BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

LÊ THỊ THÚY HẰNG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN CỦA BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE Ở TRẺ EM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2018

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

LÊ THỊ THÚY HẰNG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN CỦA BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE Ở TRẺ EM

Chuyên ngành : Nhi khoa
Mã số : 62720135

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:
TS. TRỊNH THANH HÙNG
PGS.TS. NGUYỄN THỊ YẾN

HÀ NỘI - 2018

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án, tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ tận tình của các thầy, các cô, các anh, các chị, các bạn đồng nghiệp và những người thân trong gia đình. Với tất cả lòng kính trọng và sự biết ơn chân thành, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới:

TS. Trịnh Thanh Hùng, phó vụ trưởng vụ Khoa học và Công nghệ Bộ Khoa học và Công nghệ, người đã tận tâm hướng dẫn, động viên, giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

PGS.TS. Nguyễn Thị Yến, nguyên phó chủ nhiệm bộ môn Nhi trường Đại học Y Hà Nội, cô là người hết lòng hướng dẫn, dìu dắt tôi trên con đường nghiên cứu khoa học. Cô luôn nhắc nhở tôi trong từng bước trau dồi kiến thức và kinh nghiệm chuyên môn, động viên tôi vượt qua khó khăn và đã đạt được các giải xuất sắc trong quá trình học tập.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. BS. Vũ Chí Dũng, trưởng khoa Nội tiết- Chuyển hóa- Di truyền Bệnh viện Nhi Trung ương, người đã định hướng đề tài, tận tình giúp đỡ, luôn động viên và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi thực hiện đề tài.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới các bác sĩ, các chị, các em trong khoa Nội tiết- Chuyển hóa- Di truyền Bệnh viện Nhi Trung ương đã giúp đỡ và động viên tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới Ban chủ nhiệm bộ môn Nhi, các thầy, các cô, các anh, các chị, các em trong bộ môn và các thầy, các cô, các bác sĩ, các anh, các chị, các em trong Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein trường Đại học Y Hà Nội đã dạy dỗ, góp ý, giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi, chia sẻ những kinh nghiệm quý báu giúp tôi hoàn thành luận án này.

Tôi cũng xin trân trọng gửi lời cảm ơn chân thành tới: Ban giám đốc Học viện Quân Y, Ban giám đốc bệnh viện Quân Y 103, các thầy, các cô, các anh, các chị, các em trong bộ môn khoa Nhi bệnh viện 103. Ban Giám hiệu, Phòng quản lý Đào tạo Sau Đại học trường Đại học Y Hà Nội. Ban giám đốc, Phòng Kế hoạch tổng hợp và các khoa, phòng của Bệnh viện Nhi Trung ương đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, động viên, chia sẻ, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sinh thành, nuôi dưỡng và tình yêu thương của cha mẹ cùng sự ủng hộ, giúp đỡ, động viên của chồng, hai con trai và các anh, các chị, các em, những người thân yêu trong gia đình đã luôn chia sẻ những khó khăn, là chỗ dựa vững chắc để tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận án.

NCS. Lê Thị Thúy Hằng

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Lê Thị Thúy Hằng, nghiên cứu sinh khóa 31 Trường đại học Y Hà Nội, chuyên nghành nhi khoa, xin cam đoan:

Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Trịnh Thanh Hùng và PGS.TS. Nguyễn Thị Yến.

Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

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 tháng năm 2018

Người viết cam đoan

Lê Thị Thúy Hằng

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

AR	Autosomal recessive: Gen lặn nhiễm sắc thể thường
ARSB	Arylsulfatase B (Hoặc N-Acetylgalactosamine-4-Sulfatase)
BP	Base Pair
C6S	Chondroitin - 6 - sulfate
DNA	Deoxyribonucleic acid
DS	Dermatan sulfate
ERT	Enzym replacement therapy: Liệu pháp enzym thay thế
GAGs	Glycosaminnoglycans
GALNS	N - acetylgalactosamine 6- sulfatase (Galactose 6-sulfatase)
GLB1	β -Galactosidase
GM1	Bệnh gangliosidosis
GNS	Acetylglucosamine 6- sulphatase
GUSB	β- Glucuronidase
HGSNAT	α -Glucosaminidase acetyltransferase
HS	Heparan sulfate
HSCT	Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Liệu pháp ghép tế bào gốc
HYAL	Hyaluronidase
IDS	Iduronate-2-sulfatase
IDUA	α -L-Iduronidase

KB	Kilobase
KS	Keratan sulfate
MBD	Mucopolysaccharide týp IVB
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MPS	Mucopolysaccharide
MPS IH	Hội chứng Hurler
MPS IH/S	Hội chứng Hurler- Scheie
MPS IS	Hội chứng Scheie
MS/MS	Tandem Mass Spectrometry: Phương pháp quang phổ khối
LC/MS/MS	Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry: Phương pháp sắc ký lỏng ghép đầu dò khối phổ
NAGLU	α -N-Acetylglucosaminidase
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonucleic acid
SGSH	Heparan-N-sulphatase
XR	X recessive: Gen lặn nhiễm sắc thể giới tính

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN

LỜI CAM ĐOAN

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC CÁC BẢNG

DANH MỤC CÁC HÌNH

ĐẶT VẤN ĐỀ 1

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN 3

1.1. BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE 3

1.1.1. Định nghĩa 3

1.1.2. Tần suất của bệnh 3

1.1.3. Cơ chế bệnh sinh 5

1.1.4. Các thể của bệnh Mucopolysaccharide 12

1.1.5. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng 13

1.1.6. Chẩn đoán 36

1.1.7. Điều trị 38

1.1.8. Tư vấn di truyền 41

1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU BỆNH MPS Ở VIỆT NAM 43

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 44

2.1. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU 44

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU 44

2.2.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân 44

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ 45

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 45

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu 45

2.3.2. Mẫu nghiên cứu 45

2.3.3. Biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập thông tin 46
2.4. XỬ LÝ VÀ PHÂN TÍCH SỐ LIỆU 54
2.4.1. Làm sạch số liệu 54
2.4.2. Cách mã hóa 54
2.4.3. Xử lý số liệu 54
2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU 55
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 56
3.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU 56
3.1.1. Phân bố đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi 56
3.1.2. Phân bố theo thể và giới 57
3.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG CỦA BỆNH NHÂN MPS 57
3.2.1. Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên và tuổi chẩn đoán 57
3.2.2. Các triệu chứng xuất hiện đầu tiên của các bệnh nhân MPS 58
3.2.3. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS I 59
3.2.4. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS II 61
3.2.5. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS III 63
3.2.6. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS IVA 65
3.2.7. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS VI 67
3.2.8. Tổn thương xương trên X quang của các thể MPS 69
3.2.9. Xét nghiệm GAGs trong nước tiểu của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu 73
3.2.10. Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân MPS nghiên cứu 74
3.3. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH GEN CỦA MỘT SỐ BỆNH NHÂN MPS . 75
3.3.1. Phân bố kiểu gen của bệnh nhân 75
3.3.2. Các đột biến của gen *IDUA* và tương quan kiểu gen - biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS I 76

3.3.3. Các đột biến của gen *IDS* và tương quan kiểu gen - biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân MPS II nghiên cứu 79
3.3.4. Các đột biến của gen *GALNS* trên 5 bệnh nhân MPS IV nghiên cứu . 90
3.3.5. Đột biến của gen *ARSB* trên bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu 92
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN 93
4.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU 93
4.1.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi... 93
4.1.2. Phân bố bệnh nhân theo thể bệnh và giới 93
4.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG CỦA CÁC BỆNH NHÂN MPS TRONG NGHIÊN CỨU 95
4.2.1. Đặc điểm lâm sàng của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu.... 95
4.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng chính của các bệnh nhân MPS nghiên cứu 108
4.3. PHÂN TÍCH ĐỘT BIẾN GEN TRÊN 23 BỆNH NHÂN 112
4.3.1. Đột biến gen *IDUA* trên 3 bệnh nhân MPS I 113
4.3.2. Đột biến gen *IDS* trên 14 bệnh nhân MPS II 115
4.3.3. Đột biến gen *GALNS* trên 5 bệnh nhân MPS IVA 120
4.3.4. Đột biến của gen *ARSB* trên 1 bệnh nhân MPS VI..................... 124
KẾT LUẬN 127
KIẾN NGHỊ 129
DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ CÔNG BỐ
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC
Phụ lục 1: Bệnh án nghiên cứu bệnh Mucopolysaccharide
Phụ lục 2: Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Mucopolysaccharide
Phụ lục 3: Đánh giá sự phát triển tâm thần - vận động
Phụ lục 4: Kinh phí thực hiện đề tài - Danh sách bệnh nhân nghiên cứu

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Tỷ suất MPS và các thể MPS của 1 số nước trên thế giới 4
Bảng 1.2. Triệu chứng lâm sàng của các thể MPS 14
Bảng 3.1. Phân bố theo thể và giới 57
Bảng 3.2. Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên và tuổi chẩn đoán 57
Bảng 3.3. Các triệu chứng xuất hiện đầu tiên của các bệnh nhân MPS 58
Bảng 3.4. Các triệu chứng lâm sàng của 5 bệnh nhân MPS I 59
Bảng 3.5. Các triệu chứng lâm sàng của 27 bệnh nhân MPS II 61
Bảng 3.6. Các triệu chứng lâm sàng của 2 bệnh nhân MPS III 63
Bảng 3.7. Các triệu chứng lâm sàng của 13 bệnh nhân MPS IVA 65
Bảng 3.8. Các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân MPS VI 67
Bảng 3.9. Tổn thương xương trên X-quang của các thể MPS 69
Bảng 3.10. GAGs trong nước tiểu của các bệnh nhân MPS 73
Bảng 3.11. So sánh mức tăng GAGs trong nước tiểu giữa các thể bệnh 73
Bảng 3.12. Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu 74
Bảng 3.13. Phân bố kiểu gen của 23 bệnh nhân MPS 75
Bảng 3.14. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS I. 76
Bảng 3.15. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân MPS II. 80
Bảng 3.16. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS IVA . 90
Bảng 4.1. So sánh sự phân bố thể MPS trong nghiên cứu với 1 số nghiên cứu khác 94
Bảng 4.2. So sánh các nghiên cứu về biểu hiện lâm sàng trong MPS I 96
Bảng 4.3. So sánh các nghiên cứu MPS II 99
Bảng 4.4. So sánh các nghiên cứu MPS VI 107

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Sơ đồ quá trình dị hóa dermatan sulfate 7
Hình 1.2. Sơ đồ quá trình dị hóa heparan sulfate 9
Hình 1.3. Sơ đồ quá trình dị hóa keratan sulfate 10
Hình 1.4. Sơ đồ quá trình dị hóa Chondroitin Sulfate 11
Hình 1.5. MPS I (Hội chứng Hurler) khi 4 tuổi 16
Hình 1.6. MPS I H/S (Hội chứng Hurler- Scheie) khi 14 tuổi 16
Hình 1.7. Hội chứng Hunter 18
Hình 1.8. MPS III, Hội chứng Salfilippo 20
Hình 1.9. MPS IV (Hội chứng Morquio) 21
Hình 1.10. MPS VI (Hội chứng Maroteaux-Lamy) 23
Hình 1.11. Hội chứng Sly khi 3 tuổi [3] 24
Hình 1.12. X-quang sọ não BN MPS (hộp sọ lớn, hố yên rộng) 25
Hình 1.13. Sự chậm myelin hóa ở vùng chẩm (BN 2 tuổi) 25
Hình 1.14. Hình ảnh chèn ép tủy ở đốt sống cổ 25
Hình 1.15. Biến dạng các xương dài (chân) của các bệnh nhân MPS 25
Hình 1.16. Một số biến dạng xương của bệnh nhân MPS 26
Hình 1.17. Cấu trúc phân tử dNTP và ddNTP 29
Hình 1.18. Quá trình tổng hợp DNA 29
Hình 1.19. Quy trình giải trình tự theo phương pháp ddNTP 30
Hình 1.20. Sơ đồ di truyền lặn nhiễm sắc thể liên kết giới X 32
Hình 1.21. Sơ đồ quy luật di truyền gen lặn nằm trên NST thường 33
Hình 3.1. Biểu đồ phân bố đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi 56
Hình 3.2. Hình ảnh minh họa bệnh nhân MPS I (Hurler) nghiên cứu 60
Hình 3.3. Ảnh minh họa bệnh nhân MPS I (Hurler/Scheie) nghiên cứu .. 60
Hình 3.4. Hình ảnh minh họa bệnh nhân MPS II nghiên cứu 62
Hình 3.5. Ảnh bệnh nhân MPS IIIA 64
Hình 3.6. Ảnh bệnh nhân MPS IIIB 64
Hình 3.7. Ảnh bệnh nhân MPS IVA trong nghiên cứu (A, B, C, D) 66

Hình 3.8. Bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu 68
Hình 3.9. Hình ảnh X-quang xương lồng ngực của bệnh nhân nghiên cứu ... 70
Hình 3.10. Hình ảnh X-quang xương cột sống của bệnh nhân nghiên cứu 70
Hình 3.11. Hình ảnh X-quang xương chi của bệnh nhân nghiên cứu 71
Hình 3.12. Hình ảnh X-quang sọ não của bệnh nhân nghiên cứu 72
Hình 3.13. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 1, năm 2013 76
Hình 3.14. Minh họa giải trình tự gen IDUA của bệnh nhân MPS I số 1 ... 77
Hình 3.15. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 2, năm 2013 77
Hình 3.16. Kết quả giải trình tự gen IDUA của bệnh nhân MPS I số 2 78
Hình 3.17. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 3, năm 2014 78
Hình 3.18. Kết quả giải trình tự gen của bệnh nhân MPS I số 3 79
Hình 3.19. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 10, năm 2014 81
Hình 3.20. Đột biến tái tổ hợp ở gen IDS 81
Hình 3.21. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 11, năm 2014 82
Hình 3.22. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân MPS II số 11 qua phương pháp giải trình tự gen 82
Hình 3.23. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 12, năm 2011 83
Hình 3.24. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân MPS II số 12 qua phương pháp giải trình tự gen 83
Hình 3.25. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 13, năm 2012 84
Hình 3.26. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 13 qua phương pháp giải trình tự gen 84
Hình 3.27. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 14, năm 2013 85
Hình 3.28. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 14 qua phương pháp giải trình tự gen 85
Hình 3.29. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 15, năm 2015 86
Hình 3.30. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 15 qua phương pháp giải trình tự gen 86
Hình 3.31. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 16, năm 2014 87

Hình 3.32. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 16 qua phương pháp giải trình tự gen 87
Hình 3.33. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 17, năm 2014 88
Hình 3.34. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 17 qua phương pháp giải trình tự gen 88
Hình 3.35. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 19 năm 2013 89
Hình 3.36. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 19 qua phương pháp giải trình tự gen 89
Hình 3.37. Minh họa phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS IVA số 34, năm 2013 91
Hình 3.38. Hình ảnh giải trình tự 1 số đột biến của bệnh nhân MPS IVA . 91
Hình 3.39. Minh họa phả hệ của gia đình bệnh nhân MPSVI số 47 năm 2013 92
Hình 3.40. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 47 qua phương pháp giải trình tự gen 92

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Mucopolysaccharide (MPS) là một nhóm bệnh rối loạn chuyển hóa hiếm gặp trên thế giới do thiếu hụt enzym của lysosom cần thiết để giáng hóa glycosaminoglycans (GAGs). Bệnh được chia thành nhiều thể phụ thuộc enzym thiếu hụt. Bệnh gây tổn thương đa cơ quan và tiến triển nặng dần dẫn đến tàn phế hoặc tử vong sớm trước 10 tuổi [1],[2].

Đây là bệnh hiếm gặp với tần suất mắc trên thế giới là khoảng 1,81 đến 4,5/100000 trẻ sơ sinh sống [1]. Bệnh hiếm gặp nên dễ bị bỏ sót, các triệu chứng không đặc hiệu nên khó chẩn đoán, bệnh nhân thường bị chẩn đoán muộn. Để chẩn đoán xác định thể bệnh không thể dựa vào các xét nghiệm thông thường mà phải dựa vào các xét nghiệm kỹ thuật cao như đo nồng độ GAGs nước tiểu, xét nghiệm hoạt độ enzym trong máu, phân tích phân tử để xác định đột biến gen gây bệnh. Những xét nghiệm đó hiện nay ở Việt Nam chưa làm được, do đó khi được chẩn đoán xác định thì bệnh nhân đã có nhiều di chứng nặng nề ở tất cả các cơ quan của cơ thể [3],[4].

Bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trừ thể MPS II là di truyền lặn trên nhiễm sắc thể giới tính X [2],[3].

Trên thế giới hiện nay điều trị MPS đã có nhiều tiến bộ. Các liệu pháp điều trị mới hiện đang được áp dụng tùy theo từng thể bệnh bao gồm: ghép tế bào gốc tạo máu, enzym thay thế, liệu pháp gen, liệu pháp giảm cơ chất, liệu pháp phân tử nhỏ chaperon và điều trị triệu chứng trong đó nổi bật là liệu pháp enzym thay thế và ghép tế bào gốc tạo máu. Tuy nhiên việc điều trị cũng chỉ có hiệu quả cao với những bệnh nhân được phát hiện bệnh sớm đặc biệt là bệnh được phát hiện trước 2,5 tuổi [5],[6],[7]. Nếu phát hiện muộn hơn thì các phương pháp điều trị đều bị hạn chế [8],[9],[10],[11].

Tại Việt Nam bệnh nhân MPS thường được chẩn đoán muộn. Nghiên cứu về MPS còn rất ít và đều trên một số lượng rất ít bệnh nhân. Tuy nhiên, tại khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương trong những năm gần đây lượng bệnh nhân MPS ngày càng nhiều với nhiều lứa tuổi khác nhau. Gánh nặng bệnh tật trên các bệnh nhân, gia đình và xã hội khá nặng nề. Chúng ta mới bước đầu điều trị liệu pháp enzym thay thế cho 12 bệnh nhân còn chủ yếu là điều trị triệu chứng, chúng ta chưa sàng lọc trước sinh hoặc sàng lọc sơ sinh cho bệnh này được nên một số gia đình có nhiều con cùng bị bệnh. Xuất phát từ thực tế đó, cùng với sự hỗ trợ của đề tài nghị định thư Việt -Mỹ về bệnh rối loạn chuyển hóa nên đề tài: *"Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và phát hiện đột biến gen của bệnh Mucopolysaccharide ở trẻ em"* được tiến hành với 2 mục tiêu:

1. ***Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh Mucopolysaccharide ở trẻ em.***

2. ***Xác định đột biến gen gây bệnh Mucopolysaccharide ở trẻ em được điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương.***

Chương 1
TỔNG QUAN

1.1. BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE

1.1.1. Định nghĩa

Bệnh Mucopolysaccharide (MPS) là một nhóm bệnh chuyển hóa di truyền do thiếu hụt 1 trong 11 enzym của lysosom cần thiết để giáng hóa glycosaminoglycans (GAGs). Sự rối loạn chuyển hóa này dẫn đến tích tụ GAGs tại các tế bào, các mô và các cơ quan trong cơ thể. Tùy vào mức độ tích tụ GAGs mà các triệu chứng lâm sàng được biểu hiện với các mức độ khác nhau. Tùy theo các enzym thiếu hụt khác nhau mà bệnh được chia thành các thể khác nhau.

Đây là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trừ thể MPS II là di truyền lặn trên nhiễm sắc thể giới tính X [2],[3],[5].

1.1.2. Tần suất của bệnh

1.1.2.1. Tóm tắt về lịch sử mô tả bệnh

Trên thế giới, bệnh MPS được biết từ 1917 do Charles Hunter là một bác sĩ người Canada công bố. Ông miêu tả triệu chứng trên 2 bệnh nhân là 2 anh em trai và tên ông được đặt cho bệnh [12]. Hai năm sau, Gertrud Hurler mô tả biểu hiện tương tự ở hai trẻ gái không có họ hàng với nhau. Lúc đầu y văn cho rằng hai bệnh này là một nên gọi là Hunter-Hurler. Năm mươi năm sau đó, nhờ những phát hiện về hóa sinh người ta mới biết hai bệnh này khác nhau nhưng cùng nằm trong một nhóm được gọi chung là MPS. Đến năm 1952, Brante đã sử dụng thuật ngữ “Mucopolysaccharidosis” sau khi phát hiện được một chất giống như chondroitin sulfate ở gan của những bệnh nhân hội chứng Hurler [13],[14],[15].

1.1.2.2. Tần suất của bệnh

Tần suất mắc MPS trên thế giới là khoảng 1,8 đến 4,5/100000 trẻ sơ sinh sống, tần suất mắc riêng của các thể phân bố tùy theo các vùng địa lý khác nhau (bảng 1.1 và hình 1.1) [1],[16],[17].

Bảng 1.1. Tỷ suất MPS và các thể MPS của 1 số nước trên thế giới

(tính trên 100000 trẻ sơ sinh sống)

Tác giả	**Nước**	**MPS Chung**	**Chia theo các thể MPS**					
			I	**II**	**III**	**IV**	**VI**	**VII**
Poorthuis et al.[1999] [16]	Hà Lan	4,50	1,19	0,67	1,89	0,36	0,15	0,24
Applegarth et al. [2000] [16]	Anh	1,93	0,58	0,10	0,29	0,38	0,29	0,29
Hsiang Yu Lin [2004] [16]	Đài Loan	2,04	0,11	1,07	0,39	0,33	0,14	0
Baehner et al. [2005] [16]	Đức	3,53	0,69	0,65	1,58	0,38	0,23	0
Agniezka.[2014] [1]	Úc	3,34	0,86	0,31	1,71	0,15 (Týp A)	0,31	0
Agniezka [2014] [1]	Ba Lan	1,80	0,22	0,46	0,86	0,14	0,0132	0
Shuan Pei Lin [2013] [17]	Đài Loan		5,67					

1.1.3. Cơ chế bệnh sinh

1.1.3.1. Glycosaminoglycans

Glycosaminoglycans (GAGs - tên gọi cũ là mucopolysaccharides): Là những chuỗi polysaccharide được tạo ra do sự đa trùng hợp của những đơn vị disaccharide gắn với acid uronic và nhóm hexosamine, những nhóm đa đường này thường gắn với protein bởi những nối đồng hoá trị để tạo ra những phân tử proteoglycan. Các GAGs chính là dermatan sulfate (DS), heparan sulfate (HS), keratan sulfate (KS) và chondroitin sulfate (CS). Các GAGs được tổng hợp từ nguyên bào sợi (một thành phần của tế bào sợi). GAGs tham gia cấu tạo chất căn bản là thành phần của chất nền ngoại bào (chất nền ngoại bào là thành phần chính của mô liên kết). Mô liên kết bao gồm mô liên kết chính thức, mô sụn và mô xương. Mô liên kết có tác dụng vận chuyển, trao đổi chất giữa máu và mô, là môi trường chuyển hóa các chất, làm nhiệm vụ đệm, chống đỡ và bảo vệ cơ thể [11].

- Dermatan sulfate (DS) có phần lớn ở da, gân, dây chằng, sụn xơ, tất cả cấu trúc chứa collagene type I.
- Chondroitin sulfate (CS) có nhiều ở sụn trong, sụn đàn hồi, xương, giác mạc, da, thành động mạch chủ.
- Heparan sulfate (HS) có khuynh hướng kết hợp với sợi võng và Collagene type III. Heparan sulfate có nhiều trong thành động mạch chủ, động mạch phổi, gan, lá đáy của màng đáy.
- Keratan sulfate (KS) có nhiều trong xương [3],[7].

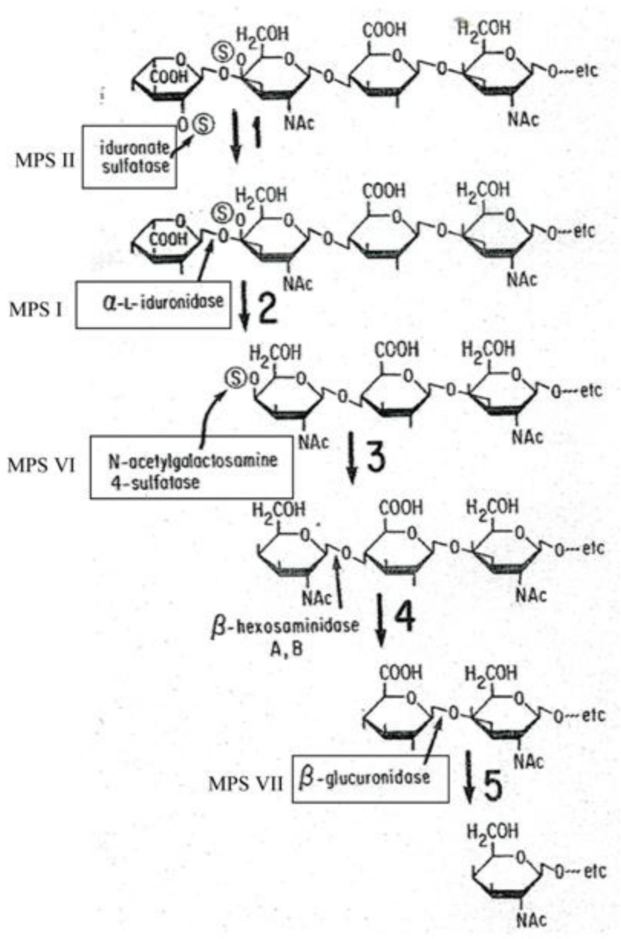
GAGs sẽ được giáng hóa tại lysosome của các tế bào. Quá trình giáng hóa GAGs diễn ra bình thường khi có đủ các enzym tham gia xúc tác. Sự thiếu hụt 1 trong các enzym xúc tác gây nên sự tắc nghẽn trên con đường

chuyển hóa dẫn đến các hậu quả là: Tích tụ các chất chuyển hóa gây độc ở trên chỗ tắc, sản sinh ra các sản phẩm chuyển hóa trung gian và thiếu hụt các sản phẩm bên dưới chỗ tắc gây thiếu hụt sản phẩm cuối cùng, thiếu hụt năng lượng. Việc liên tục tích tụ GAGs không được giáng hóa làm phì đại lysosom dẫn đến phình to tế bào gây phì đại nội tạng. Sự thiếu hụt 1 trong 11 enzym gây ra các thể MPS khác nhau nhưng đều có chung một loạt triệu chứng lâm sàng như gan lách to, biến dạng nét mặt, biến dạng xương, hạn chế vận động của khớp, tổn thương van tim, thị lực, thần kinh [18].

Có bốn con đường khác nhau giáng hóa GAGs trong lysosome tùy thuộc vào từng phân tử bị giáng hóa: DS, HS, KS và CS. Các bước để giáng hóa GAGs cần có sự tham gia của 11 enzyme khác nhau, trong đó có 4 enzym là glycosidases, 5 enzym là sulfatases, 1 enzym là nonhydrolytic transferase và 1 enzym là endoglycosidase (Enzym α-L-Iduronidase, Iduronate 2 sulfatase, Heparan N-sulfatase, α - N-acetyl glucosaminidase, α - glucosaminidase acetyl transferase, acetyl glucosamine 6 sulfatase, galactose 6 sulfatase, β-galactosidase, N acetylgalactosamine 4 sulfatase, β glucuronidase, Hyaluronidase). Quá trình giáng hóa của GAGs bị ức chế riêng rẽ hoặc kết hợp tùy thuộc vào sự thiếu hụt của enzyme đặc hiệu. Ở các bệnh nhân MPS, GAGs không được giáng hóa hoặc đã giáng hóa một phần sẽ bị tích tụ trong lysosome và/hoặc được bài tiết ra máu ngoại vi sau đó được bài tiết qua nước tiểu. Hiểu rõ quá trình giáng hóa của GAGs sẽ giúp thiết lập các phương pháp sàng lọc mới để phát hiện sớm bệnh và theo dõi tiến triển của bệnh trong quá trình điều trị [3].

1.1.3.2. Các enzym tham gia vào quá trình giáng hóa Dermatan sulfate

Dermatan sulfate bao gồm N-acetylgalactosamine sulfate xen kẽ với acid uronic. Sự giáng hóa của dermatan sulfate thể hiện tại hình 1.1 [3].



Hình 1.1. Sơ đồ quá trình dị hóa dermatan sulfate [3]

Enzym α-L-Iduronidase (enzym thiếu hụt gây MPS I) tham gia thủy phân acid α -L-iduronic của dermatan sulfate (hình 1.1, phản ứng 2).

Enzym Iduronate 2 sulfatase (enzym thiếu hụt trong MPS II) loại bỏ nhóm Sulfate ra khỏi vị trí 2 của acid L-iduroni trong dermatan sulfate (hình 1.1, phản ứng 1).

Enzym β-glucuronidase (enzym thiếu hụt trong MPS VII) loại bỏ acid glucuronic có trong dermatan sulfate (hình 1.1, phản ứng 5).

Enzym arylsulfatase B (enzym thiếu hụt trong MPS VI) để thủy phân nhóm Sulfate trong vị trí 4 của N-acetylgalactosamine (hình 1.1, phản ứng 3).

80% GAGs tích lũy trong lysosome tế bào gan là dermatan sulfate nên khi rối loạn chuyển hóa sẽ gây ứ đọng trong gan gây triệu chứng gan to. Dermatan sulfate cũng tham gia vào cấu tạo da và mô liên kết nên khi rối loạn chuyển hóa cũng sẽ gây ứ đọng tại các cơ quan này [7].

1.1.3.3. Các enzym tham gia vào quá trình dị hóa Heparan sulfate

Sự giáng hóa của heparan sulfate thể hiện tại hình 1.2 [3],[19]

Acid L-iduronic và acid glucuronic của heparan sulfate được thủy phân bởi α-l-iduronidase và β-glucuronidase tương ứng (hình 1.3, phản ứng 2 và 7). Do đó khi thiếu α -l-iduronidase (MPS I) hoặc β-glucuronidase (MPS VII) quá trình giáng hóa heparan sulfate cũng như dermatan sulfate sẽ bị dừng lại.

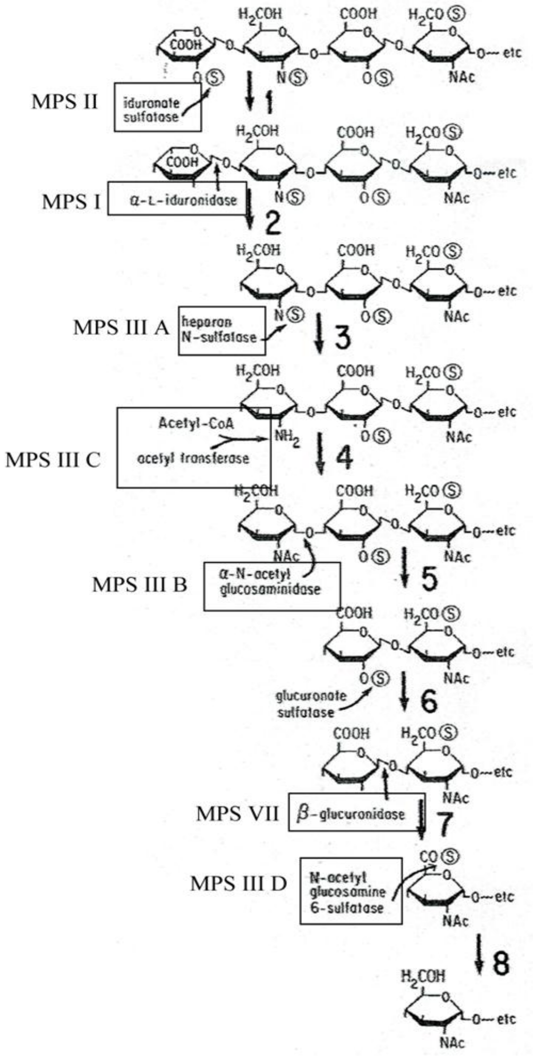
Iduronate sulfatase cần cho quá trình khử sulfate của iduronic acid 2-sulfate hóa trong heparan sulfate (hình 1.2, phản ứng 1). Enzym này cũng tham gia vào quá trình giáng hóa dermatan sulfate. Bệnh nhân thiếu hụt iduronate sulfatase (MPS II) làm cho quá trình giáng hóa của cả dermatan sulfate và heparan sulfate bị dừng lại.

Heparan N-sulfatase (enzym thiếu hụt trong MPS IIIA) có vai trò liên kết các nhóm sulfate với nhóm amin của glucosamine (hình 1.2, phản ứng 3). Enzym thường được gọi là “sulfamate sulfohydrolase” hay “sulfamidase”.

N-acetyl glucosaminidase (enzym thiếu trong MPS IIIB) cần thiết cho việc loại bỏ các dư lượng N-Acetylglucosamine tồn tại trong Sulfate heparan hoặc được tạo ra trong quá trình suy thoái lysosomal của polyme này bằng hoạt động của acetyl-CoA transferase (hình 1.2, phản ứng 5).

α Glucosaminide -N-acetyl transferase (enzym bị thiếu hụt trong MPS IIIC) xúc tác quá trình acetyl hóa nhóm amin glucosamine là nhóm tiếp xúc với hoạt động của heparan N-sulfatase (hình 1.2, phản ứng 4).

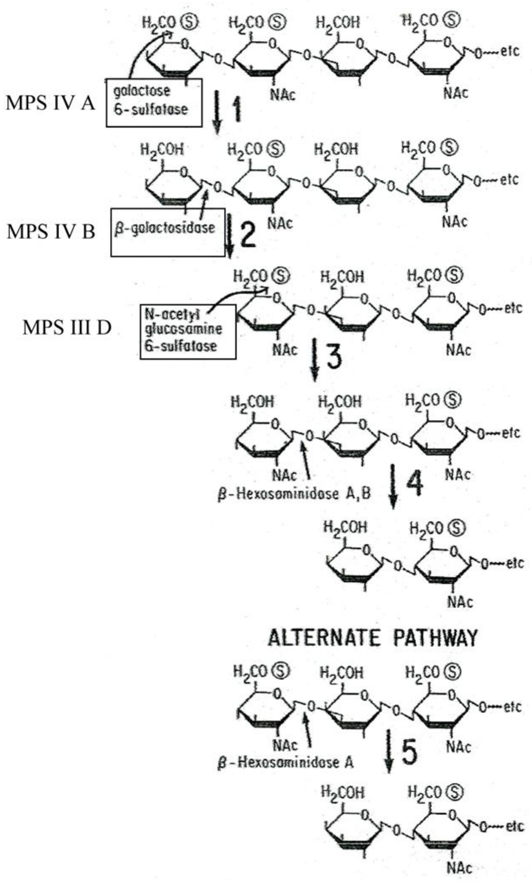
N-Acetylglucosamine 6-sulfatase (hình 1.2, phản ứng 8) là enzym thiếu hụt trong MPS IIID.



Hình 1.2. Sơ đồ quá trình dị hóa heparan sulfate [3],[19]

Heparan sulfate tập trung nhiều trên bề mặt tế bào thần kinh, mô liên kết. Heparan sulfate tương tác với các yếu tố tăng trưởng, các protein liên kết yếu tố tăng trưởng, protease ngoại bào, các chất ức chế protease, citokin, protein và chất kết dính. Heparan sulfate điều hòa hoạt động tế bào, Heparan sulfate cũng tham gia vào sự hình thành các mạch máu mới trong phát triển phôi. Sự tích tụ heparan sulfate gây rối loạn chức năng tế bào thần kinh, rối loạn điều tiết hoạt động của các tế bào sợi trục, các synap thần kinh và làm thay đổi cấu trúc của tế bào thần kinh nên heparan sulfate và dermatan sulfate liên quan đến MPS I, II, III, VI, VII [7].

1.1.3.4. Các enzym tham gia vào quá trình dị hóa Keratan sulfate



Hình 1.3. Sơ đồ quá trình dị hóa keratan sulfate [3]

Keratan sulfate là glycosaminoglycan duy nhất không chứa uronic acid Quá trình giáng hóa của keratan sulfate (hình 1.3) có sự tham gia xúc tác của các enzym sau:

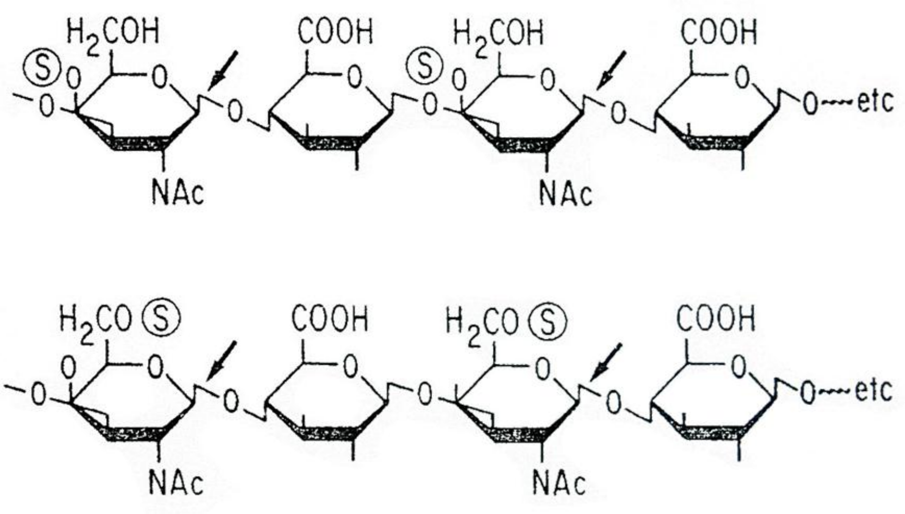
Enzym galactose 6 sulfatase: Các sulfatase tách sulfate ra khỏi dư lượng galactose (hình 1.3, phản ứng 1) (enzym bị thiếu hụt ở những bệnh nhân mắc MPS IVA).

