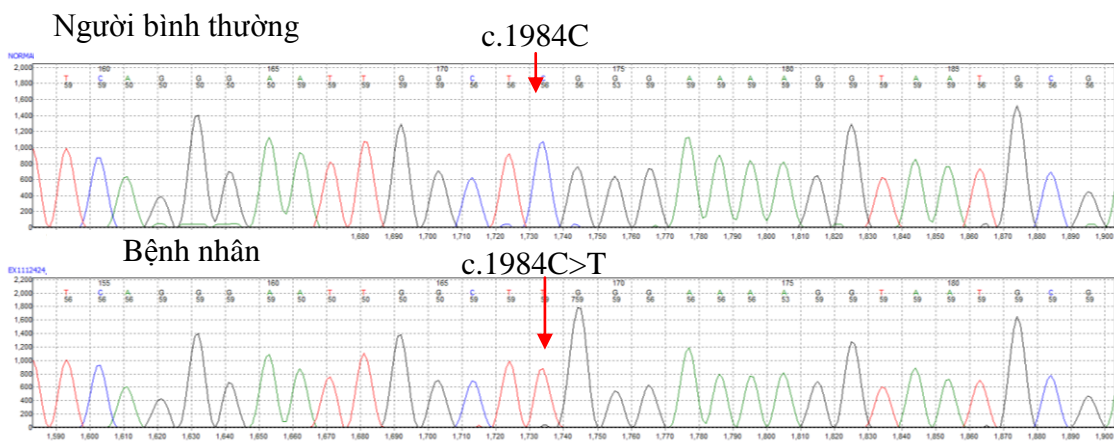
*Nhận xét:* PCR-methylation đặc hiệu ở bệnh nhân số 11 cho thấy mất hoàn toàn methyl hóa trên vùng biệt hóa methyl của 6q24, cụ thể là trên các locus GRB10 và PEG3. Giải trình tự gen *ZFP57* phát hiện 3 đột biến khác nhau được di truyền từ bố và mẹ: một đột biến dị hợp tử mất một nucleotid (T) trên exon 6 dẫn đến lệch khung dịch mã gây kết thúc phiên mã sớm di truyền từ mẹ c.398delT (p.L133HfsX49), hai đột biến dị hợp tử khác cũng trên vùng này được di truyền từ bố c.760C>T (p.L254F) và c.499C>T (p.R167C).

### 3.1.6. Các đột biến gen trong các hội chứng hiếm gặp

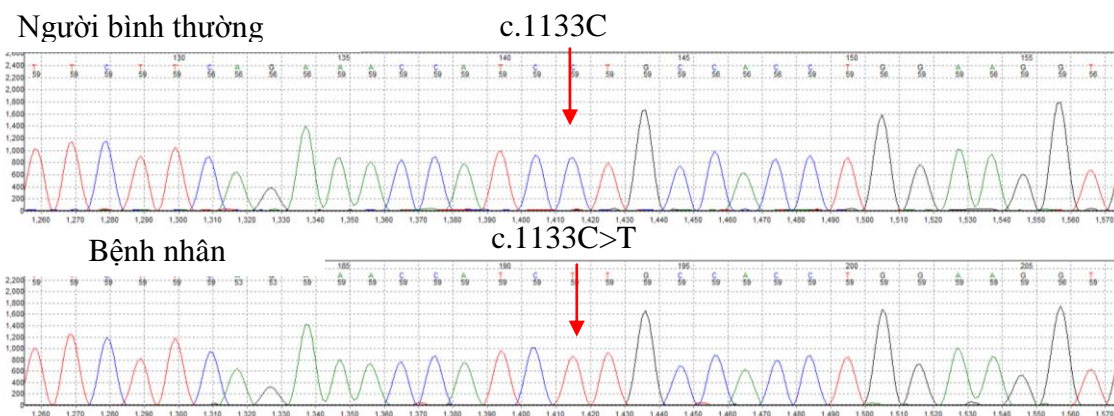
**Bảng 3.6. Đột biến gen gây ĐTD sơ sinh trong các hội chứng hiếm gặp**

BN	Hội chứng	Gen đột biến	Allele 1 c.DNA (protein)	Allele 2 c.DNA (protein)	Đột biến từ bố	Đột biến từ mẹ	Kiểu và vị trí đột biến
7	Wollcott – Ralison	<i>EIF2AK3</i>	c.1894C>T (p.R632W)	c.1894C>T (p.R632W)	c.1894C>T (p.R632W)	c.1894C>T (p.R632W)	Sai nghĩa Exon 12
29	IPEX	<i>FOXP3</i>	c.1133C>T (p.P378L)			c.1133C>T (p.P378L)	Sai nghĩa Exon 11

*Nhận xét:* bệnh nhân số 7 có đột biến đồng hợp tử sai nghĩa c.1894C>T trên exon 12 của gen *EIF2AK3*, đột biến này được di truyền từ bố và mẹ. Bệnh nhân 29 mang đột biến dị hợp tử sai nghĩa c.1133C>T trên nhiễm sắc thể X được di truyền từ mẹ.



**Hình 3.12. Hình ảnh đột biến c.1894C>T (p.R632W) trên gen *EIF2AK3* ở bệnh nhân số 7**



**Hình 3.13. Hình ảnh đột biến c.1133C>T (p.P378L) trên gen *FOXP3* của bệnh nhân số 29.**

### 3.2. Đối chiếu kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh

#### 3.2.1. Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các thể ĐTĐ sơ sinh

**Bảng 3.7. Đột biến gen, đặc điểm lâm sàng và sinh hóa khi chẩn đoán**

Đặc điểm lâm sàng	<i>ABCC8</i> (n=11)	<i>KCNJ11</i> (n=9)	<i>INS</i> (n=6)	<b>6q24</b> (n=5)	<b>P</b> (test Kruskal-Wallis)
Tuổi thai (tuần)	39,8± 0,4	39,0 ±1,4	37,3± 3,0	38,5± 3,0	0,076
Cân nặng lúc sinh (kg)	2,9 ±0,36	2,65± 0,5	2,8 ±0,76	2,25± 0,33	0,226
Cân nặng lúc sinh ≤10 <sup>th</sup> (n)	7/11	8/9	2/6	4/5	
Tuổi chẩn đoán (ngày)	54,5 ±24,8	64,3 ±43,9	14 - 357 Trung vị 101,5	23,8 ±11,4	0,076
Toan xê tôn (n)	6/11	8/9	5/6	1/5	
Triệu chứng thần kinh (n)	1/11	1/9	0/6	0/6	
pH	7,14± 0,2	7,06 ±0,16	7,04± 0,22	7,16± 0,25	0,618
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	8,0± 6,6	1-28,9 Trung vị 3,85	2-22,4 Trung vị 2,65	15,1 ±10,5	0,216
BE	-17,8) ±8,4	-19,6± 11,9	-19,6 ±11,2	-4,55 ±0,49	0,296
Glucose (mmol/l)	30,8± 11,6	39,1± 9,9	34,2 ±12,7	37,8± 12,2	0,462
HbA1C (%)	7,9 ±2,4	8,64 ±3,03	9,8± 3,6	6,87 ±1,04	0,206
C-peptide (nmol/l)	0,01 -0,52 Trung vị 0,08	0,0002-0,27 Trung vị 0,085	0,088 ± 0,082	0,03 -0,17 Trung vị 0,41	0,913
Xê tôn niệu (+) (n)	7/11	5/9	5/6	3/6	

*Nhận xét:* tuổi chẩn đoán sớm nhất và cân nặng lúc sinh thấp nhất ở nhóm bệnh nhân bất thường 6q24. Tuy nhiên  $p > 0,05$ .

#### 3.2.2. Mối liên quan giữa kiểu gen, thể lâm sàng và sinh hóa

##### 3.2.2.1. Đái tháo đường do đột biến gen *ABCC8*

Trong số 11 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* thì 1 bệnh nhân (số 24) mắc ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân này không phải tiêm insulin khi 6 tháng tuổi (sau chẩn đoán 5 tháng).

**Bảng 3.8. Kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8***

BN	Kiểu gen	Triệu chứng lâm sàng, hóa sinh khi chẩn đoán									
		Tuổi (ngày)	P lúc sinh (bách phân vị)	Toan xê tôn	Triệu chứng thần kinh	Glucose máu (mmol/l)	pH	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	BE (mmol/l)	HbA1C (%)	Thời gian hồi phục (tháng)
3	p.R1183W	45	<3	Không	-	28,2	7,34	15	-9,5	5,8	
4	p.E747X	36	<3	Không	+	30,9	7,36	4	-18	8	
5	p.E128K/p.E747X	44	50	Nặng	-	26,2	7,03	3,7	-25,1	10,3	
13	p.A1153G	15	<3	Nhẹ	-	22,4	7,3	13	-15,4	3,5	
14	c.3403-G>A/p.E1507Q	96	<3	Nặng	-	47,7	6,99	4,3	-26	6,7	
23	p.C435R	71	>10	Nặng	-	25,6	7,1	6,3	-22	7,2	
24	p.R1183W	36	>10	Nặng	-	31,7	7,08	3,3	-26	7,6	6
25	p.P1199L	48	3	Không	-	13,1	7,44	23	-0,8	8,2	
27	p.R1183W	82	10	Nặng	-	30,0	6,89	5,1	--	11,5	14
32	p.R1380H	72	>10	Nặng	-	53,1	6,90	3	--	8,7	
33	p.R598Q/p.R826W	33	10	Nhẹ	-	50,1	7,29	18	-8,8	4	

*Ghi chú: màu đỏ là đột biến mới chưa được báo cáo trong y văn "--": thấp không đo được; màu đỏ là các đột biến mới; "-" không có; "+" có*

*Nhận xét: 10/11 bệnh nhân được chẩn đoán trước 90 ngày tuổi, 8/11 bệnh nhân có biểu hiện toan xê tôn khi được chẩn đoán. Có 3 bệnh nhân có cùng kiểu gen mang đột biến c.3547C>T (p.R1183W) dị hợp tử nhưng biểu hiện lâm sàng khác nhau, bệnh nhân số 3 biểu hiện lâm sàng nhẹ nhưng cân nặng lúc sinh thấp < 3 bách phân vị trong khi bệnh nhân 24 và 27 có biểu hiện lâm sàng rất nặng nhưng cân nặng lúc sinh lại được 10 bách phân vị.*



### 3.2.2.2. Đái tháo đường do đột biến gen *KCNJ11*

Trong số 9 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* thì có 2 bệnh nhân là ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân số 10 không phải dùng thuốc sau chẩn đoán 6 tháng, bệnh nhân số 16 không phải dùng thuốc sau chẩn đoán 4 năm 2 tháng.

**Bảng 3.9. Kiểu gen và kiểu hình (lâm sàng và sinh hóa) của bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11***

BN	Kiểu gen	Triệu chứng lâm sàng, hóa sinh khi chẩn đoán									
		Tuổi (ngày)	P lúc sinh (bách phân vị)	Toan xê tôn	Triệu chứng thần kinh	Glucose mmol/l	pH	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/l	BE mmol/l	HbA1C (%)	Thời gian hồi phục tháng
1	p.R201H	44	<3	Nặng	-	49,5	7,12	-	-22,7	9,7	
2	p.R201C	37	<3	Nặng	+	31,2	6,9	1	--	8,4	
10	p.R50Q	160	70	Nặng	-	37,2	6,9	1,9	-28,2	13,7	6
12	p.R201C	7	<3	Nhẹ	-	26	7,2	21	-5,7	5,4	
15	p.E292G	45	10	Không	-	39,3	7,35	28,9	3,2	6	
16	p.E229K	52	3	Nặng	-	43,1	6,9	4	-28,7	5,1	50
26	p.R201H	62	10	Nặng	-	41,6	7,06	3,7	-26,6	10,2	
28	p.K185Q	72	<3	Nặng	-	27,8	6,86	3,6	-28,5	9,3	
30	p.G53S	100	10	Trung bình	-	56	7,2	5,4	-19,9	11,0	

*Ghi chú:* “BN” bệnh nhân; “P” cân nặng; “--” không đo được; “-” không có; “+” có

*Nhận xét:* Tất cả các bệnh nhân đều có kiểu gen dị hợp tử đột biến sai nghĩa. 5/9 bệnh nhân khởi phát bệnh dưới 2 tháng tuổi; 8/9 bệnh nhân có cân nặng lúc sinh < 10 bách phân vị; 8/9 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôn khi chẩn đoán. Bệnh nhân số 2 và 12 có cùng kiểu gen (p.R201C) nhưng bệnh nhân số 2 có biểu hiện lâm sàng nặng với toan xê tôn nặng và biểu hiện thần kinh trong hội chứng DEND, còn bệnh nhân 12 lại có biểu hiện toan xê

tôn nhẹ và không có biểu hiện thân kinh. Hai bệnh nhân 1 và 26 có cùng kiểu gen (p. R201H) và có biểu hiện lâm sàng giống nhau.

### 3.2.2.3. Đái tháo đường do đột biến gen insulin

Kiểu gen và kiểu hình (lâm sàng và hóa sinh) của 6 bệnh nhân có đột biến gen *INS* được trình bày tại bảng 3.10.

**Bảng 3.10. Kiểu gen và kiểu hình (lâm sàng và hóa sinh) của các bệnh nhân có đột biến gen *INS***

BN	Kiểu gen	Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng khi chẩn đoán							
		Tuổi (ngày)	P lúc sinh (bách phân vị)	Toan xê tôn	Glucose (mmol/l)	pH	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	BE (mmol/l)	HbA1C (%)
7	c.127T>A (p.C43S)	180	50	Nặng	24	6,8	2,3	--	8,3
9	c.188-31G>A(p?)	133	40	Nặng	34,7	6,9	2	-28,9	12,8
18	c.188-31G>A (p?)	70	10	Nặng	54	7,14	3,6	-23,2	8,5
19	c.286T>C(p.C96R)	357	50	Trung bình	21	7,23	2	-23	11,4
21	c.265C>T(p.R89C)	21	10	Không	44,4	7,35	21,4	-3,3	3,9
22	c.265C>T(p.R89C)	14	50	Nặng	27,8	6,8	3	--	13,6

*Ghi chú: “BN” bệnh nhân, “P” cân nặng, “--”: không đo được*

*Nhận xét:* tất cả các bệnh nhân có cân nặng lúc sinh từ 10 bách phân vị trở lên, đa số bệnh nhân (5/6) nhập viện trong tình trạng toan xê tôn từ trung bình đến nặng. Hai bệnh nhân có đột biến vùng cắt nối đều có biểu hiện lâm sàng nặng, bốn bệnh nhân có đột biến sai nghĩa có biểu hiện lâm sàng từ trung bình đến nặng. Bệnh nhân 21 và 22 có cùng kiểu gen nhưng biểu hiện lâm sàng khác nhau ở mức độ nặng.

### 3.2.2.4. Đái tháo đường do mất methyl hóa vùng imprinting

Kết quả phân tích phân tử và kiểu hình của các bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời được trình bày ở bảng 3.11

**Bảng 3.11. Đặc điểm lâm sàng và hóa sinh của các bệnh nhân có đột biến mất methyl hóa vùng imprinting**

BN	Đột biến	Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng khi chẩn đoán									
		Tuổi ngày	P lúc sinh bách phân vị	Toan xê tôn	Glucose mmol/l	pH	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/l	BE mmol/l	HbA1C %	Lười to, rón lòi	Hội phục sau điều trị insulin tháng
6	c.7450delT c.7812C>T của gen <i>ZFP57</i>	23	20	-	30				6,8	+	18
8	TND (6q24), GF2R(6q27), SNRPN(5q11),GRB10 (7p12)	40	<3	-	31,1	7,32	21,2	-4,2	8,3	+	5,5
11	c.398delT (p.L133HfsX49) c.499C>T(p.R167R>C) c.760C>T (p.L254L>F) của gen <i>ZFP57</i>	15	<3	-	56	7,3	20,7	-4,9	5,8	+	5
20	<i>GRB10</i> và <i>PEG3</i>	11	<3	Nặng	31	6,8	3	--	6,6	+	5,5
31	<i>PLAGL1</i>	13	<3	-	44				3,6	+	3

*Ghi chú: “BN” bệnh nhân, “P” cân nặng, “-” không, “+” có, “--” không đo được*

Nhận xét: Trong 5 bệnh nhân có giảm methyl hóa ở các locus trên vùng imprinting (HIL) của allele có nguồn gốc từ mẹ thì có 4 bệnh nhân có cân nặng lúc sinh thấp < 3 bách phân vị. 2/3 bệnh nhân có đột biến ở các locus trên gen *ZFP57* không có biểu hiện toan xê tôn khi chẩn đoán, bệnh nhân có đột biến ở locus *GRB10* và *PEG3* nhập viện trong tình trạng nhiễm toan xê tôn rất nặng và cân nặng lúc sinh thấp.



**Hình 3.14. Hình ảnh lưỡi to, rốn lồi ở bệnh nhân số 11**

**3.2.2.5. Đái tháo đường do đột biến gen *EIF2AK3* trong hội chứng Wolcott-Rallison**

Bệnh nhân số 17 có đột biến sai nghĩa đồng hợp tử c.1894C>T (p.R632W) ở exon 12 của gen *EIF2AK3*. Đột biến này được di truyền từ bố mẹ (bố mẹ là người mang gen). Bệnh nhân đẻ thường, đủ tháng, thai 41 tuần, cân nặng lúc sinh 10 bách phân vị, nhập viện khi 64 ngày tuổi với biểu hiện co giật nửa người trái, không tím tái, không mất ý thức, cơn kéo dài 1-2 phút, sau cơn chơi ngoan, không sốt, xét nghiệm máu: glucose 42,46 mmol/l; ure 3,4 mmol/l; creatinine: 36,7  $\mu$ mol/l; Na<sup>+</sup> 121 mmol/l; K<sup>+</sup> 4,8 mmol/l; Cl<sup>-</sup> 91 mmol/l; AST 28,5 U/l; ALT 23,2 U/l; pH 7,27; pCO<sub>2</sub> 38,6 mmHg; pO<sub>2</sub> 59,9 mmHg; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 17,8 mmol/l; BE -8,4 mmol/l; insulin 47,4 pmol/l (bình thường 17,8 - 143); C-peptide 0,5 nmol/l (bình thường 0,37 - 1,47); HbA1C 6,5 %. Xê tôn niệu (+++). Trẻ được chẩn đoán đái tháo đường sơ sinh và được điều trị bằng insulin.

Trong quá trình diễn biến có xuất hiện vàng da, phân bạc màu. Xét nghiệm sinh hóa máu: ure 1,8 mmol/l; creatinine 23,9  $\mu$ mol/l; Na<sup>+</sup> 129 mmol/l; K<sup>+</sup> 4,5 mmol/l; Cl<sup>-</sup> 96 mmol/l; bilirubin toàn phần 49,5  $\mu$ mol/l; bilirubin trực tiếp 24,9  $\mu$ mol/l; AST 3741,2 U/l; ALT 1927,9 U/l; NH<sub>3</sub> 144,2  $\mu$ g/dl; lactat 4,0 mmol/l; Protid 49,5 g/l; albumin 31,4 g/l; LDH 798 U/l, ALP

958 U/l. HBsAg âm tính; Anti HCV âm tính; anti HAV (+); PCR (CMV, EBV, HAV) âm tính; siêu âm gan mật không thấy teo mật.

Bệnh nhân được điều trị toàn xê tôn, hỗ trợ, bảo tồn chức năng gan và điều chỉnh glucose máu, sau 25 ngày xuất viện và được điều trị ngoại trú. Trẻ được theo dõi đến khi 5 tuổi 9 tháng, chiều cao 103,3cm (<3 bách phân vị), cân nặng 13,4 kg (<3 bách phân vị) (so với biểu đồ tăng trưởng của WHO 2017), chậm phát triển tâm thần vận động nhẹ (DQ 70%); HbA1c 7,1%; AST 54,8 UI/l; ALT 196,47 UI/l; chưa có biểu hiện tổn thương xương, có biểu hiện phì đại mô mỡ ở vùng quanh rốn.

### 3.2.2.6. Đái tháo đường do đột biến gen *FOXP3* trong hội chứng IPEX

Bệnh nhân số 29 có đột biến sai nghĩa dị hợp tử c.1133C>T (p.P378L) ở exon 11 của gen *FOXP3*, nhập viện khi 12 ngày tuổi vì có kết quả sàng lọc sơ sinh nghi suy giáp trạng bẩm sinh. Trẻ có cân nặng lúc sinh < 3 bách phân vị, vàng da từ ngày thứ 3. Tình trạng khi vào viện: tự thở SpO<sub>2</sub>: 95 %, mạch 156 l/p, li bì, dấu hiệu mất nước nặng, phân lỏng, nhầy nhiều lần trong ngày, thỉnh thoảng có nôn sau ăn, tim đều, phổi có ran ẩm.

Các xét nghiệm máu: glucose 91,31 mmol/l; pH: 6,95; pCO<sub>2</sub> 10 mmHg, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 1,5 mmol/l; BE - 28,9 mmol/l; Ure: 28,14 mmol/l; Creatinin 179 μmol/l; Na<sup>+</sup> 163 mmol/l; K<sup>+</sup> 5,9 mmol/l; Cl<sup>-</sup> 145 mmol/l; AST 34,3 UI/l; ALT 17 UI/l; bilirubin toàn phần 274,4 μmol/l; bilirubin gián tiếp 18,17μmol/l. T3 = 0,4 nmol/l; T4 = 24,4 nmol/l; TSH 764,2 mUI/ml; C-peptide 0,01 ng/ml; Insulin 60,47mUI/l; HbA1C 3,5%; số lượng bạch cầu 7,09 G/l → 5,03 G/l (trung tính 2,6 G/l → 4,0 G/l; lympho 0,63 G/l → 1,7 G/l); Hb 149 g/l; tiểu cầu 314 G/l.

Sau 2 ngày điều trị tình trạng toàn xê tôn có cải thiện, tuy nhiên tình trạng nhiễm trùng nặng và trẻ tử vong sau 4 ngày điều trị.

### 3.3. Kết quả điều trị đái tháo đường sơ sinh

#### 3.3.1. Phương pháp điều trị

Các phương pháp điều trị lâu dài sau khi có kết quả phân tích phân tử của các nhóm bệnh nhân có đột biến ở các gen khác nhau được trình bày tại bảng 3.12.

**Bảng 3.12. Đột biến gen và phương pháp điều trị sau khi xác định được đột biến**

Đột biến gen	Điều trị bằng insulin lâu dài		Điều trị bằng sulfonylurea		Không phải điều trị thuốc lâu dài	
	n	%	n	%	N	%
<i>ABCC8</i> (n=11)	0	0	9	81,8	2	18,2
<i>KCNJ11</i> (n=9)	0	0	7	77,8	2	22,2
6q24 (n=5)	0	0	0	0	5	100
<i>INS</i> (n=6)	6	100	0	0	0	0
<i>EIF2AK3</i> (n=1)	1	100	0	0	0	0
<i>FOXP3</i> (n=1)	1	100	0	0	0	0

*Nhận xét:* Tất cả các bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* đều được điều trị thành công bằng uống sulfonylurea thay thế cho insulin tiêm. Tất cả các bệnh nhân có đột biến 6q24; 2 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* và 2 bệnh nhân có đột biến gen *KNCJ11* hiện không phải điều trị thuốc lâu dài. Các bệnh nhân có đột biến gen *INS*, *EIF2AK3* và *FOXP3* phải điều trị bằng insulin.