Enzym β-galactosidase: Có vai trò thủy phân galactose của keratan sulfate (hình 1.3, phản ứng 2).

Keratan sulfate tập trung nhiều ở xương nên khi rối loạn chuyển hóa sẽ gây các biến đổi về xương [3].

1.1.3.5. Các enzym tham gia vào quá trình dị hóa Chondroitin sulfate

Chondroitin 4-sulfate và chondroitin 6-sulfate đòi hỏi khử sulfat bằng N-acetylgalactosamine 4-sulfatase (arylsulfatase B) và N-acetylgalactosamine 6-sulfatase (galactose 6-sulfatase) tương ứng. Enzym đầu bị thiếu hụt ở MPS VI và enzym sau thiếu hụt ở MPS IV A. Trên thực tế, bệnh nhân MPS IVA bài tiết một số chondroitin 6-sulfate dù không nhiều. chondroitin 4-sulfate trong nước tiểu không gia tăng ở MPS VI. Điều này có thể là do khả năng hyaluronidase lysosomal, endohexosaminidase có thể đi vòng qua chỗ tắc được thể hiện bằng mũi tên trên hình 1.4.



Hình 1.4. Sơ đồ quá trình dị hóa Chondroitin Sulfate [3]

Một số trường hợp sulfaturia chondroitin đã được ghi nhận ở bệnh nhân sau này phát hiện thấy có thiếu hụt α-L-iduronidase. Sự bài tiết chondroitin 4 và 6-Sulfate ở MPS I vẫn chưa được giải thích, hoặc nói cách khác, sulfate chondroitin có thể là sản phẩm suy thoái của các phân tử dermatan sulfate. Chondroitin sulfate tập trung nhiều ở lysosome tế bào sụn, xương nên khi rối loạn chuyển hóa sẽ gây các triệu chứng về xương [3].

1.1.4. Các thể của bệnh Mucopolysaccharide

Tùy theo sự thiếu hụt enzym mà được chia thành các thể lâm sàng khác nhau (bảng 1.2) [3]:

Thể MPS I: Do thiếu hụt enzym α -L-Iduronidase (IDUA). Chất tích tụ trong thể này là Heparan sulfate và Dermatan sulfate. Tùy vào mức độ nặng của các triệu chứng lâm sàng mà MPS I chia 3 mức độ: Hội chứng Hurler, Hội chứng Hurler - Scheie, Hội chứng Scheie.

Thể MPS II (Hội chứng Hunter): Do thiếu hụt enzym Iduronate-2-sulfatase (IDS). Chất tích tụ trong thể này là Heparan sulfate và Dermatan sulfate.

Thể MPS III (Hội chứng Sanfilippo): Do thiếu hụt enzym Heparan-N-sulfatase (SGSH - gây hội chứng Sanfilippo A), enzym A-N-acetylglucosaminidase (NAGLU - gây hội chứng Sanfilippo B), enzym A -Glucosaminidase acetyltransferase (HSGNAT - gây hội chứng Sanfilippo C), enzym Acetylglucosamine 6- sulfatase (GNS - gây hội chứng Sanfilippo D). Chất tích tụ trong thể này là Heparan sulfate.

Thể MPS IV (Hội chứng Morquio): Do thiếu hụt enzym Galactose 6-sulfatase (GALNS gây hội chứng Morquio A), enzym B -Galactosidase (GLB1 gây hội chứng Morquio B). Chất tích tụ trong thể này là Keratan sulfate và Chondroitin 6 sulfate.

Thể MPS VI (Hội chứng Maroteaux-Lamy): Do thiếu hụt enzym N-Acetylgalactosamine 4 Sulfatase (Arylsulfatase B - ARSB). Chất tích tụ trong thể này là Dermatan sulfate.

Thể MPS VII (Hội chứng Sly): Do thiếu hụt enzym B- Glucuronidase (GUSB). Chất tích tụ trong thể này là Heparan sulfate, Dermatan sulfate và Chondroitin 4 -6 sulfate.

1.1.5. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng

1.1.5.1. Lâm sàng

Các thể bệnh MPS có chung nhiều triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng tuy khác nhau ở mức độ nặng nhẹ.

**** Triệu chứng lâm sàng chung của các thể MPS: (Bảng 1.2)***

Hầu hết các bệnh nhân khi mới sinh hoàn toàn bình thường, các triệu chứng và dấu hiệu lâm sàng sẽ xuất hiện dần sau đó. Bệnh gây tổn thương nhiều cơ quan. Chậm phát triển tinh thần thường bộc lộ rõ khi trẻ khoảng 1- 2 tuổi. Hầu hết bệnh nhân bị chậm nói (nguyên nhân do chậm phát triển tinh thần hoặc do giảm thính lực hoặc do lưỡi phì đại, cũng có thể là do phối hợp các nguyên nhân). Các biểu hiện suy thoái thần kinh trung ương tăng dần. Tổn thương chức năng thần kinh nặng nề là đặc trưng của hội chứng Hurler, thể nặng của hội chứng Hunter và tất cả các thể bệnh của hội chứng Sanfilippo.

Loạn sản hệ xương bao gồm: Lùn, cong vẹo cột sống, xẹp các đốt sống, cứng khớp, biến dạng khớp, biến dạng lồng ngực, dây chằng lỏng lẻo, bộ mặt thô (trán dô, sống mũi tẹt, cánh mũi to, lưỡi to dày), răng mọc lộn xộn, men răng hỏng, có thể có u nang răng. MPS IV (hội chứng Morquio) và MPS VI (hội chứng Maroteaux-Lamy) có đặc trưng là tổn thương xương và ít có tổn thương chức năng thần kinh trung ương.

Triệu chứng gan lách to, đục giác mạc có thể tiến triển ngay từ năm đầu tiên, giảm thính lực, hay mắc các bệnh đường hô hấp, viêm tai giữa tái phát, có cơn ngừng thở khi ngủ, có thể thoát vị rốn, thoát vị bẹn, trên da có thể có các mảng sắc tố, các ban sẩn, tràn dịch não thất xuất hiện sau 2- 3 tuổi cũng có thể sớm từ 6 tháng dẫn tới tăng áp lực nội sọ và có thể tổn thương van tim.

Tóm tắt triệu chứng lâm sàng của các thể MPS: (Bảng 1.2)

Bảng 1.2. Triệu chứng lâm sàng của các thể MPS [20]

MPS Týp		Thoái hóa hệ thần kinh	Cứng khớp và tổn thương xương	Lùn	Bộ mặt thô	Gan, lách to	Đục giác mạc	Giảm thính lực	Tổn thương van tim	Viêm đường hô hấp, viêm tai giữa tái phát	Tổn thương răng
MPS I	IH	+++	++	++	+++	++	++	++	++	+++	+++
	IH/S	-	++	+	++	+	+	+	+	++	++
	IS	-	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	-	+	+
MPS II		++	++	++	++	++	-	++	++	+++	+++
MPS III	III (A)	+++	+	-	-	+	-	++	-	-	-
	III (B)	+++	+	-	-	+	-	++	-	-	-
	III (C)	+++	+	-	-	+/-	-	+	-	-	-
	III (D)	- +++	+	-	-	+/-	-	+	-	-	-
MPS IV	IV A	-	+ /++/ +++	+++	+	+	+	+	+	+ +	+ ++
	IV B	-	+/++ /+++	+++	+	+	+	+	+	+ +	+ ++
MPS VI		-	++	++	+	+	+	+/-	++	+++	++
MPS VII		-/+	++	++	++	++	++	+/-	++	++	++
MPS IX		-	++	+	-	-	-	-	-	-	-

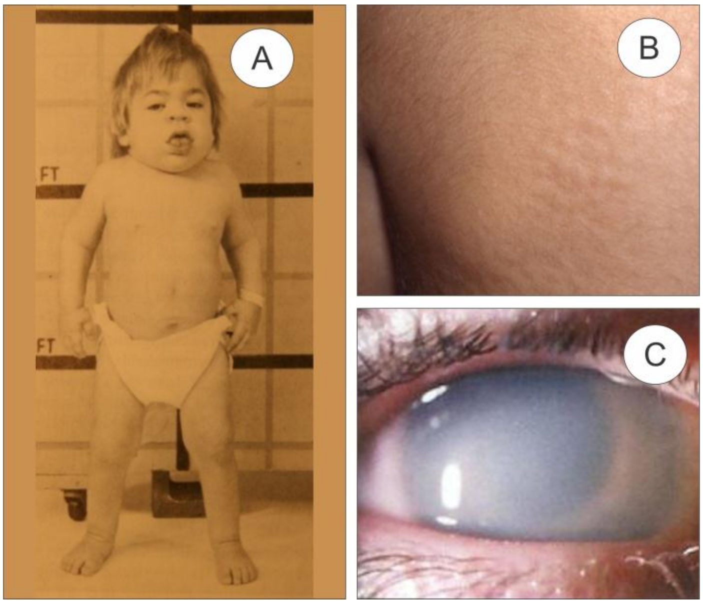
Ghi chú: IH (MPS I: Hurler), IH/S (MPS I: Hurler –Scheie), IS (MPS I: Scheie)

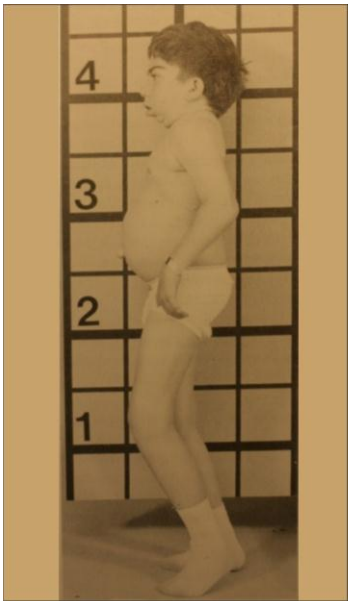
Bệnh tiến triển tăng dần dẫn tới tàn phế. Thể nặng sẽ chỉ sống được 10-20 năm nếu không được điều trị. Bệnh nhân thường tử vong do nhiễm trùng, tắc nghẽn đường hô hấp và biến chứng tim mạch [2],[3],[20],[21].

**** Mucopolysaccharide I***

Sự thiếu hụt α-L-iduronidase có thể dẫn đến một loạt các triệu chứng lâm sàng. Dựa trên các triệu chứng lâm sàng người ta chia MPS I ra làm 3 loại: Hội chứng Hurler, hội chứng Hurler-Scheie, hội chứng Scheie [3],[20],[21].

- Hội chứng Hurler: Đây là thể nặng nhất của MPS I. Biểu hiện các triệu chứng điển hình của các thể MPS. Bệnh gây tổn thương đa cơ quan, tiến triển nặng dần. Trẻ sơ sinh mắc hội chứng Hurler có bề ngoài bình thường khi mới sinh, hoặc có thể bị thoát vị bẹn hoặc rốn. Các triệu chứng bộc lộ rõ ở giai đoạn từ 6 tháng đến 24 tháng tuổi. Bệnh nhân có các triệu chứng gan và lách to, biến dạng xương, nét mặt thô, lưỡi to dày, trán dô và cứng khớp (hình 1.5A) là những biểu hiện gợi ý đầu tiên cần được thăm khám. Bệnh nhân có thể lớn nhanh khi mới sinh và đến khoảng giữa 6 và 18 tháng trở đi thì tốc độ tăng trưởng giảm dần đạt chiều cao tối đa 110 cm. Chậm phát triển tinh thần thường xuất hiện vào khoảng 12-24 tháng tuổi và sau 2-4 năm tiếp theo thì suy thoái rõ. Trẻ sẽ chậm nói vì chậm phát triển tinh thần, giảm thính lực mạn tính, phì đại lưỡi. Triệu chứng giảm thính lực khá phổ biến, một số trẻ cần dùng tới máy trợ thính. Hầu hết các trẻ hay mắc nhiễm trùng đường hô hấp, viêm tai xương chũm, thở khò khè, có cơn ngừng thở khi ngủ và có biến chứng tim mạch. Bệnh cơ tim cấp và xơ hóa màng trong tim đã được ghi nhận ở một số trẻ mắc MPS I. Đục giác mạc xuất hiện trong năm tuổi đầu tiên và tiến triển nặng dần (hình 1.5C).





Hình 1.5. MPS I (Hội chứng Hurler) khi 4 tuổi [3]

Hình 1.6. MPS I H/S (Hội chứng Hurler- Scheie) khi 14 tuổi [3]

Trên da bệnh nhân có thể có các mảng sắc tố, các ban sẩn (hình 1.5B). Phần lớn trẻ bị tràn dịch não thất dẫn tới tăng áp lực nội sọ ở giai đoạn sau 2 tuổi nhưng cũng có thể xuất hiện sớm từ 6 tháng tuổi. Tắc nghẽn hay nhiễm trùng đường hô hấp, các biến chứng tim mạch thường là nguyên nhân gây tử vong ở trẻ.

- **Hội chứng Hurler-Scheie:** Các bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng trung gian giữa hội chứng Hurler và hội chứng Scheie. Các triệu chứng khởi phát ở độ tuổi từ 3 đến 8 tuổi và thường sống đến tuổi trưởng thành. Bệnh nhân bị chậm phát triển tinh thần nhẹ hoặc không bị. Triệu chứng đục giác mạc, cứng khớp, điếc, và bệnh van tim có thể xuất hiện từ những năm đầu đời tới giữa tuổi thanh thiếu niên, gây suy giảm hoặc mất chức năng các cơ quan. Một số bệnh nhân MPS IH/S có hàm nhỏ tạo ra bộ mặt đặc trưng (hình 1.6). Triệu chứng chèn ép tủy do tích tụ mucopolysaccharide trong màng cứng, tràn dịch

não thất xuất hiện phổ biến ở bệnh nhân với trí thông minh bình thường. Bệnh nhân thường tử vong do biến chứng tim mạch hoặc do nhiễm trùng hô hấp.

- Hội chứng Scheie: Đây là dạng MPS I nhẹ lúc đầu được cho là một thể riêng rẽ của MPS đó là MPS V. Biểu hiện lâm sàng nhẹ. Các triệu chứng thường bộc lộ rõ sau 5 tuổi và bệnh thường được chẩn đoán lúc 10 đến 20 tuổi. Trẻ có thể có tổn thương nhiều xương, tổn thương dây chằng cổ tay dẫn đến biến dạng tay hình càng cua, có thể cứng khớp gối, khớp bàn chân, trí tuệ và tầm vóc bình thường. Mắt có thể bị tăng nhãn áp hay thoái hóa võng mạc làm đục giác mạc và làm giảm thị lực. Tổn thương van động mạch chủ thường nhiều hơn van hai lá kèm theo hiện tượng chít hẹp và/hoặc trào ngược do sự tích tụ chất lắng mucopolysaccharide ở van. Một số bệnh nhân có giảm nhẹ thính lực.

**** Mucopolysaccharide II (Hội chứng Hunter)***

Do thiếu enzym Iduronate-2-sulfatase. Dựa vào thời gian khởi phát bệnh, mức độ chậm phát triển tinh thần, tiến triển của các biểu hiện lâm sàng mà người ta chia hội chứng Hunter ra làm 2 thể là thể nặng và thể nhẹ (hình 1.7) [3],[22].

- Hội chứng Hunter thể nặng: Hội chứng Hunter thể nặng có biểu hiện tương tự như hội chứng Hurler (hình 1.7.A và B), nhưng không có đục giác mạc và tiến triển suy thoái thần kinh trung ương chậm hơn. Bộ mặt thô, người thấp, xương biến dạng, cứng khớp và chậm phát triển trí tuệ. Khởi phát của bệnh thường xảy ra từ 2 đến 4 tuổi. Các triệu chứng tiến triển nặng dần. Có thể thoái hóa võng mạc nghiêm trọng nhưng giác mạc vẫn trong. Tiêu chảy mãn tính do có sự tham gia của hệ thần kinh hoặc do rối loạn chức năng niêm mạc, triệu chứng này hay gặp ở những bệnh nhân nhỏ tuổi. Nhiễm trùng tai tái phát và khiếm thính tiến triển xảy ra ở hầu hết các bệnh nhân. Tràn dịch

não thất từ trung bình tới nặng làm áp lực nội sọ tăng dần từ sau 7-10 tuổi dẫn tới suy thoái hệ thống thần kinh trung ương tăng dần. Bệnh nhiễm trùng hô hấp và suy tim do rối loạn chức năng van tim, cơ tim dày, tăng huyết áp động mạch phổi, hẹp động mạch vành và nhồi máu cơ tim thường là nguyên nhân tử vong của bệnh.

- Hội chứng Hunter thể nhẹ: Thể nhẹ có biểu hiện tương tự như hội chứng Scheie, khởi phát bệnh muộn, tiến triển bệnh chậm (hình 1.7.C). Bệnh nhân ít hoặc không bị ảnh hưởng về mặt trí tuệ, có các đám tổn thương da màu ngà trên lưng, cánh tay và mép đùi, giảm thính lực, hội chứng đường hầm cổ tay và cứng khớp dẫn đến giảm hoặc mất chức năng vận động. Một số có mờ giác mạc, phù gai thị mãn tính. Bệnh nhân có thể sống tới già, tuy nhiên có thể tử vong vào đầu giai đoạn trưởng thành do tắc nghẽn đường thở và suy tim.

(A) **(B)** **(C)**

Hội chứng Hunter khi 6 tuổi (A)[3]; khi 8 tuổi (B)[24]; khi 24 tuổi (C)[3];

Hình 1.7. Hội chứng Hunter

- Theo Roseline Froissart và cộng sự MPS II có thể chia 3 thể:

+ Thể nặng: Trẻ bị chậm phát triển tinh thần và rối loạn hành vi trước 4 - 5 tuổi.

+ Thể trung bình: Trẻ có rối loạn hành vi vừa phải, không có hoặc chậm phát triển tinh thần nhẹ ở tuổi thiếu nhi.

+ Thể nhẹ: Trẻ không có rối loạn hành vi, không bị chậm phát triển tinh thần, có thể tổn thương xương nặng [23].

**** Mucopolysaccharide III (Hội chứng Sanfilippo)***

Bệnh nhân mắc hội chứng Sanfilippo do thiếu các enzym heparan N-sulfatase (Týp A), α-N-acetylglucosaminidase (Týp B); α-glucosaminide acetyltransferase (Týp C), N-acetyl glucosamine 6-sulfatase (Týp D). Sự thiếu hụt của bốn enzym cần thiết cho sự giáng hóa heparan Sulfate này là cơ sở để phân chia hội chứng Sanfilippo thành 4 týp trong khi sự khác biệt về mặt lâm sàng giữa các týp là không rõ rệt. Hội chứng Sanfilippo được đặc trưng bởi sự suy thoái nặng hệ thống thần kinh trung ương. Khởi phát các đặc điểm lâm sàng thường xảy ra từ 2 đến 6 tuổi ở trẻ trước đó trông hoàn toàn bình thường. Trẻ chậm phát triển tinh thần, mặt thô nhẹ, tóc thô, rậm lông (hình 1.8.A và B), biểu hiện tăng động rõ rệt, khó tập trung, thay đổi hành vi, rối loạn giấc ngủ, gan lách to nhẹ (triệu chứng sau cùng này được phát hiện ở bệnh nhân trẻ, nhưng không phổ biến trong thanh thiếu niên và người lớn MPS III). Thoái hóa thần kinh rõ rệt ở hầu hết các bệnh nhân từ 6 đến 10 tuổi, thường tử vong ở độ tuổi 10 - 30 tuổi. Cứng khớp nhẹ, có thể có bàn tay càng cua. Tiêu chảy tái phát và đôi khi nặng nhưng thường được cải thiện ở trẻ lớn. Ngôn ngữ chậm phát triển, một số bệnh nhân có thể không nói được. Mất thính lực trầm trọng thường phổ biến ở các bệnh nhân vừa và nặng. Co giật thường xảy ra ở bệnh nhân lớn tuổi, nhưng thường dễ kiểm soát.

(A) **(B)**

(A):MPS III A, Hội chứng Salfilippo typ A, khi 7 tuổi [3];
(B): MPS III B, Hội chứng Salfilippo typ B, khi 7 tuổi [3]

Hình 1.8. MPS III, Hội chứng Salfilippo

Phần lớn các bệnh nhân khi chụp cắt lớp vi tính sọ não giai đoạn này thấy teo vỏ não. Tiến triển teo vỏ não nặng ở giai đoạn cuối của bệnh. Bệnh nhân có thể bị mất trí. Về tổng thể týp A nặng nhất, khởi phát sớm hơn, tiến triển triệu chứng nhanh hơn và tuổi thọ ngắn hơn. Týp B và týp D nhẹ hơn nhưng có cả thể nặng và nhẹ được ghi nhận ngay cả trong một gia đình. Týp C xuất hiện trung gian giữa týp A và B. Những khác biệt về mặt lâm sàng giữa 4 týp của hội chứng Sanfilippo không rõ rệt và việc chẩn đoán cần phải được thực hiện bằng xét nghiệm đo hoạt độ enzym [3],[19],[25].

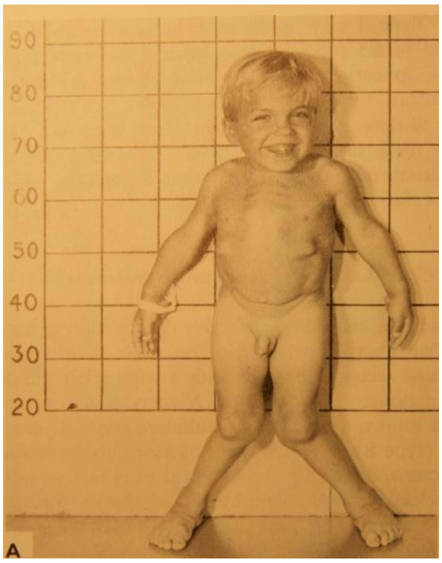
MPS III được chia thành 2 mức độ: Tiến triển nhanh khi bệnh biểu hiện trước 6 tuổi, tiến triển chậm khi bệnh biểu hiện sau 6 tuổi [26].

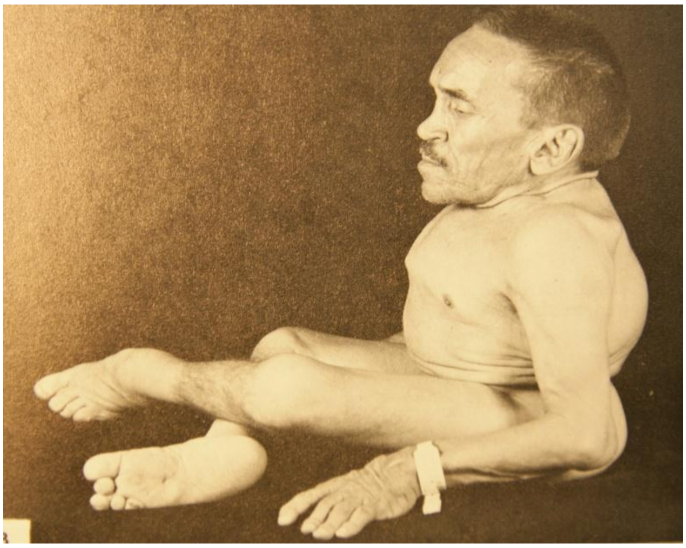
**** Mucopolysaccharide IV (Hội chứng Morquio)***

Hội chứng Morquio là do thiếu hụt enzym trong quá trình giáng hóa keratan sulfate. Hai enzym thiếu hụt là N-6-sulfatase acetylgalactosamine,

còn được gọi là galactose 6-sulfate gây ra hội chứng Morquio A và β-galactosidase gây ra hội chứng Morquio B. Bệnh nhân có biểu hiện thấp lùn, loạn sản đầu xương và sụn, chất tích tụ lắng đọng ở giác mạc, tinh thần phát triển bình thường.

Các biểu hiện lâm sàng chủ yếu của hội chứng Morquio là những đặc điểm liên quan đến xương và ảnh hưởng của chúng đối với hệ thần kinh trung ương. Hầu hết các bệnh nhân có bề ngoài bình thường lúc mới sinh, sau đó xuất hiện đầu gối khuỳnh, gù, chậm phát triển, thân mình ngắn, cổ rụt, dáng đi lạch bạch, dễ vấp ngã là những triệu chứng sớm của hội chứng Morquio. Bất thường xương điển hình của hội chứng Morquio bao gồm: thân ngắn, lùn, dẹt đốt sống, giảm sản hình răng, gù, cột sống ưỡn nhiều, vẹo cột sống, đốt sống dị dạng hình trứng, biến dạng lồng ngực, đầu gối khuỳnh, lệch xương trụ, biến dạng khuỷu tay, biến dạng xương bàn tay, các đốt ngón tay ngắn, biến dạng đầu xương, loãng xương (hình 1.9.A - B).





(A) **(B)**

Hội chứng Morquio khi 8 tuổi (A) và khi 55 tuổi (B)[3]

Hình 1.9. MPS IV (Hội chứng Morquio)

Dây chằng lỏng lẻo là triệu chứng đặc trưng của hội chứng Moriquio. Biểu hiện liệt tủy sống, hạn chế di động lồng ngực và bệnh van tim dẫn đến tử vong sớm. Bệnh nhân bị nặng không thể sống quá hai mươi hoặc ba mươi tuổi. Phẫu thuật ổn định cột sống cổ có thể kéo dài thêm được tuổi thọ.

Biểu hiện khác của hội chứng Moriquio là đục giác mạc nhẹ, gan to, tắc nghẽn đường hô hấp trên, tổn thương van tim, răng nhỏ, men răng mỏng bất thường và sâu răng thường xuyên. Bộ mặt thô, có thể điếc. Hội chứng Morquio A thường khởi phát sớm hơn nhưng biểu hiện lâm sàng nhẹ hơn, hội chứng Morquio B thường khởi phát muộn hơn nhưng biểu hiện lâm sàng điển hình, nặng và nhanh dẫn đến tàn phế hơn [3],[27],[28].

Bệnh nhân MPS IVA có thể biểu hiện ở 3 mức độ: Nặng (biểu hiện loạn sản xương xuất hiện trước 1 tuổi, bệnh thường được chẩn đoán trước 5 tuổi, chiều cao tối đa dưới 120cm). Nhẹ (biểu hiện loạn sản xương xuất hiện ở cuối tuổi thiếu niên, chiều cao tối đa hơn 140cm). Trung bình (biểu hiện loạn sản xương xuất hiện ở tuổi thiếu nhi, chiều cao tối đa đạt 120 - 140cm) [27].

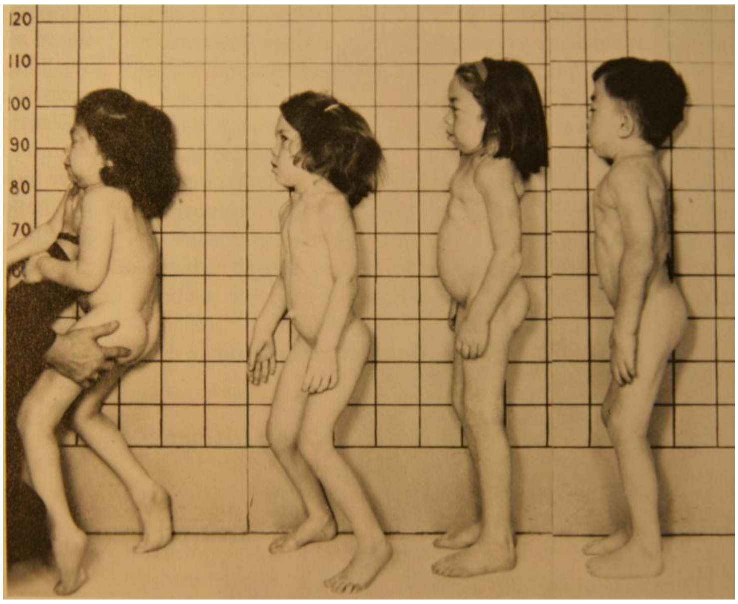
**** Mucopolysaccharide VI (Hội chứng Maroteaux-Lamy)***

Hội chứng Maroteaux-Lamy là do thiếu hụt N-Acetylgalactosamine 4-sulfatase (arylsulfatase B) trong quá trình giáng hóa dermatan sulfate và chondroietin sulfate. Bệnh nhân chậm phát triển tinh thần nhẹ hoặc bình thường, thể lực yếu, giác mạc mờ dẫn đến giảm thị lực. Có thể đầu to và ngực biến dạng lúc mới sinh, rốn lồi và/hoặc có thoát vị bẹn. Tăng trưởng có thể bình thường ở những năm đầu nhưng sẽ chậm lại ở 6 đến 8 tuổi, với chiều cao cuối cùng khoảng 110-140 cm. Cứng khớp (gối, hông, khuỷu tay) tăng dần làm trẻ có xu hướng gập người, bộ mặt thô nhẹ, các bệnh nhân nặng đến khoảng 8 tuổi có thân hình ngắn, bụng lồi và nổi bật là xương sống cong ra trước thắt lưng (hình 1.10). Cứng dây chằng, dị tật móng tay thường thấy ở trẻ

do các ngón tay co quắp, hội chứng ống cổ tay, gan to luôn xuất hiện sau 6 tuổi, lách to được ghi nhận ở một nửa số bệnh nhân, rậm lông nhẹ, van động mạch chủ bị vôi hóa.

Loạn sản xương chậu nặng, loạn sản ổ cối, cánh chậu nhỏ, loe. Đầu to, biến dạng hình móc hoặc giảm sản phía trước các đốt sống L1 đến L2, loạn sản xương đùi, biến dạng cổ xương đùi. Chèn ép đốt sống cổ thường xuất hiện ở những bệnh nhân thể nhẹ [3],[29],[30].

Bệnh nhân MPS VI biểu hiện ở 3 mức: Nặng (khởi phát trước 2 tuổi, tiến triển nhanh). Trung bình (khởi phát cuối thời thơ ấu). Nhẹ (khởi phát sau 20 tuổi, tiến triển chậm) [31],[32].



Hội chứng Maroteaux-Lamy ở các tuổi 14, 9, 13 và 11 (từ trái qua phải)[3]

Hình 1.10. MPS VI (Hội chứng Maroteaux-Lamy)

**** Mucopolysaccharide VII (Hội chứng Sly)***

Hội chứng Sly biểu hiện lâm sàng thay đổi khác nhau từ phù thai nhi nặng đến thể nhẹ có thể sống đến tuổi trưởng thành.

Hình 1.11. Hội chứng Sly khi 3 tuổi [3]

Bệnh nhân thường lùn, bộ mặt thô, xương ức nhô, thoát vị bẹn hoặc rốn, thắt lưng gập, biến dạng cột sống rõ rệt, mờ giác mạc xuất hiện khi trẻ 8 tuổi (hình 1.11), gan lách to, trí lực sút kém vừa phải khi trẻ 3 tuổi và không tiến triển tiếp. Dạng nhẹ hơn các triệu chứng khởi phát muộn (sau 4 tuổi) trẻ có thân hình bình thường, trí lực hoàn toàn bình thường, không bị biến dạng mặt, ít thay đổi xương và đục giác mạc không đáng kể [3],[33],[34],[35].

**** Mucopolysaccharide IX: (Hội chứng Natowicz)***

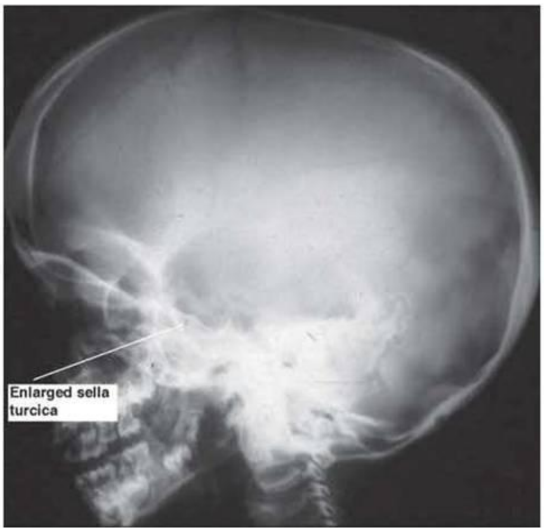
Mới chỉ có 4 bệnh nhân được phát hiện trong đó 1 bệnh nhân được phát hiện năm 1996 và 3 bệnh nhân trong 1 gia đình thứ 2 được phát hiện năm 2011 với triệu chứng là lùn, các khối mô mềm quanh khớp, loạn sản khớp háng, biến dạng cột sống, cứng khớp gối [2],[20],[36].

1.1.5.2. Cận lâm sàng

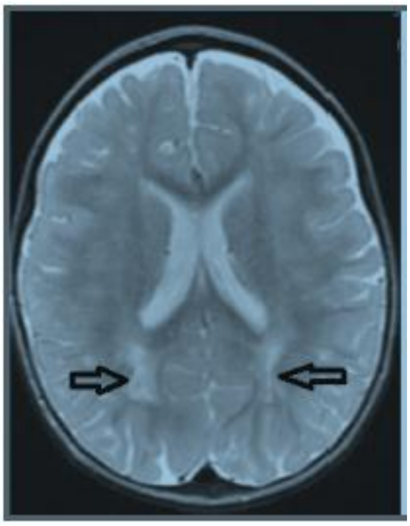
a/ X quang:

Hộp sọ lớn, vòm sọ dày, hố yên rộng, giãn não thất, chậm myelin hóa các tế bào thần kinh, thóp liền sớm (hình 1.12 và 1.13). Răng mọc lộn xộn có thể có u nang răng. Giảm sản phía trước của đốt sống thắt lưng làm gù vẹo biến dạng cột sống (hình 1.16A), xẹp và biến dạng các đốt sống đặc biệt đốt sống cổ và đốt sống thắt lưng, chèn ép đốt sống cổ (hình 1.14). Xương đòn

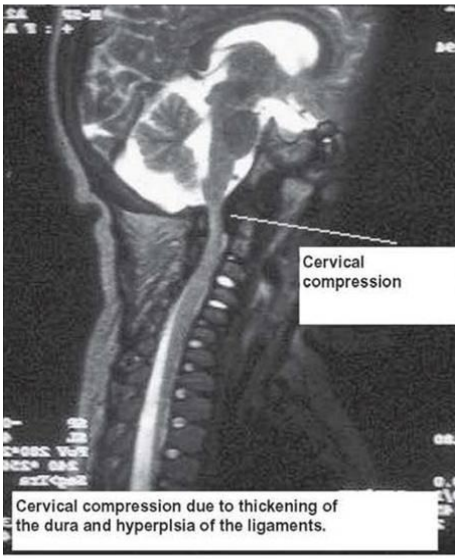
ngắn, dày và bất thường. Các xương sườn giống hình mái chèo, thu hẹp ở 2 đầu xương sống, phẳng và rộng đầu ức (hình 1.16B). Thân xương dài lớn kèm loãng xương, biến dạng, lệch trục (hình 1.15). Loạn sản xương chậu nặng, loạn sản ổ cối, cánh chậu nhỏ, loe, đầu xương đùi nhỏ, khớp háng vẹo (hình 1.16C). Các đốt ngón ngắn, hình thang, thân xương rộng, chậm cốt hóa (hình 1.16D) [2],[3],[37],[38].



Hình 1.12. X-quang sọ não BN MPS (hộp sọ lớn, hố yên rộng) [37]

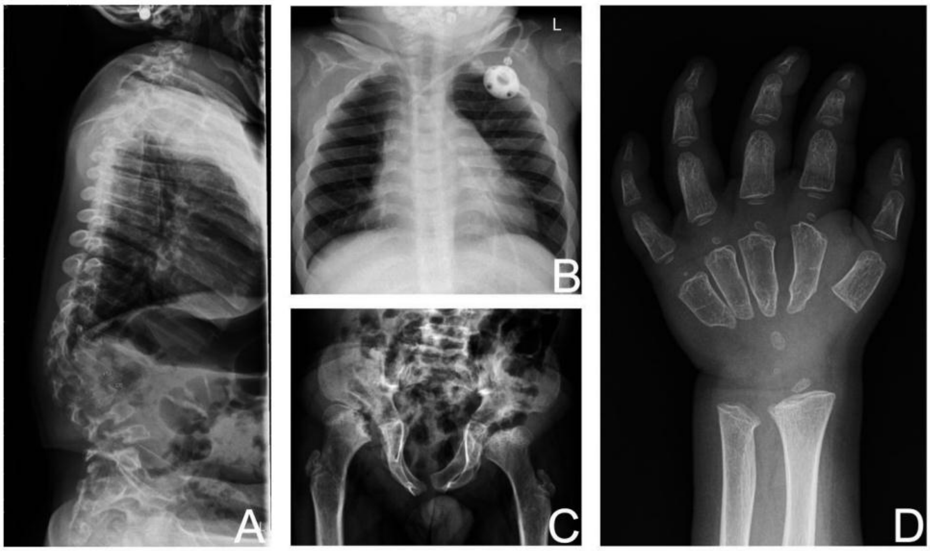


Hình 1.13. Sự chậm myelin hóa ở vùng chẩm (BN 2 tuổi) [2]



Hình 1.14. Hình ảnh chèn ép tủy ở đốt sống cổ [37]

Hình 1.15. Biến dạng các xương dài (chân) của các bệnh nhân MPS [38]



(A): Biến dạng các đốt sống thắt lưng; (B): Xương sườn rộng hình mái chèo; (C): Ổ cối loạn sản, đầu xương đùi biến dạng, thoái hóa khớp; (D): Biến dạng xương bàn tay, chậm cốt hóa [39].