3.3.1.1. Bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* khi chuyển đổi điều trị từ tiêm insulin sang uống sulfonylurea

**Bảng 3.13. Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* khi chuyển đổi phương pháp điều trị**

Bệnh nhân	Kiểu gen	Tuổi (năm)	Chiều cao (cm)	Cân nặng (kg)	Liều insulin (UI/kg/ngày)	HbA1C (%)	c-peptid (ng/ml)	Glucose máu (mmol/l)	Hội chứng DEND	Thời gian chuyển (ngày)	Liều SU khi chuyển (mg/kg/ngày)
3	p.R1183W	7	121	28	0,2	6,0	0,3	6,0	-	2	0,17
4	p.E747X	4,5	100	13	0,3	8,3	0,2	14,1	+	4	0,76
5	p.E128K/p.E747X	0,25	63	5,6	0,44	5,8	0,03	7,4	-	3	1,78
13	p.A1153G	1,9	79,5	8,7	0,2	5,5	1,3	4,4	-	1	0,22
14	c.3403-1G>A/p.E1507Q	0,4	59	5,8	1,2	5,9	0,04	17	-	7	1,29
23	p.C435R	0,5	64	6	0,66	6,6	0,01	7,2	-	1	0,83
24	p.R1183W	Ngừng insulin sau điều trị 5 tháng									
25	p.P1199L	0,2	58	4,9	1	5,68	0,35	13	-	3	2
27	p.R1183W	0,5	65	7	1,08	5,7	1,35	5,5	-	3	1,4
32	p.R1380H	0,3	60	5,5	2	7,26	0,2	7,54	-	6	2
33	p.R598Q/p.R826W	0,15	59	6	0,67	5,2	0,28	19	-	5	0,83
	Min – Max Trung vị/trung bình	0,15-7 0,5			0,8±0,6	6,2±0,9	0,03- 1,35 0,24	10,1±5, 2		3,5±2	1,1±0,7

*Nhận xét:* những bệnh nhân phải điều trị với insulin liều cao thì khi chuyển sang SU liều cũng rất cao.

3.3.1.2. Bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* khi điều trị chuyển đổi từ insulin tiêm sang uống sulfonylurea.

**Bảng 3.14. Đặc điểm lâm sàng và sinh hóa của các bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* khi chuyển đổi phương pháp điều trị**

BN	Kiểu gen	Tuổi năm	Chiều cao (cm)	Cân nặng (kg)	Liều insulin UI/kg/ngày	HbA1C (%)	c-peptid (ng/ml)	Glucose máu (mmol/l)	Hội chứng DEND	Thời gian chuyển (ngày)	Liều SU (mg/kg/ngày)
1	p.R201H	5,5	109	21,5	1,1	9,9	0,009	17,2	-	14	0,95
2	p.R201C	2,5	84	11	0,54	5,9	0,05	20	+	10	1,9
10	p.R50Q	0,75	69	10	0,2	7,8	0,46	7,3	-	4	0,45
12	p.R201C	0,67	63	6,4	1	4,9	0,03	26	-	4	1,17
15	p.E292G	0,25	60	6,9	0,86	6,6	0,09	30	-	4	0,72
16	p.E229K	1,16	75	8,3	0,43	6,2	1,13	4,8	-	2	0,37
26	p.R201H	0,37	58	5,3	0,75	8,5	0,1	9,0	-	7	1,8
28	p.K185Q	0,3	58	5,5	1	7,6	0,08	7,9	-	5	1
30	p.G53S	0,5	66	6	0,47	9,02	0,83	12	-	3	1
	Min-max	0,3-5,5					0,009-1,13				
	Trung vị	0,67					0,09				
	Trung bình				0,7±0,3	7,4±1,6		14,9±8,9		5,8±3,8	1,04±0,5

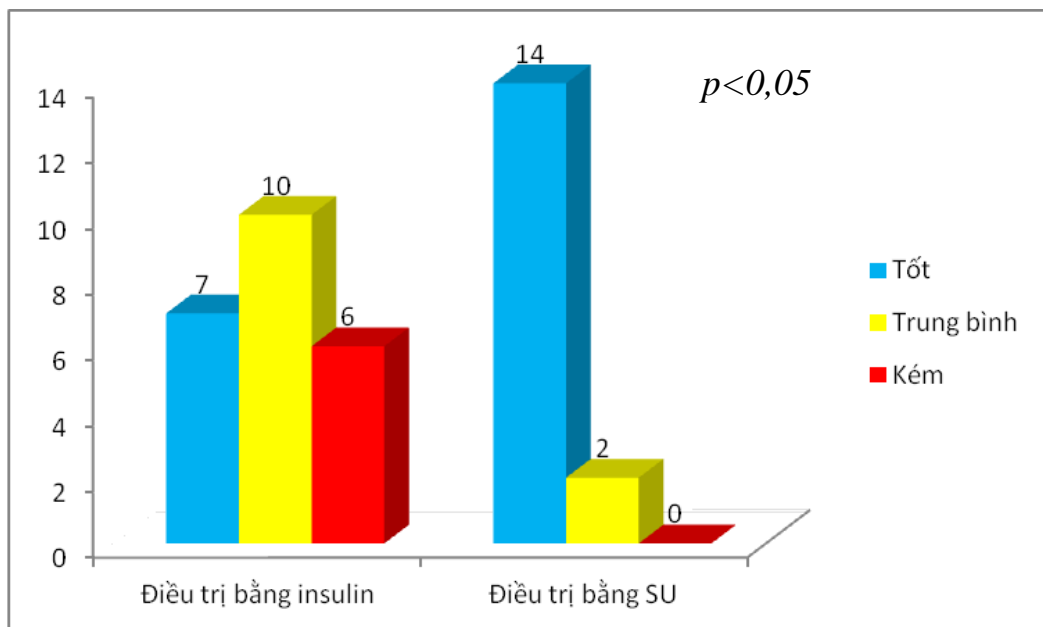
Ghi chú: “BN” bệnh nhân, “+” có, “-” không

Nhận xét: Bệnh nhân chuyển thuốc muộn cần thời gian chuyển dài hơn. 6/9 (66,7%) bệnh nhân có kết quả C-peptide trước khi chuyển thuốc rất thấp.



### 3.3.2. Kết quả kiểm soát glucose

Trong số 24 bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn, có một bệnh nhân tử vong do nhiễm khuẩn nặng. Trong quá trình theo dõi điều trị có 1 bệnh nhân (đột biến gen *INS*) có biến chứng toan xê tôn (4,3%) và 2 bệnh nhân (1 bệnh nhân có đột biến gen *INS* điều trị bằng insulin và 1 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* khi điều trị bằng insulin) có hạ glucose không triệu chứng với xét nghiệm glucose máu mao mạch tại nhà là  $<3\text{mmol/l}$  (8,6%).



**Biểu đồ 3.2. Kết quả điều trị ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn**

*Nhận xét:* tỷ lệ bệnh nhân có kết quả kiểm soát glucose máu tốt khi điều trị bằng insulin là 30,4% và tỷ lệ kiểm soát kém còn cao 26,1%. Kết quả điều trị bằng SU có tỷ lệ kiểm soát tốt là 87,5% và không còn bệnh nhân kiểm soát kém.

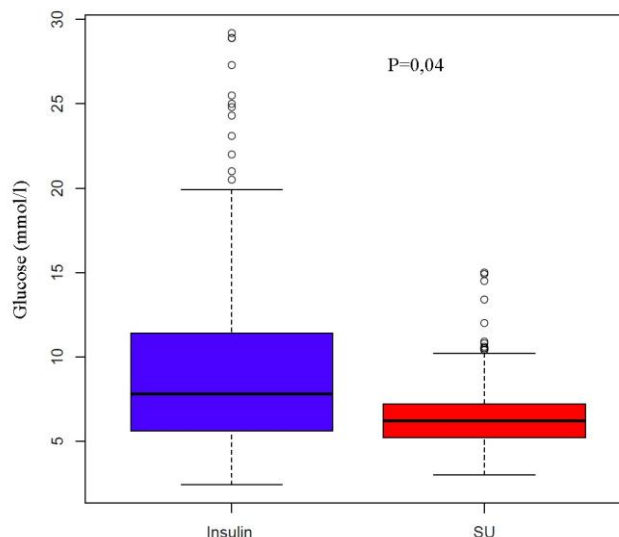
**Bảng 3.15. Kết quả kiểm soát glucose máu ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời khi chưa ngừng thuốc**

Mức độ kiểm soát	Bất thường 6q24 n=5		Đột biến kênh $K_{ATP}$ (n=4)			
			Khi điều trị insulin		khi điều trị SU	
	N	%	N	%	N	%
Tốt	5	100	2	33,3	3	100
Trung bình	0	0	1	33,3	0	0
Kém	0	0	1*	33,3	0	0

\* Bệnh nhân hồi phục không phải dùng thuốc SU sau khi điều trị insulin 5 tháng.

*Nhận xét:* 100% bệnh nhân có đột biến gen trên 6q24 đều kiểm soát tốt glucose máu trước khi ngừng thuốc. Trong 3 bệnh nhân ĐTĐ do đột biến kênh  $K_{ATP}$  khi điều trị bằng insulin thì chỉ có 1 bệnh nhân kiểm soát tốt, 1 bệnh nhân kiểm soát kém nhưng khi chuyển sang điều trị bằng SU thì đều kiểm soát glucose máu tốt.

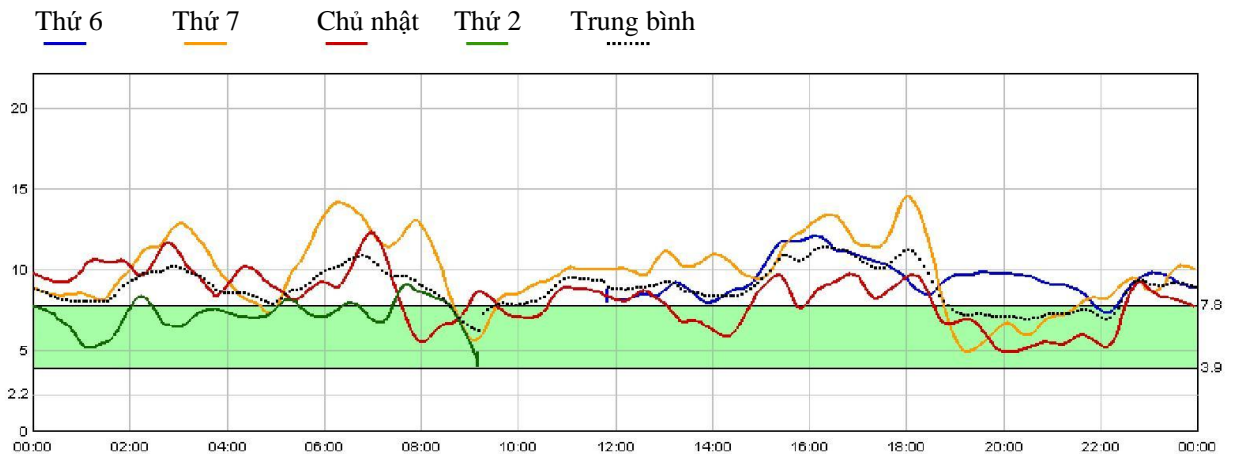
3.3.2.1. Kết quả kiểm soát glucose của bệnh nhân điều trị bằng insulin và sulfonylurea



**Biểu đồ 3.3. Kết quả theo dõi glucose khi điều trị bằng insulin và sulfonylurea**

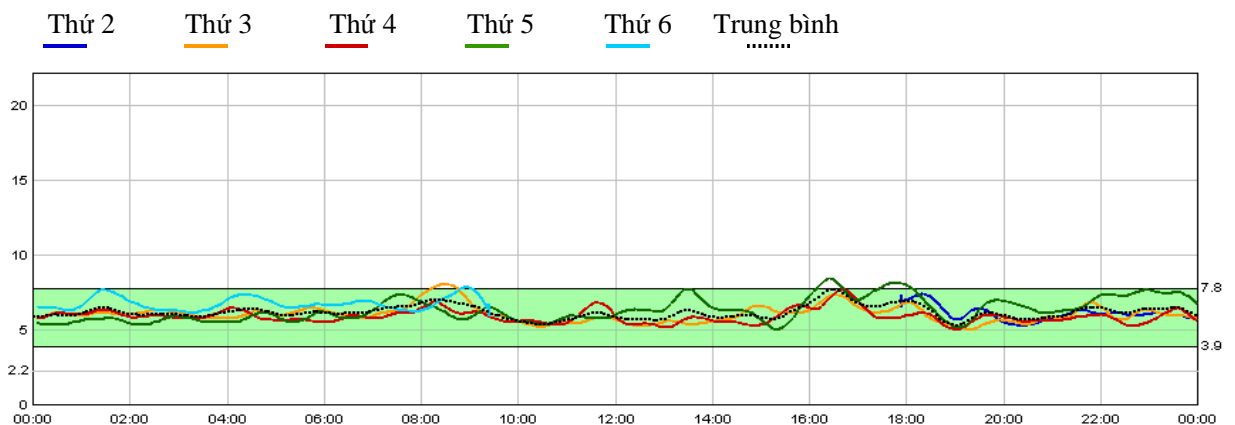
*Nhận xét:* khi điều trị bằng sulfonylurea glucose hầu hết trong giới hạn bình thường đồng thời khoảng giao động nhỏ hơn so với điều trị bằng insulin.

**Kết quả theo dõi glucose máu liên tục của bệnh nhân khi điều trị bằng insulin và sulfonylurea**



**Hình 3.15. Hình ảnh theo dõi glucose máu liên tục của bệnh nhân khi điều trị bằng insulin**

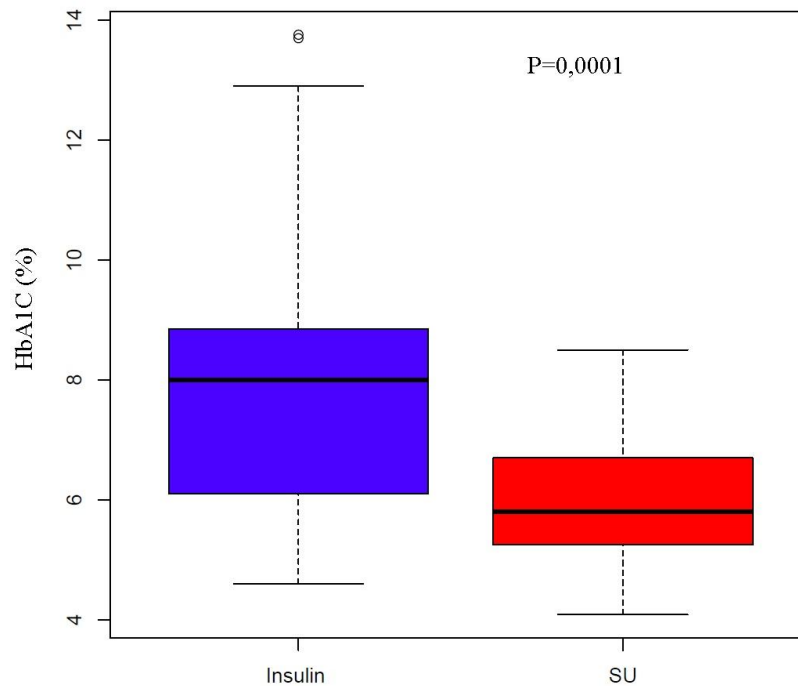
*Nhận xét:* hầu hết các giá trị glucose máu của bệnh nhân đều ở ngoài (cao hơn) khoảng giới hạn cho phép.



**Hình 3.16. Kết quả theo dõi glucose máu liên tục của bệnh nhân sau khi điều trị bằng sulfonylurea**

*Nhận xét:* toàn bộ các giá trị glucose máu của bệnh nhân đều trong khoảng giới hạn bình thường.

### 3.3.2.2. Kết quả kiểm soát HbA1C khi điều trị bằng glucose và SU



**Biểu đồ 3.4. Kết quả HbA1C khi điều trị bằng insulin và SU**

*Nhận xét:* HbA1C của bệnh nhân khi điều trị bằng SU thấp hơn có ý nghĩa so với HbA1C của bệnh nhân khi điều trị bằng insulin ( $p=0,0001$ ).

### 3.3.3. Kết quả phát triển tâm thần vận động

Kết quả phát triển tâm thần vận động của các bệnh nhân có đột biến ở các gen khác nhau được trình bày tại bảng 3.18

**Bảng 3.16. Phát triển tâm thần vận động của bệnh nhân ĐTD sơ sinh**

Đột biến gen	Phát triển tâm thần, vận động bình thường		Chậm phát triển tâm thần, vận động vừa và nặng	
	N	%	n	%
<i>ABCC8</i>	10	90,9	1	9,1
<i>KCNJ11</i>	8	88,9	1	11,1
<i>INS</i>	6	100	0	0
<i>6q24</i>	4	80	1	20
<i>EIF2AK3</i>	1	100	0	0
<b>Tổng</b>	<b>29</b>	<b>90,6</b>	<b>3</b>	<b>9,4</b>

*Nhận xét:* tỷ lệ bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động là 9,4%. Trong đó có 1 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* và 1 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11*, 1 bệnh nhân có bất thường 6q24. 100% bệnh nhân có đột biến gen *INS* phát triển tâm thần vận động bình thường.

### **3.3.4. Tác dụng không mong muốn khi điều trị**

#### **3.3.4.1. Tác dụng không mong muốn khi điều trị bằng insulin**

Trong số 33 bệnh nhân khi điều trị bằng insulin sau khi được chẩn đoán và trong giai đoạn đầu trước khi chuyển sang uống sulfonylureas (đối với những bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11/ABCC8*), chỉ có 1 bệnh nhân (số 17) có biểu hiện phì đại mô mỡ ở vùng quanh rốn do không thay đổi vị trí tiêm trong suốt 69 tháng điều trị.

#### **3.3.4.2. Tác dụng không mong muốn khi điều trị bằng sulfonylureas.**

Trong số 19 bệnh nhân điều trị bằng sulfonylurea, không có bệnh nhân nào có biểu hiện nôn, tiêu chảy hoặc rối loạn chức năng gan sau dùng thuốc. 13/19 bệnh nhân đã mọc răng, sau  $46 \pm 24,6$  tháng điều trị, không có bệnh nhân nào có biểu hiện đổi màu răng.

## Chương 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Xác định đột biến gen ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh

Trong 16 năm (từ 1/2000 đến 1/2017), có 40 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn ĐTĐ sơ sinh và chiếm 8,9% các trường hợp ĐTĐ ở trẻ dưới 15 tuổi tại bệnh viện Nhi Trung ương. Chúng tôi tiến hành phân tích gen cho 40 bệnh nhân này và phát hiện được 33 bệnh nhân có đột biến gen chiếm 82,5%. Các gen phát hiện được đột biến là *ABCC8*, *KCNJ11*, *INS*, *EIF2AK3*, *FOXP3* và nhiễm sắc thể số 6. Tuổi trung bình của các bệnh nhân khi được chẩn đoán là  $54,78 \pm 42,32$  ngày. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của nghiên cứu quốc tế đa trung tâm có số lượng bệnh nhân lớn nhất là 1020 từ 79 quốc gia [82]. Trong nghiên cứu này tỷ lệ phát hiện được đột biến gen là 82% (840/1020), phổ biến nhất là đột biến các gen mã hóa cho kênh  $K_{ATP}$ .

Trong một nghiên cứu ở Ucraina [83] tiến hành trên 24 bệnh nhân ĐTĐ trong vòng 6 tháng đầu sau sinh, tỷ lệ phát hiện được đột biến gen là 19/24 (84,6%) cũng tương tự như trong nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên phân bố đột biến gen hay gặp lại là *KCNJ11* (7/19; 36,8%), tiếp theo đến các gen *ABCC8* (4/19; 21%), *INS* (4/19; 21%), 6q24 (3/19; 15,7%), *EIF2AK3* (2/19; 10,5%), và các gen khác *GLIS3* và *GCK* (1/19; 5,2%). Sự khác biệt này có thể do yếu tố chủng tộc. Hơn nữa, Cao Bingyan và cs [84] đã công bố kết quả một nghiên cứu khác ở bệnh nhân Trung Quốc thì không có sự khác biệt về tỷ lệ phát hiện các gen đột biến, tuy nhiên lại có sự khác biệt về tuổi chẩn đoán và tỷ lệ đột biến của từng gen so với nghiên cứu trên các bệnh nhân Việt Nam. Các tác giả đã tiến hành nghiên cứu tại 3 bệnh viện trẻ em ở Trung Quốc là bệnh viện Bắc Kinh, Trịnh Châu và Thiểm Tây từ năm 2001 - 2013 có 25 bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh được chẩn đoán khi  $74,4 \pm 41,4$  ngày tuổi. Trong đó tỷ lệ

bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn là 18/25 (72%), và ĐTĐ sơ sinh tạm thời là 7/25 (28%). Tỷ lệ phát hiện được đột biến gen là 15/18 (83,3%) tương tự trong nghiên cứu của chúng tôi. Các gen được xác định có đột biến là *KCNJ11* (5), *ABCC8* (3), *INS* (1), *EIF2AK3* (3), *SLC19A2*(1), *GLIS3* (1), nhân đôi 6q24 có nguồn gốc từ bố (1).

Một nghiên cứu khác ở Slovakia [3] trong 23 năm (1981-2004), có 8 bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ trước 6 tháng tuổi, trong đó 6/8 bệnh nhân được chẩn đoán trước 3 tháng tuổi. Tỷ lệ phát hiện được đột biến gen là 6/8 (75%) thấp hơn trong nghiên cứu của chúng tôi. Các đột biến gen phát hiện được là *KCNJ11* 4/6 (66,8%), *ABCC8* 1/6 (16,6%), *EIF2AK3* 1/6 (16,6%).

Như vậy tỷ lệ phát hiện được đột biến trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như trong nghiên cứu ở Ukraina và Trung Quốc nhưng cao hơn trong nghiên cứu tại Slovakia. Trong đó đột biến gen mã hóa cho kênh  $K_{ATP}$  trong các nghiên cứu đều là nguyên nhân phổ biến gây ĐTĐ sơ sinh và *KCNJ11* chiếm tỷ lệ cao nhất thì trong nghiên cứu của chúng tôi gen có tỷ lệ đột biến cao nhất lại là *ABCC8*. Sự khác biệt này có thể do yếu tố chủng tộc hoặc do cỡ mẫu nghiên cứu chưa đủ lớn, chưa cân bằng giữa các nghiên cứu và chưa đại diện được cho quần thể.

Trong những năm gần đây, tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTĐ sơ sinh được mở rộng tới 12 tháng thay vì 6 tháng như trước đây. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 1 bệnh nhân xuất hiện ĐTĐ khi 357 ngày tuổi, đã được phân tích phân tử và phát hiện được đột biến gen *INS*. Đột biến gen *INS* là nguyên nhân phổ biến nhất gây ĐTĐ đơn gen ở bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ trong khoảng thời gian từ 6-12 tháng tuổi. Trong một nghiên cứu với cỡ mẫu đủ lớn 550 trẻ được chẩn đoán ĐTĐ trong năm đầu sau sinh, trong đó 405 được chẩn đoán trước 6 tháng tuổi và 145 được chẩn đoán sau 6 tháng, đột biến gen được phát hiện ở 272 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 49,5%. Trong đó tỷ lệ đột biến ở nhóm

được chẩn đoán trước 6 tháng tuổi cao hơn nhóm chẩn đoán sau 6 tháng (64,9% và 6,2% tương ứng) và đột biến gen *INS* chiếm 4,2% ở những bệnh nhân được chẩn đoán sau 6 tháng [5]. Nghiên cứu này cũng cho thấy tỷ lệ bệnh nhân phát hiện được đột biến gen *KCNJ11/ABCC8* trong nhóm chẩn đoán sau 6 tháng là 2,1% và chủ yếu là từ 6-9 tháng tuổi. Trong nghiên cứu của chúng tôi không có bệnh nhân nào được chẩn đoán sau 6 tháng có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$ . Nghiên cứu khác cũng cho thấy 11% bệnh nhân được chẩn đoán từ 6-12 tháng không có nguy cơ cao đối với haplotype HLA của ĐTĐ typ 1 [5] và đột biến gen *INS* là nguyên nhân phổ biến nhất gây ĐTĐ ở độ tuổi này. Vì vậy, cần phân tích gen cho những bệnh nhân ĐTĐ xuất hiện trong vòng 6-12 tháng đặc biệt khi không có kháng thể kháng đảo tụy.

#### **4.1.1. Đột biến gen *ABCC8***

Trong những năm vừa qua, nhiều nghiên cứu đã mô tả đột biến kích hoạt gen *ABCC8* ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời và ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn. Cho đến nay đã có hơn 100 đột biến khác nhau trên gen *ABCC8* và *KCNJ11* đã được xác định ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh [85]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả từ bảng 3.1 cho thấy, tỷ lệ đột biến gen *ABCC8* chiếm 33,7%. Kết quả từ bảng 3.2 cho thấy, trong 11 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* thì 11 đột biến khác nhau được phát hiện. Trong đó chủ yếu là các đột biến sai nghĩa 9/11 được di truyền từ bố hoặc mẹ và có hai bệnh nhân mang đột biến mới phát sinh (*de novo*) có nghĩa là không được di truyền từ bố hoặc mẹ. Các đột biến này chủ yếu nằm trên các exon từ 17 đến 39. Có 3 bệnh nhân (bệnh nhân số 3, 24, 27) mang đột biến p.R1183W, trong đó bệnh nhân số 3 và 24 nhận đột biến từ bố, còn đột biến ở bệnh nhân số 27 là mới phát sinh vì không tìm thấy đột biến ở bố mẹ. Đột biến này dẫn đến thay thế nucleotide trong vùng dinucleotide CpG, đây là vùng có đột biến phổ biến thông qua việc khử amin các nucleotide C đã được methyl hóa.