Hình 1.16. Một số biến dạng xương của bệnh nhân MPS

b/ Xét nghiệm định lượng Glycosaminoglycans trong nước tiểu

- Định lượng GAGs nước tiểu là xét nghiệm giúp sàng lọc ban đầu đối với MPS và đánh giá hiệu quả của điều trị. Các phương pháp được sử dụng phổ biến nhất để chẩn đoán MPS là: Phương pháp phổ kế màu như dimethylmethylene blue (DMB), alcian blue, phương pháp sắc ký lỏng ghép đầu dò khối phổ (LC-MS/MS). Lượng GAGs trong nước tiểu tăng cao [40],[41],[42].

c/ Đo hoạt độ các enzym đặc hiệu

Xét nghiệm đo hoạt độ các enzym đặc hiệu để chẩn đoán thể bệnh. Bệnh phẩm có thể là bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc huyết tương hoặc tế bào sợi da nuôi cấy. Bệnh phẩm máu sẽ được ly tâm tách bạch cầu rồi được ủ với cơ chất đặc hiệu theo quy trình: Ví dụ: Hoạt độ enzym của IDUA được ủ

với 4-methylumbelliferyl α-L-iduronide. Thời gian phản ứng tùy thuộc vào từng cơ chất và enzym. Kết quả được đọc trên máy spectrofluorometry. Hoạt độ enzym (tùy theo thể) trong bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc trong nguyên bào sợi nuôi cấy giảm nhiều [3],[18].

d/ Các phương pháp phân tích đột biến một số gen gây bệnh MPS

- Phân tích đột biến các gen mã hóa cho enzym đặc hiệu gây các thể MPS bằng phương pháp giải trình tự gen và các phương pháp phát hiện đột biến mất đoạn, lặp đoạn để xác định bản chất phân tử của bệnh. Mục đích:

+ Khẳng định chẩn đoán trong trường hợp kết quả phân tích GAGs trong nước tiểu và hoạt độ enzym không rõ ràng.

+ Sàng lọc người lành mang gen cho các thành viên có nguy cơ trong các gia đình bệnh nhân MPS và giúp chẩn đoán trước sinh khi có chỉ định.

+ Đối với một số thể MPS (MPS I; MPS II; MPS IVA và MPS VI) thì dữ liệu kiểu gen đặc biệt sẽ giúp dự báo mức độ nặng của kiểu hình trên lâm sàng và sẽ giúp ích trong quá trình chọn lựa phương pháp điều trị và giúp ích trong quá trình theo dõi điều trị.

- Phân tích phân tử phát hiện đột biến các gen gây bệnh được thực hiện bằng phương pháp giải trình tự gen Sanger và kỹ thuật khuếch đại đầu dò đa mồi dựa vào phản ứng nối (MLPA: Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Giải trình tự gen Sanger là phương pháp tin cậy phát hiện được nhiều loại đột biến với độ chính xác cao tuy nhiên giá thành khá đắt [43],[44],[45]. Phương pháp MLPA là phương pháp nhanh và chính xác để phát hiện đột biến mất đoạn, lặp đoạn hoặc chuyển đoạn ở các bệnh lý di truyền. Trong trường hợp dị hợp tử thì kỹ thuật MLPA có độ chính xác cao và cho kết quả nhanh. Nếu các đột biến mất đoạn nhỏ thì dùng phương pháp giải trình tự gen sẽ cho kết quả chính xác hơn [43],[46],[47].

+ DNA tổng số được tách chiết từ bạch cầu lympho máu ngoại vi của bệnh nhân bằng kít tách DNA (QiaAmp DNA mini kit). Đo kiểm tra nồng độ DNA bằng máy đo nồng độ Nano Drop 1000 (Thermo).

+ Đoạn DNA cần giải trình tự được khuyếch đại sử dụng kỹ thuật PCR với các cặp mồi đặc hiệu được thiết kế cho từng đoạn gen, sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự. Sử dụng máy giải trình tự gen tự động được thiết kế trên nguyên tắc sử dụng dideoxynucleotid (ddNTP) do Sanger và cộng sự phát minh sau đã được cải tiến. Dựa vào màu huỳnh quang máy sẽ nhận diện được các nucleotid, từ đó biết được trình tự của DNA đích.

+ Nguyên lý của phương pháp giải trình tự gen Sanger

Sử dụng 4 loại nucleotid thông thường (gồm 4 loại deoxynucleotid triphosphat (dNTPs): dATP, dTTP, dGTP và dCTP, được dùng làm cơ chất để tổng hợp DNA) và 4 loại dideoxynucleotid (là những deoxynucleotid có nhóm 3’OH được thay bằng H), do đó dideoxynucleotid không còn khả năng hình thành các nối phosphatdieste và làm ngưng quá trình tổng hợp DNA, tạo ra các đoạn DNA có kích thước kém nhau 1 nucleotid, trên cơ sở đó xác định được trình tự nucleotid. Dideoxynucleotid (ddNTP) là một phân tử nhân tạo, cấu trúc của nó tương tự như phân tử deoxynucleotid (dNTP), tuy nhiên ở carbon số 3 của đường deoxyribose không phải là nhóm hydroxyl (- OH) mà là - H (hình 1.17).

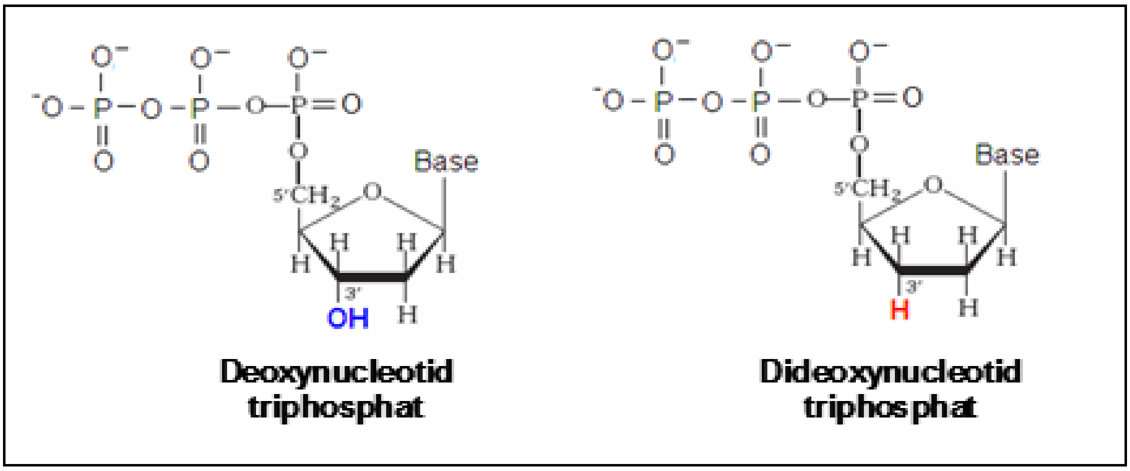
Các khâu trong phương pháp này:

Biến tính DNA sợi kép thành 2 sợi đơn.

Mồi tiếp hợp với DNA sợi đơn.

Phản ứng tổng hợp chuỗi polynucleotid gồm DNA sợi khuôn, mồi, DNA polymerase, deoxynucleotid (dNTP) và dideoxynucleotid (ddNTP).

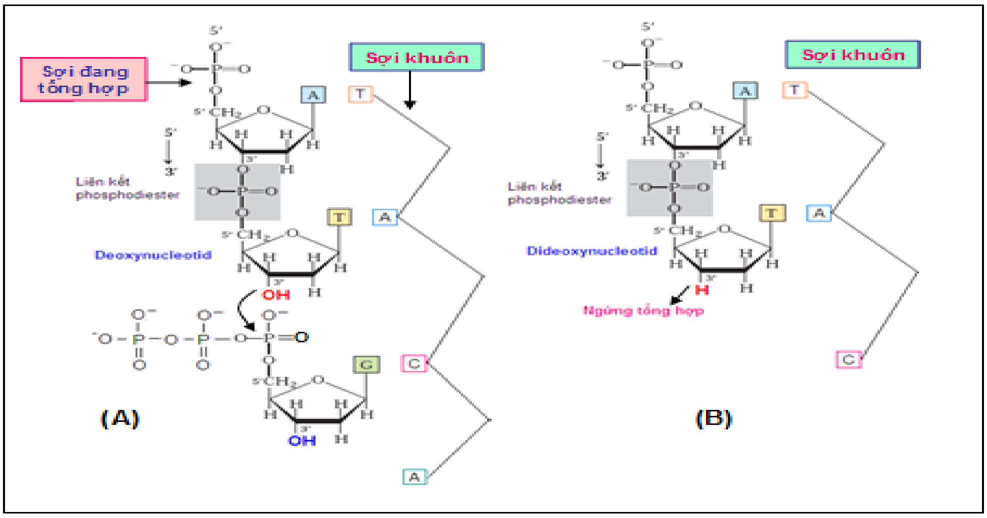
Việc gắn dideoxynucleotid làm quá trình tổng hợp bị dừng lại vì ddNTP có cấu trúc hóa học bị mất gốc OH tại carbon thứ 3 của đường deoxyribose, mà gốc OH tại vị trí này chính là nơi để dNTP kế tiếp được gắn vào.



Hình 1.17.   Cấu trúc phân tử dNTP và ddNTP

Điện di trên gel polyacrylamid biến tính để giải trình tự.

Đọc kết quả trên phim xạ ký tự ghi (autoradiography).

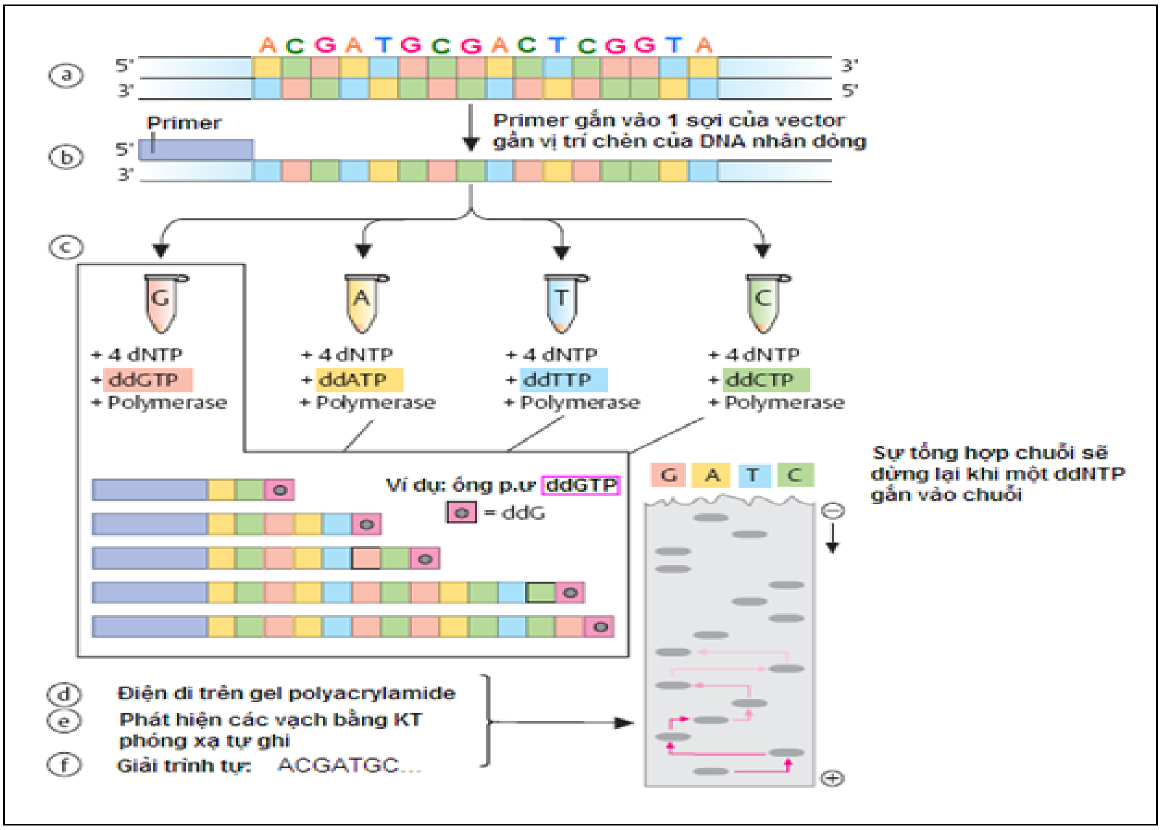


(A) Quá trình tổng hợp DNA bình thường; (B) Quá trình tổng hợp DNA bị ức chế

Hình 1.18.   Quá trình tổng hợp DNA

Trong quá trình tổng hợp mạch đơn bổ sung, một dNTP tự do gắn vào chuỗi đang tổng hợp bằng liên kết phosphodieste giữa 5’ phosphat với nhóm 3’ hydroxyl của nucleotid cuối cùng của chuỗi (hình 1.18 (A)). Tuy nhiên, nếu một ddNTP được gắn vào đầu 3’ của chuỗi đang tổng hợp thì sự tổng hợp DNA sẽ dừng lại do không hình thành được liên kết phosphodieste với nucleotid tiếp theo (hình 1.18 (B)).

Quy trình giải trình tự theo phương pháp dideoxynucleotid được mô tả ở hình 1.19.



Hình 1.19. Quy trình giải trình tự theo phương pháp ddNTP

+ So sánh trình tự gen của mẫu DNA bệnh phẩm với trình tự gen chuẩn của GenBank (National center for biotechnology information - NCBI) và phương pháp ABI Prism 3100 genetic anylyzer (Applied Biosystems).

e/ Các xét nghiệm thông thường

Chỉ định để hỗ trợ chẩn đoán và đánh giá tổn thương các cơ quan trong trường hợp trẻ đã có các triệu chứng nghi ngờ MPS [3],[20],[21]. Các xét nghiệm bao gồm:

- Xét nghiệm máu: Đánh giá chức năng gan (bilirubine, GOT, GPT), chức năng thận (ure, creatinine).
- Xét nghiệm nước tiểu: tổng phân tích nước tiểu.
- Thăm dò khác: Khám tai mũi họng, đo thính lực. Khám mắt đo thị lực, soi đáy mắt. Khám tâm bệnh làm test IQ hoặc DQ. Khám răng miệng.
- Siêu âm bụng, siêu âm tim. Điện tâm đồ. Điện não đồ.

1.1.5.3. Đặc điểm di truyền

MPS là bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể thường trừ MPS II là di truyền lặn liên kết giới tính X và có tỷ lệ cao ở các nước châu Á. Mỗi gen mã hóa cho quá trình tổng hợp protein hoặc 1 enzym đặc hiệu. Khi có 1 hay nhiều bất thường xảy ra trên gen sẽ gây ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp protein hay enzym đặc hiệu đó. Rất nhiều đột biến di truyền lặn được mô tả từ trước đến nay gây ra các rối loạn cấu trúc và hoạt động của enzym.

Đặc điểm di truyền của bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể liên kết giới X: Bệnh chỉ xảy ra ở nam (minh họa là XaY) hoặc nữ (XaO) do mang gen lặn gây bệnh trên nhiễm sắc thể X từ mẹ truyền cho. Mẹ là người bình thường mang gen dị hợp tử thì khả năng sinh con trai bị bệnh là 25%, con gái mang gen bệnh là 25%, con bình thường hoàn toàn là 50% (hình 1.20) [43],[44].

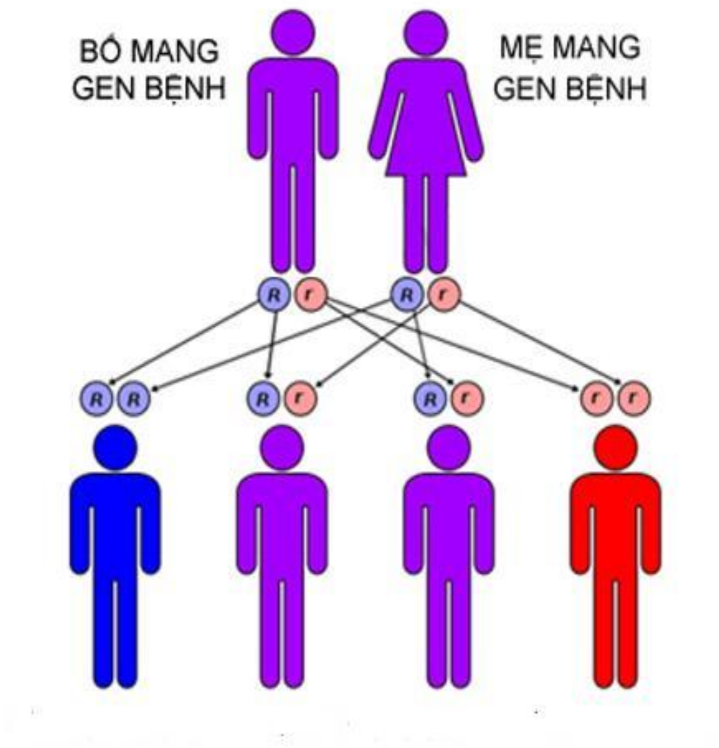
Đặc điểm di truyền của bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể thường: là người lành mang gen bệnh, bề ngoài là người hoàn toàn bình thường, khỏe mạnh nhưng xây dựng gia đình với nhau, nếu sinh con thì truyền bệnh cho

con theo tỉ lệ phân ly gen bệnh của quy luật Menden. Khi đó bệnh chỉ xảy ra ở người mang đồng hợp tử gen lặn (minh họa là: rr). Nếu 1 người mang 1 alen bình thường (minh họa là: R) và 1 alen đột biến (r) gọi là dị hợp tử.

Hình 1.20. Sơ đồ di truyền lặn nhiễm sắc thể liên kết giới X

Trong mỗi cá thể đều được di truyền 1 alen từ bố và 1 alen từ mẹ, do vậy ở cá thể mang alen gây bệnh dạng đồng hợp tử (rr) thì bố mẹ là 2 dị hợp tử (Rr) bắt buộc. Trường hợp đột biến mới xảy ra rất hiếm gặp. Bệnh xảy ra không liên tục qua các thế hệ. Thường gặp bệnh xuất hiện trong cùng 1 thế hệ. Tỉ lệ nam và nữ bị bệnh là như nhau. Cơ thể dị hợp tử với 1 alen bình thường và 1 alen đột biến cho biểu hiện các enzym hoạt động bình thường. Bệnh chỉ biểu hiện với cơ thể mang 2 alen đột biến lặn (hình 1.21), biểu hiện kiểu hình phụ thuộc vào hoạt động của enzym.

Trong các quần thể mà việc kết hôn cùng huyết thống hoặc kết hôn trong các quần thể cô lập sẽ làm tăng khả năng sinh con bị bệnh và tăng tỉ lệ người mắc bệnh trong quần thể vì các gen lặn di truyền tiềm ẩn trong dòng họ hoặc trong các quần thể cô lập dễ có cơ hội để tổ hợp với nhau. Tần số đột biến tự nhiên mới phát sinh cần có cả hai đột biến trên cùng 1 gen ở cả 2 bên bố mẹ nên xác suất xảy ra vô cùng nhỏ, do vậy sự kết hôn trong dòng họ hoặc trong quần thể cô lập sẽ làm tăng tỷ lệ mang gen bệnh [44].



Hình 1.21. Sơ đồ quy luật di truyền gen lặn nằm trên NST thường

1.1.5.4. Các đột biến gen

Các nghiên cứu về đột biến gen trong các thể MPS cho thấy rằng kiểu gen của các thể MPS rất đa dạng và điều này giải thích cho sự đa dạng của kiểu hình trên lâm sàng. Cũng có một số giả thiết cho rằng tính đa hình trong

các gen bệnh rất có thể góp phần vào việc quy định kiểu hình. Đa số các đột biến của gen là các đột biến điểm, tái sắp xếp lớn, còn lại là mất đoạn một phần hay toàn bộ, thêm đoạn, nhân đôi nhỏ, đột biến ở vị trí cắt nối. Mối tương quan kiểu gen kiểu hình thể hiện chặt chẽ nhất ở nhóm bệnh nhân MPS I, MPS II, sau đó đến nhóm bệnh nhân MPS VI. Đối với các nhóm còn lại mối tương quan giữa kiểu gen kiểu hình chưa chặt chẽ [2].

*** Gen *IDUA*** mã hoá cho enzym α L iduronidase (gây MPS I) được xác định nằm ở vị trí 4p16.3, gồm 14 exon kích thước 19kb mã hóa cho phân tử protein gồm 653 acid amin. Cơ sở dữ liệu đột biến gen về bệnh MPS I mô tả hơn 200 đột biến gây bệnh trên gen này và 32 đa hình (http://.www hgmd.org). Các đột biến đó bao gồm đột biến sai nghĩa, vô nghĩa, mất đoạn, thêm đoạn và đột biến tại vị trí cắt nối, trong đó phần lớn là các đột biến sai nghĩa [2],[39],[48].

*** Gen *IDS*** mã hoá cho enzym Iduronate-2-sulphatase (gây MPS II) nằm ở vị trí Xq28 gồm 9 exon, dài khoảng 24 kb mã hóa cho phân tử protein gồm 550 acid amin. Giả gen (pseudogene) có tính tương đồng cao (IDS-2, trình tự liên quan đến exon II và III và intron 2, 3 và 7 của gen *IDS*) nằm cách gen hoạt động 20 kb. Hiện nay có khoảng hơn 400 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện trong đó khoảng 80% đột biến được xác định là đột biến điểm và khác thường nhỏ về cấu trúc. Các thay đổi lớn là đột biến mất đoạn lớn bao quanh các gen lân cận, mất một phần trong gen và sắp xếp lại. Đột biến gây thay thế nucleotide tại các điểm CpG hay gặp. Đột biến thường xảy ra nhất ở vị trí P.Arg468 và thường gây kiểu hình nặng [2],[49],[50].

*** Gen *SGSH*** mã hóa enzym heparan-N-sulphatase (gây MPS IIIA) là gen lặn nằm ở vị trí 17q25.3, dài 11kb, gồm 8 exon, mã hóa cho phân tử protein gồm 502 acid amin. MPS IIIA là loại phổ biến nhất của bệnh nhân

Sanfilippo Bắc Âu như: Đức, Pháp, Hà Lan, Anh, Thụy Sĩ, Czech và hiện nay là Tây Ban Nha (có thể là do việc di dân từ trung Âu). Cho đến nay, có 139 đột biến gây bệnh trên gen này đã được xác định bao gồm: 106 đột biến sai nghĩa và vô nghĩa, 17 đột biến mất đoạn nhỏ, 9 đột biến thêm đoạn nhỏ, 3 mất đoạn lớn, 2 đột biến ở vị trí cắt nối, 1 đột biến phối hợp thêm và nhân đôi đoạn lớn [2],[51].

*** Gen *NAGLU*** mã hoá cho enzym α N acetylglucosaminidase (gây MPS IIIB) là gen lặn nằm ở vùng 17q21.1, dài 8,3kb gồm 6 exon và mã hóa cho phân tử protein gồm 720 acid amin. Hiện nay, có 153 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện. Các đột biến bao gồm 104 đột biến sai nghĩa và vô nghĩa, 23 mất đoạn nhỏ, 13 thêm đoạn nhỏ, 5 đột biến vị trí cắt nối, 4 đột biến mất đoạn lớn, 3 đột biến thêm đoạn lớn và nhân đôi [2],[51].

*** Gen *HGSNAT*** mã hoá cho enzym acetyl-CoA: α glucosaminidase N acetyltransferase (gây MPS IIIC) là gen lặn nằm ở vùng 8p11.1, dài 62,5kb gồm 18 exon mã hóa cho phân tử protein gồm 635 acid amin. Cho đến nay 64 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện gồm 27 đột biến sai nghĩa, 13 đột biến ở vị trí cắt nối, 9 đột biến vô nghĩa, 5 đột biến mất đoạn nhỏ, 5 đột biến thêm đoạn nhỏ, 2 đột biến mất đoạn lớn, 1 đột biến nhân đôi đoạn lớn, 1 xắp xếp lại [2],[51].

*** Gen *GNS*** mã hoá cho enzym N acetylglucosamine 6 sulphatase (gây MPS IIID) là gen lặn nằm ở vùng 12q14.3, dài khoảng 46kb gồm 14 exon mã hóa phân tử protein gồm 552 acid amin. MPS IIID là dạng hội chứng MPS III hiếm gặp nhất. Nghiên cứu 2003 về MPS IIID thế giới mới ghi nhận được 12 ca. Cho tới nay 23 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện bao gồm 7 đột biến sai nghĩa và vô nghĩa, 4 đột biến mất đoạn nhỏ, 4 đột biến thêm

đoạn nhỏ, 3 đột biến vị trí cắt nối, 2 đột biến mất đoạn lớn, 2 đột biến xắp xếp lại phức hợp [2],[51].

*** Gen *GALNS*** mã hoá cho enzym N acetylgalactosamin 6 sulphatase (gây MPS IVA) là gen lặn đã được xác định là nằm ở vùng 16q24.3, dài 50kb gồm 14 exon mã hóa cho phân tử protein gồm 522 acid amin. Gần 180 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện trong đó chủ yếu là các đột biến sai nghĩa (69%), đột biến mất đoạn nhỏ (12%), đột biến ở vị trí cắt nối (9%), đột biến vô nghĩa (6%), đột biến thêm đoạn (3%), mất đoạn lớn (1%) [2],[27].

*** Gen *GLB1*** mã hoá cho enzym β galactosidase (gây MPS IVB) đã được xác định là nằm ở vùng 3p21.33, dài khoảng 2,5kb gồm 16 exon mã hóa cho phân tử protein gồm 677 acid amin [20]. Hiện nay hơn 160 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện. Đột biến gen *GLB1* chủ yếu gây bệnh gangliosidosis (GM1), một phần nhỏ gây MPS IVB [2],[52],[53].

*** Gen *ARSB*** mã hoá cho enzym N acetylgalactosamine 4 sulfatase (gây MPS VI) đã được xác định là nằm ở vị trí 5q11-q13, có kích thước khoảng 440kb gồm 8 exon mã hóa cho phân tử protein gồm 533 acid amin. Hơn 164 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện, phần lớn là đột biến điểm như đột biến sai nghĩa và vô nghĩa, còn lại là đột biến mất đoạn, thêm đoạn, sắp xếp lại, đột biến ở vị trí cắt nối [2],[54],[55].

*** Gen *GUSB*** mã hoá cho enzym β glucuronidase (gây MPS VII) đã được xác định là nằm ở vùng 7q21.11, dài khoảng 20kb gồm 12 exon. Gần 50 đột biến gây bệnh trên gen này đã được phát hiện trong đó 78,6% là đột biến sai nghĩa, 12,6% là đột biến vô nghĩa, 5,8% là đột biến mất đoạn, 2,9% là đột biến ở vị trí cắt nối [2],[33].

*** Gen *HYAL*1** mã hoá cho enzym hyaluronidase (gây MPS IX) đã được xác định là nằm ở vùng 3p21.31 gồm 3 exon [2].

1.1.6. Chẩn đoán

1.1.6.1. Chẩn đoán xác định

Khi có ≥ 1 triệu chứng trong những triệu chứng nghi ngờ MPS như: Biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, tăng động, đục giác mạc, thoát vị bẹn hoặc rốn, gan và/hoặc lách to, tổn thương van tim, giảm thính lực, lùn [14],[55],[56],[57].

Xét nghiệm GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi hoặc trong huyết thanh giảm dưới 10% chỉ số bình thường (đây là tiêu chuẩn quan trọng để chẩn đoán MPS khi chưa có xét nghiệm phân tích gen).

Phân tích gen tìm đột biến [14],[56],[57],[58].

1.1.6.2. Chẩn đoán trước sinh

Chẩn đoán trước sinh là sử dụng các phương pháp xét nghiệm phát hiện bệnh lý, dị tật khi thai còn trong tử cung trước khi đứa trẻ được sinh ra. Các phương pháp thường dùng cho chẩn đoán trước sinh là nuôi cấy tế bào ối hoặc tế bào gai rau, sử dụng phương pháp di truyền tế bào, di truyền phân tử để phát hiện các bất thường của nhiễm sắc thể hoặc đột biến gen, chẩn đoán bệnh cho thai nhi. Chẩn đoán trước sinh nhằm phát hiện sớm để can thiệp điều trị trong thai kỳ, ngay sau đẻ hoặc quyết định hủy thai có bệnh lý di truyền không thể khắc phục được với mục đích là giảm tỷ lệ sinh con dị tật bẩm sinh. Chẩn đoán trước sinh có thể áp dụng cho tất cả các bệnh nhân mucopolysaccharide và những người có nguy cơ cao (anh, chị em của bệnh nhân). Áp dụng cho chẩn đoán trước sinh bệnh MPS là sử dụng các phương pháp xét nghiệm di truyền phân tử để xác định xem thai nhi có bị đột biến gen gây bệnh hay không, khi thai còn trong tử cung bằng phương pháp sinh thiết gai rau hoặc phương pháp chọc ối. Thời gian để tiến hành chọc hút nước ối thường ở tuổi thai 15-18 tuần. Kỹ thuật sinh thiết gai rau được tiến hành sớm

trong 3 tháng đầu của thai kỳ, khoảng từ ngày thứ 70- 90 (tuần thứ 11) tính từ ngày đầu của kỳ kinh cuối. Các bất thường của thai nhi có thể phát hiện sớm hơn so với chọc ối. Do đó, các bệnh lý di truyền bất thường cần phải quyết định chấm dứt thai kỳ sẽ được thực hiện thuận lợi hơn, tránh các gánh nặng về tâm lý và sức khỏe cho thai phụ.

Tất cả các xét nghiệm enzym ứng dụng có thể được sử dụng trên các tế bào phát triển từ nước ối, huyết thanh của mẹ để chẩn đoán trước khi sinh ở những thai nhi nghi ngờ mắc bệnh MPS [3],[58],[59].

1.1.6.3. Sàng lọc sơ sinh và chẩn đoán sớm

Những năm gần đây, sàng lọc sơ sinh đối với MPS đã được triển khai thí điểm tại một số nước phát triển như Mỹ, Đài Loan, Nhật Bản, Hàn Quốc. Hai tiếp cận đã được ứng dụng để sàng lọc sơ sinh là đo hoạt độ enzym bằng giọt máu thấm khô hoặc định lượng các dấu ấn sinh học bằng kỹ thuật phổ khối kép sắc ký lỏng (LC-MS/MS). Một tiếp cận khác là sàng lọc và chẩn đoán sớm từ giai đoạn sơ sinh trên những trẻ có nguy cơ cao nhằm phát hiện sớm bệnh nhân MPS để quản lý theo dõi và điều trị sớm nhằm hạn chế di chứng, giảm thấp tử vong và tàn phế cho trẻ em. Các trẻ sơ sinh có nguy cơ cao gồm các con tiếp theo của cặp bố/mẹ đã có con mắc MPS và bố/mẹ là những người lành mang gen bệnh, các trẻ sơ sinh có các triệu chứng lâm sàng gợi ý như tiền sử phù thai, các mảng sắc tố lan rộng ở da, thậm chí các bất thường bẩm sinh kín đáo của cột sống [8],[9],[10],[11].

Phương pháp thu thập nước tiểu và máu gót chân là phương pháp thuận tiện nhất đối với trẻ sơ sinh, dễ ứng dụng và nguy cơ biến chứng thấp. Thời điểm sàng lọc thường là ngày thứ 3-7 sau sinh. Giọt máu hay nước tiểu được thu thập vào giấy thấm chuyên biệt để định lượng GAGs nước tiểu, đo hoạt độ enzym trong máu, phân tích gen [1],[16],[17].

1.1.7. Điều trị

1.1.7.1 Nguyên tắc điều trị

Dựa trên cơ chế bệnh sinh của bệnh bao gồm:

- Hạn chế cơ chất gây độc bằng cách sử dụng các chế phẩm sữa hoặc sản phẩm dinh dưỡng đã hạn chế hoặc loại bỏ các cơ chất gây độc.
- Tăng cường hoạt độ của enzym bị thiếu hụt hoặc thay thế enzym thiếu hụt, bổ xung các co-enzym (các vitamin).
- Cung cấp các sản phẩm thiếu hụt và loại bỏ các chất chuyển hóa trung gian gây độc.

Hiện nay trên thế giới đã có nhiều báo cáo công bố các nghiên cứu điều trị mới bệnh MPS ngoài việc điều trị triệu chứng bao gồm: Ghép tế bào gốc từ tủy xương, liệu pháp enzym thay thế, liệu pháp gen, liệu pháp giảm cơ chất, liệu pháp phân tử nhỏ Chaperone.

1.1.7.2. Điều trị cụ thể

*** Liệu pháp enzym thay thế**: Áp dụng cho thể MPS I, II, IV, VI. Sau khi được đưa vào cơ thể bằng đường tĩnh mạch, các enzym này sẽ được vận chuyển đến lysosome của các tế bào thay thế hoạt động của các enzym bị lỗi.

- Chỉ định:
  - \+ Trẻ < 2 tuổi nhưng được dự đoán mắc kiểu hình nặng hoặc trung bình.
  - \+ Bệnh nhân >2 tuổi nhưng không có chậm phát triển tinh thần nặng.
  - \+ Điều trị kèm trong giai đoạn đầu và giai đoạn sau của ghép tủy xương.

- Ưu điểm:
  + Việc điều trị enzym thay thế càng sớm càng tốt sẽ hạn chế ứ đọng GAGs trong các cơ quan tổ chức, làm giảm phì đại gan lách, cải thiện vận động của khớp, cải thiện triệu chứng hô hấp.
  + Việc kết hợp giữa enzym thay thế và ghép tế bào gốc tạo máu sẽ đưa đến sự thành công cao cho điều trị MPS [6],[7],[60].

*** Liệu pháp ghép tế bào gốc:** Cung cấp các tế bào gốc có khả năng tự làm mới, sinh sản nhanh và thay thế biệt hóa đa chiều thành các tế bào của các tổ chức trong cơ thể. Sự thành công là các tế bào bạch cầu đơn nhân có khả năng vượt qua hàng rào máu não tiết ra enzym trong tế bào thần kinh [5],[6].

- Chỉ định:
  + Bệnh nhân MPS týp I (đặc biệt là thể Hurler) dưới 2,5 tuổi.
  + Bệnh nhân MPS týp II, VI được chẩn đoán sớm khi chưa có biến chứng thần kinh và chưa có biến chứng tim mạch.
- Ưu điểm:
  + Thời gian điều trị ngắn (chỉ thực hiện thủ thuật 1 đến 2 lần, thời gian dùng thuốc chống thải ghép ngắn)
  + Cải thiện vận động, giảm phì đại nội tạng, giảm triệu chứng hô hấp, giảm cơn ngừng thở khi ngủ và ngăn chặn quá trình suy thoái thần kinh trung ương.

*** Liệu pháp giảm cơ chất:** Genistein là isoflavone, loại flavonoids chủ yếu trong đậu nành có tác dụng ngăn chặn việc dẫn truyền tín hiệu qua trung gian yếu tố tăng trưởng biểu bì, điều tiết gen tham gia vào quá trình sinh tổng

hợp GAGs, ức chế tổng hợp GAGs trong nguyên bào sợi da được nuôi cấy của bệnh nhân MPS I, II, IIIA, IIIB [7],[51],[61],[62].

* **Liệu pháp gen**: Giúp sửa đổi bất thường DNA để sản xuất ra enzym thiếu hụt. Người ta sử dụng các vector khác nhau mang gen thiếu hụt trong các mô hình động vật mắc MPS. Hiện nay đã có nhiều cách chuyển gen khác nhau được thử nghiệm trên chuột mắc MPS II, III, VII [7],[44],[51],[62].

* **Liệu pháp phân tử nhỏ CHAPERONE:** Enzym lysosome được tổng hợp và bài tiết vào mô lưới nội chất ở tình trạng phần lớn không cuộn xoắn. Hệ thống lưới nội bào kiểm soát theo cách chỉ cho các protein cuộn xoắn đúng được vận chuyển đến cơ quan Golgi để tiếp tục trưởng thành. Các enzym bị cuốn nhầm sẽ nhanh chóng bị proteasomes làm suy biến. Các "chaperones" liên kết với protein mới được tổng hợp làm gia tăng sự ổn định của protein. Những protein đột biến đã được "chaperoned hóa" vận chuyển được ra khỏi lưới nội chất, thúc đẩy việc xử lý và dẫn đường các enzym đột biến tới lysosome. Kết quả là enzym vẫn có thể thực hiện chức năng của mình dù ban đầu bị cuốn nhầm do đột biến sai nghĩa. Các chaperone có kích thước rất nhỏ có thể vượt qua hàng rào máu não, do đó chaperone có hiệu quả trong điều trị MPS III [7],[44],[51],[62].

* **Điều trị triệu chứng:** Là biện pháp quan trọng cần tiến hành sớm với tất cả các thể, giúp cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân đặc biệt đối với bệnh nhân chưa được điều trị liệu pháp enzym thay thế hay ghép tế bào gốc.

- Điều trị hỗ trợ: Nội khoa và ngoại khoa.
- Gây mê : Bệnh nhân MPS dễ tử vong đột ngột trong phẫu thuật do gây mê. Nguyên nhân thường do: Cổ ngắn lại biến dạng, tắc nghẽn đường hô hấp trên do tăng tiết dịch (do viêm nhiễm liên tục) hay do

lắng đọng các chất trung gian của quá trình chuyển hóa, đặt nội khí quản khó, có thể phải mở khí quản, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, cơn ngừng thở khi ngủ, bệnh van tim, não úng thủy có thể gây ức chế trung khu hô hấp dẫn đến ngừng thở. Các bệnh nhân MPS khi cần phẫu thuật phải được tiến hành ở các bệnh viện lớn nơi có nhiều chuyên gia về các lĩnh vực MPS [63].

- Phục hồi chức năng: Nên được bắt đầu sớm, tập cử động tất cả các khớp.

1.1.8. Tư vấn di truyền

Tư vấn di truyền là một biện pháp hết sức quan trọng trong việc phòng bệnh di truyền nói chung, cũng như bệnh lý của bệnh MPS. Hồ sơ bệnh án của bệnh nhân và các thành viên trong gia đình, dòng họ sẽ được quản lý tại phòng tư vấn di truyền. Các thông tin của mỗi bệnh nhân và gia đình giúp cho các bác sĩ có cơ sở khoa học để tư vấn tiền hôn nhân, tránh kết hôn cận huyết, tránh kết hôn với người bị bệnh hoặc mang gen dị hợp tử. nếu hai người mang gen dị hợp tử kết hôn với nhau cần phải được tư vấn di truyền trước khi kết hôn, quản lý thai nghén và cần thiết phải chẩn đoán trước sinh để tránh sinh ra con bị bệnh.

Lời khuyên di truyền được các bác sĩ đưa ra cho cặp vợ chồng về khả năng bị bệnh của con họ, cho một cá thể trước khi kết hôn và sự lựa chọn khả năng sinh con của họ. Lời khuyên di truyền gồm: Phương pháp điều trị, nuôi dưỡng của trẻ bị bệnh, phương pháp phòng bệnh cho gia đình, cho các thành viên khác của dòng họ, khả năng điều trị bệnh di truyền của thai nhi để gia đình quyết định lựa chọn sinh con hay đình sản [44],[45].

1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU BỆNH MPS Ở VIỆT NAM

Báo cáo đầu tiên tại Việt Nam là của Vũ Chí Dũng và các cộng sự năm 2006 về chẩn đoán các thể bệnh trên 19 bệnh nhi được chẩn đoán là MPS tại bệnh viện Nhi Trung ương. Bước đầu các tác giả đã chẩn đoán xác định được thể MPS I, MPS II, MPS IVA và MPS VI [64].

Năm 2010 tác giả kết hợp với các cộng sự ở trường đại học tổng hợp Saint Louis, Missouri Hoa Kỳ phân tích đột biến gen *GALNS* trong chẩn đoán trước sinh của bệnh MPS IVA từ tế bào gai rau trước và sau nuôi cấy [65].

Năm 2011 tác giả và cộng sự tiếp tục tìm hiểu mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của 5 bệnh nhân MPS IVA tại viện Nhi Trung ương. Tác giả đã phát hiện được 1 đột biến mất đoạn mới (c.405-422+1del19) và 1 đột biến cắt nối mới (c.320-1G>T), các đột biến của 5 bệnh nhân đều phù hợp với kiểu hình [66].

Năm 2012 Lê Minh Khôi và cộng sự báo cáo 1 ca lâm sàng hội chứng Hunter có hở van 2 lá đã được phẫu thuật sửa van và tổng quan tài liệu [15].

Chương 2
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Nhi Trung ương trong thời gian từ 1/1/2012 đến 31/12/2015.

Các xét nghiệm GAGs nước tiểu, hoạt độ enzym được thực hiện ở Phòng xét nghiệm Di truyền, Bệnh viện Đại học Quốc gia Đài Loan. Phân tích gen ở Phòng Xét nghiệm Di truyền, Trung tâm Y khoa Asan - Seoul - Hàn Quốc.

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Bao gồm 56 bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc bệnh Mucopolysaccharide theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Thomas J. A. Lehman và cộng sự 2011 [58].

2.2.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân

Bệnh nhân được chọn vào nghiên cứu khi đáp ứng các điều kiện sau:

*** Tiêu chuẩn lâm sàng:** Bệnh nhân có một triệu chứng hoặc nhiều hơn trong số các triệu chứng nghi ngờ MPS sau:

- Chậm phát triển tinh thần, trí nhớ giảm, có thể tăng động;
- Bộ mặt thô (đầu to, trán dô, mũi tẹt, cánh mũi bè to, môi dày, lưỡi to);
- Biến dạng xương khớp;
- Cứng khớp hoặc dây chằng lỏng lẻo;
- Thoát vị rốn hoặc thoát vị bẹn; các mảng sắc tố xanh của da;
- Lùn không rõ nguyên nhân hoặc lùn kết hợp với các triệu chứng nêu trên;
- Gan và/hoặc lách to;

- Tai giảm thính lực, điếc;
- Mắt bị đục giác mạc;
- Tổn thương van tim có thể suy tim;
- Có tiền sử gia đình (là anh, chị, em ruột của bệnh nhân MPS).

*** Tiêu chuẩn xét nghiệm:**

- Hoạt độ của 1 trong 10 enzym trong bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc trong huyết tương giảm < 10% so với bình thường (tiêu chuẩn bắt buộc khi chưa có kết quả phân tích gen) (phụ lục 2).
- Xét nghiệm Glycosaminoglycan toàn phần trong nước tiểu tăng.

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Những bệnh nhân mà gia đình không đồng ý hợp tác tham gia xét nghiệm trong quá trình nghiên cứu.

Những bệnh nhân MPS thiếu các thông tin cần thiết như ghi chép không đầy đủ khi thăm khám lâm sàng, thiếu xét nghiệm enzym dù lâm sàng có đầy đủ triệu chứng.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

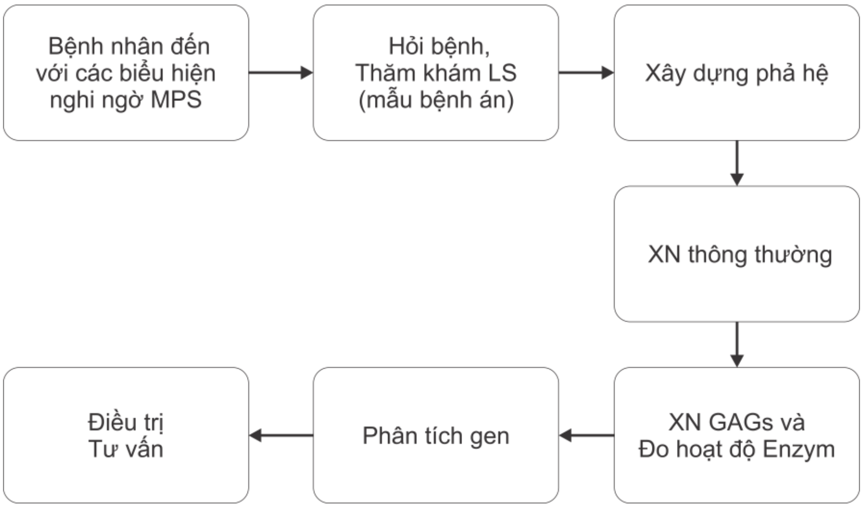
Nghiên cứu một loạt các ca bệnh bao gồm mô tả cắt ngang và theo dõi tiến cứu.

2.3.2. Mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu được lựa chọn theo phương thức chọn mẫu tiện ích: Thu thập số liệu từ tất cả những bệnh nhân có đủ tiêu chuẩn nghiên cứu tại bệnh viện Nhi Trung ương từ 1/1/2012 - 31/12/2015.

2.3.3. Biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập thông tin

2.3.3.1. Sơ đồ nghiên cứu



(XN thông thường: Ure – Creatinine máu, SGOT – SGPT, Canxi, Phốt pho, ALP, Điện giải đồ, tổng phân tích nước tiểu. Xquang, siêu âm…)

Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

2.3.3.2. Các biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập thông tin cho mục tiêu 1

Tất cả những bệnh nhân thuộc diện nghiên cứu sẽ được thăm khám thu thập số liệu theo một mẫu bệnh án thống nhất (phụ lục 1). Các thông tin được thu thập theo quy trình sau:

**** Hỏi bệnh sử và tiền sử bệnh nhân bằng phỏng vấn trực tiếp bố mẹ bệnh nhân:***

- Tuổi, giới, bệnh nhân là con thứ mấy. Tuổi được tính theo tháng (30 ngày là 1 tháng, 12 tháng là 1 tuổi).
- Lý do vào viện
- Khai thác bệnh sử: Triệu chứng xuất hiện đầu tiên, thời gian xuất hiện. Các triệu chứng tiếp theo, diễn biến đến khi vào viện.

- Tiền sử khi mang thai, hình thức sinh của bệnh nhân, cân nặng khi sinh.
- Tiền sử gia đình: Trong gia đình có anh chị em ruột bị bệnh hay không?

  Tiền sử kết hôn cận huyết thống: họ hàng bậc một (anh chị em ruột, các con), họ hàng bậc hai (chú bác, cô dì ruột, cháu ruột), họ hàng bậc ba (anh chị em họ).

**** Khám và đánh giá sự phát triển thể chất:***

Kết quả tăng trưởng được đánh giá theo bảng chuẩn tăng trưởng trẻ em của Tổ chức Y tế thế giới (WHO)-2006 [67].

- Cân nặng (kg): Khi cân, cho trẻ mặc quần áo mỏng. Bệnh nhân được chẩn đoán là suy dinh dưỡng thể nhẹ cân (underweight) ở mức độ vừa khi có chỉ số cân nặng theo tuổi < -2SD so với quần thể tiêu chuẩn WHO-2006; ở mức độ nặng và rất nặng khi có chỉ số cân nặng theo tuổi < -3SD so với quần thể tiêu chuẩn WHO-2006.
- Chiều cao (cm): Đo chiều dài nằm đối với trẻ ≤ 24 tháng; đo chiều cao đứng ở trẻ > 2 tuổi. Bệnh nhân được chẩn đoán là suy dinh dưỡng thể thấp còi khi có chỉ số chiều cao theo tuổi (ở trẻ ≤ 24 tháng được gọi là chỉ số chiều dài nằm theo tuổi) <-2SD so với quần thể tiêu chuẩn WHO-2006. Bệnh nhân khi vào viện được xếp loại là lùn khi trị số chiều cao trung bình theo tuổi thấp hơn - 3SD so với chuẩn tăng trưởng.
- Vòng đầu (cm): Bệnh nhân được xác định là có vòng đầu nhỏ khi đường kính qua ụ chẩm - trán nhỏ hơn trị số trung bình - 2SD của trẻ Việt Nam cùng tuổi.

**** Khám và đánh giá sự rối loạn phát triển hình thái***

- Bộ mặt thô: Trẻ có những đặc điểm như đầu to, trán dô, mũi tẹt, cánh mũi to bè, môi dày, lợi và lưỡi phì đại, răng mọc bất thường.

- Biến dạng các xương: Khám và chụp X-quang thấy thay đổi hình dạng, kích thước, cấu trúc, mật độ của xương. Nhận định theo sự thống nhất kết luận của bác sỹ lâm sàng và bác sỹ chuyên khoa X quang.
- Xương ức biến dạng: Khám thấy xương ức nhô ra trước (ngực ức gà) hoặc lõm xuống.
- Cứng khớp: Khám thấy vận động của khớp bị hạn chế so với bình thường.
- Dây chằng khớp cổ tay lỏng lẻo: Khám khớp cổ tay thấy biên độ vận động của khớp vượt quá giới hạn bình thường (mu tay thường chạm được vào cẳng tay).
- Khám phát hiện thoát vị rốn: Khám thấy 1 khối tròn nổi lên ngay tại vị trí lỗ rốn, khối thoát vị to lên khi trẻ khóc, ho, ưỡn bụng.
- Khám và siêu âm phát hiện thoát vị bẹn: Khối phồng lên ở vùng bẹn, vùng bìu. Khối phồng lúc mất lúc có. Khối phồng to lên khi trẻ khóc, phình bụng.
- Phát hiện gan, lách to bằng khám lâm sàng và siêu âm ổ bụng tại khoa chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Nhi Trung ương [68],[69].

**** Khám hô hấp:*** Bệnh nhân được đo nhịp thở, đánh giá mức độ suy hô hấp, khám họng, nghe phổi. Nhịp thở của bệnh nhân được so sánh với nhịp thở bình thường theo tuổi của trẻ: Đánh giá

- Trẻ < 2 tháng : > 60 lần/ phút là thở nhanh
- Trẻ 2 tháng - 1 tuổi: > 50 lần/ phút là thở nhanh
- Trẻ 1 - 5 tuổi: > 40 lần/ phút là thở nhanh
- Trẻ > 5 tuổi: > 30 lần/ phút là thở nhanh

**** Khám tim mạch:*** Bệnh nhân được bắt mạch, nghe tim, đánh giá mức độ suy tim. Nhịp tim của bệnh nhân được so sánh với nhịp tim bình thường theo tuổi của trẻ: Nhịp tim bình thường của trẻ.

- Từ 2 tháng - 1 tuổi là < 150 lần/ phút
- Từ 1- 2 tuổi là < 120 lần/ phút
- Từ 2- 8 tuổi là < 110 lần/ phút

Bệnh nhân được làm điện tâm đồ, siêu âm tim để phát hiện những bất thường của tim tại khoa chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Nhi trung ương.

**** Trẻ được khám tại chuyên khoa tai mũi họng:*** Đo thính lực

**** Trẻ được khám tại chuyên khoa mắt:*** Phát hiện đục giác mạc và các tổn thương khác.

**** Đánh giá sự phát triển tâm thần - vận động:*** Tất cả bệnh nhân được đánh giá bởi chuyên gia tâm bệnh của viện Nhi Trung ương theo mẫu nhất định (phụ lục 3).

- Bệnh nhân dưới 6 tuổi được đánh giá bằng test DENVER II.
- Bệnh nhân trên 6 tuổi dựa vào chỉ số IQ, sử dụng test Raven. Ngoài ra để đánh giá sự phát triển tâm thần của trẻ trên 6 tuổi chúng tôi còn dựa vào khả năng đi học và học lực của trẻ bao gồm: Tuổi bắt đầu đến trường, học lực của trẻ (dựa vào kết quả xếp loại cuối năm của nhà trường: giỏi, khá, trung bình, yếu).
- Các trắc nghiệm do các cử nhân tâm lý của Bệnh viện Nhi Trung ương tiến hành khi bệnh nhân được gọi đến kiểm tra. Kết quả được đánh giá cụ thể theo bốn khả năng trên và tính theo thương số phát triển theo công thức của Stern W đưa ra 1992:

$$\textbf{IQ (DQ)} = \frac{\textbf{Tuổi tinh thần}}{\textbf{Tuổi thực}} \times \textbf{100}$$

- Kết quả phân loại dựa theo % trẻ làm được, chia theo bốn mức độ và trên từng khả năng như sau [70]:

+ Chỉ số phát triển ≥ 75%: Bình thường
+ Chỉ số phát triển từ > 66,7 - < 75%: Chậm phát triển mức độ nhẹ
+ Chỉ số phát triển từ > 50 - ≤ 66,7%: Chậm phát triển mức độ vừa
+ Chỉ số phát triển ≤ 50%: Chậm phát triển mức độ nặng trầm trọng

- Động kinh

+ Bệnh nhân nào có cơn co giật sẽ được khám chuyên khoa thần kinh để chẩn đoán động kinh thông qua hỏi bệnh, dấu hiệu lâm sàng và xét nghiệm điện não đồ (điện não đồ tại khoa chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Nhi Trung ương).
+ Bệnh nhân được chẩn đoán động kinh khi có dấu hiệu lâm sàng là có co giật, hoặc cơn giật cơ, hoặc cơn vắng ý thức và có thay đổi sóng điện não trên điện não đồ.
+ Nếu bệnh nhân có thay đổi sóng điện não đồ, nhưng trên lâm sàng không có dấu hiệu của động kinh, cũng không được chẩn đoán là động kinh.

**** Trẻ được thu thập mẫu máu cho xét nghiệm công thức máu*** tại Khoa Huyết học, Bệnh viện Nhi Trung ương, sử dụng máy đếm tế bào máu ADVIA 2120i của hãng Siemens, có kiểm chuẩn hàng tháng. Các xét nghiệm Ure, creatinine, Bilirubine (toàn phần, trực tiếp), SGOT- SGPT, Canxi, Photphatase kiềm, T3, T4, TSH huyết thanh, xét nghiệm tổng phân tích nước

tiểu được tiến hành tại khoa Sinh hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương bằng phương pháp đo quang, sử dụng máy Au5800 của hãng Beckman Coulter. Cả hai phòng xét nghiệm này đã được công nhận ISO 15189. Kết quả được so sánh với chỉ số bình thường thống nhất của phòng xét nghiệm.

**** Chụp X Quang xương sọ, cột sống, khung chậu, xương chi*** 2 bên theo 2 tư thế thẳng và nghiêng, chụp tim phổi tại khoa chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Nhi trung ương. Kết quả được nhận định dựa vào sự thống nhất của bác sỹ lâm sàng và bác sỹ chuyên khoa chẩn đoán hình ảnh.

**** Chụp MRI sọ não và/hoặc cột sống*** khi điều kiện bệnh nhân cho phép gây mê an toàn. Nhận định kết quả theo kết luận của bác sỹ chuyên khoa.

**** Xét nghiệm GAGs toàn phần trong nước tiểu:*** Mỗi bệnh nhân được thu thập 10 ml nước tiểu tươi, được bảo quản bằng gel lạnh trong suốt quá trình vận chuyển và được phân tích GAGs trong vòng 3 ngày tại Khoa xét nghiệm Di truyền Y học, Bệnh viện Nhi, Trường Đại học Quốc gia Đài Loan.

- Định lượng GAGs toàn phần trong nước tiểu được tiến hành theo phương pháp dimethyl-methylene blue (DMB) binding assay sử dụng BlyscanTM Sulfated Glycosaminoglycan Assay Kit từ Biocolor Ltd (www.biocolor.co.uk) [40].
- Nồng độ GAGs sẽ được tính theo đơn vị mg GAGs/gram creatinine. Nồng độ GAGs đo được ở các mẫu bệnh phẩm sàng lọc sẽ được so sánh với trị số bình thường theo tuổi (giá trị bình thường của phòng xét nghiệm - phụ lục 2).

**** Đo hoạt độ enzym:***

- Bệnh phẩm là 10 ml máu chống đông bằng K3-EDTA và được bảo quản bằng gel lạnh trong suốt quá trình vận chuyển, phân tích mẫu bệnh phẩm

trong vòng 3 ngày tại Phòng xét nghiệm Di truyền, Bệnh viện Nhi, Trường Đại học Quốc gia Đài Loan.

- Ly tâm tách bạch cầu và plasma.
- Bệnh phẩm bạch cầu máu ngoại vi được sử dụng để đo hoạt độ các enzym cho các thể bệnh: MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI, VII (phụ lục 2).
- Bệnh phẩm plasma được sử dụng để đo hoạt độ enzym cho các thể MPS II, IVB và IIIB (phụ lục 2).
- Phương pháp: 4MU-Fluorometric assay hoặc Spectrophotometric assay.
- Hoạt độ enzyme được tính theo mg protein và đối chiếu với giá trị tham chiếu của phòng xét nghiệm (phụ lục 2).

2.3.3.3. Phương pháp thu thập số liệu cho mục tiêu 2

* Các bệnh nhân khi hỏi bệnh sẽ được lập phả hệ di truyền.

* Đánh giá mức độ nặng: Tùy thuộc vào độ tuổi phát bệnh, bệnh tiến triển nhanh hay chậm và có bị chậm phát triển tinh thần hay không, mức độ chậm phát triển tinh thần nhẹ hay nặng mà bệnh nhân MPS được chia thành các mức độ nặng nhẹ khác nhau.

- MPS I: Được chia làm ba mức độ (3 thể): Hội chứng Hurler (MPS IH), hội chứng Hurler-Scheie (MPS IH/S), hội chứng Scheie (MPS IS) (phụ lục 2).
- MPS II, MPS IVA, MPSVI: Được chia làm 3 mức độ (3 thể): Thể nặng, thể trung bình, thể nhẹ (phụ lục 2).

* Chỉ định phân tích đột biến của gen mã hóa cho enzym tương ứng:

- Chiết tách DNA từ bạch cầu lympho máu ngoại vi tại khoa di truyền và sinh học phân tử bệnh viện Nhi Trung ương: Mỗi bệnh nhân có chỉ định phân tích phân tử được lấy 2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA sử dụng kit − QiaAmp DNA blood mini kit (Qiagen, Germany). Đo kiểm tra nồng độ DNA bằng máy đo nồng độ Nano Drop 1000 (Thermo).
- Bệnh phẩm DNA được phân tích tại Phòng Xét nghiệm Di truyền, Trung tâm di truyền Y học Asan, Thành phố Seoul, Hàn Quốc. Tất cả các exon và vùng gắn nối exon-intron của các gen này được khuyếch đại bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình tự trực tiếp bằng phương pháp Sanger. Phản ứng giải trình tự được phân tích trên hệ thống ABI Prism 3730 DNA automatic sequencer (Applied Biosystems, Warrington, UK) và được so sánh với trình tự gen đã được công bố, sử dụng "Mutation Surveyor version 3.24" (Softgenetics PA, USA) (phụ lục 2).
- Nhận định kết quả phân tích gen:
  + Đột biến đồng hợp tử: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố và mẹ ở cùng một vị trí trên gen.
  + Đột biến dị hợp tử kép: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố và mẹ ở vị trí khác nhau trên gen.
  + Đột biến dị hợp tử từ bố hoặc mẹ: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố hoặc mẹ. Trong khi đó mẹ hoặc bố còn lại là không có đột biến.
- Vai trò nghiên cứu sinh trong quá trình phân tích gen: Nghiên cứu sinh thu thập bệnh phẩm máu ngoại vi, điền các thông tin bệnh nhân (tiền sử, lâm sàng, xét nghiệm) vào mẫu bệnh án và chiết tách DNA, sau đó gửi DNA sang Trung tâm Di truyền Y học Asan. Khi nhận được kết quả xét nghiệm, nghiên cứu sinh sẽ phân tích, nhận định kết quả, đối chiếu với kiểu hình và có kế hoạch điều trị tiếp theo.

- Vai trò của nhóm phối hợp nghiên cứu ở nước ngoài: Tiến hành giải trình tự các gen tìm đột biến. Nếu có đột biến sẽ cung cấp thông tin đầy đủ về gen bị đột biến, vị trí đột biến, thay đổi trên protein, hậu quả đột biến, dạng đột biến.

2.4. XỬ LÝ VÀ PHÂN TÍCH SỐ LIỆU

2.4.1. Làm sạch số liệu

Các phiếu bệnh án đã thu thập phải được kiểm tra trước và sau khi nhập số liệu.

2.4.2. Cách mã hóa

Số liệu được nhập vào máy tính trên phần mềm Epidata 3.0, các thông tin được mã hóa bằng số hoặc ký tự riêng.

2.4.3. Xử lý số liệu

Các số liệu đã thu thập được của nghiên cứu sẽ được xử lý theo thuật toán thống kê y học trên máy vi tính bằng phần mềm STATA 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. Các biến định lượng phân bố không chuẩn sẽ thể hiện dưới dạng trung vị và tứ phân vị. Các biến số định tính, chúng 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 nếu số liệu phân bố chuẩn. Các test phi tham số cũng được ứng dụng nếu các giả định của test tham số không thỏa mãn. Các phép kiểm định, so sánh có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Đề tài tuân thủ chặt chẽ theo đạo đức nghiên cứu trong Y học. Gia đình bệnh nhân hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Gia đình bệnh nhân được thông báo kết quả xét nghiệm đồng thời được giải thích về diễn biến bệnh, khả năng điều trị, tiên lượng bệnh và tư vấn di truyền để gia đình hợp tác với các bác sĩ. Bác sĩ theo dõi lâu dài cho bệnh nhân và các thành viên trong gia đình bệnh nhân. Các thông tin của bệnh nhân và gia đình sẽ được đảm bảo bí mật.

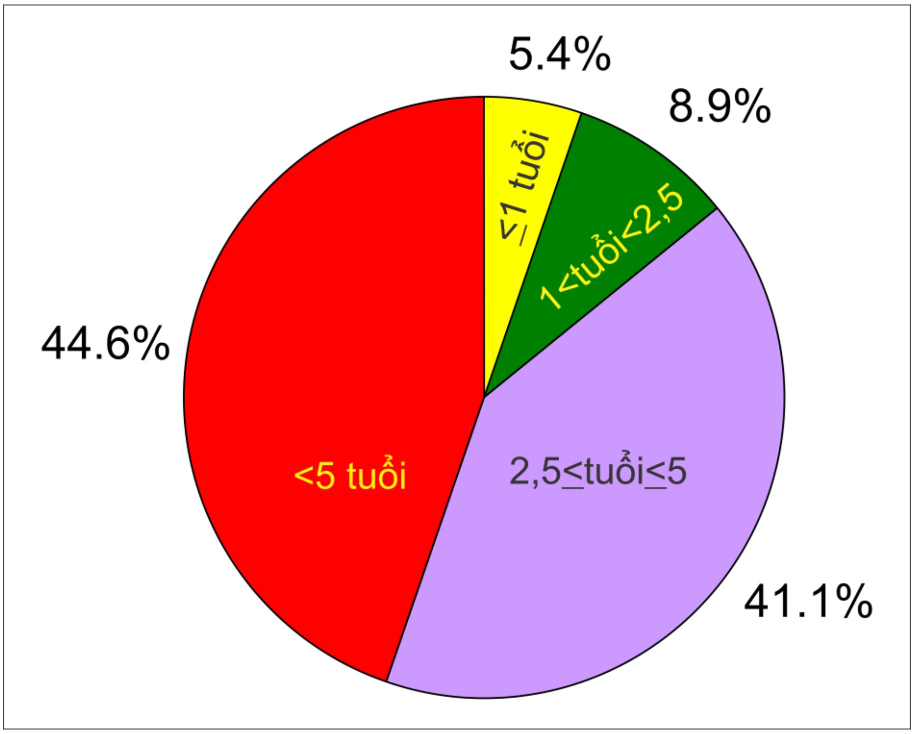
Đề tài được sự chấp thuận của hội đồng y đức bệnh viện Nhi trung ương (ngày chấp thuận: 21/2/2012).

Chương 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian từ 1/1/ 2012 đến 31/12/ 2015, chúng tôi tiến hành khám và chẩn đoán xác định thể cho 56 bệnh nhân MPS. Xét nghiệm phân tích phân tử được thực hiện trên 27 bệnh nhân. Kết quả thu được như sau:

3.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU

3.1.1. Phân bố đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi



Hình 3.1. Biểu đồ phân bố đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi

Nhận xét:

- Nhóm tuổi chẩn đoán gặp nhiều nhất là nhóm hơn 5 tuổi (44,6%).
- Chỉ có 5,4% trẻ được chẩn đoán bệnh trước 1 tuổi và 8,9% trẻ được chẩn đoán ở độ tuổi 1 đến 2,5.

3.1.2. Phân bố theo thể và giới

Bảng 3.1. Phân bố theo thể và giới

Thể bệnh	**Nam**	**Nữ**	**Tổng**	**Tỷ lệ %**
Thể MPS I	1	4	5	8,9
Thể MPS II	26	1	27	48,2
Thể MPS III	1	1	2	3,6
Thể MPS IVA	9	4	13	23,2
Thể MPS VI	6	3	9	16,1
Tổng	**43 (76,8%)**	**13 (23,2%)**	**56**	**100**

Nhận xét: Nhóm MPS II chiếm tỷ lệ cao nhất 48,2%, sau đó đến MPS IVA, MPS VI. Nhóm MPS III gặp khá ít và không có bệnh nhân MPS VII. Tỷ lệ nam trong nhóm nghiên cứu khá cao.

3.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG CỦA BỆNH NHÂN MPS

3.2.1. Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên và tuổi chẩn đoán

Bảng 3.2. Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên và tuổi chẩn đoán

Thể bệnh	**n**	**Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên**	**Tuổi chẩn đoán**
MPS I	5	6 tháng - 2 tuổi (1,1 ± 0,5)	8 tháng - 7,5 tuổi (3,4 ± 2,6)
MPS II	27	0 tháng - 4 tuổi (1,8 ± 1,2)	21 tháng - 13,5 tuổi (5,8 ± 3,9)
MPS IIIA	1	3 tuổi	5,5 tuổi
MPS IIIB	1	2 tuổi	5,2 tuổi
MPS IVA	13	0 - 3 tuổi (1 ± 0,8)	1,3 - 7,5 tuổi (3,9 ± 1,9)
MPS VI	9	0 - 3 tuổi (0,9 ± 1,3)	3 tháng - 7,2 tuổi (3,4 ± 2,6)
TỔNG	**56**	**0 - 4 tuổi** **(1,4** ± 1,1)	**3 tháng - 13,5 tuổi** **(4,7** ± 3,2)

Nhận xét: Từ khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên đến khi được chẩn đoán mất khoảng thời gian từ 2 - 4 năm.

3.2.2. Các triệu chứng xuất hiện đầu tiên của các bệnh nhân MPS

Bảng 3.3. Các triệu chứng xuất hiện đầu tiên của các bệnh nhân MPS

Thể bệnh	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IVA	MPS VI	Tổng	Tỷ lệ (%)
Số lượng ca	5	27	2	13	9	56	100,0
Biến dạng xương	2			12	4	18	32,1
Cứng khớp	1	12			2	15	26,8
Chậm phát triển tinh thần	1	7		1		9	16,1
Chậm nói		5				5	8,9
Tăng động		1	2			3	5,4
Mặt thô		1			1	2	3,6
Rậm lông					2	2	3,6
Thoát vị bẹn hoặc rốn	1	1				2	3,6

Nhận xét: Triệu chứng đầu tiên xuất hiện ở các bệnh nhân MPS được gia đình phát hiện chiếm tỷ lệ cao nhất là biểu hiện biến dạng xương (32,1%), tiếp theo là cứng khớp (26,8%), chậm phát triển tinh thần (16,1%).

3.2.3. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS I

(Tuổi từ 8 tháng đến 7,5 tuổi), (1 nam và 4 nữ).

Bảng 3.4. Các triệu chứng lâm sàng của 5 bệnh nhân MPS I

Triệu chứng	n/N	Tỷ lệ (%)
Bộ mặt thô	5/5	100.0
Biến dạng xương	5/5	100,0
Đục giác mạc	5/5	100,0
Cứng khớp	4/5	80,0
Biến dạng xương ức	4/5	80,0
Chậm phát triển tinh thần	4/5	80,0
Giảm thính lực	3/4	75,0
Lùn	3/5	60,0
Gan hoặc lách to	3/5	60,0
Thoát vị bẹn hoặc rốn	3/5	60,0
Tổn thương van tim	2/5	40,0
Có tiền sử gia đình	1/5	20,0

Nhận xét: Các triệu chứng gặp với tỷ lệ cao ở bệnh nhân MPS I bao gồm: Mặt thô, biến dạng xương, đục giác mạc (5/5 ca). Tiếp theo là cứng khớp, biến dạng xương ức, chậm phát triển tinh thần và giảm thính lực. Biểu hiện lùn, gan hoặc lách to, thoát vị bẹn hoặc rốn cũng gặp ở 3/5 ca.

Ảnh bệnh nhân MPS I trong nghiên cứu:

Bệnh nhân số 2 (4 tuổi 1 tháng)

Hình 3.2. Hình ảnh minh họa bệnh nhân MPS I (Hurler) nghiên cứu

Nhận xét: Bệnh nhân có bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị rốn nặng, nhiều mảng sắc tố trên da.

Bệnh nhân số 1 (5 tuổi)

Hình 3.3. Ảnh minh họa bệnh nhân MPS I (Hurler/Scheie) nghiên cứu

Nhận xét: Bệnh nhân có biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị rốn nhẹ.

3.2.4. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS II

(Tuổi từ 21 tháng đến 13,5 tuổi), (26 nam và 1 nữ)

Bảng 3.5. Các triệu chứng lâm sàng của 27 bệnh nhân MPS II

Triệu chứng (N=27)	**n/N**	**Tỷ lệ (%)**
Bộ mặt thô	27/27	100,0
Cứng khớp	24/27	88,8
Chậm phát triển tinh thần	23/27	85,2
Biến dạng xương	21/27	77,8
Gan hoặc lách to	16/27	59,3
Tổn thương van tim	12/26	46,2
Thoát vị bẹn hoặc rốn	12/27	44,4
Giảm thính lực	8/25	32,0
Lùn	8/27	29,6
Biến dạng xương ức	7/27	25,9
Có tiền sử gia đình	7/27	25,9
Đục giác mạc	0/27	0,0

Nhận xét: Bệnh nhân MPS II có các triệu chứng bộ mặt thô, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, biến dạng xương với tỷ lệ cao. Tiếp theo là biểu hiện gan lách to, tổn thương van tim, thoát vị bẹn hoặc rốn, giảm thính lực và không có bệnh nhân nào bị đục giác mạc.

Ảnh bệnh nhân MPS II trong nghiên cứu

A-B: Bệnh nhân số 21 (14 tuổi); C-D-E: Bệnh nhân số 20 (7,5 tuổi); F-G: Bệnh nhân số 19 (12,5 tuổi); Hai anh em: H: Bệnh nhân số 18 (7,5 tuổi) và K: Bệnh nhân số 17 (12 tuổi).

Hình 3.4. Hình ảnh minh họa bệnh nhân MPS II nghiên cứu

Nhận xét: Các bệnh nhân có bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị rốn. Hai anh em ruột mắc MPS II.

3.2.5. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS III

(Tuổi 5,2 và 5,5 tuổi), (1 nam và 1 nữ)

Bảng 3.6. Các triệu chứng lâm sàng của 2 bệnh nhân MPS III

Triệu chứng	**BN 1 (IIIA)**	**BN 2 (IIIB)**	**Tổng**
Chậm phát triển tinh thần	+	+	2/2
Tăng động	+	+	2/2
Hung tính, kích động	+	+	2/2
Biến dạng xương	+	+	2/2
Cứng khớp	-	±	1/2
Gan, lách to	+	-	1/2
Bộ mặt thô	±	-	1/2
Lùn	-	-	0/2
Biến dạng xương ức	-	-	0/2
Đục giác mạc	-	-	0/2
Giảm thính lực	-	-	0/2
Tổm thương van tim	-	-	0/2

Nhận xét: Chỉ hai bệnh nhân MPS III được chẩn đoán và đều có triệu chứng tăng động, hung tính, dễ bị kích động, chậm phát triển tinh thần, biến dạng xương.

Ảnh bệnh nhân MPS III trong nghiên cứu

(Bệnh nhân số 32 - 5,5 tuổi)

Hình 3.5. Ảnh bệnh nhân MPS IIIA

(Bệnh nhân số 33 - 5 tuổi 2 tháng)

Hình 3.6. Ảnh bệnh nhân MPS IIIB

Nhận xét: Bệnh nhân MPS IIIA có bộ mặt thô nhẹ, cả 2 bệnh nhân đều không rõ biến dạng xương.

3.2.6. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS IVA

(Tuổi từ 1,3 đến 7,5 tuổi), (9 nam và 4 nữ).

Bảng 3.7. Các triệu chứng lâm sàng của 13 bệnh nhân MPS IVA

Triệu chứng	Số bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
Dây chằng lỏng lẻo	13/13	100
Biến dạng xương	12/13	92,3
Biến dạng xương ức	12/13	92,3
Lùn	8/13	61,5
Giảm thính lực	7/12	58,3
Chậm phát triển tinh thần	5/13	38,5
Đục giác mạc	4/13	30,8
Tổn thương van tim	4/13	30,8
Có tiền sử gia đình	3/13	23,1
Bộ mặt thô	2/13	15,4
Gan to	1/13	7,7
Cứng khớp	0/13	0,0
Thoát vị bẹn hoặc rốn	0/13	0,0

Nhận xét: Dây chằng lỏng lẻo, biến dạng xương, biến dạng xương ức là các triệu chứng chiếm tỷ lệ cao của các bệnh nhân MPS IVA. Tiếp theo là biểu hiện lùn, giảm thính lực.

Ảnh bệnh nhân MPS IVA trong nghiên cứu

A(Bệnh nhân số 34, 2 tuổi 7 tháng); B(Bệnh nhân số 35, 7 tuổi 7 tháng); C(Bệnh nhân số 42, 3 tuổi 3 tháng); D(Bệnh nhân số 36, 6 tuổi 10 tháng):

Hình 3.7. Ảnh bệnh nhân MPS IVA trong nghiên cứu (A, B, C, D)

Nhận xét: Các bệnh nhân có biến dạng nhiều xương trong đó lồng ngực biến dạng nặng, xương ức nhô. Ngược lại với các thể MPS khác (đa số là cứng khớp) là các dây chằng rất lỏng lẻo (mu bàn tay áp sát được mặt sau cẳng tay).

3.2.7. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS VI

(Tuổi từ 3 tháng đến 7,2 tuổi)), (6 nam và 3 nữ)

Bảng 3.8. Các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân MPS VI

Triệu chứng (N = 9)	**n/N**	**Tỷ lệ (%)**
Bộ mặt thô	9/9	100.0
Biến dạng xương	7/9	77,8
Cứng khớp	6/9	66.7
Thoát vị bẹn hoặc rốn	6/9	66.7
Biến dạng xương ức	6/9	66,7
Đục giác mạc	5/9	55,6
Tổn thương van tim	4/8	50,0
Nghe kém	2/5	40,0
Chậm phát triển tinh thần	3/8	37,5
Lùn	3/9	33,3
Rậm lông	3/9	33,3
Gan to	2/9	22,2
Có tiền sử gia đình	2/9	22,2

Nhận xét: Các triệu chứng bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị, biến dạng xương ức chiếm tỷ lệ cao ở các bệnh nhân MPS VI. Tiếp theo là biểu hiện đục giác mạc, tổn thương van tim, nghe kém.

Ảnh bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu

A: Bệnh nhân số 51 (6 tuổi); B: Bệnh nhân số 47 (7 tuổi 3 tháng)

Hình 3.8. Bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu

Nhận xét: Các bệnh nhân có bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị rốn.