Khác với nghiên cứu của chúng tôi, Patch và cs [86] nghiên cứu 48 gia đình có con mắc bệnh ĐTĐ xuất hiện trước 6 tháng tuổi, phát hiện được 39 đột biến sai nghĩa khác nhau và 2 đột biến gây lệch khung dịch mã trên gen *ABCC8*. Một nửa các đột biến (18/39) nằm ở exon từ 2-6. Tuy nhiên cũng có những đột biến giống như trong nghiên cứu của chúng tôi: 5 bệnh nhân có đột biến R1183W, 1 bệnh nhân có đột biến R826W.

Trong nghiên cứu của Flanagan và cs [87], 10 đột biến khác nhau trên gen *ABCC8* đã được xác định ở 13 bệnh nhân: p.D209E, p.D212N, p.D212I, p.V324M, p.L451P, p.R826W, p.R1183W, p.R1183Q, p.R1380C, và p.R1380H. Trong đó đột biến p.R1183W được xác định ở 4 bệnh nhân, tất cả đều là đột biến mới trừ đột biến p.R1380C và p.R1183Q. Trong những đột biến này có hai đột biến p.R1183W và p.R1380H cũng gặp trong nghiên cứu của chúng tôi và gặp với tần số cao nhất. Như vậy đột biến p.R1183W và p.R1380H có xu hướng là đột biến phổ biến hơn trong nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu khác.

Điều đặc biệt là trong nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện được một đột biến mới (novel mutation) là đột biến vô nghĩa ở vị trí c.2239 G>T (p.E747X) trên gen *ABCC8* ở hai bệnh nhân số 4 và số 5. Bệnh nhân số 4 có đột biến đồng hợp tử c.2239 G>T (p.E747X) [44] đã được khẳng định lại bằng phân tích mRNA từ mẫu nước bọt của bệnh nhân. Phân tích mRNA từ mẫu nước bọt cho thấy thiếu exon 17 cần thiết cho sự phát triển bình thường của đảo tụy. Đột biến này đã tạo nên protein có chiều dài không đầy đủ làm cho SUR1 thiếu exon 17. Điều này làm cho kênh  $K_{ATP}$  không thể đóng khi đáp ứng với sự thay đổi ATP. Bệnh nhân số 5 có đột biến dị hợp tử kép p.E747X và p.E128K. Trong đó đột biến di truyền từ mẹ xảy ra ở nucleotide vị trí 382, G được thay thế bằng A dẫn đến glutamic acid bị thay thế bởi lysine ở codon 128. Đột biến này đã được báo cáo gây cường insulin [88].

Đột biến thứ 2 di truyền từ bố xảy ra ở vị trí nucleotide 2239, G bị thay thế bởi T dẫn đến bộ ba kết thúc sớm ở codon 747 (p.747X). Cả hai bệnh nhân này đều đáp ứng với điều trị SU.

Một đột biến mới (novel mutation) khác đã được phát hiện là đột biến sai nghĩa c.3458C>G (p.A1153G) ở bệnh nhân số 13. Đột biến được di truyền từ mẹ. Đột biến này chưa được báo cáo trong y văn cũng như trong tổng số 1500 bệnh nhân được phân tích gen tại Trường Đại học Y Exeter, Vương Quốc Anh. Sự biến đổi acid amin do đột biến này đã được chứng minh là gây ảnh hưởng đến chức năng protein [43]. Hơn nữa, mẹ bệnh nhân có biểu hiện ĐTĐ thai nghén và phải điều trị bằng insulin từ khi được chẩn đoán đến nay. Hiện tại chúng tôi đang có kế hoạch chuyển sang điều trị bằng SU cho mẹ bệnh nhân. Bệnh nhân hiện đã 4 tuổi 9 tháng, đang phải điều trị SU với liều 0,2 mg/kg/ngày và glucose máu trong giới hạn gần bình thường.

Hai đột biến mới (novel mutation) khác được phát hiện ở bệnh nhân số 14 và bệnh nhân số 33. Bệnh nhân số 14 có đột biến dị hợp tử kép trên gen *ABCC8*: một đột biến đã được báo cáo ở vùng gắn nối giữa exon và intron (c.3403-1G>A), một đột biến mới là đột biến sai nghĩa ở vị trí p.E1507Q. Đột biến c.3403-1G>A gây bất thường vùng gắn nối giữa exon và intron, đột biến p.E1507Q có thể là nguyên nhân gây bệnh do dư thừa lượng glutamate. Hai đột biến mới sai nghĩa ở vị trí codon này là p.E1507G và p.E1507D đã được phát hiện trước đây ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh. Đột biến c.3403-1G>A và p.E1507Q được di truyền từ bố hoặc mẹ và phù hợp với chẩn đoán ĐTĐ di truyền lặn do đột biến tiểu đơn vị SUR của kênh  $K_{ATP}$  [44]. Bệnh nhân số 33 có hai đột biến sai nghĩa dị hợp tử kép của gen *ABCC8*: p.R598Q và p.R826W. Đột biến p.R826W đã được báo cáo ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời [89] và đột biến này không được di truyền từ bố mẹ. Đột biến p.R598Q là đột biến mới (novel mutation) được di truyền từ mẹ bệnh nhân. Hiện nay đã

có những bằng chứng cho thấy đột biến này có thể là nguyên nhân gây bệnh vì đột biến này nằm trên domain xuyên màng của tiểu đơn vị SUR1 trên kênh  $K_{ATP}$  [44]. Hơn nữa bệnh nhân này cần nhu cầu insulin cao 0,6 UI/kg/ngày, khi chuyển sang uống SU liều cũng rất cao 2mg/kg/ngày.

#### **4.1.2. Đột biến gen *KCNJ11***

*KCNJ11* là gen có 1 exon nằm trên NST 11p15.1 mã hóa cho Kir6.2 nằm sát ngay gen *ABCC8* cùng với *ABCC8* điều hòa hoạt động của kênh  $K_{ATP}$ . Kết quả từ bảng 3.1 cho thấy, đột biến *KCNJ11* chiếm tỷ lệ 27,3% và là nguyên nhân phổ biến thứ 2 sau *ABCC8* gây ĐTD sơ sinh.

Trong một nghiên cứu ở Mỹ trên 32 trẻ ĐTD trước 6 tháng tuổi, Stoy và cs [4] nhận thấy tỷ lệ đột biến gen *KCNJ11* là 43,8% sau đó đến gen *INS*, không có bệnh nhân nào có đột biến gen *ABCC8*. Các nghiên cứu ở Ukraina [83] và Trung Quốc [84] cũng cho kết quả tương tự. Như vậy có sự khác biệt về tỷ lệ các gen bị đột biến giữa nghiên cứu của chúng tôi và những nghiên cứu khác. Sự khác biệt này có thể do yếu tố chủng tộc.

Về các đột biến phát hiện được trong nghiên cứu của chúng tôi thì hầu hết là đột biến sai nghĩa dị hợp tử không được di truyền từ bố mẹ. Các đột biến phát hiện được là p.R201C (2 bệnh nhân), p. R201H (2 bệnh nhân), p.R50Q, p.E292G, p.E229K, p.K185Q và p.G53S.

Cao và cs [84] nghiên cứu trên 25 bệnh nhân ĐTD sơ sinh Trung Quốc, bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* chiếm tỷ lệ cao nhất, các đột biến phát hiện được là p.R201H (2/5 bệnh nhân), p.G53S, p.E229K và p.V59S. Điều đáng chú ý ở đây là trong 5 bệnh nhân phát hiện được đột biến thì có đến 4 bệnh nhân có đột biến trùng với những đột biến phát hiện được trên bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi.

Trong một nghiên cứu ở Mỹ [4] tiến hành trên 32 bệnh nhân được chẩn đoán ĐTD sơ sinh trước 6 tháng tuổi, có 6 đột biến khác nhau của gen

*KCNJ11* được phát hiện ở 14 bệnh nhân từ 12 gia đình. Các đột biến phát hiện được là p.H46Y, p.V59M, p.R201C, p.R201H (6 bệnh nhân), p.E227K và p.E322K.

Trong nghiên cứu ở Ukraina [83], có 8/23 bệnh nhân có đột biến *KCNJ11*, các đột biến phát hiện được là p.R201C (n = 3), p.R201H (n = 2), p.G53D (n = 1), p.V59M (n = 1) và p.E229K (n = 1).

Như vậy từ các nghiên cứu trên có thể thấy rằng đột biến p.R201C, p.R201H có thể là đột biến phổ biến trên gen *KCNJ11* ở tất cả các chủng tộc.

#### **4.1.3. Đột biến gen *INS***

Cho đến nay 51 đột biến của gen *INS* đã được xác định gây ĐTĐ sơ sinh [90]. Trong nghiên cứu này, đột biến gen *INS* là nguyên nhân thứ 3 gây ĐTĐ sơ sinh với 4 đột biến khác nhau được phát hiện trên 6 bệnh nhân. Hầu hết các đột biến này đều là đột biến dị hợp tử và không có nguồn gốc từ bố mẹ: 4/6 bệnh nhân mang 3 đột biến sai nghĩa khác nhau ở exon 2 và 3, hai bệnh nhân mang cùng một đột biến vùng gắn nối ở intron 2 (bảng 3.4).

Garin và cs [91] nghiên cứu giải trình tự gen cho 117 trẻ mắc ĐTĐ trước 6 tháng tuổi, phát hiện được 10 đột biến khác nhau trên gen *INS* ở 15 gia đình không kết hôn cận huyết thống: 4 đột biến đồng hợp tử ảnh hưởng đến vùng mã hóa c.184C>T (p.Q62X), c.3G>T(p.0?), c.3G>A(p.0?) và một đột biến mất đoạn lớn làm mất vùng gắn nối gen khởi đầu exon 1 và vùng mã hóa exon 2 của gen *INS* (c.-370-?\_186+?del); năm đột biến đồng hợp tử được xác định ở vùng điều hòa: c.-331C>A (2 gia đình), c.-331C>G (5 gia đình), c.-218A>C, và mất đoạn 24 nucleotide ở vùng gen khởi đầu (c.-366\_-343del) trong khi đột biến \*59A>G ở vùng không dịch mã 3, một bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép ở vùng gen điều hòa c.-331C>G và c.-332C>G.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 4 đột biến được xác định p.C43S, p.C96R, p.R89C và c.188-31G>A. Tuy nhiên không có đột biến nào trùng với

các đột biến trong nghiên cứu Garin và cs. Đột biến p.R89C ở vùng nối giữa chuỗi A và C-peptide, p.C43S là đột biến ở chuỗi B, p.C96R là đột biến trên chuỗi A. Các đột biến này gây phá vỡ sự gấp cuộn và/hoặc phá vỡ cầu nối disulfure dẫn đến ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn [92].

Trong một nghiên cứu thuần tập lớn ở Exeter về bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn được chẩn đoán trước 6 tháng tuổi [92], 14% bệnh nhân sinh ra trong các gia đình kết hôn không cận huyết thống được xác định có mang đột biến dị hợp tử của gen *INS*. Tỷ lệ bệnh nhân ĐTĐ ngoài giai đoạn nói trên có đột biến gen *INS* ít gặp hơn với tỷ lệ ước tính là dưới 2%. Trong những trường hợp có đột biến thì 27% (18/66) bệnh nhân nhận đột biến di truyền từ bố hoặc mẹ trong khi số còn lại 73% (48/66) là đột biến mới phát sinh (*de novo*). Đặc biệt là trong một gia đình có hai bệnh nhân cùng mang đột biến giống nhau nhưng bố mẹ lại không bị bệnh và cũng không mang gen.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 6 bệnh nhân có đột biến gen insulin thì 5 bệnh nhân được chẩn đoán trước 6 tháng tuổi, còn 1 bệnh nhân được chẩn đoán khi 357 ngày tuổi (3,03%). Tất cả các đột biến này đều không tìm thấy ở bố mẹ. Điều này có thể là do một trong hai bố mẹ có khảm dòng tế bào mầm hoặc các bệnh nhân này đều mang đột biến mới phát sinh (*de novo*).

#### **4.1.4. Đột biến trên nhiễm sắc thể số 6**

Những locus vùng imprinter trên NST số 6 là những locus gen đầu tiên được xác định ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh và cũng là phổ biến nhất. Sự biểu hiện khác thường của các gen trên vùng imprinting trên NST số 6 là nguyên nhân chính gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời, kết hợp với 20% các trường hợp giảm methyl hóa DNA ở vùng biệt hóa methyl (DMR) gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời, vùng này nằm trong vùng khởi đầu imprinting của các gen là gen chỉ điểm chính cho TND, PLAGL1. Hiện tại 73 gen trên vùng imprinting ở người đã được xác định (<http://igc.otago.ac.nz>) [93].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 5 bệnh nhân được xác định mất methyl hóa hoàn toàn ở vùng biệt hóa methyl trên NST số 6 gây ĐTD sơ sinh tạm thời. Trong đó mỗi bệnh nhân lại có biểu hiện đột biến riêng. Hai bệnh nhân có đột biến gen *ZFP57* trên NST số 6 (bảng 3.5). *ZFP57* là một trong nhóm gen có biểu hiện rất sớm trong quá trình phát triển của phôi và là gen chỉ điểm cho sự biểu hiện của dòng tế bào mầm không biệt hóa và điều hòa đi xuống trong quá trình biệt hóa tế bào mầm [22].

Trong một nghiên cứu thuần tập 13 bệnh nhân giảm methyl hóa ở các locus trên vùng imprinting (multiple imprinted loci: HLI) từ 12 gia đình, trong đó có một gia đình có hai con bị bệnh trong số 6 gia đình kết hôn cận huyết thống, 4 gen đã được xác định có đột biến là *ZFP57*, *POU5F1*, *HMGA1* và *RNF8* [22]. Đột biến gen *ZFP57* được phát hiện ở 7 gia đình có HIL bao gồm: 6 gia đình kết hôn cận huyết thống có đột biến đồng hợp tử ở 6p, 1 gia đình không kết hôn cận huyết thống. Đột biến đồng hợp tử p.C241X tạo ra protein bị cắt cụt gập ở hai anh chị em ruột trong gia đình thứ nhất. Ở gia đình thứ 2 và 3 đột biến mất 2 nucleotide ở khung dịch mã đã dẫn đến codon dừng phiên mã sớm. Bố của bệnh nhân thứ 2 cũng là con của gia đình có kết hôn cận huyết thống khi được phân tích methyl hóa của DNA cũng cho thấy kết quả tương tự như của con mình tuy nhiên người bố này không bị bệnh ĐTD sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân thứ 3 có đột biến mất một nucleotide dẫn đến codon dừng phiên mã sớm. Bệnh nhân 4 và 6 có đột biến sai nghĩa p.H438D và p.H257N. Bệnh nhân số 5 có đột biến p.R228H. Bệnh nhân số 7 là con của gia đình không kết hôn cận huyết thống có đột biến giống bệnh nhân 5. Năm gia đình còn lại không tìm thấy đột biến trên gen *ZFP57*.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân số 6 và bệnh nhân số 11 có đột biến gen *ZFP57* và đột biến này được di truyền từ bố mẹ. Bệnh nhân số 6 có giảm methyl hóa ở locus *GRB10* và *PEG3* của allele có nguồn gốc từ mẹ.

Khi giải trình tự gen *ZFP57* đã phát hiện được đột biến dị hợp tử kép c.7450delT và c.7812C>T, một đột biến được di truyền từ mẹ và một đột biến được di truyền từ bố. Bệnh nhân số 11 mất hoàn toàn methyl hóa trên vùng biệt hóa methyl của 6q24, cụ thể là trên các locus GRB10 và PEG3. Giải trình tự gen *ZFP57* phát hiện 3 đột biến khác nhau được di truyền từ bố mẹ: một đột biến dị hợp tử mất một nucleotide trên exon 6 dẫn đến lệch khung dịch mã gây kết thúc phiên mã sớm di truyền từ mẹ c.398delT (p.L133HfsX49), hai đột biến dị hợp tử khác cũng trên vùng này được di truyền từ bố c.760C>T (p.L254F) và c.499C>T (p.R167C). Bệnh nhân số 20 cũng xác định được mất hoàn toàn methyl hóa ở các locus GRB10 và PEG3, và bệnh nhân vẫn đang trong quá trình được phân tích nhằm xác định liệu đột biến này có nằm trên gen *ZFP57* hay không.

Như vậy, trong 5 bệnh nhân có bất thường trên NST số 6 trong nghiên cứu của chúng tôi, có đến 3 bệnh nhân có biểu hiện mất hoàn toàn methyl hóa ở hai locus GRB10 và PEG3. Tuy nhiên không có đột biến nào xác định được trên bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi giống với những đột biến xác định được trên những bệnh nhân của các nghiên cứu khác. Nhưng có một điểm tương đồng là đột biến *ZFP57* có xu hướng gặp với tỷ lệ cao nhất.

Chúng tôi không tìm thấy đột biến *ZFP57* khi giải trình tự ở 2 bệnh nhân khác với HIL, ở hai bệnh nhân còn lại có biểu hiện mất methyl duy nhất ở DMR gây ĐTD sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân số 8 có đột biến trên các locus: TND (6q24), GF2R (6q27), SNRPN (5q11), GRB10 (7p12) ở vùng imprinting. Bệnh nhân số 31 có đột biến mất methyl hóa của *PLAGL1* trên vùng DMR. Trong đó có đột biến mất methyl hóa dị hợp tử ở các locus D6S1648(6q24.1) D6S1277(6q26) có nguồn gốc từ mẹ và bất thường các dấu ấn trên vùng in dấu di truyền ở các locus D6S280(6q13), D6S1595(6q15), D6S1060(6q16.1) có nguồn gốc từ bố.

*PLAGL1* là yếu tố phiên mã “zinc finger” có vai trò kiểm soát chu kỳ chết theo chương trình của tế bào. Cho đến nay hiểu biết về vai trò của *PLAGL1* còn rất hạn chế [19]. Ma và cs [18] đã gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời ở chuột bằng cách tạo nên sự biểu hiện quá mức của *PLAGL1* và *HYMAI*. Chuột bị ĐTĐ sơ sinh tạm thời có tăng glucose máu trong giai đoạn sơ sinh và diễn biến đến bất thường dung nạp glucose trong giai đoạn trưởng thành. Trong giai đoạn phôi thai, tuyến tụy của chuột có giảm bài tiết insulin nhưng khối lượng tế bào tụy bình thường sau sinh. Tuy nhiên đỉnh bài tiết insulin đáp ứng với test dung nạp glucose giảm ở chuột trưởng thành và vì vậy những chuột này có biểu hiện lâm sàng của ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Một cơ chế gây biểu hiện quá mức của các locus trên gen *PLAGL1* là giảm methyl hóa các allele có nguồn gốc từ mẹ của *PLAGL1*. Các bệnh nhân có giảm methyl hóa các allele có nguồn gốc từ mẹ có giảm methyl hóa ở các locus ở vùng imprinting trên toàn bộ gen, bao gồm GRB10, ZIM2 (PEG3), MEST (PEG1), KCNQ1OT1 and NESPAS (GNAS-AS1) [94]. Bệnh nhân số 8 của chúng tôi có đột biến giảm methyl hóa ở một số locus trong những locus này.

#### **4.1.5. Đột biến gen trong các hội chứng hiếm gặp**

Trong số 33 bệnh nhân có đột biến gen, có hai bệnh nhân có đột biến gen trong hội chứng hiếm gặp có biểu hiện ĐTĐ sơ sinh, đó là hội chứng Wolcott-Ralison (WRS) và hội chứng IPEX (bảng 3.6).

Hội chứng Wolcott-Ralison là một bệnh di truyền lặn NST thường hiếm gặp đặc trưng bởi ĐTĐ sơ sinh không phải tự miễn xuất hiện sớm, phải điều trị bằng insulin kết hợp với loạn sản xương và chậm tăng trưởng. Cho đến nay mới chỉ có khoảng gần 60 bệnh nhân được mô tả trên y văn mặc dù dấu hiệu nhận biết ở hầu hết các trường hợp hiện nay là ĐTĐ sơ sinh xuất hiện sớm ở những gia đình kết hôn cận huyết thống [45]. Bệnh nhân số 7 trong nghiên cứu của chúng tôi là bệnh nhân Việt Nam đầu tiên được chẩn



đoán hội chứng Wolcott-Ralison. Bệnh nhân này có đột biến sai nghĩa đồng hợp tử c.1894C>T (p.R632W) trên exon 12 của gen *EIF2AK3*. Cho đến nay, nhiều nghiên cứu đã báo cáo nhiều đột biến của gen *EIF2AK3* trong hội chứng Wolcott-Ralison. Những đột biến này có thể là đột biến vô nghĩa hoặc đột biến gây lệch khung dịch mã dẫn đến protein được tổng hợp bị kết thúc sớm, hoặc đột biến sai nghĩa ở vị trí domain kinase của protein. Nói chung, trong tổng số 39 trường hợp phát hiện được đột biến có 25/39 (64%) là đột biến lệch khung dịch mã hoặc đột biến vô nghĩa, 12/39(31%) là đột biến sai nghĩa và 2/39 (5%) là đột biến vùng cắt nối. Hầu hết kiểu gen (39/42 ) là đồng hợp tử và từ những gia đình kết hôn cận huyết thống, chỉ có 3 bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép. Những bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng điển hình của hội chứng đều là những bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép của gen *EIF2AK3* [45]. Bệnh nhân số 7 trong nghiên cứu của chúng tôi có kiểu gen đồng hợp tử, tuy nhiên đột biến sai nghĩa c.1894C>T (p.R632W) lại không phải là đột biến hay gặp gây hội chứng Wolcott-Ralison và cũng không được báo cáo trong số 39 đột biến được xác định trong nghiên cứu trên. Sự khác biệt này có thể do bệnh nhân của chúng tôi không phải con của cặp vợ chồng kết hôn cận huyết thống.

Hội chứng rối loạn điều hòa miễn dịch, bệnh của nhiều tuyến nội tiết, bệnh ruột non di truyền liên kết giới tính X (hội chứng IPEX) là một rối loạn hiếm gặp do đột biến gen *FOXP3* nằm ở vùng tâm động của NST X (Xq11.23-Xq13.3) gây nên. Gen *FOXP3* gồm 11 exon mã hóa và 1 exon không mã hóa [31]. *FOXP3* mã hóa cho protein có 431 acid amin.

Cho đến nay, ít nhất 70 đột biến khác nhau trên gen *FOXP3* đã được báo cáo [31]. Trong số các đột biến này gồm có: c.1150G>A trên domain FKH, đột biến mất 2 nucleotide (c.319-320del) ở domain tận cùng N, đột biến điểm FKH (c.1189C>T). Trong số 70 đột biến đã được xác định thì 40% nằm

ở trình tự mã hóa cho domain gắn DNA FKH tận cùng, 23% ở domain PRR tận cùng N, 9% ở domain LZ, 14% ở quai LZ-FKH và 6% ở vùng không mã hóa đến bộ ba khởi đầu ATG và ở kết thúc ở C tận cùng của ORF. Bệnh nhân số 29 trong nghiên cứu của chúng tôi có đột biến sai nghĩa dị hợp tử c.1133C>T (p. P378L) ở exon 11 của gen *FOXP3* trên NST X và đột biến này được di truyền từ mẹ. Đột biến này làm thay đổi khả năng của protein gây hậu quả gián đoạn cấu trúc của domain gắn DNA Fork-head. Đột biến của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi thuộc đột biến hay gặp trong số những đột biến đã được xác định.