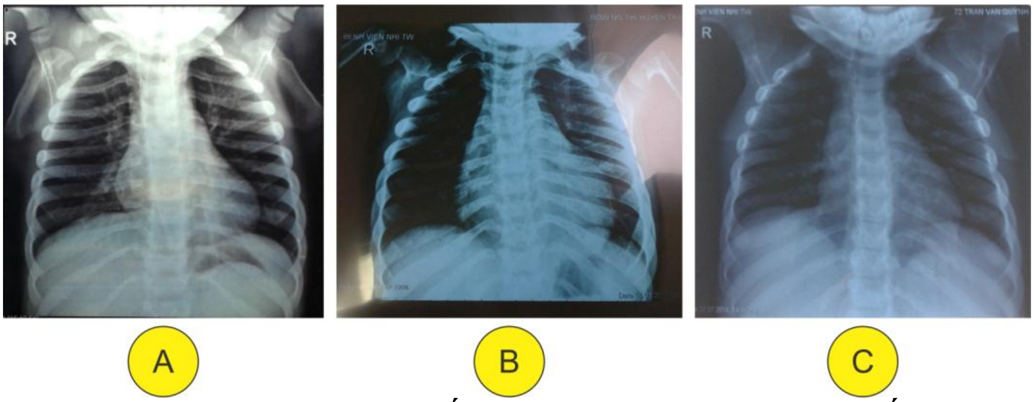
3.2.8. Tổn thương xương trên X quang của các thể MPS

Bảng 3.9. Tổn thương xương trên X-quang của các thể MPS

Tổn thương xương trên X-quang	**MPS I**	**MPS II**	**MPS IIIA**	**MPS IIIB**	**MPS IVA**	**MPS VI**	**Tổng**
Xương sườn hình mái chèo	4/5	25/27	1/1	1/1	10/13	5/9	46/56 *(82,1%)*
Biến dạng cột sống, tổn thương đốt sống	5/5	20/27	1/1	1/1	11/13	5/9	43/56 *(76,8%)*
Giảm chiều cao thân đốt sống	5/5	11/18	0/1	0/1	8/11	3/7	27/43 *(62,8%)*
MRI sọ não có tổn thương	2/5	11/15	1/1	1/1	2/10	2/5	19/37 *(51,4%)*
Biến dạng xương dài	4/5	8/27	0/1	1/1	10/13	5/9	28/56 *(50,0%)*
Chèn ép tủy đoạn cổ	2/4	4/15	0/1	0/1	8/8	2/4	16/33 *(48,5%)*
Loãng xương	1/5	10/27	0/1	0/1	6/13	2/9	19/56 *(33,9%)*

Nhận xét: Xương sườn hình mái chèo gặp với tỷ lệ cao nhất ở tất cả các thể MPS cũng như các bệnh nhân MPS nói chung. Hình ảnh biến dạng cột sống, tổn thương đốt sống gặp nhiều ở bệnh nhân MPS I, MPS II, MPS IVA, MPS VI. Giảm chiều cao thân đốt sống gặp nhiều ở bệnh nhân MPS I, MPS II, MPS IVA. Hình ảnh chèn ép tủy đoạn cổ gặp nhiều ở thể MPS IVA. Tổn thương não trên MRI gặp nhiều ở bệnh nhân MPS III, MPS II tiếp theo là MPS I, MPS VI.

Hình ảnh X-quang xương lồng ngực của bệnh nhân nghiên cứu:

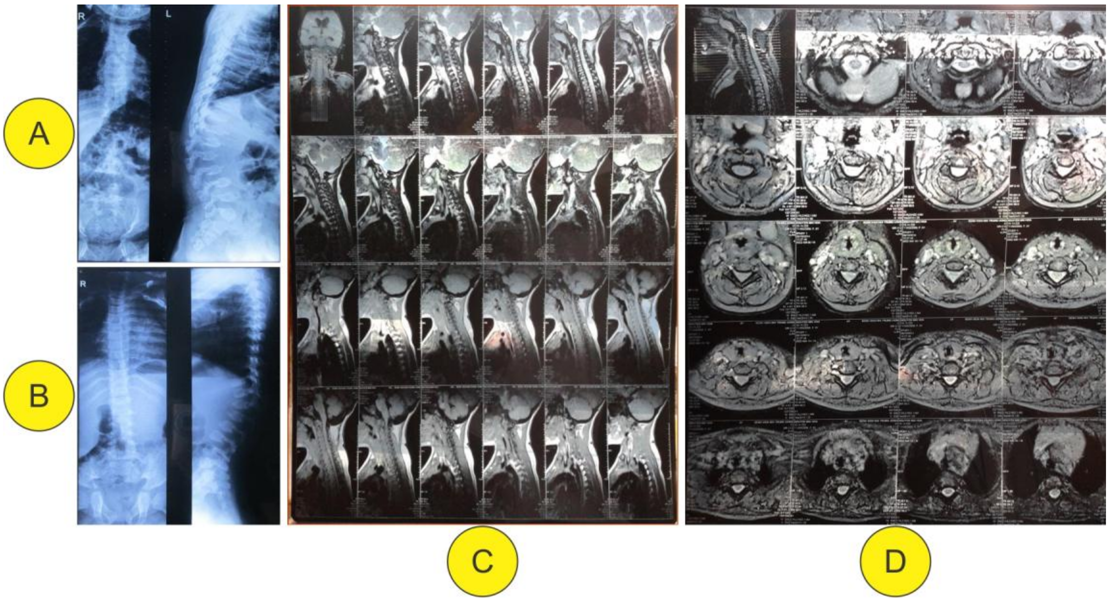


A: Bệnh nhân MPS VI số 51, B: Bệnh nhân MPS VI số 47,
C: Bệnh nhân MPS II số 18

Hình 3.9. Hình ảnh X-quang xương lồng ngực của bệnh nhân nghiên cứu

Nhận xét: Các xương sườn biến dạng hình mái chèo rõ.

Hình ảnh X-quang xương cột sống của bệnh nhân nghiên cứu:



A: Bệnh nhân MPS IV số 35, B - C - D: Bệnh nhân MPS I số 1

Hình 3.10. Hình ảnh X-quang xương cột sống của bệnh nhân nghiên cứu

Nhận xét: Hình ảnh biến dạng cột sống. Cột sống cong vẹo bất thường, thân các đốt sống tổn thương nặng mất hình dạng bình thường, giảm chiều cao thân các đốt sống. Ống sống cổ hẹp, chèn ép tủy sống.

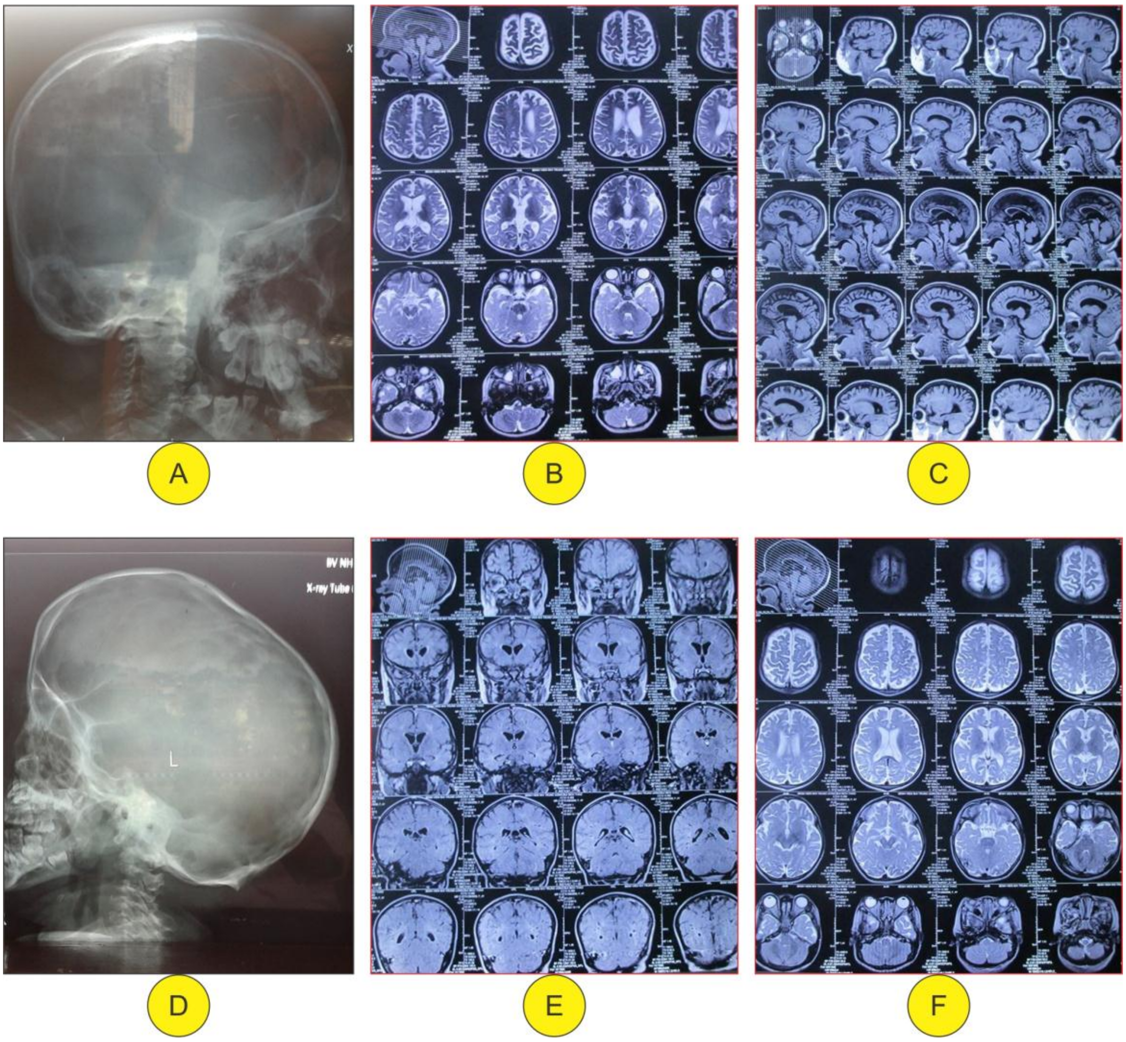
Hình ảnh X-quang xương chi của bệnh nhân nghiên cứu:

A-F: Bệnh nhân MPS VI số 52, B-H: Bệnh nhân MPS IV số 35, C: Bệnh nhân MPS VI số 47, D-G: Bệnh nhân MPS I số 1, E: Bệnh nhân MPS II số 13, K: Bệnh nhân MPS II số 6, L: Bệnh nhân MPS II số 17

Hình 3.11. Hình ảnh X-quang xương chi của bệnh nhân nghiên cứu

Nhận xét: Hình ảnh biến dạng xương dài, khung chậu. Các xương dài tổn thương nặng. Các đầu xương dài bè rõ, loạn sản. Giảm mật độ xương, loãng xương. Chậm cốt hóa xương bàn tay, bàn tay hình càng cua rõ.

Hình ảnh X-quang sọ não của bệnh nhân nghiên cứu:



A: Bệnh nhân MPS II số 17, B - C: Bệnh nhân MPS II số 5,
D: Bệnh nhân MPS VI số 52, E - F: Bệnh nhân MPS I số 2.

Hình 3.12. Hình ảnh X-quang sọ não của bệnh nhân nghiên cứu

Nhận xét: Hình ảnh hộp sọ to, hố yên rộng, khuyết xương sọ. Rộng các rãnh cuộn não ở bán cầu đại não 2 bên, giãn hệ thống não thất.

3.2.9. Xét nghiệm GAGs trong nước tiểu của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu

Bảng 3.10. GAGs trong nước tiểu của các bệnh nhân MPS

Nhóm tuổi	**GAGs bình thường** (mg/g creatinine) **Giá trị trung bình** (Min - Max)	**Nồng độ GAGs của bệnh nhân MPS**
Nhóm < 1 tuổi	90,76 (20,26 - 312,38)	1738,61 (244 - 1864) (n = 3)
Nhóm 1-3 tuổi	56,19 (19,97 - 110,53)	498,50 (112 - 1190) (n = 7)
Nhóm 3- 5 tuổi	45,16 (10,74 - 112,02)	528,44 (63 - 1106) (n = 20)
Nhóm > 5 tuổi	35,74 (10,77 - 77,5)	477,79 (109 - 709) (n = 22)

Nhận xét: Nồng độ GAGs toàn phần trong nước tiểu của các bệnh nhân MPS tăng cao so với nồng độ GAGs chuẩn.

Bảng 3.11. So sánh mức tăng GAGs trong nước tiểu giữa các thể bệnh

Mức độ bệnh	**Nồng độ GAGs**		
	Min - Max	**X ± SD**	**Cao hơn giá trị trung bình bình thường (lần)**
Nhẹ	111,52 - 505,66	379,08 ± 90,82	10,3 ± 2,8
Trung bình, nặng	63,04 - 1738,61	575,89 ± 48,37	13,2 ± 0,9

Nhận xét: Nồng độ GAGs ở những bệnh nhân mức độ nhẹ cao hơn giá trị bình thường 10 lần, đối với những bệnh nhân mức độ trung bình và nặng thì nồng độ GAGs cao gấp 13 lần so với giá trị trung bình của GAGs bình thường.

3.2.10. Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân MPS nghiên cứu

Bảng 3.12. Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu

Thể bệnh MPS	**Định lượng Enzym thiếu hụt**	**Bệnh nhân MPS**	**Giá trị bình thường**
MPS I (n = 5)	α -L-Iduronidase (Trong bạch cầu)	0,43 (0,01 - 22,4) (4,78 ± 9,86)	41,8 ± 15,9 nmol/mg Prot/hrs
MPS II (n = 27)	Iduronate-2-sulphatase (Trong huyết tương)	0,07 (0,00 - 14,99) (0,88 ± 2,88)	496,3 ± 165,7 nmol/ml Plasma/4hrs
MPS IIIA (n = 1)	Heparan-N-sulphatase (Trong bạch cầu)	0,03	4,6 ± 2,2 nmol/mg Prot/24hrs
MPS IIIB (n = 1)	A-N-acetylglucosaminidase (Trong huyết tương)	0,93	320,4 ± 131,3 nmol/ml Plasma/17hrs
MPS IVA (n = 13)	Galactose 6-sulphatase (Trong bạch cầu)	0,74 (0,01 - 66,24) (11,38 ± 22,18)	158,9 ± 82,8 nmol/mg Prot/17hrs
MPS VI (n = 9)	N-Acetylgalactosamine-4-Sulphatase (Arylsulfatase B - Trong bạch cầu)	6,28 (0,00 - 42,18) (9,97 ± 13,24)	92,3 ± 49,6 nmol/mg Prot/hrs

Nhận xét: Hoạt độ enzym của các bệnh nhân mắc các thể MPS giảm nặng so với giá trị bình thường tương ứng của hoạt độ enzym của phòng xét nghiệm.

3.3. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH GEN CỦA MỘT SỐ BỆNH NHÂN MPS

Trong nghiên cứu có 27 bệnh nhân được phân tích gen để phát hiện đột biến nhưng có 4 bệnh nhân không tìm thấy đột biến. Trong số 23 bệnh nhân có 3 bệnh nhân MPS I, 14 bệnh nhân MPS II, 5 bệnh nhân MPS IVA và 1 bệnh nhân MPS VI.

3.3.1. Phân bố kiểu gen của bệnh nhân

Bảng 3.13. Phân bố dạng đột biến của 23 bệnh nhân MPS

Kiểu đột biến	**MPS I 3 bệnh nhân**	**MPS II 14 bệnh nhân**	**MPS IVA 5 bệnh nhân**	**MPS VI 1 bệnh nhân**	**n**	**%**
Đột biến sai nghĩa	**4**	3	2	**2**	**11**	36,6
Đột biến mất đoạn		2	**4**		6	20,0
Đột biến tái tổ hợp		**6**			6	20,0
Đột biến vô nghĩa	1	1	1		3	10,0
Đột biến thêm đoạn		2			2	6,7
Đột biến vị trí cắt nối			2		2	6,7
Tổng (N; %)	**5**	**14**	**9**	**2**	**30**	**100.0**

Nhận xét: Tổng cộng có 30 đột biến gây bệnh khác nhau được phát hiện ở 23 bệnh nhân MPS. Đột biến sai nghĩa chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các đột biến của 23 bệnh nhân MPS, đặc biệt ở thể MPS I (4/5).

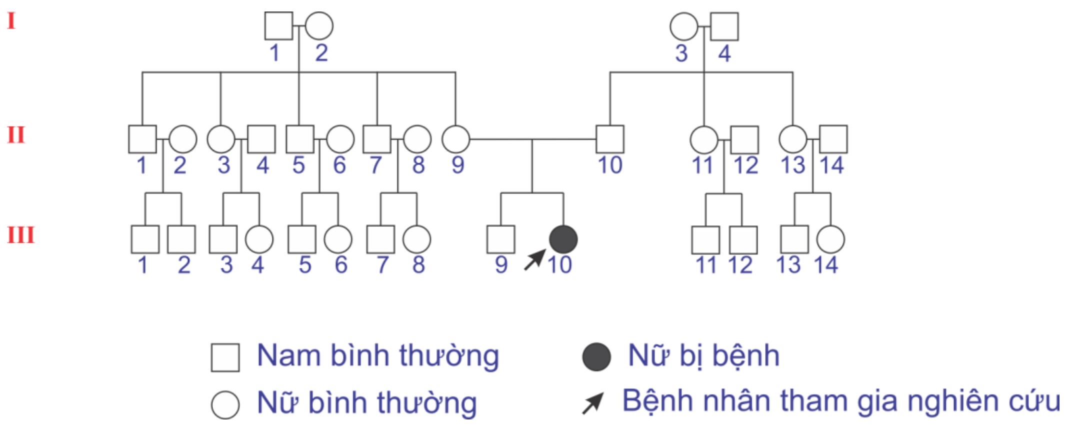
3.3.2. Các đột biến của gen *IDUA* và tương quan kiểu gen - biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS I

Bảng 3.14. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS I.

STT	c.DNA	Protein	**Hoạt độ enzyme** α -L-Iduronidase (nmol/mg Prot/hrs)	**GAGs** (mg/gram creatinine)	Thể lâm sàng
1	c.1046A>G	**p.D349G**	0,43	508,83	Hurler/Scheie (Trung bình)
2	c.750C>T/ c.1862G>C	p.Q584X/ **p. R621P**	0,12	1019,5	Hurler (Nặng)
3	c.1862G>C/ c.1862G>C	**p.R621P/ p.R621P**	0,94	1738,61	Hurler (Nặng)

Nhận xét: Bệnh nhân số 1 chỉ phát hiện được 1alen đột biến, bệnh nhân này biểu hiện lâm sàng thể trung bình Hurler/Scheie. Bệnh nhân số 2 có đột biến dị hợp tử kép và bệnh nhân số 3 có đột biến đồng hợp tử biểu hiện lâm sàng nặng thể Hurler.

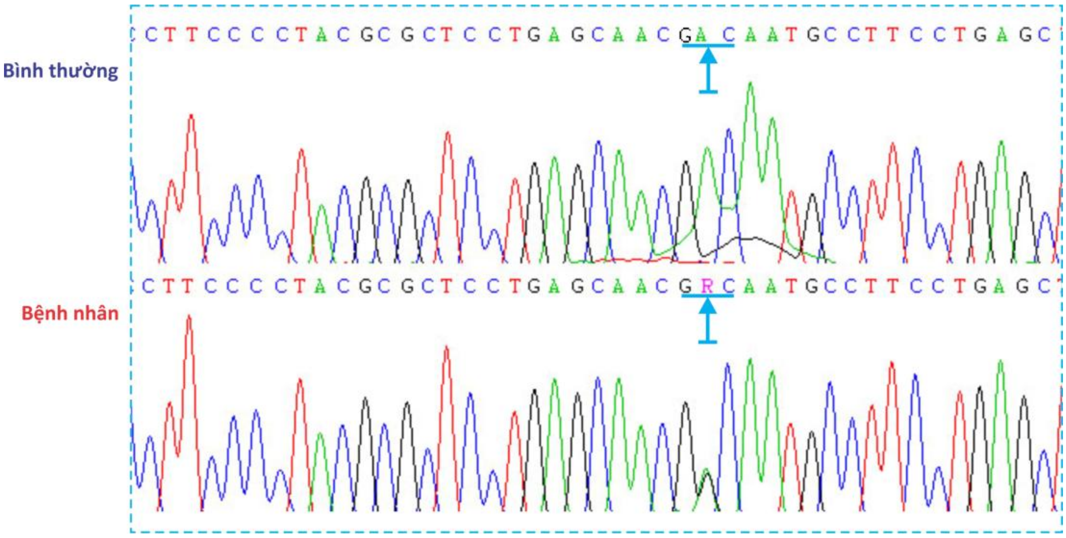
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 1



Hình 3.13. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 1, năm 2013

Nhận xét: Gia đình có con gái bị bệnh MPS I thể Hurler/ Scheie. Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

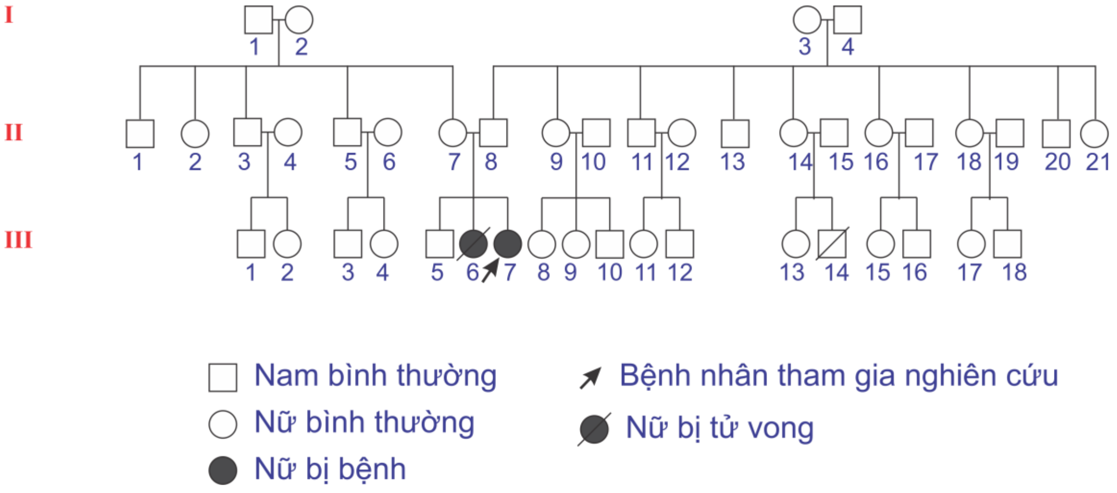
Kiểu gen của bệnh nhân MPS I số 1



Hình 3.14. Minh họa giải trình tự gen IDUA của bệnh nhân MPS I số 1

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến sai nghĩa chưa từng được công bố c.1046A>G do A bị thay thế thành G ở vị trí 1046 trên gen *IDUA*.

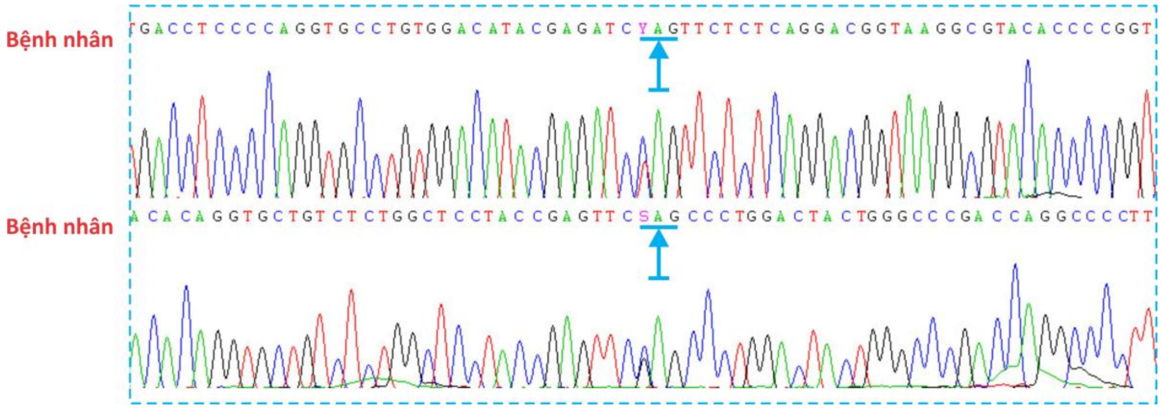
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 2



Hình 3.15. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 2, năm 2013

Nhận xét: Gia đình có con gái (III.7) 4 tuổi bị bệnh MPS I thể Hurler và một chị gái mắc bệnh giống bệnh nhân đã mất lúc 9 tuổi.

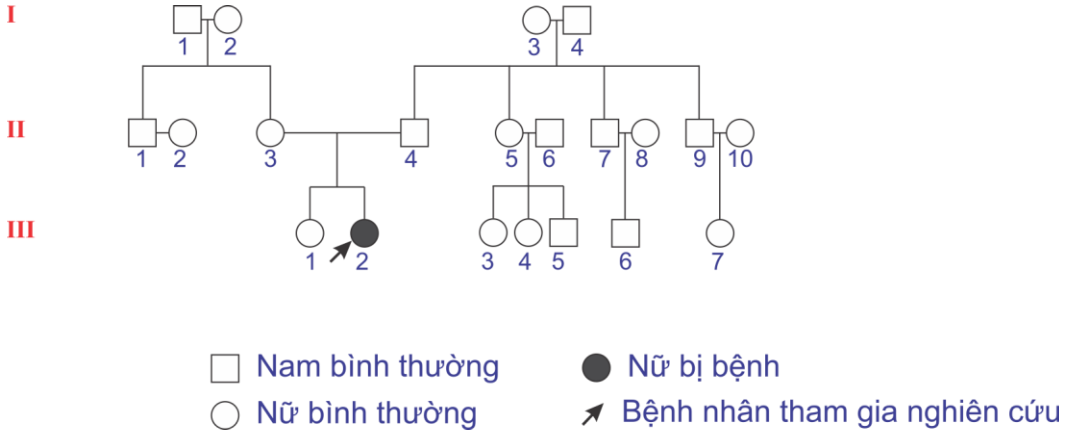
Kiểu gen của bệnh nhân MPS I số 2



Hình 3.16. Kết quả giải trình tự gen IDUA của bệnh nhân MPS I số 2

Nhận xét: Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép trên gen *IDUA*, trong đó 1 đột biến vô nghĩa đã biết ở exon 13 là c.750C>T do C ở vị trí 750 bị thay thế thành T và đột biến sai nghĩa chưa từng được công bố c.1862G>C ở exon 14 do G ở vị trí 1862 bị thay thế thành C.

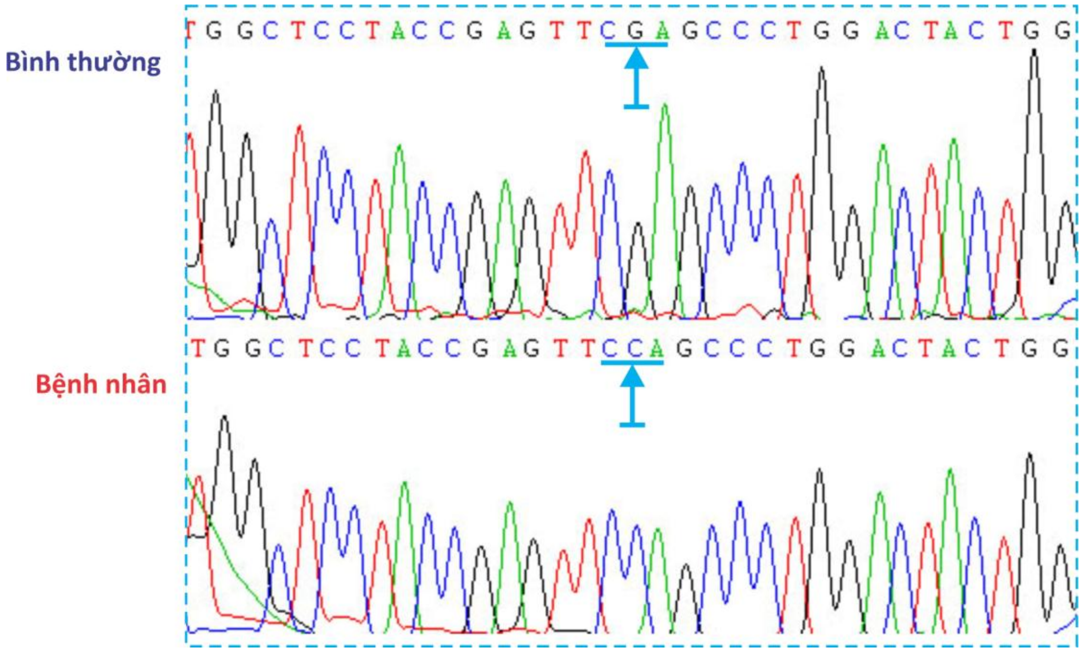
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 3



Hình 3.17. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 3, năm 2014

Nhận xét: Gia đình có con gái (III.2) 4 tuổi bị bệnh MPS I thể Hurler. Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

Kiểu gen của bệnh nhân MPS I số 3



Hình 3.18. Kết quả giải trình tự gen của bệnh nhân MPS I số 3

Nhận xét: Bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử trên gen *IDUA* là đột biến c.1862G>C. Đây là đột biến sai nghĩa chưa từng được công bố trên exon 14 do G ở vị trí 1862 bị thay thế thành C.

3.3.3. Các đột biến của gen *IDS* và tương quan kiểu gen - biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân MPS II nghiên cứu

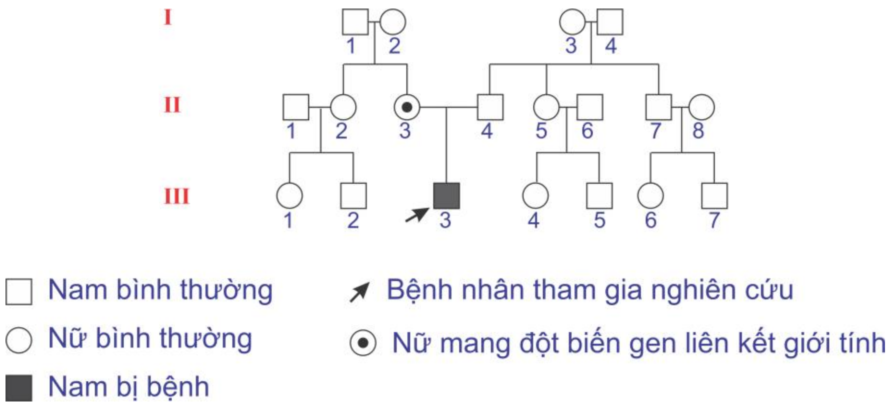
Phân tích đột biến gen *IDS* trên 18 bệnh nhân và 4 thành viên trong gia đình các bệnh nhân. Kết quả phát hiện đột biến ở 14 bệnh nhân MPS II và khẳng định người lành mang gen bệnh cho 4 thành viên trong gia đình các bệnh nhân này bao gồm ba bà mẹ và một chị gái của một bệnh nhân.

Bảng 3.15. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân MPS II.

STT	**Thay đổi Nucleotid**	**Thay đổi Protein**	**Hoạt độ Enzyme** Iduronate-2-sulphatase (nmol/mg plasma/4hrs)	**GAGs** (mg/gram creatinine)	**Thể lâm sàng**
BN số 5	Tái tổ hợp		0,01	835,45	Trung bình
BN số 6	Tái tổ hợp		0,01	701,22	Nặng
BN số 7	Tái tổ hợp		0,14	755,36	Nặng
BN số 8	Tái tổ hợp		0,01	473,57	Nặng
BN số 9	Tái tổ hợp		2,42	605,46	Nặng (Em trai BN số 8)
BN số 10	Tái tổ hợp		0	498,5	Nặng (Mẹ mang gen)
BN số 11	c.879G>C	p.Q293H	0,01	789,59	Nặng
BN số 12	c.120_122del	p.L41del	0,01	771,84	Nặng
BN số 13	c.1001A>G	p.D334G	0,01		Nặng
BN số 14	c.1124_1128dup	**p.L377RfsX16**	0,01	476,36	Nhẹ
BN số 15	c.473del	**p.Y158FfsX55**	0.41	532,99	Nặng
BN số 16	c.814C>T	**p.Q272X**	0,35	479,22	Nặng (Mẹ mang gen)
BN số 17	c.1048A>T	**p.N350Y**	0,63	391,53	Nặng (Em trai bị bệnh, mẹ và chị gái mang gen)
BN số 19	c.166dup	**p.D56GfsX2**	0,01	422,79	Nhẹ

Nhận xét: Có 9 đột biến khác nhau của gen *IDS* được phát hiện ở 14 bệnh nhân MPS II bao gồm: 6 bệnh nhân mang đột biến tái tổ hợp (Recombination event), 3 bệnh nhân mang đột biến đã được mô tả, phát hiện 5 đột biến chưa từng được công bố trên 5 bệnh nhân.

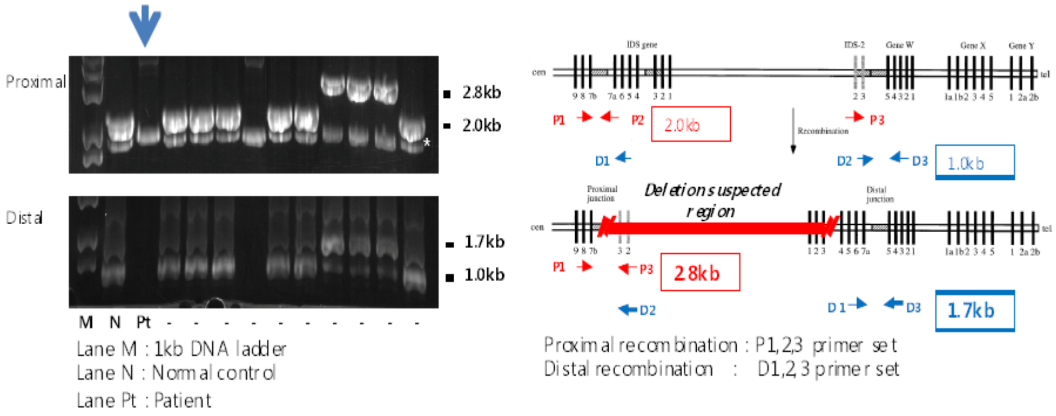
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 10



Hình 3.19. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 10, năm 2014

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân, mẹ là người mang gen.

Kiểu gen của gia đình bệnh nhân MPS II số 10

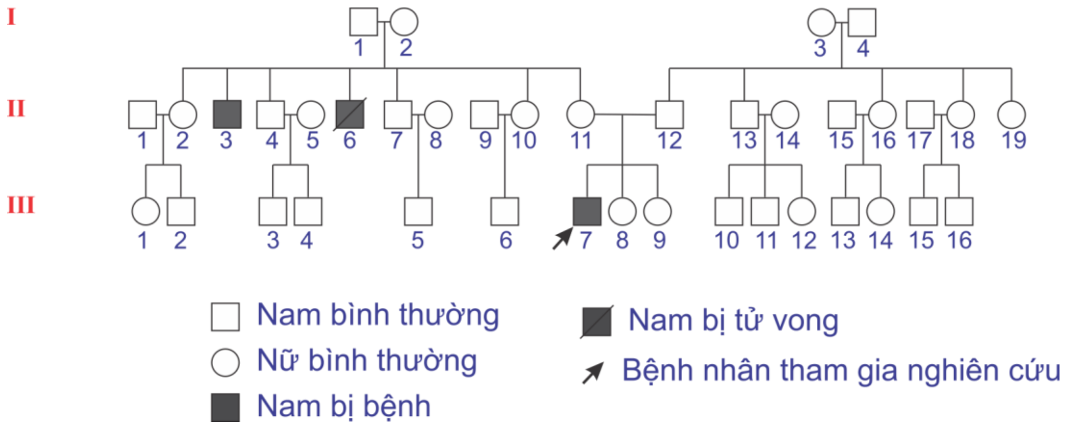


Hình 3.20. Đột biến tái tổ hợp ở gen IDS

Nhận xét: Hình ảnh điện di sản phẩm PCR để phát hiện tái tổ hợp giữa gen *IDS* và giả gen. Bệnh nhân này có trình tự bình thường của gen *IDS* khi phân tích bằng giải trình tự ngoại trừ từ exon 1 đến exon 3. Phân tích PCR

cho thấy không có sản phẩm khuếch đại của đoạn xa có nghĩa là mất đoạn exon 1 và 2 của giả gen do tái tổ hợp với exon 1-3 của gen chức năng. Bác gái (chị ruột mẹ) không mang gen đột biến. (M: Marker 1kb; N: chứng bình thường; Pt: bệnh nhân).

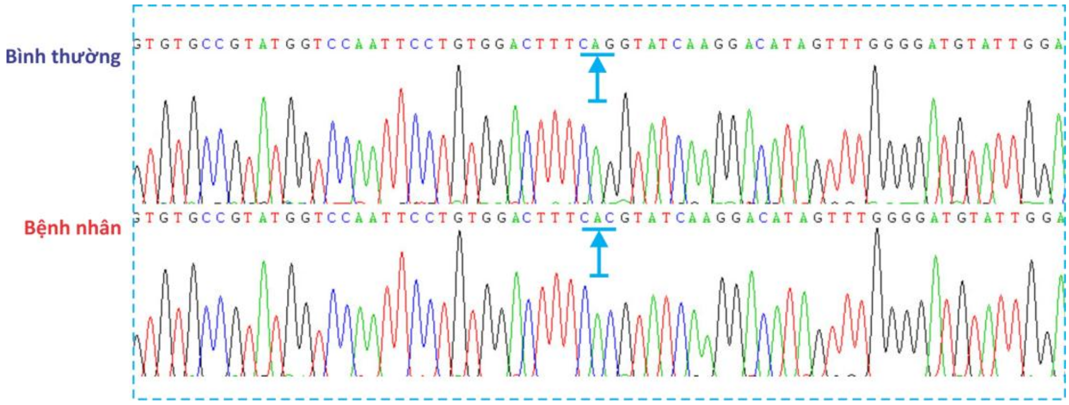
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 11



Hình 3.21. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 11, năm 2014

Nhận xét: Trong phả hệ có 2 bác trai bên ngoại bị bệnh giống bệnh nhân trong đó 1 người đã tử vong.

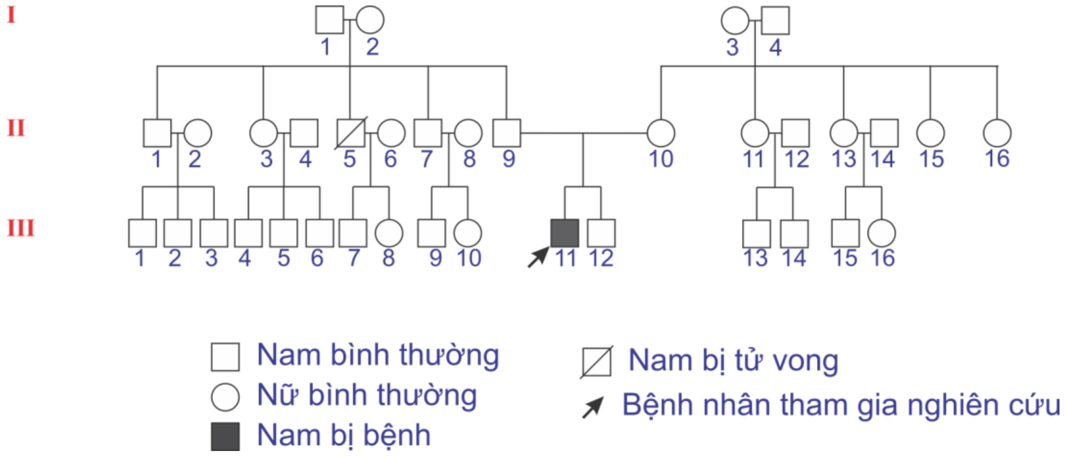
Kiểu gen của bệnh nhân MPS II số 11



Hình 3.22. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân MPS II số 11 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến sai nghĩa c.879G>C (p.Gln293His), (đã báo cáo), do G ở vị trí 879 bị thay thế bằng C.

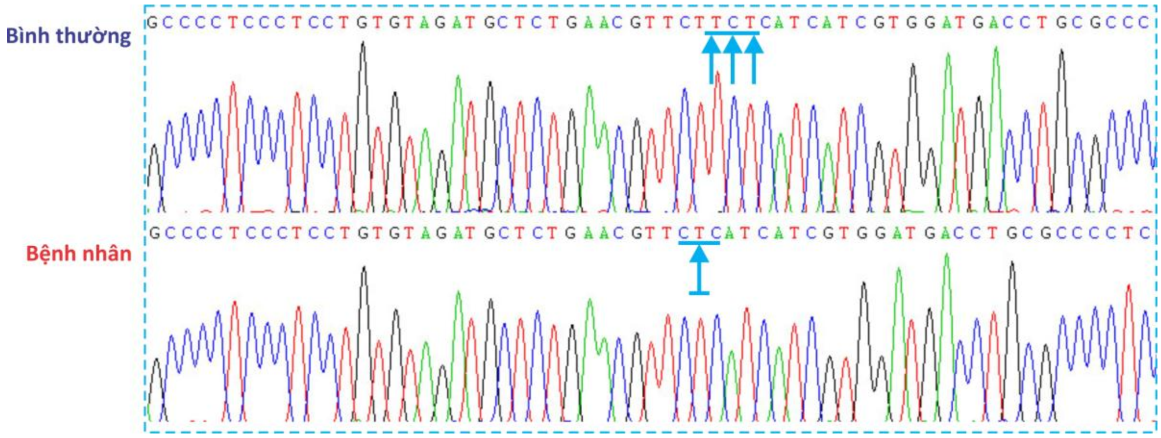
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 12



Hình 3.23. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 12, năm 2011

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

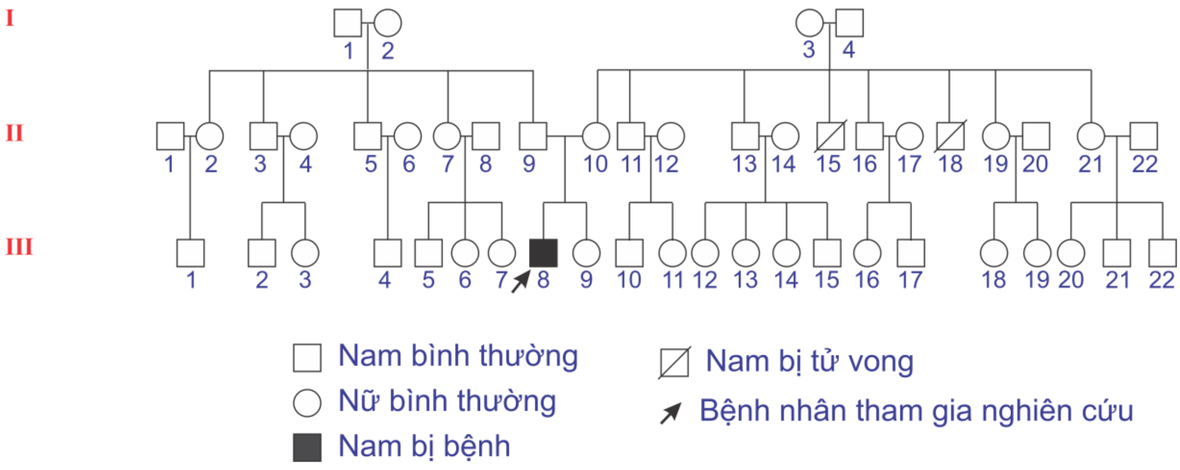
Kiểu gen của bệnh nhân MPS II số 12



Hình 3.24. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân MPS II số 12 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến mất đoạn (đã được báo cáo) c.120_122del (p.Leu41del).

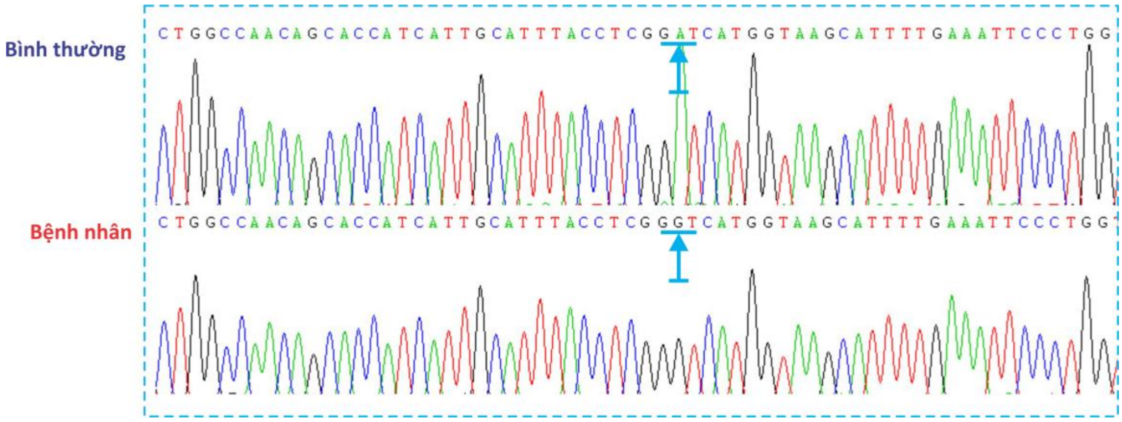
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 13



Hình 3.25. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 13, năm 2012

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân

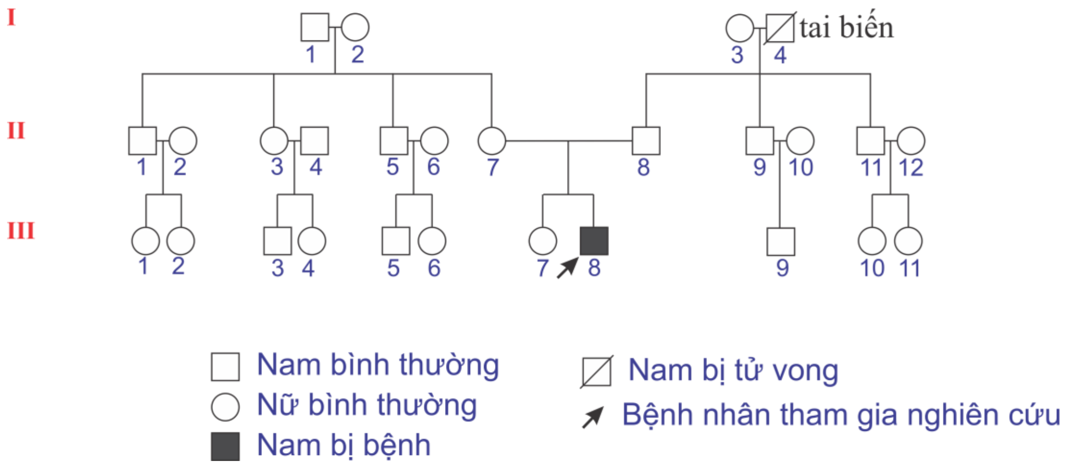
Kiểu gen của bệnh nhân MPS II số 13



Hình 3.26. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 13 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến sai nghĩa c.1001A>G (p.Asp334Gly) (Đột biến đã báo cáo), do A ở vị trí 1001 bị thay thế thành G.

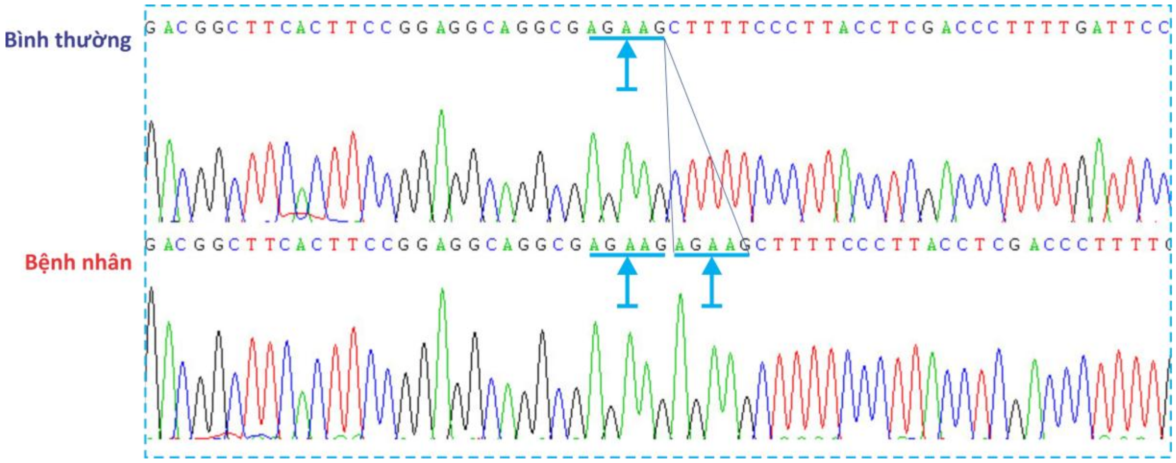
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 14



Hình 3.27. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 14, năm 2013

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

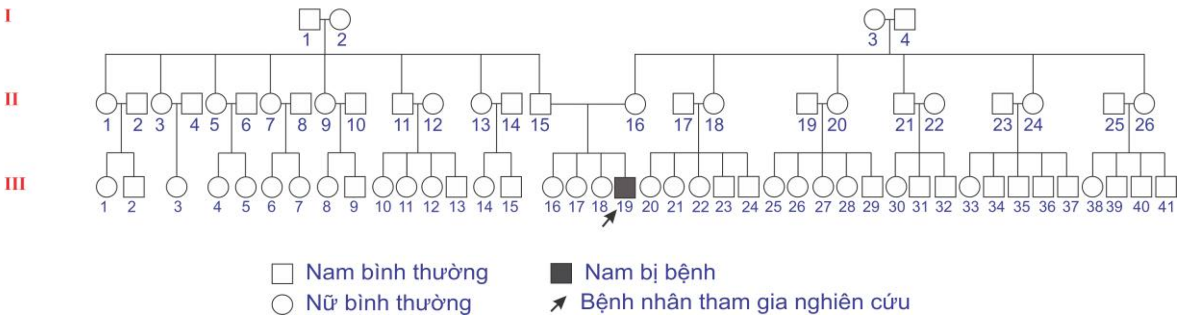
Kiểu gen của bệnh nhân số 14



Hình 3.28. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 14 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến thêm đoạn chưa từng được công bố c.1124_1128dup (p.Leu377Argfs*16),

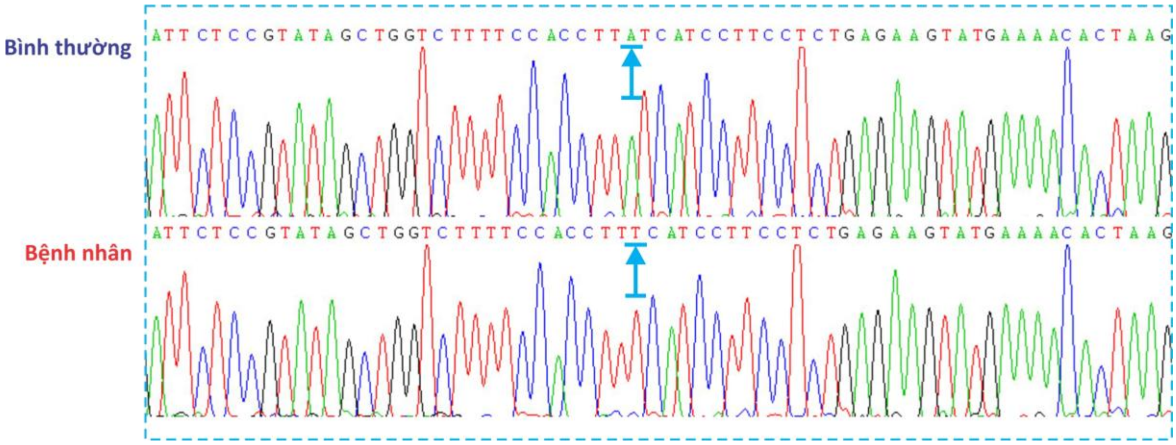
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 15



Hình 3.29. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 15, năm 2015

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân

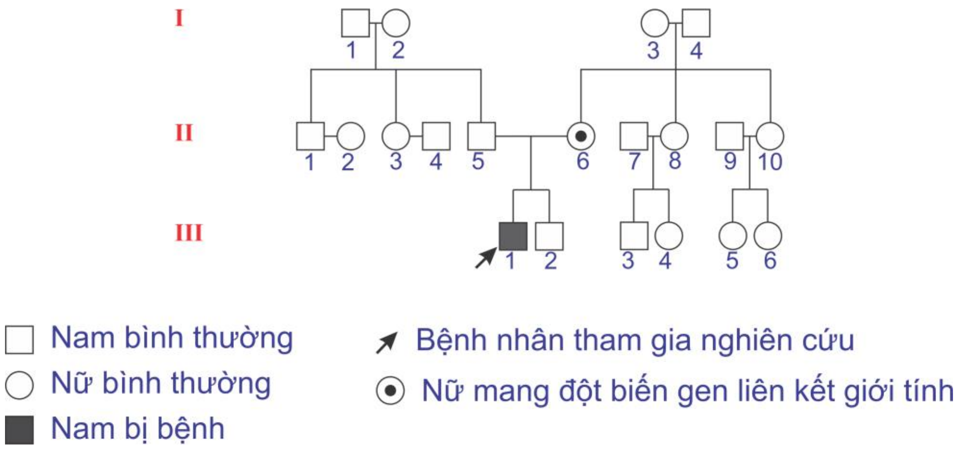
Kiểu gen của bệnh nhân số 15



Hình 3.30. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 15 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến mất đoạn nhỏ chưa từng được công bố (c.473delA) do mất nucleotid A ở vị trí 473 dẫn đến bộ ba thứ 158 TAT mã hóa Tyrosine chuyển thành bộ ba TTC mã hóa phenylalanine và làm quá trình phiên mã bị ngừng sớm (p.Y158FfsX55).

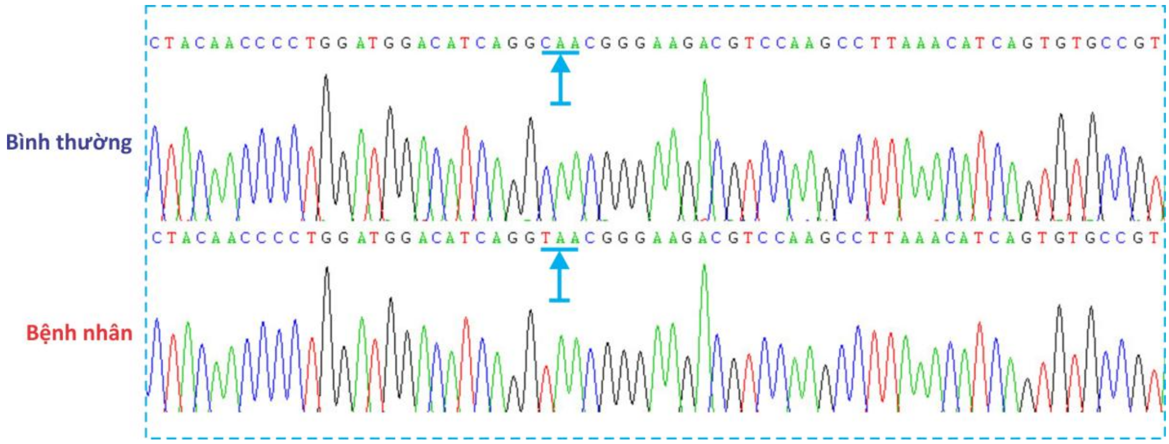
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 16



Hình 3.31.   Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 16, năm 2014

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân. Mẹ là người mang gen bệnh.

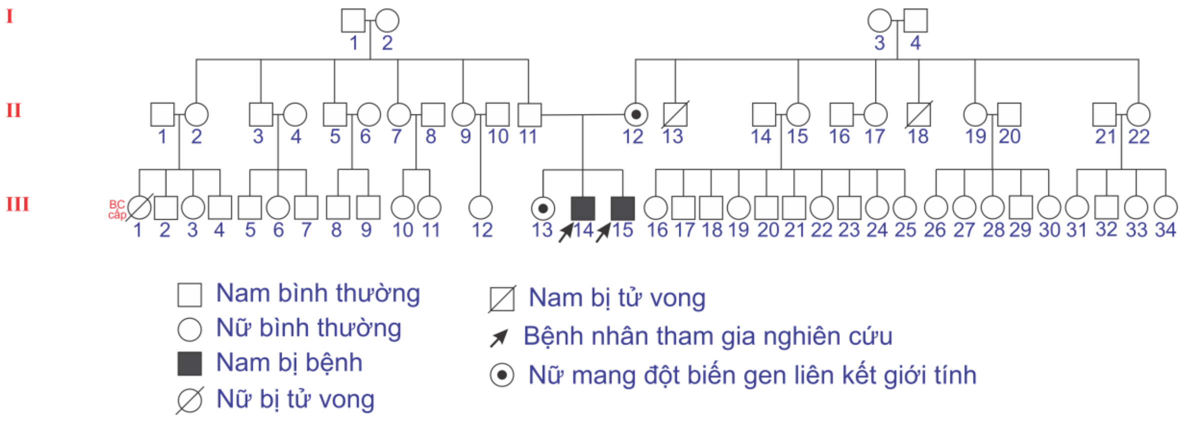
Kiểu gen của bệnh nhân số 16



Hình 3.32.   Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 16 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa c.814C>T (p.Q272X) (đột biến chưa từng được công bố) do C ở vị trí 814 bị thay thế thành T làm thay đổi quá trình phiên mã.

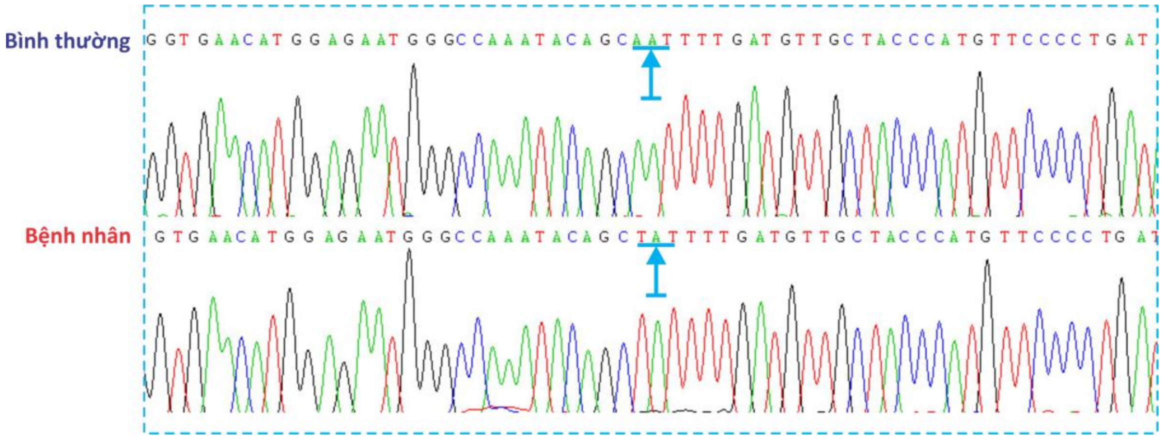
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 17



Hình 3.33. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 17, năm 2014

Nhận xét: Gia đình bệnh nhân có 2 anh em cùng bị bệnh. Mẹ và chị gái là người mang gen bệnh.

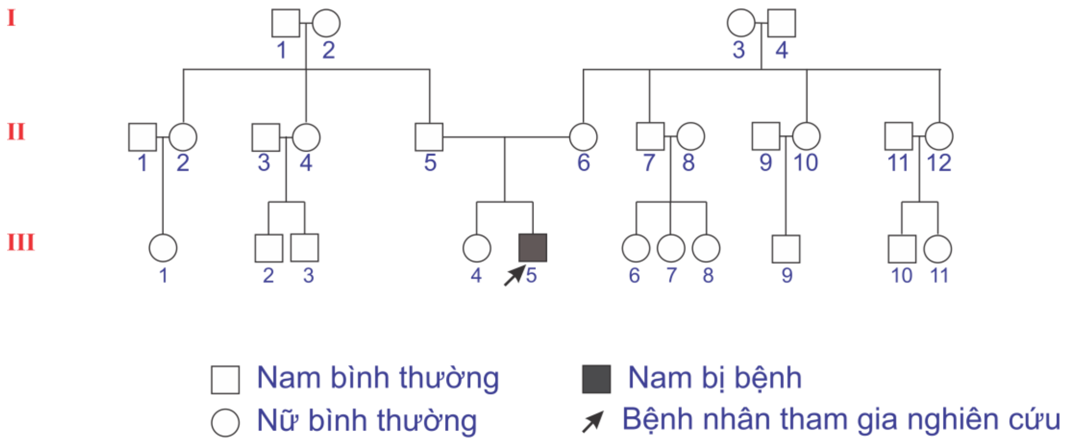
Kiểu gen của bệnh nhân số 17



Hình 3.34. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 17 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến sai nghĩa p.N350Y (đột biến chưa từng được công bố). Mẹ và chị gái bệnh nhân là người lành mang gen bệnh.

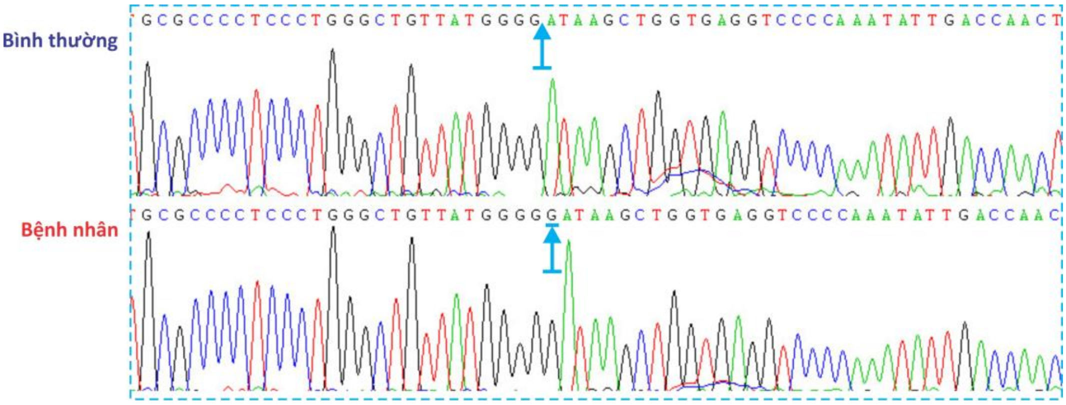
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 19



Hình 3.35. Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 19 năm 2013

Nhận xét: Gia đình bệnh nhân không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân

Kiểu gen của bệnh nhân số 19



Hình 3.36. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 19 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân mang đột biến thêm đoạn nhỏ (c.166dup) dẫn đến bộ ba thứ 56 GAT mã hóa Aspartic acid chuyển thành GGA mã hóa Glycine (p.D56GfsX2) và làm sai lệch quá trình phiên mã tạo mã ngừng sớm nên phân tử protein bị cắt ngắn.

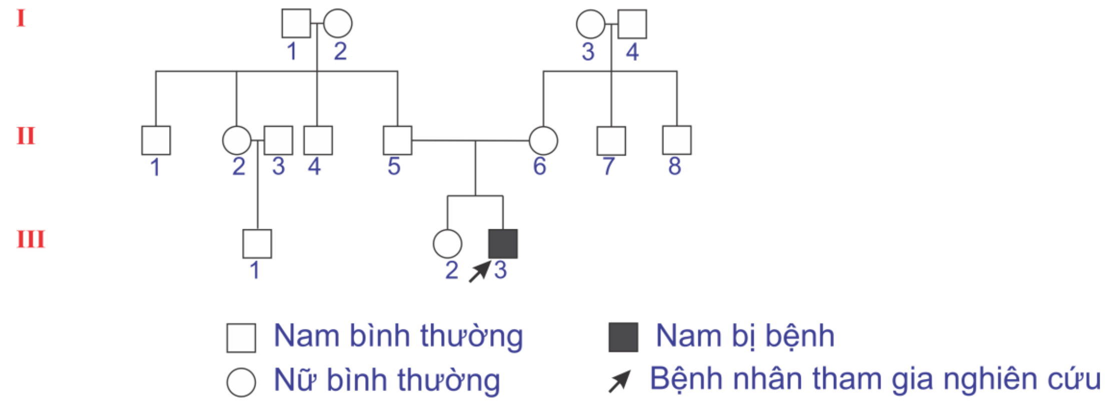
3.3.4. Các đột biến của gen *GALNS* trên 5 bệnh nhân MPS IV nghiên cứu

Bảng 3.16. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS IVA

STT	**c.DNA**	**Protein**	**Hoạt độ enzym** (nmol/mg Prot/17hrs)	**GAGs mg/gram creatinine**	**Thể lâm sàng**
BN số 34	c.1279delG/c.1279delG	**p.V427SfsX14/p.V427SfsX14**	0,74	332,73	Nặng
BN số 35	c.899-2A>C/ c.899-2A>C		0,67	193,38	Nặng
BN số 36	c.374C>T/c.1155C>G	p.P125L/p.Y385X	0,09	269,68	Nặng
BN số 43	c.1279delG/c.1279delG	**p.V427SfsX14/p.V427SfsX14**	0,01	320,25	Nặng
BN số 44	c.871G>A	p.A291T	0,02	291,44	Nặng

Nhận xét: Có 5 đột biến gây bệnh khác nhau của gen *GALNS* được phát hiện ở 5 bệnh nhân MPS IVA. Trong đó đột biến mất đoạn chưa từng được công bố p.V427SfsX14 được xác định ở hai bệnh nhân ở dạng đồng hợp tử. Tất cả 5 bệnh nhân này đều mang kiểu hình nặng.

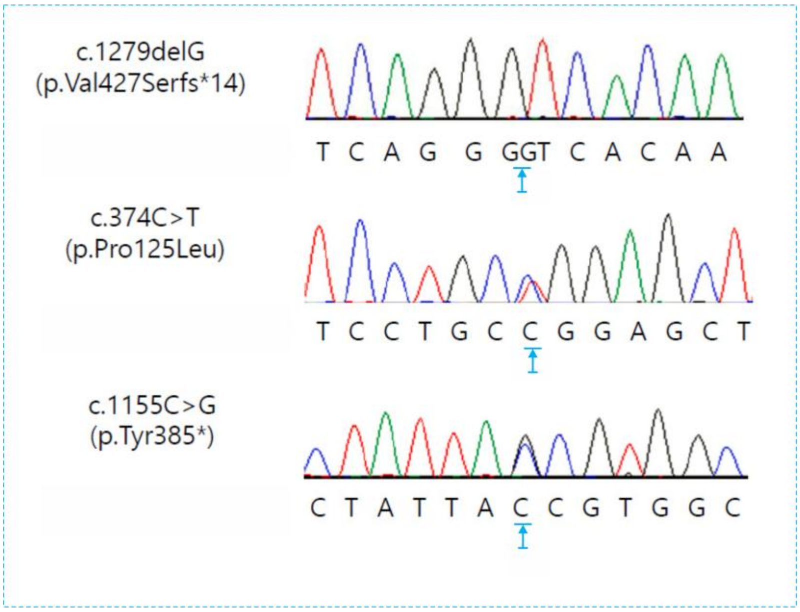
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS IVA số 34



Hình 3.37. Minh họa phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS IVA số 34, năm 2013

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

Kết quả giải trình tự 1 số đột biến gen của bệnh nhân MPS IVA

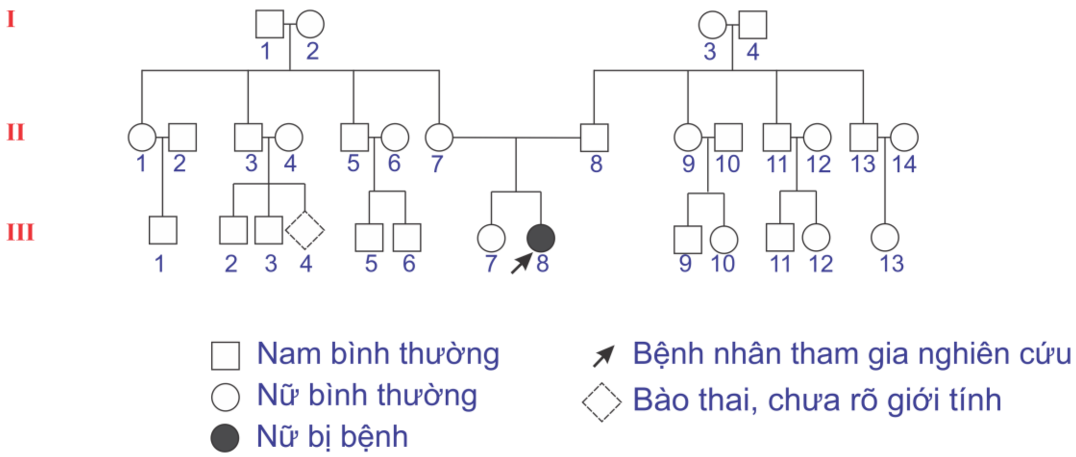


Hình 3.38. Hình ảnh giải trình tự 1 số đột biến của bệnh nhân số 34, 43 và 36 mắc MPS IVA

Nhận xét: Đột biến mất đoạn nhỏ c.1279delG chưa từng được công bố do mất nucleotide G ở vị trí 1279 dẫn đến bộ ba thứ 427 GTC mã hóa Valine chuyển thành TCA mã hóa Serine, quá trình phiên mã bị sai lệch và bị ngừng sớm sau 14 mã tiếp theo (p.V427SfsX14).

3.3.5. Đột biến của gen *ARSB* trên bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu

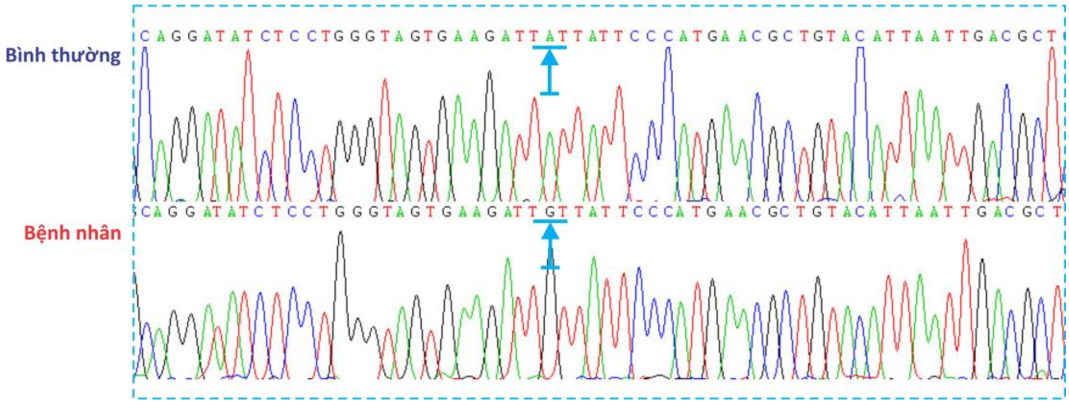
Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPSVI số 47



Hình 3.39. Minh họa phả hệ của gia đình bệnh nhân MPSVI số 47 năm 2013

Nhận xét: Trong phả hệ không có ai mắc bệnh giống bệnh nhân.

Kiểu gen của bệnh nhân MPS VI số 47



Hình 3.40. Hình ảnh đột biến của bệnh nhân số 47 qua phương pháp giải trình tự gen

Nhận xét: Bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử trên gen *ARSB* là đột biến chưa từng được công bố c.524A>G (p.Y175C). Đây là đột biến sai nghĩa do A ở vị trí 524 bị thay thế bằng G.

Chương 4
BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU

4.1.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

Kết quả nghiên cứu 56 bệnh nhân cho thấy tuổi chẩn đoán của các bệnh nhân thường muộn chủ yếu > 2,5 tuổi mới được chẩn đoán gặp nhiều nhất (85,7%), đặc biệt là nhóm > 5 tuổi (44,6%). Nhóm được chẩn đoán trước 2,5 tuổi là khá ít đặc biệt là nhóm dưới 1 tuổi (hình 3.1), đây chính là nguyên nhân gây hạn chế cho quá trình điều trị. Nghiên cứu của Vũ Chí Dũng thì tuổi chẩn đoán trung bình là 5,8 ± 3,7 tuổi [64]. Một số nước trên thế giới bệnh MPS được chẩn đoán khá sớm bằng sàng lọc sơ sinh [1],[16],[17].

4.1.2. Phân bố bệnh nhân theo thể bệnh và giới

Tỷ lệ nam/ nữ trong nhóm nghiên cứu là 76,8% nam và 23,2% nữ. Tỷ lệ nam khá cao do tỷ lệ bệnh nhân thể MPS II gặp cao nhất. Thể MPS II là thể di truyền lặn liên kết giới tính X nên chủ yếu gặp ở nam, chỉ có một ca là nữ do bệnh nhân mắc hội chứng Turner. Ở bệnh nhân Turner này do chỉ có một nhiễm sắc thể X (45,XO) nên chỉ cần một alen đột biến đã gây kiểu hình MPS II. Tỷ lệ bệnh nhân MPS II chiếm tỷ lệ cao nhất 48,2%, sau đó đến bệnh nhân MPS IV 23,2%, bệnh nhân MPS VI 16,1%, bệnh nhân MPS I 8,9%, bệnh nhân MPS III chiếm tỷ lệ thấp nhất 3,6% (bảng 3.1).

Nghiên cứu của Hsiang Yu Lin và cộng sự về tỷ lệ mắc các thể MPS tại Đài Loan trên 130 bệnh nhân MPS trong giai đoạn từ 1984 - 2004 thì nhiều nhất cũng là MPS II tương tự như nghiên cứu của chúng tôi là 52%. Một nghiên cứu ở Đức trên 474 bệnh nhân MPS giai đoạn từ 1980 - 1995 tỷ lệ cao nhất là MPS III 45% [16].

Nghiên cứu của Sung Yoon Cho và cộng sự ở Hàn Quốc trên 147 bệnh nhân MPS giai đoạn từ 1994 - 2013 tỷ lệ cao nhất cũng là thể MPS II 54,6% [71].

Nghiên cứu của Agnieszka Jurecka và cộng sự trên 392 bệnh nhân MPS giai đoạn từ 1970 - 2010 ở Ba Lan thì tỷ lệ cao nhất là thể MPS III 48% [1] (bảng 4.1).