## **4.2. Tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của ĐTD sơ sinh**

### **4.2.1. Đột biến gen và đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân khi chẩn đoán**

Kết quả từ bảng 3.7 cho thấy toàn bộ bệnh nhân có các đột biến gen ở các nhóm khác nhau đều có tuổi thai > 37 tuần, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tuổi thai của bệnh nhân ở các nhóm này với nhau. Điều này cho thấy đột biến gen không gây ảnh hưởng đến tuổi thai của bệnh nhân.

Về cân nặng lúc sinh, kết quả từ bảng 3.7 cho thấy cân nặng lúc sinh trung bình của các nhóm bệnh nhân có đột biến *KCNJ11*, *ABCC8* và bất thường NST số 6 ở khoảng 10 bách phân vị so với cân nặng có cùng tuổi thai, còn của nhóm có đột biến *INS* gần như trong giới hạn bình thường. Trong 4 nhóm này, cân nặng lúc sinh của nhóm có đột biến NST số 6 là thấp nhất. Tuy nhiên không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh cân nặng lúc sinh của các nhóm với nhau.

Chậm phát triển trong tử cung gặp ở 95% các bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời, đặc biệt trong quá trình phát triển từ quý thứ 3 của thai kỳ, cân nặng lúc sinh điển hình thường là 1,5 - 2,5 kg. Trong thực tế, cân nặng lúc sinh thấp có thể coi như bằng chứng cho sự giảm bài tiết insulin trong tử cung, và

vai trò của insulin như là một yếu tố tăng trưởng đóng vai trò quan trọng trong sự tăng trưởng và phát triển của thai. Điều chú ý quan trọng là insulin từ mẹ không qua được rau thai và vì vậy chậm phát triển trong tử cung do giảm bài tiết insulin sẽ ảnh hưởng đến nhiều thông số như cân nặng, chiều dài và vòng đầu [62].

Ngược lại, tỷ lệ chậm phát triển trong tử cung ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn lại thấp hơn. Một nghiên cứu thuần tập được tiến hành năm 2002 tại Pháp cho thấy tỷ lệ chậm phát triển trong tử cung trong nhóm trẻ ĐTĐ sơ sinh tạm thời là 74% còn ở nhóm trẻ ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn là 36%. Hơn nữa bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời được chẩn đoán sớm hơn (trung bình là 6 ngày, từ 1-81 ngày) so với ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn (trung bình là 27 ngày, từ 1-127 ngày). Cân nặng lúc sinh thấp hơn có ý nghĩa ở bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời ( $1987 \pm 510$  gram) so với bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn ( $2497 \pm 610$  gram). Mặc dù lý do chưa rõ ràng nhưng giả thiết cho rằng ảnh hưởng đến chức năng của tế bào  $\beta$  và tăng trưởng biểu hiện sớm sau sinh ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời, trong khi khả năng đáp ứng cho sự tăng trưởng của tế bào  $\beta$  đối với sự phát triển của bào thai giảm nhanh sau sinh ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn. Trong một nghiên cứu gần đây của Flanagan (2007) và cs [87] đã chứng minh rằng cân nặng lúc sinh giảm có ý nghĩa ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời do bất thường NST số 6 so với bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời do đột biến kênh  $K_{ATP}$ . Các tác giả cũng nhận thấy không có sự khác biệt về cân nặng lúc sinh giữa hai nhóm bệnh nhân có đột biến *ABCC8* và *KCNJ11*.

Trong nghiên cứu của chúng tôi cân nặng lúc sinh của bệnh nhân cao hơn so với các nghiên cứu trên: đối với nhóm có đột biến gen *ABCC8* là từ 2500-3500 gram, nhóm có đột biến *KCNJ11* là từ 2300-3900 gram, nhóm đột biến *INS* là 1500-3600 gram và nhóm có đột biến NST số 6 là 2000-3200

gram. Tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm. Sự khác biệt này có thể là do cỡ mẫu của chúng tôi còn nhỏ, cân nặng lúc sinh giữa các bệnh nhân dao động lớn và không đồng đều giữa các bệnh nhân.

Về tuổi chẩn đoán, kết quả trong bảng 3.7 cho thấy tuổi chẩn đoán của nhóm bệnh nhân có đột biến NST số 6 là thấp nhất phù hợp với kết quả trong nghiên cứu đã đề cập trên đây. Tuy nhiên bệnh nhân của chúng tôi được chẩn đoán muộn hơn. Điều này có thể do triệu chứng của bệnh thường không rõ ràng, bệnh nhân thường có biểu hiện với triệu chứng của nhiễm khuẩn đường hô hấp trên, nhiễm khuẩn tiêu hóa hoặc thậm chí là bệnh nhân chỉ có biểu hiện quấy khóc, ngủ ít và không tăng cân hoặc giảm cân. Do vậy bệnh nhân có thể được chẩn đoán nhầm là bệnh nhiễm trùng trước khi được chẩn đoán là ĐTĐ.

Trong nghiên cứu của Flanagan và cs [87] thì 86% bệnh nhân được chẩn đoán từ 0-8 tuần tuổi và tất cả các trường hợp đều được chẩn đoán trước 17 tuần tuổi. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm bệnh nhân được chẩn đoán sớm nhất là nhóm có đột biến NST số 6 ở độ tuổi 17-40 ngày, bệnh nhân *ABCC8* chẩn đoán ở độ tuổi 15-96 ngày, bệnh nhân *KCNJ11* được chẩn đoán từ 7-160 ngày, còn nhóm bệnh nhân có đột biến insulin thì tuổi chẩn đoán từ 14-357 ngày. Như vậy tuổi chẩn đoán cũng rất khác nhau giữa các bệnh nhân, giữa các nhóm, tuy nhiên sự khác biệt này cũng không có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể do số lượng bệnh nhân còn hạn chế.

Về triệu chứng lâm sàng và sinh hóa khi chẩn đoán, bảng 3.7 cho thấy, bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* có tỷ lệ nhập viện vì toan xê tôn cao nhất (8/9 bệnh nhân), trong khi chỉ có 1/5 bệnh nhân bất thường nhiễm sắc thể số 6 có biểu hiện toan xê tôn. Điều này phù hợp với tuổi chẩn đoán của bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* muộn nhất. Do chẩn đoán muộn nên dễ có biến chứng toan xê tôn. Tình trạng toan xê tôn nặng với pH,  $\text{HCO}_3^-$  và BE rất thấp.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 2 bệnh nhân có biểu hiện triệu chứng thần kinh: 1 bệnh nhân có đột biến *ABCC8*, 1 bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* chiếm 10% các bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$ , và chiếm 8,6% các trường hợp đái tháo đường sơ sinh vĩnh viễn. Kết quả này thấp hơn so với các nghiên cứu khác. Trong báo cáo của Léon và cs [61], tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện thần kinh trong nhóm bệnh nhân ĐTD vĩnh viễn là 20% và cũng là tỷ lệ bệnh nhân trong nhóm có đột biến *KCNJ11*. Cho đến nay chỉ có đột biến *KCNJ11* được mô tả gây nên hội chứng DEND hoặc hội chứng DEND trung gian (iDEND). Lý do là Kir6.2 biểu hiện ở nhiều mô bao gồm cả hệ thần kinh và cơ, tuy nhiên chưa rõ ràng liệu yếu cơ và chậm phát triển vận động biểu hiện trong hội chứng DEND có phải là hậu quả của đột biến Kir6.2 hay không [95]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi lại có một bệnh nhân có đột biến *ABCC8* có biểu hiện thần kinh. Trong nghiên cứu của Flanagan và cs [87], trong 13 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* và 12 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* thì có 4 bệnh nhân có biểu hiện thần kinh (16%) gặp ở cả hai nhóm. Biểu hiện thần kinh được báo cáo ở 3 bệnh nhân có đột biến *ABCC8*. Đột biến *ABCC8* có biểu hiện hội chứng DEND đã đưa ra một cái nhìn mới về cơ sở của các biểu hiện ngoài tụy đặc trưng bởi hội chứng. Tuy nhiên SUR1 không biểu hiện ở cơ xương. Do vậy, vấn đề bất thường về vận động của bệnh nhân phải có nguồn gốc thần kinh. Nguyên nhân có thể là do trung ương hoặc ngoại vi khi SUR biểu hiện ở cả thần kinh trung ương và tận cùng của thần kinh vận động. Điều này cũng gợi ý rằng vấn đề thần kinh của bệnh nhân được mô tả có thể là do hoạt hóa quá mức của neuron Kir6.2/SUR1. Giả thiết này phù hợp với sự nhạy cảm kém hơn với chuyển hóa của kênh Kir6.2/SUR1 ở tế bào thần kinh [95].

#### **4.2.2. Đột biến gen *ABCC8* và biểu hiện lâm sàng**

Kết quả từ bảng 3.8 cho thấy 11 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8*. Có 8/11 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôan khi chẩn đoán. Tỷ lệ nhiễm

toan xê tôn trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với tỷ lệ nhiễm toan xê tôn trong nghiên cứu của Babenko và cs [43]. Các tác giả này nghiên cứu 34 bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh xác định được 7 đột biến p.L213R, p.I1424V, p.C435R, p.L582V, p.H1023Y, p.R1182Q và p.R1379C ở 9 bệnh nhân. Trong đó có 2 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôn mang đột biến p.I1424V và p.H1023Y. Hai bệnh nhân này được chẩn đoán lúc 33 và 21 ngày tuổi với glucose máu rất cao là 66 và 37,8 mmol/l tương ứng. Tuy nhiên cả hai bệnh nhân này đều có cân nặng lúc sinh trong giới hạn bình thường.

Trong 8 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôn trong nghiên cứu của chúng tôi có 4 bệnh nhân có cân nặng lúc sinh thấp dưới 10 bách phân vị và tất cả các bệnh nhân đều có glucose máu rất cao trên 22 mmol/l. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ và kiểu gen của các bệnh nhân có nhiễm toan xê tôn khác nhau giữa hai nghiên cứu. Một lý do khác có thể là do triệu chứng của bệnh không điển hình, khó phát hiện, phần lớn bệnh nhân được chẩn đoán nhầm sang những bệnh nhiễm trùng khác như viêm phổi, ỉa chảy.

Kết quả từ bảng 3.8 cho thấy, bệnh nhân số 23 có đột biến sai nghĩa di hợp tử c.1303T>C (p.C435R) và có cùng kiểu gen với bệnh nhân số 13 trong nghiên cứu của Babenko. Hai bệnh nhân này có đặc điểm chung là có bố mang đột biến tương tự. Bố của bệnh nhân số 13 của Babenko được chẩn đoán ĐTĐ khi 13 tuổi điều trị bằng insulin, đến khi 24 tuổi được phát hiện đột biến c.1303T>C (p.C435R) thì được chuyển sang uống glyburide 10 mg. Bố của bệnh nhân 23 của chúng tôi được chẩn đoán ĐTĐ khi 17 tuổi, đang điều trị bằng gliclazide 320 mg/ngày. Tuy nhiên, bệnh nhân số 13 trong nghiên cứu của Babenko là thể ĐTĐ sơ sinh tạm thời, hồi phục không phải dùng thuốc sau khi điều trị insulin 4 tháng. Bệnh nhân 23 của chúng tôi hiện 24 tháng vẫn phải điều trị sulfonylurea với liều 0,66mg/kg/ngày. Kết quả kiểm soát glucose và HbA1C rất tốt, bệnh nhân cũng đã được thử ngừng thuốc nhưng glucose

máu lúc đói lại tăng lên 10 mmol/l. Cho đến nay bệnh nhân vẫn đang được theo dõi sát xem liệu có thể ngừng được thuốc hay không.

Trong nhóm bệnh nhân của chúng tôi, không ghi nhận có sự tương quan giữa kiểu gen và biểu hiện lâm sàng. Các bệnh nhân số 3; 24 và 27 có cùng kiểu gen mang đột biến p.R1183W nhưng biểu hiện lâm sàng khác nhau. Bệnh nhân số 3 có cân nặng lúc sinh dưới 3 bách phân vị nhập viện với glucose máu rất cao 28,7 mmol/l, HbA1C không tăng và không có biểu hiện nhiễm toan xê tôn. Hiện tại bệnh nhân 14 tuổi 9 tháng đang phải điều trị glibenclamide liều 0,15 mg/kg/ngày, HbA1C 7,4%, glucose máu dao động từ 4,4 - 10,9 mmol/l. Trong khi bệnh nhân số 24 và 27 có cân nặng lúc sinh khoảng 10 bách phân vị, nhập viện trong bệnh cảnh nhiễm toan xê tôn nặng pH 7,08 và 6,89 với glucose máu rất cao đều trên 30 mmol/l, HbA1C tăng 7,6%, và 11,5% tương ứng. Tuy nhiên điều khác biệt đáng chú ý ở đây là bệnh nhân số 24 và 27 là bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân số 24 không phải tiêm insulin sau điều trị 6 tháng. Hiện tại bệnh nhân 34 tháng, glucose máu bình thường, HbA1c 5,4% và phát triển tâm thần vận động bình thường. Bệnh nhân 27 không phải dùng thuốc sau điều trị 14 tháng, hiện tại 17 tháng HbA1C sau ngừng thuốc 3 tháng là 4,9%, glucose máu 6,7 mmol/l, phát triển tâm thần, vận động bình thường.

Hai bệnh nhân khác cùng mang đột biến vô nghĩa p.E747X nhưng kiểu gen khác nhau là bệnh nhân số 4 và 5. Hai bệnh nhân này có biểu hiện lâm sàng hoàn toàn khác nhau. Bệnh nhân số 4 khi nhập viện không có biểu hiện nhiễm toan xê tôn nhưng có chậm phát triển trong tử cung với cân nặng lúc sinh < 3 bách phân vị và điều đặc biệt là có biểu hiện triệu chứng thần kinh chậm phát triển tâm thần vận động. Bệnh nhân này đã được khẳng định lại kết quả đột biến gen bằng phân tích mRNA trong nước bọt. Trong khi đó bệnh nhân số 5 trong kiểu gen có kèm theo một đột biến sai nghĩa p.E128K. Đột

biến này đã được báo cáo gây cường insulin ở 3 bệnh nhân [82],[90],[91], [96]. Để khẳng định đột biến vô nghĩa p.E747X là nguyên nhân gây ĐTĐ ở bệnh nhân, bệnh phẩm mRNA từ mẫu nước bọt của bệnh nhân đã được phân tích cùng với mẫu chứng. Kết quả cho thấy mất toàn bộ bản sao chép của exon 17, và bố bệnh nhân cũng có đột biến tương tự nhưng chỉ có một số bản sao chép thiếu exon 17. Sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng của hai bệnh nhân có thể do bệnh nhân thứ 2 có thêm một đột biến thường gây hạ glucose máu cường insulin bẩm sinh, và đột biến này làm giảm sự nhạy cảm của kênh  $K_{ATP}$  đối với sự thay đổi ATP/ADP [97].

#### **4.2.3. Đột biến gen *KCNJ11* và biểu hiện lâm sàng**

Đột biến gen mã hóa Kir6.2 ở người gần đây đã được xác định gây suy giảm bài tiết insulin nặng và dẫn đến ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn. Một số đột biến chỉ gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn thể nhẹ. Số còn lại biểu hiện bệnh nặng với ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn kết hợp với chậm phát triển tâm thần vận động, yếu cơ và bại não. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 7 đột biến p.R201C, p.R201H, p.R50Q, p.E292G, p.E229K, p.K185Q, p.G53S được phát hiện ở 9 bệnh nhân. Mỗi bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng nặng nhẹ khác nhau.

Trong số 27 bệnh nhân có đột biến Kir6.2 trong nghiên cứu của Proks và cs [98], có khoảng 30% có tổn thương thần kinh. Hai đột biến p.R201H và p.R201C nằm ở vùng gắn ATP gây nên thể nhẹ của bệnh. Ngược lại đột biến p.Q52R, p.V59M, và p.V59G gây nên thể nặng nằm ở vùng xa với vị trí gắn ATP trong vùng tận cùng N của protein. Hơn nữa p.V59 nằm trong vùng “slice helix” là vùng domain chính liên quan đến đóng mở kênh  $K_{ATP}$  [98].

Trong số các đột biến gen *KCNJ11* gây ĐTĐ sơ sinh chỉ một số kết hợp với chậm phát triển, yếu cơ và bại não. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng bệnh nặng liên quan đến phạm vi đóng kênh  $K_{ATP}$  của ATP và độ lớn của toàn bộ tế bào có chứa kênh  $K_{ATP}$  ở trạng thái nghỉ. Kir6.2 không chỉ biểu hiện ở tế bào



$\beta$  mà còn được tìm thấy ở các tế bào nội tiết khác, tế bào cơ xương, cơ tim, và nơ ron thần kinh trong não. Trong những mô này, kênh  $K_{ATP}$  không hoạt động ở trạng thái bình thường, kênh chỉ mở khi tế bào gặp stress chuyển hóa. Vì vậy cần có sự giảm độ nhạy cảm của ATP nhiều hơn để kênh được nghỉ ngơi mới đủ gây ảnh hưởng đến hoạt động điện thế. Điều này giải thích tại sao những đột biến mà gây giảm nhạy cảm với ATP ít của kênh  $K_{ATP}$  (như p.R201C và p.R201H) chỉ gây ĐTĐ sơ sinh đơn thuần mà không gây nên hội chứng DEND trong khi những đột biến gây giảm nặng độ nhạy cảm ATP của kênh (như p.Q25R và p.V59G) gây nên thể nặng của bệnh.

Kết quả từ bảng 3.9 cho thấy, có 8/9 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôn khi chẩn đoán và mức độ nặng nhẹ cũng khác nhau: có 6 bệnh nhân có biểu hiện toan chuyển hóa nặng với  $pH < 7,2$ . Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 1 bệnh nhân (11%) có biểu hiện thần kinh, thấp hơn so với nghiên cứu của Proks. Một sự khác biệt nữa là đột biến p.R201H và p.R201C trong nghiên cứu của Proks gây nên thể nhẹ của bệnh, còn trong nghiên cứu của chúng tôi những đột biến này lại gây nên thể nặng của bệnh. Hai bệnh nhân có đột biến p.R201H và hai bệnh nhân có đột biến p.R201C đều nhập viện trong tình trạng toan xê tôn nặng và trung bình với  $pH < 7,2$ ; glucose máu rất cao  $> 26$  mmol/l; cân nặng lúc sinh  $< 10$  bách phân vị (trong đó có 3 bệnh nhân  $< 3$  bách phân vị). Một sự khác biệt quan trọng nữa là bệnh nhân số 2 của chúng tôi có đột biến p.R201C lại có biểu hiện thần kinh. Bệnh nhân này được chẩn đoán khi 37 ngày tuổi và có một đợt toan xê tôn khi 4,5 tháng; có cơn tăng trương lực cơ; được xét nghiệm dịch não tủy có IgG với CMV dương tính, chụp cắt lớp sọ não có hình ảnh vôi hóa nhân bèo và vỏ não hai bên. Hơn nữa trong quá trình điều trị bệnh nhân này có nhiều cơn co giật hạ glucose máu 1,4 mmol/l. Chính vì vậy có thể biểu hiện thần kinh ở bệnh nhân này là do tình trạng nhiễm khuẩn thần kinh và do hạ glucose máu gây nên mà không phải triệu chứng của hội chứng DEND.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có bệnh nhân số 10 mang đột biến sai nghĩa p.R50Q và bệnh nhân số 16 mang đột biến sai nghĩa p.E229K đều có kiểu hình ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Flanagan và cs [87] đã nhấn mạnh rằng đột biến gen *KCNJ11* và *ABCC8* là nguyên nhân quan trọng của ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Trong nghiên cứu của các tác giả, ĐTĐ sơ sinh tạm thời do đột biến *KCNJ11* và *ABCC8* chiếm 29% tất cả các trường hợp ĐTĐ sơ sinh và chiếm 89% các trường hợp ĐTĐ sơ sinh tạm thời không do đột biến NST số 6 (trong đó có 12 bệnh nhân có đột biến *KCNJ11* và 13 bệnh nhân có đột biến *ABCC8*). Những đột biến cụ thể của gen *KCNJ11* gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời là p.G53R, p.G53S, p.I182V, p.E227K, và p.E229K vì trong những đột biến này, kênh  $K_{ATP}$  đáp ứng với ATP khi có mặt của ion magie. Trong số bệnh nhân của chúng tôi, có hai bệnh nhân mang đột biến tương tự một trong những đột biến gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời trong nghiên cứu của Flanagan. Bệnh nhân số 16 có đột biến p.E229K đã có biểu hiện lâm sàng phù hợp với ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Bệnh nhân số 30 có đột biến p.G53S, hiện đang phải điều trị bằng SU. Tuy nhiên bệnh nhân này mới chẩn đoán được 9 tháng và vừa chuyển sang điều trị bằng SU được 1 tháng. Vì vậy liệu bệnh nhân này có phải ĐTĐ sơ sinh tạm thời hay không thì cần phải theo dõi tiếp.

#### **4.2.4. Đột biến gen *INS* và biểu hiện lâm sàng**

Kết quả từ bảng 3.10 cho thấy, trong 6 bệnh nhân có đột biến gen *INS* thì chỉ có 2 bệnh nhân có cân nặng lúc sinh 10 bách phân vị, các bệnh nhân khác có cân nặng lúc sinh bình thường. Đây là điểm khác biệt so với các bệnh nhân có đột biến gen khác như *ABCC8*, *KCNJ11* và đặc biệt là bất thường NST số 6. Ở các bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* và *KCNJ11*, tỷ lệ bệnh nhân có cân nặng lúc sinh  $\leq 10$  bách phân vị cao hơn 8/9 với *KCNJ11*, 7 /11 với *ABCC8* và 4/5 với NST số 6. Tuy nhiên sự khác biệt chỉ có ý nghĩa thống kê khi so sánh cân nặng lúc sinh giữa bệnh nhân có đột biến gen *INS* và bất thường NST số 6.

Trong các nghiên cứu khác như nghiên cứu của Edghill và cs [40], Garin và cs [91], cân nặng lúc sinh giảm có ý nghĩa ở những bệnh nhân có đột biến gen *INS*. Edghill và cs [40] đã xác định được đột biến dị hợp tử gen *INS* ở 33/141 bệnh nhân (23,4%) được chẩn đoán trước 6 tháng, 2/86 (2%) được chẩn đoán từ 6-12 tháng, cân nặng lúc sinh trung bình là 2,7 kg tương đương 6 bách phân vị ( $<1$  bách phân vị ÷ 87 bách phân vị) phù hợp với chậm phát triển trong tử cung do giảm bài tiết insulin. Trong nghiên cứu của Garin và cs [91], cân nặng lúc sinh trung bình là 1680 gram (1420-2050 gram) tương đương với  $-3,2SD$  (từ  $-4,1SD$  ÷  $-2,6SD$ ). Tuy nhiên các nghiên cứu này đều được tiến hành với cỡ mẫu chưa đủ lớn.

Trong 6 bệnh nhân của chúng tôi, có 5 bệnh nhân nhập viện trong bệnh cảnh nhiễm toan xê tôn chiếm tỷ lệ 83%, cao hơn trong nghiên cứu của Edghill tỷ lệ này là 59%.

Edghill xác định được 16 đột biến khác nhau ở 35 bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ trong năm đầu sau đẻ. Trong số 35 gia đình này có 12 đột biến đã được báo cáo: p.A24D (5 gia đình), p.G32S (2 gia đình), p.G32R (2 gia đình), p.C43G, p.G47V (2 gia đình), p.F48C (5 gia đình), p.R89C (6 gia đình), p.G90C, p.C96Y (3 gia đình) và p.Y108C. Có 6 đột biến mới: p.H29D, p.L35P, p.G84R, p.C96S, p.S101C (ở 2 gia đình) và p.Y103C. Những đột biến mới này đã được khẳng định ở 222 mẫu chứng chủng tộc da trắng tại Vương Quốc Anh.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai đột biến trùng với đột biến trong nghiên cứu của Edghill là p.R89C (2 bệnh nhân số 21 và 22). Mặc dù cả hai bệnh nhân đều được chẩn đoán trong vòng 3 tuần sau sinh, nhưng có biểu hiện lâm sàng khác nhau ở mức độ toan xê tôn khi chẩn đoán và cân nặng thấp lúc sinh. Đột biến này dẫn đến thêm 1 cystein không ghép cặp ở chuỗi A tại vị trí phân cắt của C-peptide, làm cho protein không gấp cuộn, tạo ra phân tử insulin không hoàn chỉnh gây ĐTĐ sớm [99].