Bảng 4.1.So sánh sự phân bố thể MPS trong nghiên cứu với 1 số nghiên cứu khác

Nguồn số liệu	**MPS I (%)**	**MPS II (%)**	**MPS III (%)**	**MPS IV (%)**	**MPS VI (%)**
Đức (1980 - 1995) 474 bệnh nhân [16]	20	18	45	11	6
Ba Lan (1970 - 2010) 392 bệnh nhân [1]	12	25	48	8	1
Đài Loan (1984- 2004) 130 bệnh nhân [16]	6	52	19	16	7
Hàn Quốc (1994- 2013) 147 bệnh nhân [71]	15,9	54,6	17,82	9,6	1,4
Việt Nam (2012- 2015) 56 bệnh nhân	8,9	48,2	3,6	23,2	16,1

Các nghiên cứu cho thấy ở các nước châu Âu thể MPS III có tỷ lệ cao nhất trong khi đó ở các nước châu Á tỷ lệ gặp cao nhất là thể MPS II tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ bệnh nhân MPS III trong nghiên cứu thấp có thể do số bệnh nhân còn chưa được phát hiện vì những bệnh nhân này chủ yếu bộc lộ triệu chứng về tâm thần nên sẽ đi khám ở chuyên khoa tâm bệnh. Sự khác biệt về tỷ lệ giữa các thể trong nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu khác còn do nhiều nước đã sàng lọc ngay sau đẻ cho một số lượng lớn trẻ và vì được sàng lọc sớm nên bệnh cũng được phát hiện sớm, chúng ta chưa sàng lọc sơ sinh nên còn bỏ sót nhiều bệnh nhân chưa được chẩn đoán, số lượng của chúng tôi chỉ là những số liệu nghiên cứu ban đầu trên những trẻ triệu chứng lâm sàng đã gây ảnh hưởng đến hình thái, trí tuệ, sinh hoạt rồi mới đi khám bệnh, những trẻ bị thể nặng như Huler có thể bị tử vong sớm do các biến chứng phổi và tim mạch nên cũng không được chẩn đoán.

4.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG CỦA CÁC BỆNH NHÂN MPS TRONG NGHIÊN CỨU

4.2.1. Đặc điểm lâm sàng của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu

4.2.1.1. Các bệnh nhân MPS I

Trong nghiên cứu của chúng tôi tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của các bệnh nhân MPS I khá sớm dao động từ 6 tháng đến 2 tuổi, trung bình là 1,1 ± 0,5 tuổi. Tuổi chẩn đoán của các bệnh nhân dao động từ 8 tháng đến 7,5 tuổi, trung bình là 3,4 ± 2,6 tuổi (bảng 3.2).

Nghiên cứu của Alzbeta Vazna và cộng sự trên 21 bệnh nhân MPS I Czech và Slovak 2009 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên từ sơ sinh đến 15 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 2 tháng đến 15 tuổi. Trong đó thể Hurler tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên sớm nhất từ ngay sau đẻ đến 2 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 1 tháng đến 5 tuổi. Thể Hurler/Scheie tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên từ ngay sau đẻ đến 4 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 10 tháng đến 4 tuổi. Thể Scheie tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên từ 9 đến 15 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 10 đến 15 tuổi [72].

Nghiên cứu của Latifa Chkioua và cộng sự trên 12 bệnh nhân MPS I Tunisia 2011 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên từ 1 tháng cho đến 5 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 3 tháng đến 5 tuổi [48].

Nghiên cứu của Tatiana Pineda và cộng sự trên 14 bệnh nhân MPS I Colombia, Ecuador và Peru 2014 tuổi chẩn đoán trung bình là 7,8 tuổi muộn hơn nghiên cứu của chúng tôi [73].

Nghiên cứu của chúng tôi tuổi chẩn đoán thường cách khá xa tuổi xuất hiện triệu chứng và hay ở giai đoạn muộn do các gia đình đã để các triệu chứng bộc lộ rõ ảnh hưởng đến chức năng các cơ quan rồi mới đưa con đi khám bệnh. Triệu chứng xuất hiện sớm làm gia đình quan tâm là biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần và thoát vị (bảng 3.3). Những triệu chứng này cũng giống với các triệu chứng xuất hiện sớm trong nhóm các bệnh nhân nghiên cứu của Latifa và cộng sự [48]. Hầu hết các bệnh nhân đều

có biểu hiện hay viêm đường hô hấp, viêm tai, các biểu hiện này gợi ý bác sỹ chẩn đoán bệnh chính.

Bảng 4.2. So sánh các nghiên cứu về biểu hiện lâm sàng trong MPS I

Nghiên cứu của tác giả và cộng sự	**Alzbeta Vazna**	**Tatiana Pineda**	**Latifa Chkioua**	**Luning Sun**	**Wang X**	**Chúng tôi**
Số bệnh nhân	21	14	12	10	57	5
Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên	Sơ sinh - 15 tuổi		1th- 5T			6 tháng - 2 tuổi
Tuổi chẩn đoán	2 tháng - 15 tuổi	7,8 T	3th - 5T		10 th - 37T	8 tháng - 7,5 tuổi
Bộ mặt thô (%)		100	100		52,6	5/5 (100)
Biến dạng xương (%)		100	58	90	96,4	5/5 (100)
Đục giác mạc, giảm thị lực (%)		85,7	42	100	89,2	5/5 (100)
Cứng khớp (%)	61,9	100			94,7	4/5 (80)
Biến dạng xương ức (%)						4/5 (80)
Chậm phát triển tinh thần (%)	66,7		42	100	42,1	4/5 (80)
Giảm thính lực (%)	23,8		25			3/4 (75)
Lùn (%)	38,1	92,9	25			3/5 (60)
Gan hoặc lách to (%)	95	85,7		100	78,9	3/5 (60)
Thoát vị bẹn hoặc rốn (%)	66,7	100	58		59,6	3/5 (60)
Tổn thương van tim (%)	57,1	14,3			50,9	2/5 (40)
Yếu tố gia đình (%)		21,4				1/5 (20)

Cả 5/5 bệnh nhân MPS I có triệu chứng bộ mặt thô, biến dạng xương, đục giác mạc. Phát hiện 4/5 bệnh nhân có biểu hiện cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, biến dạng xương ức. Giảm thính lực 3/4 bệnh nhân. Có 3/5 bệnh nhân có biểu hiện lùn, gan hoặc lách to, thoát vị rốn hoặc bẹn. Tổn thương van tim gặp ở 2/5 bệnh nhân và 1/5 bệnh nhân có yếu tố gia đình liên quan (bảng 3.4).

Nghiên cứu của chúng tôi được so sánh với nghiên cứu của Alzbeta Vazna và cộng sự 2009 trên 21 bệnh nhân MPS I Czech và Slovak [72], nghiên cứu của Tatiana Pineda và cộng sự 2014 trên 14 bệnh nhân MPS I Colombia, Ecuador và Peru [73], nghiên cứu của Latifa và cộng sự 2011 trên 12 bệnh nhân MPS I Tunisian [48], nghiên cứu của Luning Sun và cộng sự 2011 trên 10 bệnh nhân MPS I Trung Quốc [74], nghiên cứu của Wang X và cộng sự 2012 trên 57 bệnh nhân MPS I Trung Quốc [75] (bảng 4.2).

Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện bộ mặt thô trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Tatiana Pineda và Latifa Chkioua, nghiên cứu của Wang X có tỷ lệ thấp hơn. Triệu chứng biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, thoát vị bẹn hoặc rốn, đục giác mạc cũng chiếm tỷ lệ cao và thường xuất hiện khá sớm. Nhóm triệu chứng này có thể là những triệu chứng gợi ý tiếp cận chẩn đoán sớm bệnh MPS I. Triệu chứng gan hoặc lách to, tổn thương van tim cũng có tỷ lệ khá cao. Triệu chứng lùn, nghe kém có tỷ lệ thấp hơn và thường xuất hiện muộn hơn. Các triệu chứng này đều có giá trị gợi ý chẩn đoán bệnh MPS.

4.2.1.2. Các bệnh nhân MPS II

Trong nghiên cứu của chúng tôi tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của các bệnh nhân MPS II từ sơ sinh đến 4 tuổi, trung bình là 1,8 ± 1,2 tuổi. Tuổi

chẩn đoán của bệnh nhân từ 21 tháng đến 13,5 tuổi, trung bình là 5,8 ± 3,9 tuổi (bảng 3.2).

Nghiên cứu của Ida VD Schwartz và cộng sự trên 77 bệnh nhân MPS II Brazil 2007 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên trung bình là 1,5 tuổi, tuổi chẩn đoán trung bình là 6 tuổi tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Các triệu chứng như cứng khớp, bộ mặt thô, bụng to bè, gan, lách to là những biểu hiện lâm sàng sớm nhất của hầu hết bệnh nhân trong nghiên cứu [76].

Dimitry A Chistiakov và cộng sự nghiên cứu trên 17 bệnh nhân MPS II Nga 2013 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên 1,08 ± 0,63 tuổi, tuổi chẩn đoán 3,03 ± 1,35 tuổi [77].

Christina Lampe và cộng sự nghiên cứu trên 22 bệnh nhân MPS II (Đức, Brazil, Mỹ) 2013 tuổi chẩn đoán là 2 tháng đến 5 tuổi, trung bình là 2,8 tuổi [78].

Nghiên cứu Sung Yoon Cho và cộng sự trên 32 bệnh nhân MPS II Hàn Quốc 2013 tuổi chẩn đoán trung bình là 3 tuổi 4 tháng [79].

Mary Anne D. Chiong và cộng sự nghiên cứu trên 23 bệnh nhân MPS II Philipin 2017 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên 1,2 ± 1,4 tuổi, tuổi chẩn đoán 8,0 ± 3,2 tuổi, Các biểu hiện lâm sàng đầu tiên thường là chậm phát triển tinh thần, cứng khớp, bộ mặt thô, thoát vị, hay bị nhiễm trùng đường hô hấp [80]. Như vậy thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên đến khi bệnh nhân được chẩn đoán chính xác cũng muộn.

Bệnh nhân thường được chẩn đoán khi đã có nhiều triệu chứng ảnh hưởng đến các chức năng của các cơ quan trong cơ thể. Nghiên cứu của chúng tôi được so sánh với nghiên cứu của Ida VD Schwartz 2007 trên 77 bệnh nhân Brazil [76], nghiên cứu của Sung Yoon Cho 2012 trên 75 bệnh nhân MPS II Hàn Quốc [71], nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov 2013 trên

17 bệnh nhân MPS II Nga [77], nghiên cứu của Dhanya Lakshmi trên 18 bệnh nhân Hunter Ấn Độ 2015 [81], nghiên cứu của Uttarilli A trên 30 bệnh nhân Hunter Ấn Độ 2016 [82] (bảng 4.3).

Bảng 4.3.So sánh các nghiên cứu MPS II

Nghiên cứu tác giả và cộng sự	**Dimitry A Chistiakov**	**Ida VD Schwartz**	**Dhanya Lakshmi**	**Sung Yoon Cho**	**Uttarilli A**	**Nghiên cứu này**
Số bệnh nhân (n)	17	77	18	75	30	27
Bộ mặt thô		Hầu hết bệnh nhân		97%	96,7%	100%
Cứng khớp	100%	Hầu hết bệnh nhân	100%		60,0%	88,8%
Chậm phát triển tinh thần	88%	Nặng: 100 Nhẹ: 11,7	66,4%		56,7%	85,2%
Biến dạng xương			100%		26,7%	77,8%
Gan, lách to	76%	Hầu hết bệnh nhân	100%	99%	83,3%	59,3%
Tổn thương van tim	65%	86,9%	15%	89%		46,2%
Thoát vị rốn hoặc bẹn	59%		61%		50,0%	44,4%
Giảm thính lực		59,7%	60%			32%
Lùn	47%	52,5%			20,0%	29,6%
Đục giác mạc	12%	2,5%				0,0%

Trong nghiên cứu chúng tôi thấy triệu chứng bộ mặt thô chiếm tỷ lệ 100% tương đồng với nghiên cứu của Ida VD Schwartz, Sung Yoon Cho và Uttarilli A. Cứng khớp chiếm tỷ lệ 88,8% thấp hơn nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov, Ida VD Schwartz, Dhanya Lakshmi nhưng cao hơn nghiên cứu của Uttarilli A. Chậm phát triển tinh thần 85,2% tương tự với nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov, Ida VD Schwartz và cao hơn các nghiên cứu kia. Biến dạng xương 77,8% thấp hơn nghiên cứu của Dhanya Lakshmi nhưng cao hơn rất nhiều nghiên cứu của Uttarilli A, đây là những triệu chứng gợi ý chẩn đoán sớm. Triệu chứng gan hoặc lách to 59,3%, tổn thương van tim 46,2%, thoát vị bẹn hoặc rốn 44,4%, giảm thính lực chiếm 32%, các triệu chứng này đều thấp hơn rất nhiều các nghiên cứu của các tác giả khác. Lùn 29,6% thấp hơn nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov, Ida VD Schwartz nhưng cao hơn nghiên cứu của Uttarilli A. Theo Sung Yoon Cho trong 3 năm đầu đời trẻ mắc MPSII tăng trưởng nhanh hơn so với trẻ khỏe mạnh, tuy nhiên sau giai đoạn này trẻ có xu hướng tăng trưởng chậm rõ rệt so với trẻ cùng lứa tuổi khỏe mạnh [79]. Biến dạng xương ức, có tiền sử gia đình đều chiếm tỷ lệ 25,9%. Tất cả 27 ca không có ca nào bị đục giác mạc (bảng 3.5).

Chúng tôi thấy triệu chứng chiếm tỷ lệ cao trong các nghiên cứu bệnh nhân MPS II là bộ mặt thô, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, biến dạng xương. Tiếp theo là gan hoặc lách to, thoát vị rốn hoặc bẹn, lùn, tổn thương van tim. Một số có biểu hiện nghe kém. Rất ít bệnh nhân bị đục giác mạc.

4.2.1.3. Các bệnh nhân MPS III

Trong nghiên cứu của chúng tôi tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của các bệnh nhân MPS III từ 2 đến 3 tuổi. Tuổi chẩn đoán của bệnh nhân là 5,2

đến 5,5 tuổi (bảng 3.2). Các triệu chứng xuất hiện sớm là tăng động, khó tập trung, hay đập phá, chậm phát triển tinh thần (bảng 3.3).

Theo M.J. Valsta và cộng sự 2008 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của nhóm bệnh nhân MPS III là từ 2 đến 6 tuổi. Các triệu chứng xuất hiện sớm thường là chậm phát triển tinh thần, rối loạn hành vi hoặc phối hợp cả 2 triệu chứng [19].

Nghiên cứu của Veronica Delgadillo và cộng sự 2013 trên 55 bệnh nhân MPS III Tây Ban Nha từ 12 đến 18 tháng tuổi trẻ vẫn ở trạng thái bình thường. Triệu chứng đầu tiên xuất hiện thường sau 18 tháng tuổi. Tuổi chẩn đoán trung bình của nhóm bệnh nhân MPS IIIA là 4,4 tuổi. Tuổi chẩn đoán trung bình của nhóm bệnh nhân MPS IIIB là 3,1 tuổi. Chậm biết nói là triệu chứng đầu tiên thường gặp nhất (85%), tiếp theo đến bộ mặt thô (78%), tăng động (65%), các biểu hiện này thường được phát hiện trung bình lúc 3 tuổi [25].

Cả 2 bệnh nhân trong nghiên cứu đều biểu hiện tăng động, chậm phát triển tinh thần, hung tính, biến dạng xương nhẹ. Các triệu chứng khác như gan to, bộ mặt thô, cứng khớp nhưng nhẹ hơn các thể khác. Cả 2 bệnh nhân đều không bị đục giác mạc, không có tổn thương van tim, chức năng nghe bình thường, chiều cao bình thường (bảng 3.6).

Nghiên cứu của M.J. Valsta và cộng sự 2007, Frits A Wijburg và cộng sự 2013 triệu chứng của các bệnh nhân MPS III nổi bật là chậm phát triển tinh thần, trí tuệ sa sút dần, chậm biết nói, tăng động, rối loạn hành vi, hung tính, rối loạn giấc ngủ, co giật. Các tác giả cũng nhận xét biểu hiện bộ mặt thô có ở hầu hết các bệnh nhân nhưng mức độ nhẹ hơn và có thể xuất hiện muộn hơn các thể khác. Ngoài ra một số bệnh nhân cũng có biến dạng xương nhẹ (gù, vẹo cột sống), giảm thính lực, thoát vị bẹn hoặc rốn, hay viêm đường hô hấp,

viêm tai. Số ít bệnh nhân có gan hoặc lách to, có thể có tổn thương van tim [19],[83].

Nghiên cứu của Veronica Delgadillo và cộng sự 2013 trên 34 bệnh nhân MPS IIIA Tây Ban Nha thấy 79,4% bệnh nhân có biểu hiện chậm nói, 70,6% có bộ mặt thô, 61,8% bệnh nhân có biểu hiện tăng động, 50% hay bị rối loạn tiêu hóa, 44,1% hay bị viêm tai, 41,2% hay có rối loạn giấc ngủ, 35,3% nghe kém, thoát vị rốn hoặc bẹn là 32,4%. Nghiên cứu trên 11 bệnh nhân MPS IIIB tác giả thấy 11/11 bệnh nhân có biểu hiện chậm nói, 9/11 bệnh nhân có bộ mặt thô, 6/11 bệnh nhân có biểu hiện tăng động, 5/11 hay bị viêm tai, 5/11 hay có rối loạn giấc ngủ, 4/11 thoát vị rốn, 4/11 hay bị rối loạn tiêu hóa, 2/11 nghe kém [25].

Số lượng bệnh nhân MPS III trong nghiên cứu của chúng tôi còn quá ít khả năng là do một số bệnh nhân biểu hiện triệu chứng về tâm thần nên được gia đình cho khám và điều trị ở chuyên khoa tâm bệnh vì vậy sẽ có một số bệnh nhân bị bỏ sót chẩn đoán. Số lượng bệnh nhân nghiên cứu ở thể này còn ít nên chưa bộc lộ nhiều triệu chứng như các nghiên cứu khác.

4.2.1.4. Các bệnh nhân MPS IVA

Trong nghiên cứu của chúng tôi tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của bệnh nhân MPS IVA từ 0 đến 3 tuổi, trung bình 1 ± 0,8 tuổi. Tuổi chẩn đoán của các bệnh nhân dao động từ 1,3 đến 7,5 tuổi, trung bình 3,9 ± 1,9 tuổi (bảng 3.2). Triệu chứng xuất hiện sớm của các bệnh nhân nhóm này chủ yếu là biến dạng xương (biến dạng lồng ngực, biến dạng cột sống, chậm lớn) (bảng 3.3).

C. J. Hendriksz và cộng sự nghiên cứu 399 bệnh nhân MPS IVA năm 2011 thì tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên trung bình 2,2 tuổi, tuổi chẩn đoán trung bình là 4,9 tuổi và giai đoạn từ 1 - 3 tuổi là giai đoạn có tỷ lệ được chẩn đoán cao nhất (34%). Triệu chứng xuất hiện sớm của các bệnh nhân thường là lùn (49,9%), khớp gối vẹo ngoài (45,1%), gù lưng (44,4%), ngực nhô (43,6%), dáng đi bất thường (37,8%) [27].

Nghiên cứu của Hsiang Yu Lin và cộng sự trên 24 bệnh nhân MPS IVA Đài Loan 2014 tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên là 2 ± 1,6 tuổi, tuổi chẩn đoán là 5,7 ± 4,5 tuổi. Triệu chứng xuất hiện sớm của các bệnh nhân thường là gù (92%) [84].

Nghiên cứu của chúng tôi triệu chứng lỏng lẻo dây chằng chiếm 100%, biểu hiện này có giá trị gợi ý đầu tiên cho thể MPS IVA trên lâm sàng. Biến dạng xương, biến dạng xương ức (xương ức nhô hoặc lõm) gặp 92,3% đây chính là triệu chứng làm cho người nhà lo lắng để đưa con đi khám bệnh. Lùn 61,5%. Giảm thính lực 58,3%. Chậm phát triển tinh thần nhẹ 38,5%. Tổn thương van tim, đục giác mạc 30,8%. Có tiền sử gia đình chiếm 23,1%. Bộ mặt thô 15,4%. Gan to 7,7%. Không có bệnh nhân nào bị thoát vị rốn hoặc bẹn (bảng 3.7).

Nghiên cứu của Hsiang Yu Lin triệu chứng biểu hiện thông thường nhất trên 24 bệnh nhân MPS IVA Đài Loan là gù (100%), ngực nhô (96%), dáng đi bất thường (93%), thân người ngắn và còi cọc (92%), gối vẹo ngoài (92%), tổn thương tim trong nghiên cứu này khá cao 91% [84].

Nghiên cứu của C. J. Hendriksz trên 399 bệnh nhân MPS IVA triệu chứng biểu hiện thông thường nhất là lùn (84,7%), gối vẹo ngoài (78,7%),

ngực nhô (71,4%), gù (70,4%), dáng đi bất thường (64,4%), lỏng lẻo dây chằng (63,2%) [27].

Các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân MPS IVA theo tổng kết của Souhir Khedhiri và cộng sự (2011), Timothy C Wood và cộng sự (2013) bao gồm: Lỏng lẻo dây chằng khớp cổ tay, biến dạng xương, ngực nhô hoặc lõm, gù vẹo cột sống, lùn là các triệu chứng nổi bật gợi ý chẩn đoán, ngoài ra các bệnh nhân cũng hay mắc viêm nhiễm đường hô hấp, có thể giảm thính lực, đục giác mạc nhẹ, thoát vị bẹn hoặc rốn, tổn thương van tim, gan hoặc lách to. Bộ mặt không thô và hầu như ít bị chậm phát triển tinh thần [85],[86].

4.2.1.5. Các bệnh nhân MPS VI

Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của bệnh nhân MPS VI từ 0 đến 3 tuổi, trung bình 0,9 ± 1,3 tuổi. Tuổi chẩn đoán dao động từ 3 tháng đến 7,2 tuổi, trung bình 3,4 ± 2,6 tuổi (bảng 3.2).

Trong 9 bệnh nhân có 4 bệnh nhân biểu hiện triệu chứng đầu tiên là biến dạng xương, 2 bệnh nhân cứng khớp, 2 bệnh nhân biểu hiện rậm lông, 1 bệnh nhân biểu hiện mặt thô (bảng 3.3). Hầu hết các bệnh nhân khi mới đẻ có hình dạng bình thường, tuy nhiên ở 2 bệnh nhân đến sớm chúng tôi cũng thấy đã có biểu hiện bộ mặt thô, triệu chứng bộ mặt thô là triệu chứng gặp 9/9 bệnh nhân MPS VI nhưng lại ít được để ý đến. Các triệu chứng khác rõ nét dần từ 1 đến 3 tuổi. Triệu chứng bộc lộ sớm để người nhà lo lắng thường là biến dạng xương.

Triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi là: Triệu chứng bộ mặt thô 9/9 ca (100%), triệu chứng biến dạng xương 7/9 ca (77,8%), biểu hiện cứng khớp 6/9 ca (66,7%), biến dạng lồng ngực 6/9

ca (66,7%), thoát vị rốn hoặc bẹn gặp 6/9 ca (66,7%) đây là những triệu chứng gợi ý chẩn đoán sớm. Triệu chứng đục giác mạc 5/9 (55,6%). Biểu hiện có tổn thương van tim gặp 4/8 ca (50,0%). Biểu hiện nghe kém 2/5 ca (40,0%). Biểu hiện chậm phát triển tinh thần nhẹ gặp 3/8 ca (37,5%). Rậm lông gặp 3/9 ca (33,3%). Lùn gặp 3/9 ca (33,3%). Triệu chứng gan to, có tiền sử gia đình liên quan gặp ở 2/9 ca (22,2%) (bảng 3.8).

Nghiên cứu Azevedo 2002 trên 28 bệnh nhân MPS VI Brazil và Nam Mỹ tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên trước 6 tháng có 48% bệnh nhân, từ 6 đến 12 tháng là 16%, từ 12 đến 18 tháng là 12%, từ 18 đến 24 tháng là 8%, từ 24 đến 30 tháng là 4%, hơn 30 tháng là 12%. Tuổi chẩn đoán trung bình 48,4 tháng [30].

Nghiên cứu của Maurizio Scarpa 2009 trên 9 bệnh nhân MPS VI Ý tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của các bệnh nhân từ ngay sau đẻ đến 1,9 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 0,7 tuổi đến 5,3 tuổi (trung bình là 1,9 tuổi). Cả 9 bệnh nhân trước khi được điều trị enzym (5,5 - 14,4 tuổi) đều có biểu hiện bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương, cứng khớp, đục giác mạc, gan hoặc lách to, tổn thương van tim, 7/9 ca (77,8%) có biểu hiện giảm thính lực, thoát vị bẹn hoặc rốn [87].

Các triệu chứng lâm sàng của 9 bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu của chúng tôi so sánh với nghiên cứu Azevedo và cộng sự 2002 trên 28 bệnh nhân MPS VI Brazil và Nam Mỹ [30], nghiên cứu của Elena Garrido và cộng sự 2007 trên 16 bệnh nhân Tây Ban Nha và Achentina [31], nghiên cứu của Agnieszka Jurecka 2011 trên 24 bệnh nhân MPS VI ở 1 số nước châu Âu [54], nghiên cứu Piranit Nik Kantaputra 2013 trên 17 bệnh nhân MPS VI Thái Lan - Ấn Độ - Thổ Nhĩ Kỳ [29] (bảng 4.4).

Các số liệu được so sánh trong bảng 4.4 cho thấy thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng đầu tiên đến khi chẩn đoán khá dài ở tất cả các nghiên cứu.

Nghiên cứu của Juby Mathew 2015 trên 9 bệnh nhân MPS VI Ấn Độ tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên của các bệnh nhân từ 5 tháng đến 5 tuổi, tuổi chẩn đoán từ 1 tuổi đến 14 tuổi, thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đến khi chẩn đoán từ 7 tháng - 11 tuổi. Chẩn đoán muộn sẽ làm hạn chế hiệu quả của quá trình điều trị. Cả 9 bệnh nhân đều có biểu hiện lùn, bộ mặt thô, rậm lông, đục giác mạc, xương ức nhô, ngón tay hình vuốt [88].

Triệu chứng bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp gặp với tỷ lệ cao trong nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu khác có giá trị gợi ý chẩn đoán bệnh. Biểu hiện thoát vị bẹn hoặc rốn trong nghiên cứu của chúng tôi cũng gặp với tỷ lệ khá cao, nó cũng tương đồng với kết quả của 2 nghiên cứu khác. Triệu chứng này cũng giúp gợi ý cho các bác sỹ về bệnh MPS. Biểu hiện giảm thính lực, chậm phát triển tinh thần trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như các nghiên cứu khác. Biểu hiện đục giác mạc, tổn thương van tim, lùn, rậm lông, gan hoặc lách to có tỷ lệ thấp hơn nhiều nghiên cứu khác. Tỷ lệ các triệu chứng trong nghiên cứu của chúng tôi chưa cao khả năng do số lượng bệnh nhân nghiên cứu còn ít và 2/9 bệnh nhân được chẩn đoán trước 7 tháng nên chưa bộc lộ nhiều triệu chứng.

Bảng 4.4. So sánh các nghiên cứu MPS VI

Triệu chứng	**Nghiên cứu, tác giả và cộng sự**				
	Agnieszka Jurecka	***Elena Garrido***	***Azevedo ACMM***	***Piranit Nik K***	***Chúng tôi***
Số bệnh nhân	24	16	28	17	9
Tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên	1th - 21t	Sơ sinh - 4t	<6th- >30th	3th - 9t	Sơ sinh - 3t
Tuổi chẩn đoán	2t - 37t	1t - 14t	48,4th	7th - 22t	3th - 7,2t
Bộ mặt thô	100	93,8	100	100	100
Biến dạng xương	100	81,3	100	94,1	77,8
Biến dạng xương ức			78,6		66,7
Cứng khớp	100	43,8	100	88,2	66,7
Thoát vị rốn hoặc bẹn	16,7	18,8	Rốn: 92,9 Bẹn: 46,4	Rốn: 52,9 Bẹn: 35,3	66,7
Đục giác mạc	62,5	31,3	100	64,7	55,6
Tổn thương van tim	100	31,3	96,4	88,2	50
Giảm thính lực	20,8	31,3	53,6	41,2	40
Chậm phát triển tinh thần		31,3		5,9	37,5
Lùn	12,5	31,3	100	82,4	33,3
Rậm lông			92,9	94,1	33,3
Gan, lách to	50	43,8	Gan to: 35,7 Lách to: 85,7	Gan to: 47,1 Lách to: 47,1	22,2

4.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng chính của các bệnh nhân MPS nghiên cứu

4.2.2.1. Hình ảnh X quang của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu

Phần lớn bệnh nhân đều có biến dạng xương trong đó hình ảnh xương sườn hình mái chèo chiếm tỷ lệ cao nhất ở hầu hết các thể MPS 82,1%. Biến dạng cột sống hay có tổn thương đốt sống chiếm 76,8%, thường gặp nhiều ở bệnh nhân MPS I, MPS II, MPS IVA, MPS VI. Giảm chiều cao thân đốt sống chiếm 62,8%, thường gặp nhiều ở bệnh nhân MPS I, MPS IVA. Có tổn thương não trên phim chụp MRI sọ não là 51,4%, gặp nhiều ở bệnh nhân MPS III, MPS II. Biến dạng xương dài 50%. Có biểu hiện chèn ép tủy sống đoạn cổ 48,5%, gặp nhiều ở thể MPS IVA, I, II. Loãng xương chiếm tỷ lệ 33,9%, hay gặp ở thể MPS IV, I, II (bảng 3.9).

Theo Elizabeth và cộng sự 1989, Shyn Jye Chen và cộng sự 1996, Klane K White 2011, Hendriksz và cộng sự 2013 hình ảnh biến dạng cột sống (gù, vẹo) và tổn thương đốt sống hay gặp ở bệnh nhân MPS I thể Hurler, MPS II thể nặng, MPS IVA và MPS VI. Hình ảnh chèn ép tủy sống do tổn thương đốt sống cổ gặp nhiều ở bệnh nhân thể MPS IVA, MPS I (Hurler). Hình ảnh xương sườn hình mái chèo gặp ở hầu hết các thể. Hình ảnh biến dạng xương dài gặp ở bệnh nhân thể Hurler, MPS II thể nặng, bệnh nhân MPS IV, MPS VI [27],[32],[89],[90].

Nghiên cứu của Souhir Khedhiri và cộng sự 2011 trên hình ảnh X quang của 7 bệnh nhân MPS IVA có 5 bệnh nhân có chèn ép đốt sống cổ [85].

Nghiên cứu của Maurizio Scarpa 2009 trên 9 bệnh nhân MPS VI Ý (từ 5,5 - 14,4 tuổi) thì 7/9 bệnh nhân (77,8%) biểu hiện chèn ép tủy sống và 9/9 bệnh nhân (100%) có tổn thương não trên phim chụp MRI sọ não [87].

Nghiên cứu của Dafne Dain Gandelman Horovitz 2011 trên 6 bệnh nhân MPS VI có chụp MRI cột sống thì cả 6 bệnh nhân đều có chèn ép tủy sống do tổn thương đốt sống cổ [91].

Nghiên cứu của Zbigniew Zuber và cộng sự 2014 trên phim chụp MRI của 7 bệnh nhân MPS II có tuổi trung bình là 11,4 tuổi thì đều thấy có biểu hiện chèn ép đốt sống cổ mức độ từ nhẹ đến nặng trên tất cả bệnh nhân [92].

Nghiên cứu của Hsiang Yulin và cộng sự 2013 trên 30 bệnh nhân MPS (I, II, III, IVA, VI) châu Á với tuổi trung bình 10,8 tuổi thì thấy 93% bệnh nhân có biến dạng cột sống hoặc tổn thương đốt sống trong đó 67% là gù, 47% là vẹo cột sống, 47% tổn thương đốt sống, 43% có biểu hiện chèn ép tủy sống, 15% có biểu hiện loãng xương [9].

4.2.2.2. Xét nghiệm GAGs nước tiểu và hoạt độ enzym trong máu của các bệnh nhân trong nghiên cứu

Tất cả 56 bệnh nhân mắc các thể MPS khác nhau được khẳng định bằng đo hoạt độ enzyme đều có nồng độ GAGs nước tiểu cao hơn giá trị tối đa của trị số tham chiếu theo các lứa tuổi và độ nhạy là 100% (bảng 3.10).

Chia bệnh nhân thành 2 nhóm theo mức độ nặng của bệnh gồm nhóm thể nhẹ và nhóm nặng hơn (thể trung bình và thể nặng). Giá trị trung bình nồng độ GAGs toàn phần trong nước tiểu của nhóm nhẹ cao gấp 10 lần giá trị trung bình GAGs bình thường trong nước tiểu theo các nhóm tuổi. Giá trị trung bình nồng độ GAGs toàn phần trong nước tiểu của nhóm nặng hơn cao gấp 13 lần giá trị trung bình GAGs bình thường trong nước tiểu theo các nhóm tuổi (bảng 3.11).

Hoạt độ enzym α Iduronidase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi của các bệnh nhân MPS I trong nghiên cứu dao động từ 0,01 đến 22,4 nmol/mg Prot/hrs, trung bình là 4,78 ± 9,86 (bình thường 41.8±15.9) nmol/mg Prot/hrs

(bảng 3.12). Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân MPS I trong nhóm nghiên cứu thấp hơn rất nhiều giá trị bình thường phòng xét nghiệm. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Luning Sun và cộng sự 2010 trên 10 bệnh nhân MPS I Trung Quốc thấy hoạt độ enzym IDUA của các bệnh nhân giảm rất nhiều dao động từ 0,0 - 0,18 nmol/mg Prot/hrs. Nghiên cứu của Latifa Chkioua và cộng sự 2011 trên 12 bệnh nhân MPS I từ 8 gia đình Tunisia thấy hoạt độ enzym IDUA của các bệnh nhân dao động từ 0,0 - 0,05ΜKat/kg Prot (bình thường: 1,7 đến 3,5) [48],[74].

Hoạt độ enzym α-Iduronate sulfatase trong huyết thanh của các bệnh nhân MPS II trong nghiên cứu dao động từ 0,0 đến 14,99 nmol/mg plasma/4hrs, trung bình là 0,88 ± 2,88 (bình thường 496.3±165.7) nmol/mg plasma/4hrs (bảng 3.12). Nghiên cứu của Ida VD Schwartz và cộng sự 2007 trên 77 bệnh nhân MPS II thấy GAGs trong nước tiểu dao động từ 31 - 57mg/mmol creatinine và hoạt độ enzym α-Iduronate sulfatase trong huyết thanh dao động từ 4,5 - 10,7nmol/4h/ml [76]. Nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov và cộng sự 2013 trên 17 bệnh nhân MPS II thấy GAGs trong nước tiểu 33,7 ± 11,9 mg/mmol/l creatinine và hoạt độ enzym α-Iduronate sulfatase trong huyết thanh 4,45 ± 4,11nmol/4hrs/ml [77]. Mary Anne D. Chiong và cộng sự nghiên cứu trên 23 bệnh nhân MPS II Philipin 2017 nồng độ GAGs nước tiểu 506,5 ± 191,3mg/g creatinine, hoạt độ enzym iduronate-2-sulfatase trong huyết thanh là 0.86 ± 0,79 nmol /mg plasma /4hrs [80].

Hoạt độ enzym heparan sulphamidase trong bạch cầu của bệnh nhân MPS IIIA trong nghiên cứu là 0,03 nmol/mg Prot/24hrs (bình thường là 4.6 ± 2.2) (bảng 3.12). Nghiên cứu của Veronica Delgadillo và cộng sự 2013 trên 34 bệnh nhân MPS IIIA thấy hoạt độ enzym heparan sulphamidase trong bạch cầu < 2,5 nmol/17h/mg Prot. Hoạt độ enzym α-hexosaminidase trong huyết

thanh bệnh nhân MPS IIIB trong nghiên cứu là 0,93 nmol/mg plasma/17hrs (bình thường là 320.4 ± 131.3) (bảng 3.12). Nghiên cứu trên 11 bệnh nhân MPS IIIB 2013 Veronica Delgadillo và cộng sự thấy hoạt độ enzym α-hexosaminidase trong bạch cầu < 3,9 nmol/17h/mg Prot (bình thường là 17,2 ± 6,4) [25].

Hoạt độ enzym galactose-6-sulphate trong bạch cầu của bệnh nhân MPS IVA dao động từ 0,01 đến 66,24nmol/mg Prot/17hrs, giá trị trung bình là 14,97 ± 25,19nmol/mg Prot/17hrs (bình thường 158.9 ± 82.8) (bảng 3.12). Nghiên cứu của Souhir Khedhiri và cộng sự 2011 trên 7 bệnh nhân MPS IVA thấy hoạt độ enzym galactose-6-sulphate trong bạch cầu dao động từ 0,005 - 0,07nmol/mg Prot/hrs [85]. Nghiên cứu của Sonia Pajares và cộng sự 2012 trên 16 bệnh nhân MPS IVA thấy GAGs trong nước tiểu dao động từ 10,99 - 33,15mg/mmol creatinine (tăng từ gấp rưỡi đến gấp 2,8 lần giá trị cao nhất cho phép) và hoạt độ enzym galactose-6-sulphate trong bạch cầu dao động từ 0,02 - 3,23nmol/mg Prot/17hrs [94]. Nghiên cứu của Hsiang Yu Lin và cộng sự 2014 trên 24 bệnh nhân MPS IVA thấy GAGs trong nước tiểu dao động từ 103,6 - 519,1mg/g creatinine và hoạt độ enzym galactose-6-sulphate trong bạch cầu dao động từ 0,03 - 0,77nmol/mg Prot/hrs [84].