Đột biến p.C96R, p.C96R nằm trên chuỗi A, ở vùng A7-B7 cùng vị trí với đột biến p.C96Y và p.C43G trong nghiên cứu của Edghill, gây đứt gãy cầu nối disulfure, không tổng hợp được phân tử insulin hoàn chỉnh gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn. Cả hai bệnh nhân mang đột biến này đều được chẩn đoán khi 6 - 12 tháng chiếm tỷ lệ 33,3%. Trong nghiên cứu của Edghill và cs, có 2/35 bệnh nhân được chẩn đoán khi 6-12 tháng chiếm tỷ lệ 5,7%. Sự khác biệt này có thể do số lượng bệnh nhân của chúng tôi ít hơn so với nghiên cứu của Edghill.

Ngoài hai bệnh nhân 21 và 22 có cùng đột biến p.R89C, bệnh nhân 9 và 18 cũng có cùng đột biến vùng cắt nối (splicing) c.188-31G>A. Cả hai bệnh nhân đều có biểu hiện nhiễm toan xê tôn nặng, tuy nhiên bệnh nhân số 18 có cân nặng lúc sinh thấp 10 bách phân vị còn bệnh nhân 9 có cân nặng lúc sinh bình thường.

Trong nghiên cứu của chúng tôi xác định được một đột biến mới ở bệnh nhân số 7. Bệnh nhân này có đột biến sai nghĩa dị hợp tử p.C43S. Trong đột biến này, T thay thế cho A ở vị trí nucleotid 127 dẫn đến cystein bị thay thế bởi serin ở codon 43 (p.C43S). Cystein này liên quan đến cấu trúc của cầu nối disulphide giữa chuỗi A và B của phân tử insulin và vì vậy đột biến p.C43S có thể là nguyên nhân gây bệnh ở bệnh nhân này. Hơn nữa hiện tại bệnh nhân 16,5 tuổi đang phải điều trị insulin với liều 1,1 UI/kg/ngày, kiểm soát glucose kém, HbA1C rất cao thường xuyên > 9,5%.

#### **4.2.5. Đột biến NST số 6 và biểu hiện lâm sàng**

Tất cả 5 bệnh nhân có đột biến NST số 6 đều được chẩn đoán trước 2 tháng tuổi, trong đó có 4 bệnh nhân được chẩn đoán trước 1 tháng tuổi (bảng 3.11). Tuổi chẩn đoán ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi muộn hơn so với trong nghiên cứu của Flanagan [87] và Diatloff-Zito [100]. Bệnh nhân trong nghiên cứu của Flanagan và Diatloff-Zito được chẩn đoán trong tuần

đầu sau đẻ và thường không có biểu hiện nhiễm toan xê tôn. Trong 5 bệnh nhân của chúng tôi, có 1 bệnh nhân có biểu hiện nhiễm toan xê tôn rất nặng với pH 6,8.

4/5 bệnh nhân có cân nặng lúc sinh thấp < 3 bách phân vị. Cân nặng lúc sinh thấp ở bệnh nhân có bất thường NST số 6 đã được khẳng định trong nhiều nghiên cứu: Diatloff-Zito và cs [100] nghiên cứu 7 bệnh nhân có bất thường NST số 6 đẻ đủ tháng cân nặng lúc sinh trung bình là 2146 gram. Cân nặng lúc sinh trung bình của 29 bệnh nhân trong nghiên cứu của Metz và cs [34] là 1987 gram, 23 bệnh nhân trong nghiên cứu của Temple [19] có cân nặng lúc sinh trung bình là 1950 gram. Boonen và cs [93] nghiên cứu 12 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời do bất thường NST số 6 thì có 10 bệnh nhân có chậm phát triển trong tử cung với cân nặng lúc sinh nhỏ hơn hoặc bằng 2 bách phân vị, 2 bệnh nhân còn lại có cân nặng lúc sinh < 25 bách phân vị phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Mặc dù mức insulin không được đo trong tử cung ở những bệnh này, nhưng đã được chứng minh là thấp khi có biểu hiện tăng glucose máu ngay sau sinh [19].

Ngoài triệu chứng chậm phát triển trong tử cung và toan xê tôn, bệnh nhân ĐTD sơ sinh do bất thường NST số 6 trong nghiên cứu của chúng tôi còn có biểu hiện lưỡi to, thoát vị rốn ở 5/5 (100%). Trong một nghiên cứu điều tra ở vùng Wessex gồm 80 bệnh nhân, tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện lưỡi to là 35%, thoát vị rốn là 14% [19]. Diatloff Zito và cs nghiên cứu 7 bệnh nhân thì có 33% có biểu hiện kết hợp với các bất thường bẩm sinh khác như bệnh tim bẩm sinh, giảm trương lực cơ và chậm vận động. Những biểu hiện ít gặp hơn không liên quan đến ĐTD là chậm phát triển tâm thần và suy giáp trạng. Cơ chế gây nên những triệu chứng này cho đến nay vẫn chưa giải thích được mặc dù biểu hiện lưỡi to và thoát vị rốn cũng gặp trong các hội chứng khác liên quan đến cơ chế imprinting như Beckwith-Wiedemann (BWS; MIM 130650), Prader-Willi (MIM 176270), Angelman (MIM 105830), Silver-Russell (SRS; MIM 180860) [33].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 2 bệnh nhân có đột biến gen *ZFP57* (bệnh nhân số 6, 11) và một bệnh nhân có đột biến đặc trưng của đột biến *ZFP57* (bệnh nhân số 20). Ba bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng khác nhau. Bệnh nhân 6 có cân nặng lúc sinh bình thường và 2 bệnh nhân còn lại có cân nặng lúc sinh thấp < 3 bách phân vị. Bệnh nhân 6 và 11 không có biểu hiện nhiễm toan xê tôn trong khi bệnh nhân số 20 lại có biểu hiện nhiễm toan xê tôn nặng với pH 6,8. Thời gian đến giai đoạn hồi phục của các bệnh nhân cũng khác nhau: bệnh nhân số 11 hồi phục sau chẩn đoán 0,75 tháng, bệnh nhân số 20 hồi phục sau 5,3 tháng trong khi bệnh nhân số 6 phải điều trị insulin 18 tháng mới hồi phục. Cả 3 bệnh nhân đều có biểu hiện lưỡi to, rốn lồi và chức năng tuyến giáp đều bình thường. Bệnh nhân số 20 có biểu hiện chậm phát triển tâm thần vận động nhẹ. Trong nghiên cứu của Mackay và cs [22] đột biến *ZFP57* thường có biểu hiện chậm phát triển tâm thần vận động (6/9 bệnh nhân), tim bẩm sinh (3/7 bệnh nhân). Bệnh nhân số 20 trong nghiên cứu của chúng tôi có một đợt viêm não màng não, vì vậy khó có thể xác định được đây là triệu chứng gây nên bởi đột biến gen hay là biến chứng của viêm não màng não. Tuy nhiên ngay cả trong nghiên cứu của Mackay cũng chưa thể xác định được liệu đây có phải là mối tương quan giữa đột biến gen và biểu hiện lâm sàng hay không vì cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ, cần phải nghiên cứu và theo dõi trên số lượng bệnh nhân lớn hơn.

Trong 5 bệnh nhân của chúng tôi, bệnh nhân lớn tuổi nhất là 8 tuổi nhưng chưa có bệnh nhân nào có biểu hiện tái phát. Trong nghiên cứu của Temple và cs [33], ĐTD tái phát ở 50% bệnh nhân trên 4 tuổi, trung bình là 14 tuổi cùng với tuổi dậy thì. Ở Pháp 5/7 trường hợp tái phát ĐTD khi 8 tuổi. Tuy nhiên cũng có một số trường hợp chưa thấy tái phát ở tuổi 40.

#### **4.2.6. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân do đột biến gen trong hội chứng hiếm gặp**

##### **4.2.6.1. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân có đột biến gen *EIF2AK3***

Bệnh nhân số 17 có đột biến gen *EIF2AK3* có cân nặng lúc sinh 10 bách phân vị được, chẩn đoán khi 64 ngày tuổi (9 tuần). Bệnh nhân có biểu hiện viêm gan trong đợt đầu chẩn đoán và sau đó chưa có biểu hiện viêm gan tái phát trong suốt 3 năm theo dõi.

Trẻ mắc hội chứng Wolcott-Ralison thường biểu hiện ĐTD trong vài tháng đầu sau đẻ và thường gặp ở những gia đình kết hôn cận huyết thống. ĐTD ở bệnh nhân Wolcott-Ralison thường là ĐTD sơ sinh vĩnh viễn. Trong nghiên cứu của Rubio và cs [32], bệnh nhân được chẩn đoán ở độ tuổi trung bình là 10,5 tuần và sớm nhất là 3 tuần tuổi. Chậm phát triển trong tử cung biểu hiện bằng cân nặng lúc sinh thấp dưới 2 độ lệch chuẩn gặp ở 7/20 bệnh nhân. Trong nghiên cứu của Habeb và cs [101], 24/28 bệnh nhân có bệnh lý về gan chiếm tỷ lệ 85,7%. Tất cả 24 bệnh nhân này đều có biểu hiện bệnh gan ngay trong đợt đầu nhập viện khi được chẩn đoán ĐTD sơ sinh với đặc trưng là đợt viêm gan cấp tính có men gan tăng cao, vàng da và gan to. Bệnh lý gan là biểu hiện đặc trưng của WRS. Suy gan biểu hiện điển hình bởi các đợt suy tế bào gan cấp tính tái diễn có hoặc không có ứ mật kèm theo và thậm chí là có thể suy gan hoặc rối loạn chức năng gan mạn tính ở những bệnh nhân lớn tuổi. Diễn hình bệnh nhân có các đợt tái diễn và thuyên giảm, mức độ nặng thay đổi. Những đợt này sẽ làm kích thích gan to lên với tăng chức năng gan có hoặc không kèm theo tăng bilirubin. Bệnh có thể tự thoái lui hoặc cũng có thể rất nặng kết hợp với suy các cơ quan khác và dẫn đến tử vong. Những đợt cấp tính thường được kích hoạt bởi những bệnh gian phát như nhiễm khuẩn nhẹ đường hô hấp trên, có thể kết hợp với vàng da, hạ đường máu và thậm chí hôn mê ở những trường hợp nặng. Các đợt cấp tính có thể làm trầm trọng thêm tình trạng chung của bệnh [47].

Một biểu hiện đặc trưng khác của hội chứng Wolcott-Rallison là tổn thương xương. Chậm tăng trưởng và tình trạng lùn thường xuất hiện sau 1 năm tuổi. Từ đó tốc độ tăng trưởng chậm dần và có thể rất nặng với chỉ số tăng trưởng dưới 5 SD so với tuổi. Với những bệnh nhân lớn hơn thì sự tăng trưởng sẽ ngừng lại khi 10 tuổi do tổn thương xương. Tuy nhiên mức độ biến đổi lâm sàng của hội chứng đến nay còn chưa được hiểu biết đầy đủ. Bệnh nhân hội chứng Wolcott-Rallison có đột biến đồng hợp tử của gen *EIF2AK3* được chẩn đoán khi 2,5 tuổi và chưa có biểu hiện loạn sản xương cho đến khi 32 tuổi [32].

Ngoài ĐTD, tổn thương gan, loạn sản xương bệnh nhân Wolcott-rallison còn có các biểu hiện lâm sàng khác như suy chức năng thận hoặc suy thận hạn chế do bản thân đã được mô tả cùng với biểu hiện suy chức năng gan. Rối loạn chức năng toàn bộ tụy hiếm gặp hơn. Trong một số trường hợp, teo tuyến tụy có thể phát hiện được trên siêu âm, chụp cắt lớp vi tính hoặc chụp cộng hưởng từ (MRI) [16], và suy tụy ngoại tiết đã được báo cáo ở 8/30 trường hợp trong nghiên cứu của Ozbek và cs [46], 4 trong số họ có đột biến đồng hợp tử giống nhau. Trong nghiên cứu của Rubio-Cebizas và cs [32], 2/29 bệnh nhân cần điều trị men tụy thay thế. Về phát triển tâm thần kinh, suy giảm trí thông minh hoặc chậm phát triển tâm thần là phổ biến gặp ở 18/29 bệnh nhân [46]. Mức độ nặng thay đổi, nhiều trường hợp nặng đã được báo cáo với biểu hiện chậm phát triển tâm thần vận động, bệnh não bé với các rãnh cuộn não đơn giản và động kinh [48]. Suy giảm trí thông minh có thể là biến chứng của hôn mê nhiễm toan xê tôn, hạ đường máu nặng và các đợt suy gan tái diễn.

Bệnh nhân của chúng tôi hiện 3 tuổi, có biểu hiện một đợt viêm gan ở thời điểm chẩn đoán, chưa có đợt tái phát và trong thời gian theo dõi, chưa thấy biểu hiện tổn thương xương. Tuy nhiên thời gian theo dõi bệnh nhân này chưa dài, cần phải theo dõi tiếp mới có thể đánh giá và tiên lượng được.



#### 4.2.6.2. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân có đột biến gen *FOXP3*

Bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có đột biến sai nghĩa dị hợp tử p.P378L ở exon 11 của gen *FOXP3*, biểu hiện bệnh sớm khi 12 ngày tuổi, có cân nặng lúc sinh < 3 bách phân vị, biểu hiện bệnh nặng và tử vong khi 16 ngày tuổi. Đột biến gen *FOXP3* thường kết hợp với hội chứng tự miễn như IPEX (rối loạn miễn dịch, bệnh của nhiều tuyến nội tiết, bệnh ruột non liên kết giới tính X). Gen nằm trên NST Xp11.23 mã hóa cho protein có 431 acid amin còn gọi là scurfín cần cho chức năng của CD4, CD25 và tế bào lympho T điều hòa.

Cho đến nay, hầu hết bệnh nhân mắc hội chứng IPEX được mô tả đều xuất hiện triệu chứng ngay sau sinh hoặc trong 3-4 tháng đầu sau đẻ. Biểu hiện phổ biến nhất là bệnh ruột non (gần 100%), đái tháo đường (70%), bệnh của da (65%) chậm lớn (50%), bệnh tuyến giáp (30%) và nhiễm trùng tái diễn (20%). Các biểu hiện ít gặp hơn là giảm tế bào máu tự miễn, viêm phổi, viêm thận, viêm gan, viêm mao mạch, viêm khớp, viêm cơ, rụng tóc lông, bệnh của hạch bạch huyết và lách to. Những rối loạn này thường xuất hiện tuần tự thay vì đồng thời và những cơ quan bị ảnh hưởng cũng thay đổi từ bệnh nhân này sang bệnh nhân khác [102]. Tuổi thọ của bệnh nhân mắc hội chứng IPEX hiếm khi qua tuổi sơ sinh. Bệnh nhân của chúng tôi có gần như đầy đủ các triệu chứng đã được mô tả: bệnh ruột non (đi ngoài phân lỏng), ĐTĐ, chậm lớn, suy giáp trạng, nhiễm khuẩn và giảm lympho bào. Bệnh nhân tử vong trong giai đoạn sơ sinh vì nhiễm khuẩn nặng.

Oscar Rubio-Cabezas và cs [102] đã xác định được 4 đột biến khác nhau ở 6 bệnh nhân có biểu hiện ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn từ 5 gia đình không kết hôn cận huyết thống. Tuổi chẩn đoán thay đổi từ ngày đầu sau đẻ cho đến 3,5 tháng tuổi và không liên quan đến kết quả điều trị. Cân nặng lúc sinh là

một đặc điểm liên quan đến mức độ nặng của bệnh và giảm rõ rệt ở hai bệnh nhân tử vong sớm trong giai đoạn sơ sinh.

### 4.3. Kết quả điều trị

Kết quả từ bảng 3.12 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện ĐTD sơ sinh tạm thời chiếm 27,2%. Trong đó nguyên nhân do bất thường 6q24 chiếm 55,5% (5/9), do đột biến gen *ABCC8* là 22,2% (2/9) và do đột biến gen *KCNJ11* là 22,2% (2/9). Tỷ lệ ĐTD sơ sinh tạm thời trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của các tác giả khác trong y văn.

**Bảng 4.1. Tần xuất ĐTD sơ sinh tạm thời và ĐTD sơ sinh vĩnh viễn theo các nghiên cứu**

Tác giả	Năm	n	ĐTD sơ sinh tạm thời (%)	ĐTD sơ sinh vĩnh viễn (%)
Von Muhlen Dahl và cs [14]	1995	57	54,4	45,6
Marquis và cs [103]	2002	14	64,3	35,7
Mezt và cs [34]	2002	50	58	42
Babenko và cs [43]	2006	73	60,3	39,7
Rica và cs [104]	2007	20	55	45
Suzuki và cs [105]	2007	31	51,6	48,4
Nagashima và cs [106]	2017	24	45,8	54,2
Nghiên cứu này	2017	33	27,2	72,8

Sự khác biệt về tần xuất của các thể ĐTD sơ sinh trong nghiên cứu của chúng tôi so với nghiên cứu của các tác giả khác có thể là do thời gian theo dõi bệnh nhân của chúng tôi còn ngắn, nhiều bệnh nhân có thể chưa đến giai đoạn hồi phục, cần phải nghiên cứu trong thời gian dài hơn.

Kết quả từ bảng 3.12 cho thấy, tất cả những bệnh nhân có bất thường 6q24 đều là ĐTD sơ sinh tạm thời. Kết quả từ bảng 3.8 và 3.9 cho thấy 2 bệnh

nhân số 24, 27 có đột biến gen *ABCC8* và 2 bệnh nhân số 10, 16 có đột biến gen *KCNJ11* là ĐTD sơ sinh tạm thời. Thời gian hồi phục sau chẩn đoán của những bệnh nhân có bất thường 6q24 là  $8,24 \pm 5,8$  tháng (sớm nhất là 3 tháng và muộn nhất là 18 tháng), của bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* là 6 và 14 tháng, của bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* là 6 và 50 tháng (bảng 3.11; 3.8; 3.9). Những bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời do đột biến 6q24 hồi phục sau khi điều trị insulin, 3 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời do đột biến gen *ABCC8* và *KCNJ11* hồi phục sau giai đoạn điều trị bằng SU, 1 bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời do đột biến gen *ABCC8* hồi phục sau điều trị insulin 5 tháng.

Thông thường ĐTD sơ sinh tạm thời chủ yếu do đột biến gen 6q24 (chiếm 70%) do biểu hiện quá mức của các gen vùng imprinting có nguồn gốc từ bố bao gồm *PLAGL1* và *HYMAI* như: hai NST số 6q24 đều có nguồn gốc từ bố (UPD6), nhân đôi 6q24 có nguồn gốc từ bố hoặc mất methyl hóa các allen có nguồn gốc từ mẹ. Khoảng 30% các trường hợp ĐTD sơ sinh tạm thời là do đột biến gen *ABCC8* hoặc ít gặp hơn là do đột biến gen *KCNJ11*. Những đột biến của gen *ABCC8* hoặc *KCNJ11* gây ĐTD sơ sinh tạm thời ảnh hưởng đến kênh  $K_{ATP}$  ít hơn những đột biến gây ĐTD sơ sinh vĩnh viễn [70]. Hơn nữa, những thành viên trong gia đình bệnh nhân có mang cùng một đột biến với bệnh nhân có biểu hiện kiểu hình không đồng nhất bao gồm ĐTD sơ sinh tạm thời, ĐTD tái phát hoặc khởi phát ĐTD muộn mà không biểu hiện ĐTD trong giai đoạn sơ sinh [107].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, hai bệnh nhân ĐTD sơ sinh tạm thời do đột biến gen *KCNJ11* (bệnh nhân 10 và 16) và hai bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* (bệnh nhân 24 và 27), ba trong bốn bệnh nhân này mang đột biến mới phát sinh (*de novo*), đột biến không có nguồn gốc từ bố mẹ. Một bệnh nhân (số 24) có đột biến gen *ABCC8* được di truyền từ bố, tuy nhiên bố bệnh nhân này không có biểu hiện ĐTD sơ sinh mà biểu hiện ĐTD khi 20 tuổi và

hiện đang phải điều trị bằng thuốc uống hạ glucose máu. Biểu hiện kiểu hình của đột biến tùy thuộc vào ảnh hưởng của đột biến đến kênh  $K_{ATP}$ . Những đột biến gây ảnh hưởng đến độ nhạy cảm với ATP khác nhau sẽ gây nên bệnh cảnh lâm sàng khác nhau [108]: Đột biến đồng hợp tử kênh gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời như p.G53S, p.G53R và p.I182V hoặc đột biến gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn p.R201H biểu hiện giảm nhạy cảm ATP. Khi không có mặt ion magie, nồng độ ức chế trung bình (IC50) đối với ATP được giữ ở 4 lần đối với tất cả các đột biến gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời so với 40 lần ở đột biến gây ĐTĐ sơ sinh vĩnh viễn p.R201H. Không có đột biến dị hợp tử nào gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời hoặc vĩnh viễn biểu hiện giữ giá trị IC50 khi so sánh với kênh ở điều kiện cơ bản. Tuy nhiên, khi có mặt ion magie thì sự thay đổi độ nhạy cảm của ATP sâu sắc hơn, đáng kể hơn ở cả đột biến đồng hợp tử và dị hợp tử của kênh. Tuy nhiên sự nhạy cảm ATP của đột biến đồng hợp tử và dị hợp tử p.R201H vẫn thay đổi nhiều hơn so với những đột biến gây ĐTĐ sơ sinh tạm thời. Điều này được thấy rõ ràng về tầm quan trọng liên quan đến dòng điện của kênh  $K_{ATP}$  ở 1 mM MgATP, nồng độ có thể thấy khi tế bào  $\beta$  nghỉ ngơi. Trong tế bào  $\beta$ , dòng điện của kênh  $K_{ATP}$  tăng khi nồng độ glucose tăng, khi đó sẽ khó khăn hơn để khử cực màng tế bào và kích thích giải phóng insulin.

#### **4.3.1. Phương pháp điều trị**

Sulfonylureas là thuốc phổ biến để điều trị ĐTĐ typ 2 ở người lớn được sử dụng để điều trị thành công những trường hợp ĐTĐ sơ sinh do đột biến gen *KCNJ11* và *ABCC8*. SU gắn với tiểu đơn vị SUR1 của kênh  $K_{ATP}$  và đóng kênh gây khử cực màng tế bào và giải phóng insulin. Cũng bằng cách này, SU gây giải phóng insulin ở những bệnh nhân có đột biến kênh  $K_{ATP}$  bằng cách gắn vào tiểu đơn vị SUR1. Chỉ những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh có đột biến kích hoạt gen *KCNJ11* hoặc *ABCC8* mới đáp ứng với điều trị SU. SU có thể

bắt đầu điều trị ngay khi có chẩn đoán phân tử. Khoảng 90% bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* và 85% bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* có thể điều trị thành công bằng SU thay thế cho insulin [62].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân điều trị thành công bằng thuốc uống SU thay thế cho insulin cao hơn. Kết quả từ bảng 3.12 cho thấy 100% bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8* và *KCNJ11* được điều trị thành công bằng thuốc uống SU thay thế cho insulin tiêm. Trong đó có 4 bệnh nhân là ĐTD sơ sinh tạm thời hiện không phải dùng thuốc. 100% các bệnh nhân có đột biến các gen *INS*, *EIF2AK3*, *FOXP3* phải điều trị bằng insulin tiêm.

Trong nghiên cứu của Pearson và cs [58], 49 bệnh nhân được điều trị với SU, 44 bệnh nhân có thể ngừng insulin. Bệnh nhân nhỏ tuổi nhất là 3 tháng và lớn tuổi nhất là 36 tuổi. Liều trung bình glyburide là 0,45 mg/kg/ngày (0,05 - 1,5 mg/kg/ngày), liều cao hơn liều tối đa trong điều trị ĐTD typ 2 ở người lớn 60kg (0,25 mg/kg/ngày). Kiểm soát glucose máu cải thiện ở 38 bệnh nhân. HbA1C trung bình trước điều trị SU là 8,1% (7,7-8,6%) giảm xuống 6,4% (6,2-6,6) sau khi điều trị bằng SU 12 tuần. Cải thiện HbA1c ban đầu được duy trì ở 12 bệnh nhân trong 1 năm mặc dù đã giảm liều SU. 4 bệnh nhân được theo dõi hơn 15 tháng, HbA1c 6,0% thời gian theo dõi dài nhất là 2 năm, HbA1c là 5,7%. Một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân không đáp ứng với SU có xu hướng là do tuổi chuyển thuốc lớn hoặc biểu hiện triệu chứng thần kinh nặng gọi là hội chứng DEND. Trong báo cáo năm 2006, 2/5 bệnh nhân không chuyển hoàn toàn được sang insulin (trong số 49 bệnh nhân) là người lớn.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân lớn tuổi nhất chuyển đổi thành công sang uống SU là 7 tuổi có đột biến gen *ABCC8*, thời gian chuyển thuốc của bệnh nhân này rất nhanh, chỉ mất 2 ngày (bảng 3.13). Bệnh nhân lớn tuổi thứ 2 là bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11* được chuyển đổi khi 5,5 tuổi và thời gian chuyển thuốc kéo dài đến 2 tuần (bảng 3.14). Bệnh nhân nhỏ

tuổi nhất được chuyển đổi thành công khi 2 tháng tuổi và thời gian chuyển thuốc của bệnh nhân này là 5 ngày (bảng 3.13). Hai bệnh nhân có biểu hiện thần kinh trong hội chứng DEND thì cả hai bệnh nhân này đều chuyển đổi thành công sang uống SU. Cả hai bệnh nhân này đều có cải thiện về vận động và nhận thức sau khi điều trị bằng SU. Bệnh nhân số 2 có đột biến gen *KCNJ11* khi được chẩn đoán và điều trị bằng insulin thường có cơn tăng trương lực cơ, chậm phát triển tâm thần vận động, 2,5 tuổi không biết ngồi, không biết nói, không di chuyển được. Hiện tại trẻ 11 tuổi có thể ngồi được, đi được đoạn ngắn, nói được nhiều câu và trả lời được những câu đơn giản, IQ 75 điểm.

Bệnh nhân số 2 có đột biến sai nghĩa p.R201C trên gen *KCNJ11* có kèm theo biểu hiện của hội chứng DEND, sau điều trị SU 5 năm vẫn chưa nói được, chưa giữ được cổ. Tuy nhiên bệnh nhân đỡ các cơn tăng trương lực cơ, giao tiếp mắt tốt.

Shimomura và cs [109] đã báo cáo bệnh nhân đầu tiên có hội chứng DEND do đột biến *KCNJ11* đã chuyển hoàn toàn sang uống SU. Khi điều trị bằng SU có cải thiện triệu chứng thần kinh ở liều 2,3 mg/kg/ngày. Điều này gợi ý rằng liều cao có thể ảnh hưởng đến các triệu chứng thần kinh. Ở bệnh nhân này glucose máu giảm xuống 3,5 mmol/l khi sử dụng liều 1,6 mg/kg và chống chỉ định tăng liều nữa vì nguy cơ hạ glucose máu. Khi mục đích chính trong điều trị hội chứng DEND là các dấu hiệu thần kinh thì có thể tăng liều SU và thêm thuốc điều trị dự phòng hạ glucose máu.

Hơn nữa có thể lựa chọn các thuốc tác dụng lên cả SUR1 và SUR2 như glibenclamide thì tác dụng lên các triệu chứng thần kinh hiệu quả hơn so với các thuốc chỉ có tác dụng lên SUR1 như gliclazide. Hiện nay, chưa rõ liệu SU có bị cản trở bởi hàng rào máu não hay không. Điều trị SU ở tuổi rất nhỏ,

khi hàng rào máu não chưa trưởng thành thì thuốc có thể ngấm tốt hơn khi điều trị ở độ tuổi muộn hơn.

#### **4.3.2. Kết quả kiểm soát glucose máu**

Kết quả từ biểu đồ 3.2 cho thấy, khi điều trị bằng insulin, tỷ lệ bệnh nhân kiểm soát kém chiếm 26,1%. Điều này chứng tỏ việc kiểm soát glucose máu và HbA1C ở trẻ nhỏ là vô cùng khó khăn và phức tạp. Trẻ nhỏ bú mẹ hoặc ăn liên tục, khó kiểm soát glucose máu sau ăn. Hơn nữa trẻ lại nhạy cảm với insulin nên rất dễ hạ glucose máu sau tiêm insulin tác dụng nhanh. Khi chuyển sang điều trị bằng glibenclamide, kết quả kiểm soát glucose máu và HbA1C cải thiện rõ rệt và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Khi điều trị bằng glibenclamide, glucose máu ổn định hơn, dao động ít hơn và HbA1C gần với giá trị bình thường hơn (biểu đồ 3.3 và biểu đồ 3.4)

Trong một nghiên cứu tại Trung Quốc năm 2015 [110] được tiến hành trên 16 bệnh nhân có biểu hiện ĐTĐ trong 6 tháng đầu sau đẻ, có 5 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8*, 5 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11*, hai bệnh nhân có đột biến gen *INS*, 1 bệnh nhân có giảm methyl hóa ở 6q24 và 3 bệnh nhân khác không tìm thấy đột biến. Tất cả 16 bệnh nhân này được điều trị chuyển đổi sang uống sulfonylurea. Kết quả cho thấy 15/16 (94%) bệnh nhân đạt được mục đích kiểm soát glucose (7-10 mmol/l) trừ 1 bệnh nhân có đột biến gen *INS*. Cả 16 bệnh nhân đều không có tác dụng phụ hoặc tổn thương các cơ quan khác. Nghiên cứu này đã chỉ ra rằng, điều trị bằng SU đơn trị liệu đạt được kết quả kiểm soát glucose máu tốt ở hầu hết các bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, việc điều trị chuyển đổi từ insulin sang uống SU chỉ được thực hiện khi bệnh nhân có kết quả phân tích gen. Việc điều trị bằng SU khi chưa có kết quả phân tích gen có thể gây nguy hiểm cho bệnh nhân đặc biệt là những bệnh nhân có đột biến gen insulin hoặc những bệnh nhân không có đột biến gen.

### 4.3.3. Kết quả phát triển tâm thần, vận động

Kết quả từ bảng 3.16 cho thấy tỷ lệ trẻ bị chậm phát triển tâm thần vận động chiếm 9,4% (3/32). Trong những bệnh nhân này có hai bệnh nhân có biểu hiện triệu chứng thần kinh trong hội chứng DEND và một bệnh nhân có đột biến mất methyl hóa trên các locus TND (6q24), GF2R (6q27), SNRPN (5q11), GRB10 (7p12). Chậm phát triển tâm thần ở bệnh nhân này có thể do bản thân đột biến gây nên, cũng có thể do ở thời điểm chẩn đoán bệnh nhân có mắc viêm não phối hợp.

Glyon và cs [42] nghiên cứu 10 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11*, trong đó có 3 trẻ có biểu hiện tổn thương thần kinh trong hội chứng DEND. Tuy nhiên trong 3 bệnh nhân này, 2 bệnh nhân khi được chẩn đoán có biểu hiện nhiễm toan xê tôan rất nặng với pH 6,9, một bệnh nhân phát triển tâm vận động có kèm theo kiểm soát glucose máu kém với HbA1C rất cao 13%. Vì vậy nguyên nhân gây rối loạn thần kinh có thể do: *i*) tác dụng trực tiếp của đột biến kênh  $K_{ATP}$  gây ảnh hưởng đến chức năng của kênh ở cơ, sợi trục và vỏ sợi trục, *ii*) hậu quả cấp tính của ĐTD như hạ glucose máu nặng (trong toan xê tôan) hoặc tăng glucose máu rất nặng, *iii*) ảnh hưởng lâu dài của bệnh ĐTD như các biến chứng, hạ glucose máu nặng tái phát hoặc *iv*) biểu hiện thần kinh không liên quan đến đột biến kênh  $K_{ATP}$  hoặc ĐTD.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, hai bệnh nhân có cùng kiểu gen đột biến dị hợp tử p.R201C (bệnh nhân 2 và 12; bảng 3.9), nhưng chỉ bệnh nhân số 2 có biểu hiện triệu chứng thần kinh và chậm phát triển tâm thần vận động. Tuy nhiên, bệnh nhân số 2 nhập viện trong tình trạng toan xê tôan rất nặng với pH 6,9, còn bệnh nhân số 12 có biểu hiện toan xê tôan nhẹ hơn với pH là 7,2. Để xác định hoặc chứng minh liệu triệu chứng thần kinh có phải là hậu quả của tình trạng toan chuyển hóa nặng hay không thì cần phải nghiên cứu trên số lượng bệnh nhân lớn hơn.



Tương tự với bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8*, kết quả từ bảng 3.8 cho thấy, có hai bệnh nhân có mang đột biến p.E747X. Bệnh nhân số 4 chỉ mang đột biến này dạng dị hợp tử, còn bệnh nhân số 5 có thêm một đột biến khác p.E128K. Hai bệnh nhân này có biểu hiện lâm sàng khác nhau. Bệnh nhân số 4 có biểu hiện triệu chứng thần kinh và chậm phát triển tâm thần vận động, trong khi bệnh nhân số 5 phát triển tâm thần vận động bình thường.

#### ***4.3.4. Tác dụng không mong muốn khi điều trị bằng insulin hoặc sulfonylureas***

##### ***4.3.4.1. Tác dụng không mong muốn khi điều trị bằng insulin***

Phi đại mô mỡ là biến chứng da liễu hay gặp khi điều trị bằng insulin. Cơ chế gây phi đại mô mỡ tại vị trí tiêm là do hoạt động đồng hóa trực tiếp tại chỗ của insulin gây tổng hợp chất béo và protein [111]. Nguyên nhân là do tiêm ở cùng một vị trí trong thời gian dài, tiêm nhiều lần trong ngày và sử dụng lại kim tiêm. Tỷ lệ gặp biến chứng này là 25-30 % bệnh nhân ĐTD tít 1 và < 5% bệnh nhân ĐTD tít 2 phải điều trị bằng insulin [112].

Bệnh nhân số 7 có đột biến gen *EIF2AK3* trong hội chứng Wolcott-Rallison phải điều trị insulin suốt đời. Bệnh nhân này điều trị insulin Mixtard tiêm dưới da 2 mũi/ngày và chỉ tiêm ở vị trí quanh rốn trong suốt thời gian 69 tháng. Vì trẻ nhỏ, mỗi lần tiêm hoặc chích máu mao mạch định lượng glucose máu trẻ khóc rất nhiều do đau, đặc biệt khi thay đổi vị trí tiêm. Do đó, mặc dù đã được tư vấn và cảnh báo những tác dụng phụ của insulin nhưng gia đình vẫn chỉ tiêm tại một vị trí. Hơn nữa, để giảm chi phí điều trị gia đình đã tái sử dụng kim tiêm trong 3 ngày.

##### ***4.3.4.2. Tác dụng phụ khi điều trị bằng sulfonylureas***

Trong nghiên cứu của chúng tôi, không có bệnh nhân nào có tác dụng phụ khi điều trị bằng SU. Rafiq và cs [69] nghiên cứu 23/27 bệnh nhân có đột biến gen mã hóa cho SUR1 điều trị thành công với SU, có 3 bệnh nhân có gặp

tác dụng phụ của SU. Các tác dụng phụ ở những bệnh nhân này là tiêu chảy nhẹ, nôn vào buổi sáng và hạ glucose máu nặng. Những tác dụng phụ này không xảy ra khi chuyển sang SU nhóm khác hoặc giảm liều sulfonylurea. Trong một nghiên cứu khác của Kumaraguru và cs [71], tác dụng phụ của SU trên răng gặp ở 5/67 bệnh nhân. Sự khác biệt giữa nghiên cứu của chúng tôi so với các nghiên cứu ở trên có thể là do thời gian điều trị bệnh nhân của chúng tôi còn chưa dài, số lượng bệnh nhân còn ít, trong đó tỷ lệ cao bệnh nhân còn chưa đến tuổi mọc răng. Để đánh giá được sự an toàn của SU ở những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh cần phải nghiên cứu trên số lượng bệnh nhân lớn hơn và thời gian theo dõi dài hơn.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu xác định đột biến một số gen, kiểu hình lâm sàng và hóa sinh, đánh giá kết quả điều trị chúng tôi rút ra các kết luận sau đây:

### 1. Xác định các đột biến gen gây đái tháo đường sơ sinh

Tỷ lệ phát hiện đột biến gen trong đái tháo đường sơ sinh là 82,5% (33/41 bệnh nhân). Các gen xác định được gây ĐTD sơ sinh bao gồm: *ABCC8* (33,3%), *KCNJ11* (27,3%), *INS* (18,2%), bất thường NST số 6 (15,2%), *EIF2AK3* (3,0%) và *FOXP3* (3,0%).

Các đột biến gây bệnh của các gen đã được xác định gồm: 11 đột biến của gen *ABCC8*, 7 đột biến của gen *KCNJ11*, 4 đột biến của gen *INS*, 1 đột biến của gen *EIF2AK3* và 1 đột biến của gen *FOXP3*. Trong đó xác định được 4 đột biến mới của gen *ABCC8* (p.E747X, p.A1153G, p.E1507Q và p.R598Q); và 1 đột biến mới của gen *INS* (p.C43S).

### 2. Tương quan kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân ĐTD sơ sinh

Tỷ lệ trẻ có cân nặng lúc sinh thấp là 69,7%. Tuổi chuẩn đoán trong 6 tháng đầu sau sinh chiếm 96,9%. Toan xê tôn khi được chẩn đoán gặp ở 60,6% bệnh nhân. HbA1C có thể không tăng ở thời điểm chẩn đoán, C-peptide thấp, glucose máu khi chẩn đoán rất cao thường trên 30 mmol/l.

Đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$  có thể gây nên biểu hiện thần kinh: *KCNJ11* (1 bệnh nhân), *ABCC8* (1 bệnh nhân).

Không có mối liên quan giữa biểu hiện lâm sàng và kiểu gen đặc hiệu: bệnh nhân có cùng kiểu gen có thể có những biểu hiện lâm sàng khác nhau, thậm chí trái ngược nhau.

Có mối liên quan chặt chẽ giữa đột biến gen và phương pháp điều trị: những bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$  đều điều trị thành công bằng SU thay thế cho insulin tiêm.

### 3. Kết quả điều trị

Tỷ lệ bệnh nhân không phải dùng thuốc điều trị kéo dài chiếm 27,3%, trong đó do bất thường NST số 6 (15%), đột biến gen *KCNJ11* (6%) và đột biến gen *ABCC8* (6%).

Sau thời gian theo dõi dài nhất là 9 năm, chưa có bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời nào tái phát.

100% bệnh nhân có đột biến gen mã hóa kênh  $K_{ATP}$  điều trị thành công bằng thuốc uống sulfonylurea thay thế cho insulin tiêm.

Bệnh nhân điều trị bằng SU kiểm soát glucose máu và HbA1c tốt hơn khi điều trị bằng insulin: HbA1c cải thiện tốt hơn (thường trong giới hạn bình thường), glucose máu dao động ít hơn, tỷ lệ hạ glucose máu thấp hơn.

90,6% trẻ phát triển tâm thần vận động bình thường. 9,4% có chậm phát triển tâm thần - vận động, trong đó có 1 bệnh nhân có đột biến gen *ABCC8*, 1 bệnh nhân có đột biến gen *KCNJ11*, 1 bệnh nhân có bất thường NST số 6.

Có 1 bệnh nhân tử vong do nhiễm khuẩn nặng chiếm tỷ lệ 3%. Bệnh nhân này có đột biến gen *FOXP3* trong hội chứng IPEX.

1/33 (3%) bệnh nhân có tác dụng phụ phì đại mô mỡ dưới da khi điều trị bằng insulin. Không có bệnh nhân nào gặp tác dụng phụ khi điều trị bằng sulfonylurea.

## **KIẾN NGHỊ**

1. Cần xét nghiệm glucose máu cho tất cả những trẻ sơ sinh có cân nặng lúc sinh thấp <10 bách phân vị.
2. Phân tích đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* cho tất cả bệnh nhân có biểu hiện ĐTĐ sơ sinh trong năm đầu sau sinh.
3. Phân tích đột biến gen *ABCC8/KCNJ11* cho bố mẹ của những bệnh nhân ĐTĐ trong năm đầu sau sinh mà đã có kiểu gen để có kế hoạch tư vấn di truyền và theo dõi phù hợp.
4. Cần theo dõi sát và lâu dài những bệnh nhân ĐTĐ sơ sinh tạm thời để xác định thời điểm tái phát và có phương pháp điều trị thích hợp.

## **DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ VỀ NỘI DUNG LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Ngoc Thi Bich Can, Dung Chi Vu,...Hoan Thi Nguyen et al. Molecular genetics in children with neonatal diabetes at Vietnam National Hospital of Pediatrics. *Horm Res Paediatr* 2013;80 (suppl 1). P2-d2-893. P278.
2. CTB Ngoc, VC Dung, ...NT Hoan et al. Transient neonatal diabetes: a report of three cases. *Pediatric Diabetes* (2013) 14 (Suppl. 18). P223. Page 137. Travel award.
3. CTB Ngoc, VC Dung, S Flanagan & S Ellard. Neonatal diabetes in Wolcott-Rallison syndrome: a case report. *Pediatric Diabetes* (2013) 14 (Suppl. 18). P226. Page 137.
4. Can Thi Bich Ngoc, Vu Chi Dung,...Nguyen Thi Hoan et al. Molecular genetics and management of Vietnamese patients with neonatal diabetes mellitus: a case series report of 16 cases. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. The 55<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Disease. Vol 29.2013. ISSN 0912-0122. ETO prize (oral presentation).
5. Ngoc Can Thi Bich, Dung Vu Chi,...Hoan Nguyen Thi. The Result of Sulphonylureas Treatment in Patients with Neonatal Diabetes Mellitus due to *kcnj11/abcc8* gene mutations in Vietnam. *Horm Res Paediatr* 2014;82(suppl 1). P3-D3-728. P367.
6. Bich Ngoc Can Thi, Dung Vu Chi,...Hoan Nguyen Thi. Neonatal Diabetes Mellitus: Clinical Feature and Outcome. *Horm Res Paediatr* 2015;84(suppl 1). P3-690. P357.
7. Ngoc Can Thi Bich, Dung Vu Chi, Thao Bui Phuong et al. Transient Neonatal Diabetes Mellitus in Hanoi,Vietnam: Clinical Feature and Outcome. *Horm Res Paediatr* 2016; 86(suppl 1). P1-P255. P225.

8. Ngoc Can Thi Bich, Dung Vu Chi, Thao Bui Phuong et al. IPEX Syndrome Caused by A Novel Mutation in Foxp3 Gene: A Case Report. *Horm Res Paediatr* 2016; 86(suppl 1). P2-P573. P353.
9. Can Thi Bich Ngoc, Vu Chi Dung,...Nguyen Thi Hoan. Phenotype, genotype of neonatal diabetes mellitus due to insulin gene mutation. *International Journal of Pediatric Endocrinology*, 2015 (Suppl 1): P12.
10. Ngoc Thi Bich Can, Dung Chi Vu,...Hoan Thi Nguyen. Neonatal diabetes mellitus: genotype, phenotype and outcome. *Ann Transl Med* 2015;3(S2)- Chen award (oral presentation).
11. Ngoc Thi Bich Can, Dung Chi Vu,...Hoan Thi Nguyễn. Genotype, phenotype of transient neonatal diabetes mellitus. *Ann Transl Med* 2015;3(S2).
12. Cán Thị Bích Ngọc và cs. Đột biến gen *ABCC8*, *KCNJ11*, *INS* và *ZFP57* ở các bệnh nhân tiểu đường sơ sinh. *Tạp chí Nhi khoa*, tập 3, số 3 &4, 2010, tr286-291
13. Cán Thị Bích Ngọc và cs. Nhân một trường hợp đái đường do đột biến gen Kir6.2 điều trị thành công với glibenclamide thay thế cho insulin. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 397, số đặc biệt, 2012, tr 405 - 411.
14. Cán Thị Bích Ngọc và cs. Kết quả điều trị bệnh nhân đái tháo đường sơ sinh do đột biến gen *KCNJ11* và *ABCC8* bằng sulfonylureas. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, tập 89, số 4, 2014, tr 23-31.
15. Cán Thị Bích Ngọc và cs. Đái tháo đường sơ sinh: di truyền phân tử và kết quả điều trị. *Tạp chí Y học Thực hành*, số 945, 2014, trang 203-207, tên bài.
16. Cán Thị Bích Ngọc và cs. Đái tháo đường sơ sinh tạm thời: biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng, kết quả điều trị. *Tạp chí Nhi khoa*, tập 9, số 1, 2016, tr.59-65.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aguilar-Bryan L. & Bryan J. (2008). Neonatal Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 29(3), 265-291.
2. Bland G.L & Wood V.D. (1991). Diabetes in infancy: diagnosis and current management. *Journal of the National Medical Association*, 83(4), 361-365.
3. Pun P, Clark R, Wan K.W et al (2010). Neonatal Diabetes Mellitus: The Impact of Molecular Diagnosis. *NeoReviews*, 11(6), e306-e310.
4. Støy J, Greeley S. A.W, Paz V.P et al (2008). Diagnosis and treatment of neonatal diabetes: an United States experience†. *Pediatric Diabetes*, 9(5), 450-459.
5. RubioCabezas O, Flanagan S. E, Damhuis A et al (2012). KATP channel mutations in infants with permanent diabetes diagnosed after 6 months of life: KATP channels and infancy-onset diabetes. *Pediatric Diabetes*, 13(4), 322-325.
6. Patricia Taberner, Sarah E. Flanagan et al (2016). Clinical and genetic features of Argentinian children with diabetes-onset before 12 months of age: Successful transfer from insulin to oral sulfonylurea. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 117, 104-110.
7. Mackay D. J. G & Temple I. K (2010). Transient neonatal diabetes mellitus type 1. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*, 154C(3), 335-342.
8. Flanagan S. E, Patch A.M, Mackay D. J. G, et al (2007). Mutations in ATP-Sensitive K<sup>+</sup> Channel Genes Cause Transient Neonatal Diabetes and Permanent Diabetes in Childhood or Adulthood. *Diabetes; New York*, 56(7), 1930-7.



9. Temple I & Shield J (2002). Transient neonatal diabetes, a disorder of imprinting. *Journal of Medical Genetics*, 39(12), 872-875.
10. Hutchinson J.H, Keay A.J & Kerr MM. (1962). Congenital temporary diabetes mellitus. *British Medical Journal*, 2, 436-440.
11. Briggs JR. (1986). Permanent non- insulin dependent diabetes mellitus after congenital transient neonatal diabetes. *Scottish Medical Journal*, 31, 041-042.
12. Shield J. P. H & Baum J. D (1993). Is transient neonatal diabetes a risk factor for diabetes in later life? *The Lancet*, 341(8846), 693.
13. Soliman A. T, ElZalabany M. M, Bappal. B et al (1999). Permanent neonatal diabetes mellitus: Epidemiology, mode of presentation, pathogenesis and growth. *The Indian Journal of Pediatrics*, 66(3), 363-373.
14. Von Mühlendahl K. E & Herkenhoff H. (1995). Long-term course of neonatal diabetes. *The New England Journal of Medicine; Boston*, 333(11), 704-708.
15. Shield J, Gardner R, Wadsworth E et al (1997). Aetiopathology and genetic basis of neonatal diabetes. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*, 76(1), F39-F42.
16. Stanik J, Gasperikova D, Paskova M et al (2007). Prevalence of Permanent Neonatal Diabetes in Slovakia and Successful Replacement of Insulin with Sulfonylurea Therapy in *KCNJ11* and *ABCC8* Mutation Carriers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(4), 1276-1282.
17. Tran F, Vu D. C, Nguyen H. T et al (2011). Glycaemic control in children with neonatal diabetes and type 1 diabetes in Vietnam. *International Health*, 3(3), 188-192.

18. Ma D, Shield J. P. H, Dean W et al (2004). Impaired glucose homeostasis in transgenic mice expressing the human transient neonatal diabetes mellitus locus, TNDM. *Journal of Clinical Investigation*, 114(3), 339-348.
19. Temple I. K & Shield J. P. H (2010). 6q24 transient neonatal diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 11(3), 199-204.
20. Mackay D. J. G, Boonen S. E, Clayton-Smith J et al (2006). A maternal hypomethylation syndrome presenting as transient neonatal diabetes mellitus. *Human Genetics*, 120(2), 262-269.
21. Mackay D. J. G, Temple I. K, Shield J. P. H et al (2005). Bisulphite sequencing of the transient neonatal diabetes mellitus DMR facilitates a novel diagnostic test but reveals no methylation anomalies in patients of unknown aetiology. *Human Genetics*, 116(4), 255-261.
22. Mackay D. J. G, Callaway J. L. A, Marks S. M et al (2008). Hypomethylation of multiple imprinted loci in individuals with transient neonatal diabetes is associated with mutations in *ZFP57*. *Nature Genetics; New York*, 40(8), 949-51.
23. Karges B, Meissner T, Icks A et al (2011). Management of diabetes mellitus in infants. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(4), 201-211.
24. Gloyn A. L, Siddiqui J & Ellard S. (2006). Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (*KCNJ11*) and SUR1 (*ABCC8*) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Human Mutation*, 27(3), 220-231.
25. Inagaki N, Gono T & Seino S. (1997). Subunit stoichiometry of the pancreatic beta-cell ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel. *FEBS letters*, 409(2), 232-236.

26. Tusnády G. E, Bakos É, Váradi A et al (1997). Membrane topology distinguishes a subfamily of the ATP-binding cassette (ABC) transporters. *FEBS Letters*, 402(1), 1-3.
27. Aguilar-Bryan L, Nichols C. G, Wechsler S. W et al (1995). Cloning of the  $\beta$  Cell High-Affinity Sulfonylurea Receptor: A Regulator of Insulin Secretion. *Science*, 268(5209), 423-426.
28. Gloyn A. L, Pearson E. R, Antcliff J. F et al (2004). Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6. 2 and permanent neonatal diabetes. *New England Journal of Medicine*, 350(18), 1838-1849.
29. Polak M & Cavé H (2007). Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2(1), 12.
30. Gloyn A. L (2003). Glucokinase (GCK) mutations in hyper- and hypoglycemia: Maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemia of infancy. *Human Mutation*, 22(5), 353-362.
31. Bacchetta R, Barzaghi F & Roncarolo M.G (2016). From IPEX syndrome to *FOXP3* mutation: a lesson on immune dysregulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, n/a-n/a. doi:10.1111/nyas.13011
32. Rubio-Cabezas O, Patch A.M, Minton J. A. L et al (2009). Wolcott-Rallison Syndrome Is the Most Common Genetic Cause of Permanent Neonatal Diabetes in Consanguineous Families. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(11), 4162-4170.
33. Temple I. K, Gardner R. J, Mackay D. J. G et al (2000). Transient neonatal diabetes: Widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes. *Diabetes; New York*, 49(8), 1359-66.

34. Metz C, Cavé H, Bertrand A. M et al (2002). Neonatal diabetes mellitus: Chromosomal analysis in transient and permanent cases. *The Journal of Pediatrics*, 141(4), 483-489.
35. Shield J, Temple I, Sabin M et al (2004). An assessment of pancreatic endocrine function and insulin sensitivity in patients with transient neonatal diabetes in remission. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition*, 89(4), F341-F343.
36. Valerio G, Franzese A, Salerno M et al (2004). Beta-cell dysfunction in classic transient neonatal diabetes is characterized by impaired insulin response to glucose but normal response to glucagon. *Diabetes Care*, 27(10), 2405-2408.
37. Hattersley A. T & Tooke J. E (1999). The fetal insulin hypothesis: An alternative explanation of the association of low birth weight with diabetes and vascular disease. *The Lancet; London*, 353(9166), 1789-92.
38. León D. D. D & Stanley C. A (2016). *Permanent Neonatal Diabetes Mellitus*. University of Washington, Seattle. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1447/>
39. Rubio-Cabezas O, Hattersley A. T, Njølstad P. R et al (2014). The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents: Monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*, 15(S20), 47-64.
40. Edghill E. L, Flanagan S. E, Patch A.M et al (2008). Insulin mutation screening in 1,044 patients with diabetes: mutations in the INS gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood. *Diabetes*, 57(4), 1034-1042.
41. Hattersley A. T & Ashcroft F. M (2005). Activating mutations in Kir6.2 and neonatal diabetes: new clinical syndromes, new scientific insights, and new therapy. *Diabetes*, 54(9), 2503-2513.

42. Gloyn A. L, Diatloff-Zito C, Edghill E. L et al (2006). *KCNJ11* activating mutations are associated with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. *European Journal of Human Genetics : EJHG; Leiden*, 14(7), 824-30.
43. Babenko A. P, Polak M, Cavé H et al (2006). Activating mutations in the *ABCC8* gene in neonatal diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 355(5), 456-466.
44. Ellard S, Flanagan S. E, Girard C. A et al (2007). Permanent Neonatal Diabetes Caused by Dominant, Recessive, or Compound Heterozygous *SUR1* Mutations with Opposite Functional Effects. *American Journal of Human Genetics*, 81(2), 375-382.
45. Julier C & Nicolino M (2010). Wolcott-Rallison syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5, 29.
46. Ozbek M. N, Senée V, Aydemir S et al (2010). Wolcott-Rallison syndrome due to the same mutation (W522X) in *EIF2AK3* in two unrelated families and review of the literature\*. *Pediatric Diabetes*, 11(4), 279-285.
47. Brickwood S, Bonthron D, Al-Gazali L et al (2003). Wolcott-Rallison syndrome: pathogenic insights into neonatal diabetes from new mutation and expression studies of *EIF2AK3*. *Journal of Medical Genetics*, 40(9), 685-689.
48. Wit M. C. Y, Coo I. F. M, Julier C et al (2006). Microcephaly and simplified gyral pattern of the brain associated with early onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Neurogenetics*, 7(4), 259-263.
49. Castelnau P, Merrer M. L, Diatloff-Zito C et al (2000). Wolcott-Rallison syndrome: a case with endocrine and exocrine pancreatic deficiency and pancreatic hypotrophy. *European Journal of Pediatrics*, 159(8), 631-633.

50. Sheikine Y, Woda C. B, Lee P. Y et al (2015). Renal involvement in the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX) disorder. *Pediatric Nephrology*, 30(7), 1197-1202.
51. Kobayashi I, Kubota M, Yamada M et al (2011). Autoantibodies to villin occur frequently in IPEX, a severe immune dysregulation, syndrome caused by mutation of *FOXP3*. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 141(1), 83-89.
52. Greeley S. A. W, Tucker S. E, Worrell H. I et al (2010). Update in neonatal diabetes: *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 17(1), 13-19.
53. Steiner D. F, Park S.Y, Støy J et al. (2009). A brief perspective on insulin production. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 11, 189-196.
54. Heller S, Kozlovski P, & Kurtzhals P (2007). Insulin's 85th anniversary-  
-An enduring medical miracle. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 78(2), 149-158.
55. AACE Guidelines (2007). American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. *Endocrine practice*, 13 (suppl 1), 3-68.
56. Jack DeRuiter (n.d.). Overview of the antidiabetic agents. *Endocrine Pharmacotherapy*.
57. Trần Quang Khánh (2014). Vì sao Sulfonylurea vẫn còn vị trí trong đại tháo đường typ 2? *Thời sự y học*.
58. Pearson E. R, Flechtner I, Njølstad P et al (2006). Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6. 2 mutations. *New England Journal of Medicine*, 355(5), 467-477.
59. Sperling M. A (2006). ATP-sensitive potassium channels-neonatal diabetes mellitus and beyond. *New England Journal of Medicine*, 355(5), 507.

60. Wolfsdorf JI, Allgrove J, Craig M (2014). Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. In *A Consensus Statement from the ISPAD* (pp. 1-25). John Wiley & Sons Ltd.
61. De León D. D & Stanley C. A (1993). Permanent Neonatal Diabetes Mellitus. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1447/>
62. Kataria A, Gopi R. P, Mally P et al (2014). Neonatal diabetes mellitus: current perspective. *Research and Reports in Neonatology*, 4, 55-64
63. Rearson M. A, McKnight-Menci H & Steinkrauss L (2011). Neonatal diabetes: current trends in diagnosis and management. *MCN. The American journal of maternal child nursing*, 36(1), 17-22-24.
64. Stickelmeyer M. P, Graf C. J, Frank B. H et al (2000). Stability of U-10 and U-50 dilutions of insulin lispro. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2(1), 61-66.
65. Bharucha T, Brown J, McDonnell C et al (2005). Neonatal diabetes mellitus: Insulin pump as an alternative management strategy. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 41(9-10), 522-526.
66. Rabbone I, Barbetti F, Marigliano M et al (2016). Successful treatment of young infants presenting neonatal diabetes mellitus with continuous subcutaneous insulin infusion before genetic diagnosis. *Acta Diabetologica*, 53(4), 559-565.
67. Passanisi S, Timpanaro T, Lo Presti D et al (2014). Treatment of Transient Neonatal Diabetes Mellitus: Insulin Pump or Insulin Glargine? Our Experience. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 16(12), 880-884.
68. Wintergerst K. A, Hargadon S & Hsiang H. Y (2004). Continuous subcutaneous insulin infusion in neonatal diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 5(4), 202-206.

69. Rafiq M, Flanagan S. E, Patch A.M et al (2008). Effective treatment with oral sulfonylureas in patients with diabetes due to sulfonylurea receptor 1 (SUR1) mutations. *Diabetes Care*, 31(2), 204-209.
70. Greeley S. A. W, Tucker S. E, Naylor R. N et al (2010). Neonatal diabetes mellitus: A model for personalized medicine. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(8), 464-472.
71. Kumaraguru J, Flanagan S. E, Greeley S. A. W et al (2009). Tooth Discoloration in Patients With Neonatal Diabetes After Transfer Onto Glibenclamide. *Diabetes Care*, 32(8), 1428-1430.
72. Mlynarski W, Tarasov A. I, Gach, A et al (2007). Sulfonylurea improves CNS function in a case of intermediate DEND syndrome caused by a mutation in *KCNJ11*. *Nature Clinical Practice. Neurology; London*, 3(11), 640-645.
73. Pejman Cohan and Anne L. Peters. (2010). *Therapy of Type 1 Diabetes Mellitus. Principles of Diabetes Mellitus (Second Edition.)*. New York: Springer Science+Business Media.
74. Keidan S. E. (1955). Transient Diabetes in Infancy. *Archives of Disease in Childhood; London*, 30(151), 291.
75. Craig M. E, Jefferies C, Dabelea Det al (2014). Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*, 15(S20), 4-17.
76. Abujbara M. A, Liswi M. I, El-Khateeb M. S et al (2014). Permanent neonatal diabetes mellitus in Jordan. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 27(9-10).
77. Branden Engorn & Jamie Flerlage (2015). Blood Chemistries and Body Fluids. In *The Harriet Lane Handbook* (20th ed., pp. 621-633). The Johns Hopkins Hospital.



78. Teresa Mark (2015) Endocrinology. In *The Harriet Lane Handbook* (20th ed., pp. 214-245). The Johns Hopkins Hospital.
79. Tạ Văn Bình (2007). *Những nguyên lý nền tảng bệnh đái tháo đường - tăng glucose máu*. NXB Y học (Hà Nội).
80. Marian J Rewers, Kuben Pillay, Carine de Beaufort et al (2014) Assessment and monitoring of glycemic control in children and adolescents with diabetes. In *ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014 Compendium*. (Vol. 15(Suppl. 20), pp. 102-114). John Wiley & Sons Ltd.
81. Sularyo T, Endyarni B, et al (2012). Role of Denver II and Development Quotients in the management of several pediatric developmental and behavioral disorders. *Paediatrica Indonesiana*, 52(1), 51-56.
82. Franco E. D, Flanagan S. E, Houghton J. A et al (2015). The effect of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: an international cohort study. *The Lancet*, 386(9997), 957-963.
83. Globa E, Zelinska N, Mackay D. J. G et al (2015). Neonatal diabetes in Ukraine: incidence, genetics, clinical phenotype and treatment. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 28(11-12).
84. Cao B, Gong C, Wu D et al (2015). Genetic Analysis and Follow-Up of 25 Neonatal Diabetes Mellitus Patients in China. *Journal of Diabetes Research*, 2016, e6314368.
85. Edghill E. L, Flanagan S. E & Ellard S (2010). Permanent neonatal diabetes due to activating mutations in *ABCC8* and *KCNJ11*. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 11(3), 193-198.
86. Patch A. M, Flanagan S. E, Boustred C et al (2007). Mutations in the *ABCC8* gene encoding the SUR1 subunit of the  $K_{ATP}$  channel cause transient neonatal diabetes, permanent neonatal diabetes or permanent diabetes diagnosed outside the neonatal period. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 9, 28-39.

87. Flanagan S. E, Patch A.M, Mackay D. J. Get al (2007). Mutations in ATP-Sensitive K<sup>+</sup> Channel Genes Cause Transient Neonatal Diabetes and Permanent Diabetes in Childhood or Adulthood. *Diabetes*, 56(7), 1930-1937.
88. Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S et al (2011). Molecular and Clinical Analysis of Japanese Patients with Persistent Congenital Hyperinsulinism: Predominance of Paternally Inherited Monoallelic Mutations in the KATP Channel Genes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(1), E141-E145.
89. Busiah K, Verkarre V, Cavé H et al. (2014) Human Pancreas Endocrine Cell Populations and Activating *ABCC8* Mutations. *Hormone Research in Paediatrics; Basel*, 82(1), 59-64.
90. Liu M, Sun J, Cui J et al (2015). *INS*-gene mutations: From genetics and beta cell biology to clinical disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 42, 3-18.
91. Garin I, Edghill E. L, Akerman I et al (2010). Recessive mutations in the *INS* gene result in neonatal diabetes through reduced insulin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), 3105-3110.
92. Støy J, Steiner D.F, Park S.Y et al (2010). Clinical and molecular genetics of neonatal diabetes due to mutations in the insulin gene. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 11(3), 205-215.
93. Boonen S. E, Mackay D. J. G, Hahnemann J. M. D et al (2013). Transient Neonatal Diabetes, *ZFP57*, and Hypomethylation of Multiple Imprinted Loci: A detailed follow-up. *Diabetes Care*, 36(3), 505-512.

94. Bak M, Boonen S. E, Dahl C et al (2016). Genome-wide DNA methylation analysis of transient neonatal diabetes type 1 patients with mutations in *ZFP57*. *BMC Medical Genetics*, 17.
95. Proks P, Arnold A. L, Bruining J et al (2006). A heterozygous activating mutation in the sulphonylurea receptor SUR1 (*ABCC8*) causes neonatal diabetes. *Human Molecular Genetics*, 15(11), 1793-1800.
96. Yan F.F, Lin Y.W, MacMullen C et al (2007). Congenital Hyperinsulinism-Associated *ABCC8* Mutations That Cause Defective Trafficking of ATP-Sensitive K<sup>+</sup> Channels. *Diabetes*, 56(9), 2339-2348.
97. Hosy E, Dupuis J. P & Vivaudou M. (2010). Impact of Disease-causing SUR1 Mutations on the K<sub>ATP</sub> Channel Subunit Interface Probed with a Rhodamine Protection Assay. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(5), 3084-3091.
98. Proks P, Antcliff J. F, Lippiat J et al (2004). Molecular basis of Kir6. 2 mutations associated with neonatal diabetes or neonatal diabetes plus neurological features. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(50), 17539-17544.
99. Støy J, Edghill E. L, Flanagan S. E et al (2007). Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(38), 15040-15044.
100. Diatloff-Zito C, Nicole A, Marcelin G et al (2007). Genetic and epigenetic defects at the 6q24 imprinted locus in a cohort of 13 patients with transient neonatal diabetes: new hypothesis raised by the finding of a unique case with hemizygotic deletion in the critical region. *Journal of Medical Genetics; London*, 44(1), 31.
101. Habeb A. M, Deeb A, Johnson M et al (2015). Liver Disease and Other Comorbidities in Wolcott-Rallison Syndrome: Different Phenotype and Variable Associations in a Large Cohort. *Hormone Research in Paediatrics*, 83(3), 190-197.

102. Rubio-Cabezas O, Minton J. A. L, Caswell R et al (2009). Clinical Heterogeneity in Patients With *FOXP3* Mutations Presenting With Permanent Neonatal Diabetes. *Diabetes Care*, 32(1), 111-116.
103. Marquis E, Robert J. J, Bouvattier C et al (2002). Major difference in aetiology and phenotypic abnormalities between transient and permanent neonatal diabetes. *Journal of Medical Genetics*, 39(5), 370-374.
104. Rica I, Luzuriaga C, Pérez de Nanclares G et al (2007). The majority of cases of neonatal diabetes in Spain can be explained by known genetic abnormalities. *Diabetic Medicine*, 24(7), 707-713.
105. Suzuki S, Makita Y, Mukai T et al (2007). Molecular Basis of Neonatal Diabetes in Japanese Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(10), 3979-3985.
106. Nagashima K, Tanaka D & Inagaki N (2017). Epidemiology, clinical characteristics, and genetic etiology of neonatal diabetes in Japan. *Pediatrics International*, 59(2), 129-133.
107. Klupa T, Kowalska I, Wyka K (2009). Mutations in the *ABCC8* (*SUR1* subunit of the  $K_{ATP}$  channel) gene are associated with a variable clinical phenotype. *Clinical Endocrinology*, 71(3), 358-362.
108. Gloyn A. L, Reimann F, Girard C et al (2005). Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in *KCNJ11*. *Human Molecular Genetics*, 14(7), 925-934.
109. Shimomura K, Hörster F, de Wet H et al (2007). A novel mutation causing DEND syndrome: a treatable channelopathy of pancreas and brain. *Neurology*, 69(13), 1342-1349.
110. Zhang M, Chen X, Shen S et al (2015). Sulfonylurea in the treatment of neonatal diabetes mellitus children with heterogeneous genetic backgrounds. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 28(7-8).

111. Prathima Kadiyala, Shernar Walton & Thozhukat Sathyapalan (2014). Insulin induced lipodystrophy. *Br J Diabetes Vasc Dis*, 14(4), 131-133.
112. Richardson T, & Kerr D (2003). Skin-Related Complications of Insulin Therapy. *American Journal of Clinical Dermatology*, 4(10), 661-667.

## PHỤ LỤC I

### QUY TRÌNH CHIẾT TÁCH DNA VỚI QIAamp DNA BLOOD MINIKIT

#### 1. Trang thiết bị cần thiết

##### 1.1. Trang thiết bị

- Box an toàn sinh học bậc 1, 2
- Máy ly tâm cho ống eppendorf 1.5ml
- Tủ lạnh -20°C, -80°C, 4°C
- Máy ổn nhiệt 56°C
- Pipettes, 20 uL, 200 uL và 1 mL
- Ống PCR 0.2ml và 0.5 mL
- Ống Eppendorf 1.5 mL
- Filter tip 100ul, 100ul, 10ul

##### 1.2. Hóa chất

- **QiaAmp DNA blood mini kit**  
250 phản ứng/ kit. QIAGEN (Đức). CAT. NO. 51106  
Lưu trữ tại phòng Tách chiết DNA. Bảo quản ở nhiệt độ phòng.
- **100% Ethanol**  
1000ml/ Chai. Merck (Đức)  
Lưu trữ tại phòng Tách chiết DNA. Bảo quản ở nhiệt độ phòng.

#### 2. Quy trình:

- Cho 20µl Protease QIAGEN vào mỗi ống ly tâm 1,5ml, sau đó cho tiếp 200µl mẫu máu vào trong ống.
- Thêm 200µl dung dịch đệm AL rồi trộn đều hỗn hợp trên bằng máy lắc trong 15 giây.
- Ủ hỗn hợp trong máy ổn nhiệt ở nhiệt độ 56°C trong 10 phút, sau đó lấy ống ra khỏi máy ổn nhiệt.
- Ly tâm nhẹ hỗn hợp để tránh dung dịch đọng trên thành ống và nắp ống.

- Thêm 200µl cồn Ethanol (96-100%), trộn đều và ly tâm nhẹ.
- Chuyển toàn bộ hỗn hợp trên vào cột lọc QIAamp, tránh để hỗn hợp dính vào thành ống và nắp ống.
- Ly tâm cột lọc ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút, bỏ dịch nổi và chuyển cột lọc sang ống 2ml sạch.
- Thêm 500µl dung dịch đệm AW1, ly tâm ống với tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút. Sau đó bỏ dịch nổi, chuyển cột lọc sang ống 2ml sạch khác.
- Thêm 500µl dung dịch đệm AW2, ly tâm ống với tốc độ 13000 vòng/phút trong 3 phút. Loại bỏ dịch nổi, chuyển cột lọc sang ống ly tâm 1,5ml vô trùng.
- Thêm 200µl dung dịch AE vào cột lọc, ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút, sau đó ly tâm với tốc độ 8000 vòng/ phút trong 1 phút thu DNA tổng số.
- Nồng độ và độ tinh sạch của DNA tổng số được tiến hành điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và đo quang phổ tại bước sóng 260nm

**PHỤ LỤC II: TRÌNH TỰ MÔI CHO CÁC GEN**

**Gene: *ABCC8* Số xác nhận: U63421 và L78208**

Exon	Phương pháp PCR	Primer Conc. (pmol/μl)	DNA Conc. (ng/μl)	Trình tự môi xuôi và ngược (M13 tailed)	Kích thước (bp)
1	MMR	2 (80% MF)	10	ABCC8ex1F_và_ABCC8ex1R AGCTGCAAGGGACAGAGG/ GAGTGAAGGGATGAGCTGG 11	417
2	MMR	2	10	ABCC8ex2F_và_ABCC8ex2R GAGGCAACAGAGCAAGACC/ ACCCTGGAGCAGATTCACTT 11	422
3	MMR	2	10	ABCC8ex3F_và_ABCC8ex3R GCCCTGACAGCCTATAAAGTG/ CTCCATGAAGGCAGGGATT 11	390
4	MMR	2	10	ABCC8ex4F_và_ABCC8ex4R AAATGTACACACCCAGGCAC/ GGGTAAAACAAGCTGATCCC 11	411
5	MMR	2	10	ABCC8ex5F_và_ABCC8ex5R GTGTTGGGGAATCCTTTTCC/ CCCTTTGAGGTCCTCTCTG 11	478
6	MMR	2	10	ABCC8ex6F_và_ABCC8ex6R GTTTCCCCAGACAACAGGAG/ TGGTAGTGACGGTGAGAGGA 11	522
7	MMR	2	10	ABCC8ex7F_và_ABCC8ex7R CAGGGTGTAAAGCAACCTTCC/ TGAGGATGAATAACACTCATGGAC 11	453
8	MMR	2	10	ABCC8ex8F_và_ABCC8ex8R AAGTTGGAACGGTGATACAG/ TGTGAAAGGTACAGGCAAGC 11	435
9	MMR	2	10	ABCC8ex9F_và_ABCC8ex9R GATAATTTGGAAACCTGGGC/ TGAAGTGGCCTACTCAAAGTC 11	387
10	MMR	2	10	ABCC8ex10F_và_ABCC8ex10R TCTGGGAAATGGAGTCAATG/ GAGTCGGATAATCTCAAGGC 11	432
11	MMR	2	10	ABCC8ex11F_và_ABCC8ex11R TGCCCCTAGCCTACTGGAG/ CTGGGCAGCCTGTCACTG 11	248
12	MMR	2	10	ABCC8ex12F_và_ABCC8ex12R ATGAAGGTGTCTCCAACATAAAGAT/ ATCACTCGAGCAAGCCTTG 11	362
13	MMR	2	10	ABCC8ex13F_và_ABCC8ex13R TTCAGTGTGGGCTTTGTGG/ GGTGGTTTGGAGGTGAGGA 11	390
14	MMR	2	10	ABCC8ex14F_và_ABCC8ex14R GCTGTGTCGGACTTCTGCCTTT/ GCTCCCTCTGGGAGTTGGTG 11	266
15*	MMR	2	10	ABCC8ex15F_và_ABCC8ex15R TTTTGGCTTTCATGGAGGAG/ TGCAGCTTTGTCTTTTATCTCTATG 11	251
16	MMR	2	10	ABCC8ex16F_và_ABCC8ex16R GAGGATGTTGATTTCCAGAAGG/ TGAGGAGGATGGTAAAAGGAG 11	346
17	MMR	2	10	ABCC8ex17F_và_ABCC8ex17R ACAGAGGCCATTTGAAAC/ TCTGAAAATATGTAGGCTGCAC 11	298
18 <sup>H</sup>	MMR	2	10	ABCC8ex18F_và_ABCC8ex18R TCTCTATGCAGCATTTGTGG/ AATGGATGCACAGAAACAGC 11	366
19	MMR	2	10	ABCC8ex19F_và_ABCC8ex19R AGACCCAGACCTCTCAAACC/ GGTGCACCATATGGAGAGG 11	439
20	MMR	2	10	ABCC8ex20F_và_ABCC8ex20R GAGGCCTATTAAGCCATTGC/ CATGTTTGACCTTACTGCAGGC 11	350
21	MMR	2	10	ABCC8ex21F_và_ABCC8ex21R AGGTGAGAAGCAGGCAAAGA/ GGTGGAGGTGGGCAGTTAG 11	277
22	MMR	2	10	ABCC8ex22F_và_ABCC8ex22R TCAAAGCCACACAGCTAAC/ CCAGTGCTGGTCTTATGC 11	404
23	MMR	2	10	ABCC8ex23F_và_ABCC8ex23R AGGAGTATGTTGGTTGGGGTAG/ GGGCACTAAGGACAGGAAGA 11	399
24	MMR	2	10	ABCC8ex24F_và_ABCC8ex24R TGAATGTGTGTCTGTCTGCC/ CAGAGGGAAGCCATTTAATC 11	370
25	MMR	2	10	ABCC8ex25F_và_ABCC8ex25R CCCGTTGTCCCCTCAGTAAG/ CTCAGCCCTCCCCCATC 11	393
26	MMR	2	10	ABCC8ex26F_và_ABCC8ex26R CTGCAGCCAGGAAGTCTC/ CCATTTTATAGATGGGAAGACTAAGG 11	375
27	MMR	2	10	ABCC8ex27F_và_ABCC8ex27R TGAATGACTCCAGAGACACTTA/ AGACAGGAGAAGCCCCCAG 11	246
28	MMR	2	10	ABCC8ex28F_và_ABCC8ex28R AGTCTGGCAACAGTGAGAC/ TAGGGCGGTGGAATAAGATG 11	466
29	MMR	2	10	ABCC8ex29F_và_ABCC8ex29R TGGCATTGTCTTCCCCCTTC/ AAAGAAGGGCTTAGGGTGCC 11	578
30	MMR	2	10	ABCC8ex30F_và_ABCC8ex30R GACATTCCAGAGAGGGATAGC/ AACTAGGAGGACCACCAGG 11	411
31	MMR	2	10	ABCC8ex31F_và_ABCC8ex31R CCCTTGTGTGTGTCTGGTG/ AACCTCCACCTGTCTGGG 11	454
32	MMR	2	10	ABCC8ex32F_và_ABCC8ex32R CCCTCTCCAGCCTTAAGAAGAG/ AGTTCTTTGGGATCAGCG 11	380
33	MMR	2	10	ABCC8ex33F_và_ABCC8ex33R GGGAAGAGTCCAAGGAGGAG/ ACGAGGTGACTGCGAAGC 11	274
34	MMR	2	10	ABCC8ex34F_và_ABCC8ex34R GAAACAAGCCCAAACCTGTG/ GGTGGCTGTGGGTACACG 11	286
35	MMR	2	10	ABCC8ex35F_và_ABCC8ex35R GTGTACCCACAGCCACCAG/ CAACCCCTCTCTTTGTG 11	300
36	MMR	2	10	ABCC8ex36F_và_ABCC8ex36R ACCACCTCGGTGCTTCTC/ TAGGACTAAATGGTCTGCC 11	363
37	MMR	2	10	ABCC8ex37F_và_ABCC8ex37R CCATGCACACATTTTCCAAC/ ATCCCACTAAACCCTTTCAA 11	289
38	MMR	2	10	ABCC8ex38F_và_ABCC8ex38R GGAAGTGTGCTGGGTCAG/ CTGCTTCAAGGTTCTTTCTTG 11	307
39*	MMR	2	10	ABCC8ex39F_và_ABCC8ex39R ACCCCAGGAAAGTGCAGTC/ TTTGCTCACACAGCTTCTGC 11	495
IVS8	MMR	2	10	ABCC8_Cryptic_Donor_FvãR AGACACCGGCTCACAAAGGT/ TCTTAGAGGCTGGGAAGTGG 11	290



**PHỤ LỤC II: TRÌNH TỰ MỒI CHO CÁC GEN**

<b>Gen: EIF2AK3 Số xác nhận: AF110146.1</b>					
Exon	Phương pháp PCR	Primer Conc. (pmol/μl)	DNA Conc. (ng/μl)	Trình tự mồi xuôi và ngược (M13 tailed)	Kích thước (bp)
1F	MMR	2 (5%DMSO)	10	EIF2AK3ex1F và EIF2AK3ex1R CCTAGCACGTCCTTGCCTTC/ CCCCTACACCGCATCCTC 2	509
1R*	MMR	2 (5%DMSO)	10	EIF2AK3ex1F và EIF2AK3ex1R CCTAGCACGTCCTTGCCTTC/ CCCCTACACCGCATCCTC 2	509
2*	MMR	2	10	EIF2AK3ex2F và EIF2AK3ex2R TGAGCATGTGGGATAAGTG/ TGCCCTAAAGGGACACAAAC 2	369
3	MMR	2	10	EIF2AK3ex3F và EIF2AK3ex3R TCAGGATCAAGACTCCAGCTC/ TGACAACCTCAGGGGAAAAT 2	484
4	MMR	2	10	EIF2AK3ex4F và EIF2AK3ex4R GTTGGAATCTAACTGATGC/ CCAACAGCAACATTA 2	358
5	MMR	2	10	EIF2AK3ex5F và EIF2AK3ex5R GCCCTCTTGTGGCATAAATC/ GGGAGAGGAAGAACCGTA 2	485
6	MMR	2	10	EIF2AK3ex6F và EIF2AK3ex6R TACTTGGGGCTCTCAGCTTG/ CACTCCTGAAGTAGGAAGG 2	410
7	MMR	2	10	EIF2AK3ex7F và EIF2AK3ex7R CCCTCCCTGTTTTGTTGAA/ GGGCAAAGACAGTCAGGATT 2	425
8	MMR	2	10	EIF2AK3ex8F và EIF2AK3ex8R CTGGGCCATTTGTTAACTT/ TGAATTGTCTCCCAAGATG 2	420
9*	MMR	2	10	EIF2AK3ex9F và EIF2AK3ex9R AAGAAGAGAGACAAAACCTTAAAGGAA/ GGAAGATCACTGAGAAGCTTTGG 2	388
10	MMR	2	10	EIF2AK3ex10F và EIF2AK3ex10R AAGACTGGAGGGATAGCAGT/ AGATCTTAGGTCATTTCTTCTTTG 2	407
11*	MMR	2	10	EIF2AK3ex11F và EIF2AK3ex11R TGAAGTATTTTACATTACCAC/ AATTGGCAGCACTTAGAACC 2	376
12	MMR	2	10	EIF2AK3ex12F và EIF2AK3ex12R GCCTTCAGTGTGTCTTACT/ CATTGTAATCACACAAGCAAA 2	420
13A	MMR	2	10	EIF2AK3ex13AF và EIF2AK3ex13AR ACAGAGGGTGCAGTTCAGGT/ GCTACTGGTGGGCTTGAAAG 2	572
13B	MMR	2	10	EIF2AK3ex13BF và EIF2AK3ex13BR GAGGGGCACTCCTTTGAAC/ GATGCTTTTACTCTCCCAACTC 2	589
14	MMR	2	10	EIF2AK3ex14F và EIF2AK3ex14R AGGGAATGTGCACCTCAAAG/ TGCTGCTGTGCTAGTAAGTAAAGG 2	467
15	MMR	2	10	EIF2AK3ex15F và EIF2AK3ex15R CCTGGGCTTTCCTTCTGTAA/ TGAGCTTTAAATGGAAGCAAA 2	500
16*	MMR	2	10	EIF2AK3ex16F và EIF2AK3ex16R GATGTACAACCTCTTAGTCAATTTGTT GGGAGCAGGTCTCTTTCTC 2	371
17*	MMR	2	10	EIF2AK3ex17F và EIF2AK3ex17R TTTTGCCAGCACTGATTTTA TTTCAAGTCTGCAATTTTGG 2	403

<b>Gen: INS Số xác nhận: NM_000207.2</b>					
Exon	Phương pháp PCR	Primer Conc. (pmol/μl)	DNA Conc. (ng/μl)	Trình tự mồi xuôi và ngược (M13 tailed)	Kích thước (bp)
1	MMR	2	10	INSex1F và INSex1R CTGTGAGCAGGGACAGGTCT/ GCACAGGTGTTGGTTCACAA 11	627
2	MMR	2	10	INSex2F và INSex2R CTCTGCAGCAGGGAGGAC/ GGGAGCTGGTCACTTTTAGG 11	522
3*	MMR	2	10	INSex3F và INSex3R CCCTGACTGTGTCCTCCTGT/ AGAGAGCGTGGAGAGAGCTG 11	423

<b>Gen: KCNJ11 Số xác nhận: NM_000525.3</b>					
Exon	Phương pháp PCR	Primer Conc. (pmol/μl)	DNA Conc. (ng/μl)	Trình tự mồi xuôi và ngược (M13 tailed)	Kích thước (bp)
1B	MMR	2	10	KCNJ11ex1BF và KCNJ11ex1BR GTGCCACCGAGAGGACT/ AGTGGGCACTCCTCAGTCAC 11	524
1C	MMR	2	10	KCNJ11ex1CF và KCNJ11ex1CR CACCAGCATCCACTCCTTCT/ GTTTCCACCACGCCTTCC 11	546
1D	MMR	2	10	KCNJ11ex1DF và KCNJ11ex1DR CTACCATGTCATTGATGC/ CCACATGGTCCGTGTGTA 11	491

### PHỤ LỤC III

#### ĐÁNH GIÁ SỰ PHÁT TRIỂN TÂM THẦN Ở TRẺ DƯỚI 6 TUỔI

Sử dụng test Denver II: cấu trúc của test gồm 125 mục chia thành 4 khu vực:

- Cá nhân – Xã hội: 25 mục
- Vận động tinh tế thích ứng: 29 mục
- Ngôn ngữ: 39 mục
- Vận động thô: 32 mục

Dụng cụ đánh giá:

- Một túm len đỏ
- Hạt nhỏ, hạt lạc hoặc kẹo nhỏ
- Xúc sắc có cán
- 10 khối gỗ vuông có các màu sắc, cạnh 2,5 cm
- 1 lọ nhỏ nhựa trong, đường kính miệng 2 cm
- Chuông nhỏ
- Bóng tennis
- Bút chì
- Búp bê em bé, thìa hoặc bình sữa
- Cốc nhỏ có quai cầm
- Giấy trắng



*Dụng cụ đánh giá test Denver II*

## **Cách tiến hành**

### **Tính tuổi:**

- Lấy ngày làm test – ngày sinh, tuổi tính theo số tháng và ngày
- Vẽ đường tuổi: 2 đầu mép của tờ test hiển thị đường tuổi trên đó phân chia khoảng tuổi, xác định tuổi và vẽ đường tuổi

### **Tiến hành làm test:**

- Phải có mẹ hoặc người chăm sóc trẻ có mặt
- Để trẻ trong tư thế thoải mái nhất trong điều kiện tự nhiên, tránh những tác động từ bên ngoài
- Có mục có thể quan sát, có mục phải kiểm tra, có mục có thể hỏi cha mẹ. Tất cả đều được hiển thị bằng ký hiệu trên phiếu kiểm tra.
- Người kiểm tra cần phải có quan sát linh hoạt và kỹ năng giao tiếp với trẻ.
- Trẻ lớn hơn ngồi trong tư thế để tay có thể dễ dàng với khắp bàn, trẻ nhỏ có thể ngồi dưới sàn nhà
- Các tiết mục ít vận động được làm trước (hầu hết theo thứ tự).
- Các cố gắng của trẻ cần được động viên, kể cả khi trẻ không làm được.
- Các tiết mục sử dụng một dụng cụ nên được tiến hành phối hợp tránh di chuyển nhiều lần.
- Tránh đặt nhiều dụng cụ lên bàn, xa khỏi tầm mắt và tay trẻ.
- Trẻ nhỏ các mục trong tư thế nằm nên tiến hành cùng nhau
- Không để ý đến tuổi của trẻ khi làm test

### **Thứ tự thực hiện các mục cần kiểm tra:**

#### **Ở mỗi khu vực:**

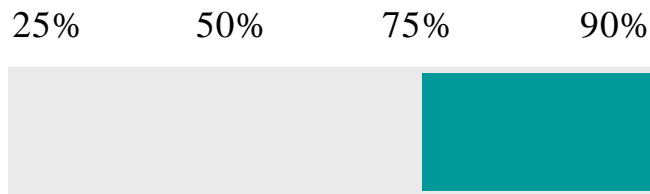
- Kiểm tra 3 mục liên tiếp nằm hoàn toàn bên trái gần đường tuổi nhất, nếu có từ 1 mục không làm được tiếp tục lùi về trái, đến khi 3 mục liên tiếp làm được thì thôi.
- Việc đánh giá thang hành vi được điền sau khi làm test

#### **Chấm điểm cho mỗi mục:**

- Ghi ký hiệu phía trên hình biểu diễn của mỗi mục gần vạch 50%: chữ Đ trẻ làm hoặc bố mẹ đã nhìn thấy trẻ làm được. Chữ K nếu trẻ không làm được hoặc bố mẹ trả lời không làm được. Chữ T nếu trẻ từ chối làm hoặc bố mẹ không rõ.

Cách tính điểm dựa vào bách phân vị

- Điểm số của mỗi khu vực được tính dựa trên số tiết mục làm được (tất cả những chữ Đ)



- Tỷ lệ phần trăm chỉ trong khung tương ứng với tỷ lệ trẻ ở lứa tuổi đó làm được tiết mục.

Cách tính:

- Mỗi tiết mục trên đường tuổi nếu trẻ làm được thì tương đương với bách phân vị là 90. Do vậy mỗi chữ Đ bên trái đường tuổi được tính là 10 điểm (100-90)
- Điểm số của mỗi chữ Đ nằm trên đường tuổi được tính dựa vào trị số bách phân vị nơi đường tuổi đi qua. Trị số điểm bằng 100 trừ đi trị số bách phân vị nơi đường tuổi đi qua.

Ví dụ:

Đường tuổi đi qua vị trí 25%, chữ Đ được cho 75 điểm (100-25).

Đường tuổi đi qua vị trí 50%, chữ Đ được cho điểm 50 điểm (100-50).

Đường tuổi đi qua vị trí 75%, chữ Đ được cho 25 điểm (100-75).

Đường tuổi đi qua vị trí 90%, chữ Đ được cho điểm 10 điểm (100-90).

Mỗi chữ Đ bên phải đường tuổi (tương đương với bách phân vị < 25%) nghĩa là trẻ phát triển sớm hơn tuổi, được cho 75 điểm (100-25).

Tổng điểm số của những chữ Đ mỗi khu vực = tổng điểm của khu vực đó.

Ví dụ: khu vực ngôn ngữ có 2 chữ Đ bên trái đường tuổi và 1 chữ Đ nằm

trên đường tuổi với đường tuổi đi qua vị trí 50%, như vậy tổng điểm của khi vực ngôn ngữ là  $10 + 10 + 50 = 70$ .

# Denver II

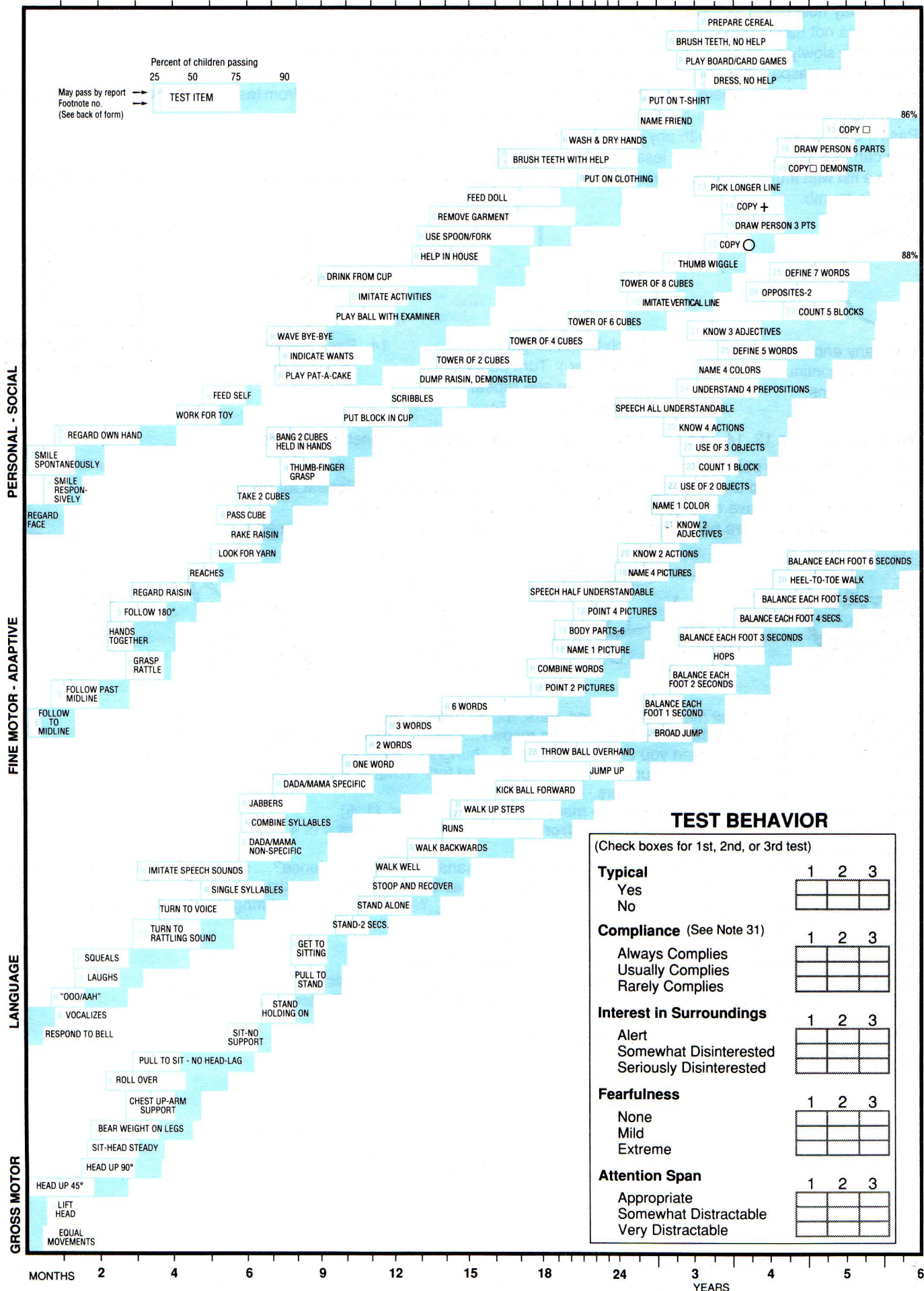
PHỤ LỤC III

DDM, INC. 1-800-419-4729  
CATALOG #2115

Examiner:  
Date:

Name:  
Birthdate:  
ID No.:

MONTHS 2 4 6 9 12 15 18 24 YEARS 3 4 5 6



FOR USE OF THIS FORM, SEE AR 600-75

©1969, 1989, 1990 W. K. Frankenburg and J. B. Dodds ©1978 W. K. Frankenburg

### TEST BEHAVIOR

(Check boxes for 1st, 2nd, or 3rd test)

<b>Typical</b>	1	2	3
Yes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
No	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Compliance</b> (See Note 31)	1	2	3
Always Complies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Usually Complies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rarely Complies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Interest in Surroundings</b>	1	2	3
Alert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Somewhat Disinterested	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Seriously Disinterested	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Fearfulness</b>	1	2	3
None	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mild	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Extreme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Attention Span</b>	1	2	3
Appropriate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Somewhat Distractable	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Very Distractable	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



**3. Bảng điểm kỳ vọng test tự ghi hay test nhóm (test Raven đen trắng 1938)**

Tổng điểm	A	B	C	D	E	Tổng điểm	A	B	C	D	E	Tổng điểm	A	B	C	D	E
15	8	4	2	1	0	30	10	7	6	5	2	45	12	10	9	9	5
16	8	4	3	1	0	31	10	7	7	5	2	46	12	10	10	9	5
17	8	5	3	1	0	32	10	8	7	5	2	47	12	10	10	9	6
18	8	5	3	2	0	33	11	8	7	5	2	48	12	11	10	9	6
19	8	6	3	2	0	34	11	8	7	6	2	49	12	11	10	10	6
20	8	6	3	2	1	35	11	8	7	7	2	50	12	11	10	10	7
21	8	6	4	2	1	36	11	8	8	7	2	51	12	11	11	10	7
22	9	6	4	2	1	37	11	9	8	7	2	52	12	11	11	10	8
23	9	7	4	2	1	38	11	9	8	8	2	53	12	11	11	11	8
24	9	7	4	3	1	39	11	9	8	8	3	54	12	12	11	11	8
25	10	7	4	3	1	40	11	10	8	8	3	55	12	12	11	11	9
26	10	7	5	3	1	41	11	10	9	8	3	56	12	12	12	11	9
27	10	7	5	1	1	42	11	10	9	9	3	57	12	12	12	11	10
28	10	7	6	4	1	43	12	10	9	9	3	58	12	12	12	12	10
29	10	7	6	5	1	44	12	10	9	9	4	59	12	12	12	12	11

**4. Test cá nhân, điểm số trung bình của 735 trẻ ở Colchester – Anh (test Raven trắng 1938)**

Tuổi đời theo năm															
6	6,5	7	7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5
13	14	16	17	19	21	22	24	26	29	31	35	37	38	40	41





## MẪU BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU BỆNH ĐTD SƠ SINH

### I. Hành chính:

Họ và tên: ..... Giới: Nam/nữ Ngày sinh: ...../...../.....

Ngày vào viện: ...../...../200.....

Địa chỉ: .....

Điện thoại: .....

Họ và tên bố: ..... Tuổi: .....

Họ và tên mẹ: ..... Tuổi: .....

II. Lí do vào viện: .....

### III. Tiền sử:

1. Tiền sử sản khoa: .....

.....

.....

.....

2. Tiền sử bệnh tật: .....

.....

.....

3. Tiền sử gia đình: .....

.....

.....

Phả hệ:

### IV. Khám:

1. Toàn trạng:

Cân nặng : .....kg                      Nhiệt độ : ..... độ C

Mạch : ..... lần/phút                      Nhịp thở : ..... Lần/phút

.....

.....

.....

2. Tuần hoàn:

.....  
.....

3. Tiêu hóa:

.....  
.....

4. Thận - tiết niệu - sinh dục:

.....  
.....

5. Thần kinh

.....  
.....

6. Cơ khớp

.....  
.....

7. Mắt, tai mũi họng

.....  
.....

8. Da liễu

.....  
.....

**V. Xét nghiệm**

<b>Xét nghiệm</b>	<b>Tại thời điểm chẩn đoán</b>	<b>Khám lại</b>	<b>Khám lại</b>	<b>Khám lại</b>	<b>Khám lại</b>
Glucose					
Insulin					
c-peptide					
HbA1C					
pH					

Xét nghiệm	Tại thời điểm chẩn đoán	Khám lại	Khám lại	Khám lại	Khám lại
HCO3					
BE					
Ceton niệu					
DQ					
Ure					
Creatinin					
Điện giải đồ					
AST					
ALT					
Bil					
T4					
TSH					
CT/MRI sọ não					

**VI. Chẩn đoán:** .....

**VII. Điều trị:**

Insulin: liều.....U/kg/ng Thời gian.....tháng

Sulfonylurea: liều.....mg/kg/ng Thời gian chuyển đổi.....ngày

Thời gian không phải điều trị thuốc

**VIII. Diễn biến và kết quả điều trị:**

Sự phát triển thể chất: chiều cao....cm cân nặng.....kg

HbA1C: .....%

DQ/IQ

Ngày ..... tháng ..... năm .....

**Bác sỹ**