Hoạt độ enzym Arylsulfatase B trong bạch cầu của bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu dao động từ 0 đến 42,18nmol/mg Prot/hrs, trung bình là 9,97 ± 13,24nmol/mg Prot/hrs (bình thường 92,3 ± 49,6) (bảng 3.12). Nghiên cứu của Azevedo và cộng sự 2004 trên 28 bệnh nhân MPS VI Brazil thấy nồng độ GAGs nước tiểu dao động từ 7,1 - 14,9 mg/mmol creatinine cao gấp 7,9 lần giá trị cao nhất cho phép. Hoạt độ enzym arylsulfatase B trong bạch cầu dao động từ 0 - 13nmol/mg Prot/hour [30]. Nghiên cứu của Marion M

Brands và cộng sự 2013 trên 12 bệnh nhân MPS VI thấy GAGs trong nước tiểu dao động từ 158,4 - 1286 mg/g creatinine và hoạt độ enzym Arylsulfatase B trong nguyên bào sợi dao động từ 32,3 - 85,7 nmol/mg /hrs (bình thường là 379 - 980 nmol/mg/hr [95].

Như vậy mức độ tăng GAGs trong nước tiểu và mức độ giảm hoạt độ enzym trong máu của các bệnh nhân MPS trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả một số nghiên cứu khác.

4.3. PHÂN TÍCH ĐỘT BIẾN GEN TRÊN 23 BỆNH NHÂN

Nghiên cứu tiến hành phân tích gen cho 27 bệnh nhân MPS nhưng chúng tôi chỉ phát hiện được đột biến trên 23 bệnh nhân, có 4 bệnh nhân thể MPS II chưa phát hiện được đột biến. Các bệnh nhân chưa phát hiện được đột biến vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu sử dụng các phương pháp sinh học phân tử hiện đại như giải trình tự gen thế hệ mới để giải trình tự toàn bộ các vùng gen biểu hiện và toàn bộ hệ gen.

Trong số 23 bệnh nhân được làm phân tích gen ở thể MPS I đột biến gặp nhiều nhất là đột biến sai nghĩa (4/5), thể MPS II đột biến gặp nhiều nhất là đột biến tái tổ hợp (6/14) rồi đến đột biến sai nghĩa (3/14), thể MPS IVA đột biến gặp nhiều nhất là đột biến mất đoạn (4/9) rồi đến đột biến sai nghĩa và đột biến ở vị trí cắt nối (cùng bằng 2/9), thể MPS VI chỉ có 1 bệnh nhân và đột biến trên bệnh nhân này là đột biến sai nghĩa đồng hợp tử. Như vậy đột biến sai nghĩa gặp với tỷ lệ cao nhất 11/30 (36,6%), mất đoạn 6/30 (20,0%), tái tổ hợp 6/30 (20,0%), vô nghĩa 3/30 (10,0%), thêm đoạn 2/30 (6,7%), vị trí cắt nối 2/30 (6,7%) (bảng 3.13).

Nghiên cứu của Rossella P và cộng sự năm 2013, Latifa Chkioua và cộng sự 2015 đa số các đột biến gây bệnh MPS là các đột biến điểm (sai

nghĩa, vô nghĩa), tái sắp xếp lớn, còn lại là mất đoạn một phần hay toàn bộ, thêm đoạn, nhân đôi nhỏ, đột biến ở vị trí cắt nối [2],[96]. Nghiên cứu của chúng tôi tuy số lượng chưa nhiều nhưng cũng phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới.

4.3.1. Đột biến gen *IDUA* trên 3 bệnh nhân MPS I

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 3 bệnh nhân MPS I được phân tích đột biến gen *IDUA* trong đó 2 bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép có biểu hiện lâm sàng thể nặng Hurler, 1 bệnh nhân chỉ phát hiện được 1 allele đột biến có kiểu hình trung bình Hurler/Scheie. Alen đột biến thứ hai của bệnh nhân này vẫn đang được nghiên cứu để phát hiện với các kỹ thuật khác ngoài PCR và giải trình tự trực tiếp. Nghiên cứu của Wang X và cộng sự 2012 trên 57 bệnh nhân MPS I Trung Quốc phát hiện được 105 alen đột biến (92,2%) còn 9 allele (của 8 bệnh nhân) chưa phát hiện được đột biến. Trong 8 bệnh nhân có 1 bệnh nhân chưa xác định được đột biến ở cả 2 alen biểu hiện kiểu hình Hurler/Scheie, 7 bệnh nhân có 1 alen đột biến (3 bệnh nhân có kiểu hình Hurler/Scheie, 1 bệnh nhân có kiểu hình Hurler, 1 bệnh nhân có kiểu hình Scheie, 2 bệnh nhân chưa xác định được kiểu hình) [75].

Có 3 đột biến khác nhau được xác định trong đó có 2 đột biến sai nghĩa (p.R621P và p.D349G) và 1 đột biến vô nghĩa (p.Q584X) (bảng 3.14). Nghiên cứu của Wang X trên 57 bệnh nhân MPS I Trung Quốc, nghiên cứu của Uttarilli A trên 30 bệnh nhân MPS I Ấn Độ đều nhận thấy tỷ lệ đột biến sai nghĩa là cao nhất trong số các đột biến gây bệnh MPS I [75],[82]. Trong 3 đột biến được phát hiện thì 1 đột biến p.Q584X đã được báo cáo, hai đột biến chưa được báo cáo là p. R621P và p.D349G (hình 3.14; 3.16; 3.18).

Đột biến p.Q584X đã được báo cáo trên bệnh nhân MPS I Đài Loan trong nghiên cứu của Guey-Jen Lee-Chen và cộng sự 2002 và trong nghiên

cứu của Luning Sun và cộng sự 2011 trên 10 gia đình MPS I ở Trung Quốc cũng có xuất hiện đột biến này. Đột biến ở exon 13 do C bị thay bằng T ở vị trí 750 nên tạo thành mã ngừng ở vị trí Glutamine 584 làm quá trình phiên mã bị ngừng đột ngột, phân tử protein bị cắt ngắn. Các nghiên cứu về enzym cho thấy đột biến này làm mất hoạt độ enzym, các nghiên cứu về protein và mRNA cũng cho thấy không có mRNA và protein nên đều gây kiểu hình nặng [74],[97]. Bệnh nhân MPS I số 2 trong nghiên cứu (p.Q584X/p.R621P) biểu hiện kiểu hình Hurler. Bệnh nhân bị chậm phát triển tinh thần và nghe kém từ trước 1 tuổi. Khi 4 tuổi biểu hiện lùn, bộ mặt thô, đục giác mạc, thoát vị rốn, biến dạng xương, cứng khớp, GAGs nước tiểu: 1019,5mg/g creatinine, hoạt độ enzym α -L -iduronidase: 0,12nmol/mgProt/hrs.

Đột biến p.R621P gặp ở một bệnh nhân đồng hợp tử và gặp ở bệnh nhân khác dưới dạng dị hợp tử kép, bệnh nhân này mang đột biến p.R621P trên exon 14 và đột biến p.Q584X trên exon 13. Đột biến R621P ở exon 14 do G bị thay thế bằng C ở vị trí 1862 nên axit amin Arginine lớn cơ bản được thay thế bằng axit amin Proline nhỏ ở mã 621 của protein làm thay đổi cấu trúc protein. Đột biến p.R621P đồng hợp tử gây kiểu hình Hurler cho bệnh nhân MPS I số 3. Từ 6 tháng bệnh nhân đã có biểu hiện gù vẹo cột sống, rậm lông. Khi 9 tháng biểu hiện chậm phát triển tinh thần, bộ mặt thô, đục giác mạc, gan, lách to, biến dạng xương tăng dần, GAGs nước tiểu: 1738,61mg/g creatinine, hoạt độ enzym α -L -iduronidase: 0,94nmol/mgProt/hrs.

Đột biến c.1046A>G dẫn đến nucleotid A bị thay bằng G ở vị trí 1046 làm Aspartic ở mã 349 bị thay bằng Glycine làm xáo trộn cấu trúc của protein (p.D349G). Đột biến gây kiểu hình Hurler/Scheie cho bệnh nhân MPS I số 1. Bệnh nhân từ sau 1 tuổi hay mắc bệnh viêm đường hô hấp, viêm tai, cứng khớp rõ. Khi 4 tuổi biểu hiện bộ mặt thô, biến dạng xương, chậm phát triển

tinh thần nhẹ, lùn, nghe kém, gan, lách to, đục giác mạc, GAGs nước tiểu: 434mg/g creatinine, hoạt độ enzym α -L -iduronidase: 0,43nmol/mgProt/hrs

Đột biến p.R621P và p.D349G chưa từng được báo cáo ở 1000 genome, dbSNP hoặc dữ liệu SWISSprot. Những đột biến này được dự báo là đột biến gây bệnh sử dụng phần mềm dự báo (http:/ / sift.jcvi.org (SIFT score 0.00, affected). (SIFT score 0.01, affected); http:/ /genetics.bwh.harvard.edu/ pph2/.

Bệnh MPS I được phát hiện từ năm 1919 [21], cho đến nay cơ sở dữ liệu đột biến gen *IDUA* gây bệnh MPS I mô tả hơn 200 đột biến và 32 đa hình. Các đột biến đó bao gồm đột biến sai nghĩa, vô nghĩa, mất đoạn, thêm đoạn và đột biến tại vị trí cắt nối, trong đó phần lớn là các đột biến sai nghĩa. Các đột biến hay gặp trên thế giới: p.W402X, p.Q70X thường liên quan đến kiểu hình nặng và hay gặp ở vùng Bắc Âu (chiếm 30% và 17% trong nghiên cứu của Alzbeta Vazna và cộng sự 2009, chiếm 46% và 15% trong nghiên cứu của Scott và cộng sự) [72]. Đột biến p.G51D và p.P496R hay gặp ở người Ý. Đột biến p.P533R gặp nhiều ở các nước vùng Địa trung hải [2]. Đột biến p.L346R là đột biến hay gặp nhất chiếm 1/3 số đột biến của bệnh nhân MPS I ở Hàn Quốc cũng như ỏ các nước châu Á Thái Bình Dương [71]. Đột biến p.R89Q thường gặp ở người Nhật. Đột biến p.R89Q và p.R89W thường gây thể nhẹ [5],[97],[98]. Nghiên cứu của chúng tôi vì số lượng bệnh nhân còn ít nên chưa phát hiện được nhiều đột biến, đột biến chủ yếu trong nhóm này là đột biến sai nghĩa tương tự như nghiên cứu của các tác giả khác.

4.3.2. Đột biến gen *IDS* trên 14 bệnh nhân MPS II

Trong 14 bệnh nhân MPS II phát hiện được đột biến có 6 bệnh nhân mang đột biến tái tổ hợp phức tạp (Recombination event) giữa gen *IDS* và giả gen (bảng 3.15). Các bệnh nhân này gen *IDS* mất đoạn ở exon 1-3 do tái tổ hợp với exon 1-2 của giả gen (hình 3.21). Biểu hiện lâm sàng ở 6 bệnh nhân

này là 5 bệnh nhân mắc thể nặng và 1 bệnh nhân mắc thể trung bình. Tất cả 6 bệnh nhân đều chậm phát triển tinh thần, bộ mặt thô, biến dạng xương, 4/6 có cứng khớp (2 bệnh nhân < 3 tuổi chưa có biểu hiện này), GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh giảm nhiều.

Nghiên cứu Susanna Lualdi và cộng sự 2005 trên 30 bệnh nhân MPS II phát hiện 8 bệnh nhân có đột biến tái tổ hợp phức tạp [99]. Nghiên cứu của Roseline Froissart 2007 trên 155 bệnh nhân MPS II có 27 bệnh nhân (17,4%) mang đột biến là những thay đổi lớn, trong đó 20 bệnh nhân (12,9%) có đột biến tái tổ hợp phức tạp với giả gen và trên lâm sàng đều biểu hiện kiểu hình nặng [23]. Nghiên cứu của Huiwen Zhang và cộng sự năm 2011 tại trung Quốc trên 38 bệnh nhân MPS II cũng phát hiện đột biến tái tổ hợp týp A, B, C [22]. Nghiên cứu của Sung Yoon Cho và cộng sự năm 2014 tại Hàn Quốc có sự hợp tác của Nhật Bản, Đài Loan, Malaysia phát hiện đột biến tái tổ hợp là đột biến hay gặp ở bệnh nhân MPS II ở Hàn Quốc cũng như ở các nước châu Á Thái Bình Dương [71]. Motomichi Kosuga và cộng sự khi nghiên cứu 65 bệnh nhân MPS II Nhật Bản 2016 cũng phát hiện 8 bệnh nhân (12,3%) có đột biến tái tổ hợp phức tạp với giả gen, 7 bệnh nhân biểu hiện lâm sàng thể nặng, 1 bệnh nhân thể nhẹ [100].

Trong 3 bệnh nhân (21,4%) có đột biến đã được báo cáo (bảng 3.15), đột biến mất đoạn nhỏ c.120-122del (p.L41del) (hình 3.24) đã được mô tả ở bệnh nhân Hunter trong nghiên cứu của Chi Hwa Kim và cộng sự năm 2003 [101]. Đột biến này thường làm enzym mất hoạt tính. Bệnh nhân số 12 mang đột biến mất đoạn nhỏ (p.L41del) biểu hiện chậm phát triển tinh thần từ 1 tuổi, khi 3 tuổi: Bộ mặt thô, cứng khớp, gan to, biến dạng xương, GAGs nước tiểu 711,84mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,01nmol/ml plasma/4hrs.

Đột biến sai nghĩa ở exon 7 (c.1001A>G) (p.D334G) (hình 3.26) đã được Peining Li và cộng sự mô tả trong nghiên cứu bệnh nhân MPS II ở Mỹ năm 1998 [102]. Đột biến do thay thế A ở vị trí 1001 thành G nên Aspartic acid ở vị trí 334 trên phân tử protein bị thay thế thành Glycine và gây tổn thương cấu trúc và chức năng protein đột biến. Bệnh nhân số 13 mang đột biến p.D334G chậm phát triển tinh thần từ 2 tuổi, khi 3 tuổi: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp nhẹ. Hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,01nmol/ml plasma/4hrs.

Đột biến sai nghĩa c.879G>C (p.Q293H) ở exon 6 (hình 3.22). Đột biến p.Q293H đã được Schröder và cộng sự mô tả ở bệnh nhân Hunter trong nghiên cứu năm 1994 [103]. Đột biến sai nghĩa này làm thay đổi acid amin tạo ra phân tử protein sai tương ứng nên làm giảm hoạt độ enzym. Bệnh nhân số 11 mang đột biến p.Q293H cứng khớp từ 2 tuổi, khi 13 tuổi: Bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương, chậm phát triển tinh thần, gan to, siêu âm tim có hở van động mạch phổi nặng. GAGs nước tiểu 789,59mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,01nmol/ml plasma/4hrs.

Có 5 bệnh nhân (35,7%) mang đột biến chưa từng được báo cáo (bảng 3.15) là đột biến c.166dup (p.D56Gfs*2) ở exon 2 (hình 3.36) trên lâm sàng thấy biểu hiện các triệu chứng ở mức nhẹ (bệnh nhân số 19 khi 12 tuổi: Bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương và cứng khớp nhẹ, không bị chậm phát triển tinh thần, GAGs nước tiểu 422,79mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,01nmol/ml plasma/4hrs).

Đột biến thêm đoạn c.1124-1128 dup (p.L377Gfs*10) ở exon 8 (hình 3.28) trên lâm sàng thấy biểu hiện các triệu chứng ở mức nhẹ (bệnh nhân số 14 khi 11 tuổi: Bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương và cứng khớp nhẹ, không bị

chậm phát triển tinh thần, GAGs nước tiểu 476,36mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,01nmol/ml plasma/4hrs).

Đột biến mất đoạn ở exon 4 (c.473del) (hình 3.30) gây nên lệch khung dịch mã và tạo mã ngừng sớm (p.Y158fs) dẫn đến hiện tượng protein bị cắt ngắn làm enzym mất hoạt tính. Trên lâm sàng thấy biểu hiện kiểu hình nặng (bệnh nhân số 15 khi 10 tuổi: Bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương, cứng khớp, gan, lách to, thoát vị bẹn và rốn, chậm phát triển tinh thần nặng, siêu âm tim có hở van hai lá mức độ trung bình, GAGs nước tiểu 532,99mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,41nmol/ml plasma/4hrs).

Đột biến vô nghĩa c.814C>T (p.Q272*) ở exon 6 (hình 3.32) tạo mã dừng đột ngột ngay sau Glutamine ở vị trí 272 làm chuỗi protein bị cắt ngắn. Đột biến này được xác định ở 1 bệnh nhân Hunter thể nặng và mẹ bệnh nhân cũng mang gen đột biến này (bệnh nhân số 16 khi 7 tuổi: Bộ mặt thô, biến dạng xương và cứng khớp nhẹ, gan to, thoát vị rốn và bẹn đã mổ, chậm phát triển tinh thần nặng, siêu âm tim có hở van hai lá và van động mạch chủ mức độ trung bình, GAGs nước tiểu 479,22mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,35nmol/ml plasma/4hrs).

Đột biến sai nghĩa ở exon 8 (c.1048A > T) (p.N350Y) (hình 3.34) do A ở vị trí 1048 bị thay thế thành T làm cho Asparagine ở vị trí 350 bị thay thế bằng Tyrosine trên phân tử protein làm tổn thương đến hoạt tính của enzym, trên lâm sàng thấy biểu hiện kiểu hình nặng ở 1 bệnh nhân, em trai của bệnh nhân cũng bị bệnh, mẹ và chị gái của bệnh nhân là người lành mang gen đột biến này. (bệnh nhân số 17 khi 12 tuổi: Bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương, cứng khớp, thoát vị rốn và bẹn đã phẫu thuật, chậm phát triển tinh thần nặng, siêu âm tim có hở van hai lá và van động mạch chủ nhẹ, GAGs nước tiểu

391,53mg/g creatinine, hoạt độ enzym Iduronate 2 sulfatase trong huyết thanh 0,63nmol/ml plasma/4hrs).

5 đột biến này chưa được báo cáo ở 1000 genome, dbSNP hoặc cơ sở dữ liệu SWISSprot và được dự đoán là đột biến gây bệnh dựa vào phần mềm (Xq28.(3)http://sift.jcvi.org (SIFT score 0.00, affected) (4)http:/ /genetics.bwh.harvard.edu/ pph2/ (1.000, probably damage).

Bệnh MPS II được phát hiện từ năm 1917 [12],[21], đến nay có hơn 400 đột biến khác nhau của gen *IDS* gây MPS II được báo cáo, trong đó khoảng 80% là các đột biến điểm hoặc khác thường nhỏ về cấu trúc, các thay đổi lớn gây ra khoảng 20% ca bệnh MPS II đó là đột biến mất đoạn của exon hoặc toàn bộ gen hoặc tái tổ hợp phức tạp và sắp xếp lại, thay thế nucleotide thường xuyên tại các điểm CpG. Đột biến ở vị trí cắt nối đã được báo cáo chiếm đến 50% các đột biến ở một số nhóm dân cư. Đột biến thường xảy ra nhất ở vị trí codon Arg468 và thường gây kiểu hình nặng. Những đột biến vô nghĩa cũng như những trường hợp sắp xếp lại cấu trúc chính (mất đoạn, đảo đọan, thêm và lặp đoạn) thường đi kèm với biểu hiện lâm sàng trung bình hoặc nặng. Bệnh nhân mắc đột biến sai nghĩa biểu hiện lâm sàng biến đổi mạnh từ rất nhẹ đến nặng [2],[49],[50],[104].

Gen *IDS* có chứa 9 exon nhưng tần suất đột biến của mỗi exon là khác nhau. Nghiên cứu của Michaela Rathmann và cộng sự 1996 trên 135 đột biến của bệnh nhân MPS II thì tần xuất đột biến cao thường ở exon 3 (1/8), exon 8 (1/9), exon 5 (1/14) và exon 9 (1/15). Các exon còn lại: exon 7 (1/21), exon 2 (1/27), exon 6 (1/57), exon 4 (1/90), exon 1 (0) có tần xuất đột biến thấp [105]. Ngoài ra giả gen (pseudogene) nằm ở 80 kb về phía dưới của gen *IDS* gần exon 3 đã được phiên mã cũng có tác động vào gen *IDS* gây nên các đột biến gen *IDS* và tái sắp xếp gen khác nhau. Điều này chứng tỏ sự đồng nhất

cao nhất của biến đổi trong gen *IDS* và giải thích các biểu hiện lâm sàng ở mức nặng [49],[50],[10]. Sự đa dạng về kiểu gen phù hợp với sự đa dạng về kiểu hình trên lâm sàng.

Nghiên cứu của Uttarilli A trên 30 bệnh nhân Hunter Ấn Độ 2016 phát hiện tần xuất đột biến cao thường ở exon 8, 9, 3. Các đột biến chủ yếu là đột biến sai nghĩa [82]. Motomichi Kosuga và cộng sự khi nghiên cứu 65 bệnh nhân MPS II Nhật Bản 2016 tần xuất đột biến cao thường ở exon 9, 3, 5, 8. Đột biến sai nghĩa chiếm tỷ lệ cao nhất (50,8%) [100]. Mary Anne D. Chiong và cộng sự nghiên cứu trên 23 bệnh nhân MPS II Philipin 2017 tần xuất đột biến cao thường ở exon 9, 3. Các đột biến chủ yếu là đột biến sai nghĩa [80].

Nghiên cứu của chúng tôi đột biến hay gặp trong nhóm này là đột biến tái tổ hợp sau đó đến đột biến sai nghĩa, exon 8 và exon 6 là 2 exon có số đột biến cao hơn exon khác, kết quả phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác [77],[81],[102].

4.3.3. Đột biến gen *GALNS* trên 5 bệnh nhân MPS IVA

Trong nghiên cứu này có 5 đột biến gây bệnh khác nhau của gen *GALNS* được phát hiện ở 5 bệnh nhân MPS IVA bao gồm: p.V427SfsX14, p.P125L, p.Y385X, p.A291T, c.899-2A>C (bảng 3.16). Trong các đột biến này thì có 1 đột biến mất đoạn, 1 đột biến vô nghĩa, 2 đột biến sai nghĩa và 1 đột biến ở vị trí cắt nối.

Đột biến sai nghĩa p.P125L (hình 3.38) đã được mô tả trong nghiên cứu của Anna Caciotti và cộng sự 2014 trên 37 bệnh nhân MPS IVA ở Ý và nghiên cứu của Tamarozzi và cộng sự 2014 trên 160 đột biến về MPS IVA. Đột biến do C ở vị trí 374 bị thay thế thành T nên Proline ở vị trí 125

bị thay thế thành Leucine làm thay đổi cấu trúc và giảm chức năng của enzym [106],[107].

Đột biến p.Y385X (hình 3.38) do C ở vị trí 1155 bị thay thế bằng G nên tạo mã dừng ngay sau Tyrosine ở vị trí 385 làm quá trình phiên mã bị ngừng đột ngột dẫn tới phân tử protein bị cắt ngắn và làm mất chức năng enzym. Đột biến p.Y385X đi cùng với đột biến p.P125L trên bệnh nhân số 36 biểu hiện lâm sàng nặng (biến dạng xương từ 9 tháng, đục giác mạc, nghe kém, lỏng lẻo dây chằng, chèn ép tủy đoạn cổ, GAGs nước tiểu: 269,68mg/g ceatinine, hoạt độ enzym Galactose 6-sulphatase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi: 0,09nmol/mgProt/17hrs).

Đột biến p.A291T đã được mô tả trong nghiên cứu của S Tomatsu và cộng sự 2003 trên 28 bệnh nhân MPS IVA và trong nghiên cứu của Tamarozzi và cộng sự 2014 [107],[108]. Đột biến do G ở vị trí 871 bị thay thế thành A nên Alanine ở vị trí 291 bị thay thế thành Threonine trong phân tử protein và làm thay đổi cấu trúc của phân tử protein. Trên lâm sàng biểu hiện mức độ nặng (bệnh nhân số 44 xuất hiện biến dạng xương cột sống rõ từ 5 tháng, khi 6 tuổi: xương ức nhô, lùn, đi yếu, lỏng lẻo dây chằng, nghe kém, chậm phát triển tinh thần, GAGs nước tiểu: 291,44mg/g ceatinine, hoạt độ enzym Galactose 6-sulphatase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi: 0,02nmol/mgProt/17hrs).

Đột biến vị trí cắt nối c.899-2A>C (bệnh nhân số 35) cũng làm lệch khung dịch mã và làm ngừng sớm quá trình phiên mã gây hậu quả chuỗi protein bị cắt ngắn. Lâm sàng bệnh nhân biểu hiện kiểu hình nặng (biến dạng xương rõ từ lúc 2 tuổi, chậm lớn, đến 7,5 tuổi trẻ biểu hiện lỏng lẻo dây chằng, nghe kém, tổn thương van tim, chèn ép tủy cổ, GAGs nước tiểu:

193,38mg/g ceatinine, hoạt độ enzym Galactose 6-sulphatase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi: 0,67nmol/mgProt/17hrs).

Đột biến mất đoạn p.V427SfsX14 (hình 3.38) chưa từng được công bố xác định ở 2 bệnh nhân ở dạng đồng hợp tử (bệnh nhân số 34 và bệnh nhân số 43). Do mất nucleotid G ở vị trí 1279 nên Valine ở vị trí 427 của phân tử protein bị thay thế thành Serine, quá trình phiên mã bị sai lệch và bị ngừng sớm sau 14 mã tiếp theo. Cả 2 bệnh nhân này trên lâm sàng đều có kiểu hình là thể nặng (biến dạng cột sống rõ từ trước 1 tuổi, mức độ tăng dần, chậm nói, nghe kém, lỏng lẻo dây chằng, GAGs nước tiểu: 337,73 và 330,25mg/g ceatinine, hoạt độ enzym Galactose 6-sulphatase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi: 0,74 và 0,01nmol/mgProt/17hrs).

Bệnh MPS IVA được mô tả từ năm 1929 [21]. Hiện nay gần 180 đột biến của gen GALNS gây bệnh MPS IVA đã được phát hiện trong đó chủ yếu là các đột biến sai nghĩa (69%), đột biến mất đoạn nhỏ (12%), đột biến ở vị trí cắt nối (9%), đột biến vô nghĩa (6%), đột biến thêm đoạn (3%), mất đoạn lớn (1%).

10 đột biến của gen *GALNS* được báo cáo nhiều nhất trên thế giới là đột biến c.1156C>T (p.R386C được báo cáo 55 lần), c.337A>T (p.I113F - 52 lần), c.901G>T (p.G301C - 45 lần), c.120+1G>A (23 lần), c.1171A>G (p.M391V - 22 lần), c.935C>G (p.T312S - 22 lần), c.871G>A (p.A291T - 20 lần), c.860C>T (p.S287L - 20 lần), c.953T>G (p.M318R - 19 lần), và c.757C>T (p.R253W - 18 lần).

Một số đột biến được phát hiện ở một số cộng đồng đặc hiệu: Đột biến điểm p.R386C (chiếm 9% tất cả các alen đột biến ở bệnh nhân MPS IVA) là đột biến hay gặp ở người Mỹ da trắng, người Ý, Ba Lan. Đột biến p.G301C gặp ở 65% các đột biến phát hiện được ở bệnh nhân MPS IVA Colombia. Đột biến M41fsX37 chiếm 87% các đột biến ở bệnh nhân MPS IVA người Tunisi.

Đột biến p.I113F và p.T312S là những đột biến hay gặp ở bệnh nhân MPS IVA người Anh, Ả Rập, Úc. Đột biến p.M318R, p.G340N, p.L366P hay gặp ở bệnh nhân người Trung Quốc. Đột biến p.N204K hay gặp ở bệnh nhân người Nhật. Đột biến c.451C>A và c.1000C>T hay gặp ở bệnh nhân Hàn Quốc.

Trong số các đột biến sai nghĩa 69% gây thể nặng, 19% gây thể nhẹ, 12% không xác định. Tần số đột biến của các alen của gen *GALNS* thấp chỉ giao động từ 5,7 - 8,9%, điều này thể hiện tính không đồng nhất của các alen trong MPS IVA [2],[27],[71],[86].

Vũ Chí Dũng và cộng sự nghiên cứu năm 2011 trên 5 Bệnh nhân MPS IVA Việt Nam đã phát hiện các đột biến: một trường hợp p.G139S/p.G301C (cả 2 đều là đột biến điểm phổ biến ở bệnh nhân MPS IVA). 2 trường hợp là anh em ruột p.M391V/p.F452I (1 đột biến nhẹ/1 đột biến nặng đã gây kiểu hình nhẹ); 1 trường hợp p.S135fsX94/p.M494V (đột biến p.M494V đã được miêu tả chỉ ở 2 alen từ các bệnh nhân Thổ Nhĩ Kỳ gây thể nặng, đột biến p.S135fsX94 là đột biến mất đoạn lớn được miêu tả lần đầu tiên gây thể nặng). 1 trường hợp p.A107GfsX54 trên bệnh nhân có kiểu hình là thể nhẹ (đột biến ở vị trí gắn nối giữa exon 3 và intron 3, đột biến thứ 2 của bệnh nhân này có thể là mất đoạn lớn của gen hoặc tái xắp xếp lớn hoặc đột biến ở vùng promotor chưa phát hiện được) [66].

Nghiên cứu của Kaustuv Bhattacharya và cộng sự năm 2014 khi phân tích gen cho 5 bệnh nhân MPS IVA Úc đã phát hiện các đột biến p.G247D; p.G301C; p.H166Q; p.I113F liên quan đến kiểu hình nặng. Đột biến p.M41L gây kiểu hình nhẹ. Các đột biến p.W326S; p.T313A; c.244+3A>G chưa từng được công bố trước đó [56].

Nghiên cứu của chúng tôi đột biến mất đoạn nhỏ xảy ra với tần suất cao nhất, sau đó đến đột biến sai nghĩa và đột biến ở vị trí cắt nối. Các bệnh nhân

trong nghiên cứu đều có biểu hiện lâm sàng nặng. Số lượng bệnh nhân nghiên cứu còn ít cần phải tiến hành những nghiên cứu lớn hơn để phát hiện được những đột biến gây bệnh MPS IVA ở Việt Nam.

4.3.4. Đột biến của gen *ARSB* trên 1 bệnh nhân MPS VI

Trong gần 4 năm nghiên cứu chúng tôi phát hiện được 9/56 bệnh nhân thể MPS VI trên lâm sàng và xét nghiệm phân tích gen cho 1 bệnh nhân MPS VI. Bệnh nhân này mang đột biến sai nghĩa đồng hợp tử c.524A>G/ c.524A>G (p.Y175C/p.Y175C) chưa từng được mô tả. Đột biến do A ở vị trí 524 bị thay thế thành G làm cho Tyrosine ở vị trí 175 bị thay thành Cysteine trên phân tử protein và gây mất chức năng enzyme, trên lâm sàng thấy biểu hiện kiểu hình nặng. Từ 1 tuổi đã xuất hiện cứng khớp cổ tay, cổ chân tăng dần, vận động hạn chế. 16 tháng mắt đục dần, tai nghe kém dần. Bệnh nhân được chẩn đoán lúc 7 tuổi với biểu hiện lùn, biến dạng xương, chậm phát triển tinh thần mức độ vừa, có tổn thương van tim, GAGs nước tiểu: 652,99mg/g creatinine, hoạt độ enzym N-Acetylgalactosamine-4-sulfatase bằng 0. Tương quan kiểu gen - kiểu hình trong trường hợp này có thể giúp ta dự báo đây là đột biến nặng và gây thể lâm sàng nặng.

Bệnh MPS VI được mô tả từ năm 1963 [21]. Hiện nay có hơn 164 đột biến gen *ARSB* gây bệnh MPS VI đã được mô tả. Trong đó phần lớn là đột biến sai nghĩa và vô nghĩa, còn lại là đột biến thêm đoạn, đột biến mất đoạn, đột biến ở vị trí cắt nối và sắp xếp lại. Nói chung, những đột biến vô nghĩa, đột biến mất đoạn, thêm đoạn nhỏ cùng với đột biến sai nghĩa trực tiếp ảnh hưởng đến vị trí hoạt động của các enzym ARSB nên thường gây kiểu hình nặng. Đột biến p.R152W chiếm khoảng 42% và gây kiểu hình nhẹ, đột biến p.Y210C và đột biến G137V gây kiểu hình trung bình, đột biến p.L72R, p.R160X và p.R315Q gây kiểu hình nặng [2],[29],[55],[109].

Nghiên cứu của Chi Fan Yang và cộng sự 2001 trên 2 bệnh nhân Đài Loan. Trường hợp 1 có kiểu hình MPS VI nặng phát hiện có đột biến dị hợp tử p.F399L/p.Q239R. Trường hợp 2 có kiểu hình MPS VI trung bình, xác định đột biến dị hợp tử p.C192R và đa hình p.V358M. Đột biến đồng hợp tử p.C192R trước đây đã từng được báo cáo gây kiểu hình nhẹ. Ở bệnh nhân này, đột biến p.C192R tạo thành kiểu hình lâm sàng trung bình [110].

Nghiên cứu của Elena Garrido và cộng sự 2007 trên 12 bệnh nhân MPS VI Tây Ban Nha và 4 bệnh nhân MPS VI Argentina phát hiện 19 đột biến trong đó đột biến sai nghĩa gặp nhiều nhất. Hai đột biến thường gặp nhất là đột biến c.1143- 1G>C và c.1143- 8T>G xuất hiện ở cả hai nhóm bệnh nhân, chiếm 30% các alen đột biến. Đột biến p.R160X và p.R160Q gây kiểu hình nặng cũng xuất hiện trong nghiên cứu này [31].

Nghiên cứu của Agnieszka jurecka và cộng sự 2012 trên 21 gia đình bệnh nhân MPS VI phát hiện 14 đột biến trong đó đột biến p.R152W chiếm 50% của các alen đột biến, là đột biến đại diện cho các đột biến của bệnh nhân MPS VI khu vực Trung Âu và Đông Âu [54].

Nghiên cứu của Piranit Nik Kantaputra và cộng sự 2014 trên 17 bệnh nhân MPS VI Thái Lan, Thổ Nhĩ Kỳ, Ấn Độ phát hiện phổ biến nhất là các đột biến sai nghĩa. Đột biến p.R160Q là đột biến trọng điểm của gen *ARSB* gây kiểu hình nặng. Đột biến p.L321P là đột biến gặp nhiều ở bệnh nhân MPS VI Thổ Nhĩ Kỳ gây kiểu hình nặng. Bệnh nhân Ấn Độ là đồng hợp tử với hai đột biến sai nghĩa (p.P445L và p.W450C). Ba đột biến gây lệch khung dịch mã là p.P70fsX123, p.S403fs và p.T526fs. 1 đột biến vô nghĩa đồng hợp tử p.P70fsX123 gây kiểu hình nặng. Hầu hết các đột biến gen *ARSB* gây ra những bất thường trong quá trình cuộn gấp protein sau đó dẫn

tới rối loạn cấu trúc trưởng thành của enzym ARSB. Thay đổi cấu trúc do thay thế amino acid thường gây MPS VI dạng nặng [29].

Nghiên cứu của Juby Mathew 2015 trên 9 bệnh nhân MPS VI Ấn Độ thì có 8 bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử và 1 bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử (nhưng chỉ phát hiện được 1 đột biến). Trong 9 đột biến thì có 8 đột biến sai nghĩa và 1 đột biến mất đoạn. Bệnh nhân biểu hiện lâm sàng nặng cũng là bệnh nhân có đột biến sai nghĩa đồng hợp tử [88].

Nghiên cứu của chúng tôi mới có 1 số rất ít bệnh nhân MPS được phân tích gen nên chưa thể đánh giá tổng quát về kiểu gen của các bệnh nhân MPS Việt Nam. Tuy nhiên nghiên cứu cũng phát hiện được một số đột biến chưa từng được công bố có thể là những đột biến đặc trưng cho các bệnh nhân MPS Việt Nam. Nghiên cứu bước đầu này sẽ tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo tiếp tục phân tích gen cho những bệnh nhân còn lại và phát hiện những bệnh nhân mới mà chúng ta còn bỏ sót nhiều như thể MPS III hay các thể khác.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 56 bệnh nhân MPS được chẩn đoán, điều trị và theo dõi tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương chúng tôi rút ra các kết luận sau:

1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân Mucopolysaccharide

Có 5 thể MPS được phát hiện là: MPS I, II, III (IIIA và IIIB), IVA, VI. Thể MPS II là thể gặp với tỷ lệ cao nhất 48,2%.

Tuổi chẩn đoán thường muộn sau 2,5 tuổi.

Triệu chứng xuất hiện sớm của các bệnh nhân MPS gặp tỷ lệ cao là: biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, chậm nói.

Các triệu chứng lâm sàng hay gặp:

+ MPS I: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, đục giác mạc, chậm phát triển tinh thần.
+ MPS II: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần và không đục giác mạc.
+ MPS III: Chậm phát triển tinh thần, tăng động, hung tính.
+ MPS IVA: Dây chằng lỏng lẻo, biến dạng xương, lùn, rất ít bị chậm phát triển tinh thần.
+ MPS VI: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, đục giác mạc, ít bị chậm phát triển tinh thần.

Tổn thương xương trên Xquang: Xương sườn hình mái chèo, biến dạng cột sống, biến dạng xương dài, MRI sọ não có tổn thương.

GAGs nước tiểu tăng cao đặc biệt ở thể nặng, hoạt độ enzym trong máu giảm nhiều ở hầu hết bệnh nhân.

2. Các đột biến gen gây bệnh Mucopolysaccharide ở 27 bệnh nhân MPS

Có 23/27 (85,2%) bệnh nhân phát hiện được đột biến và 4/27 (14,8%) không tìm thấy đột biến.

Có 6 loại đột biến được tìm thấy trong đó đột biến sai nghĩa chiếm tỷ lệ cao nhất 36,6%, đột biến mất đoạn 20%, đột biến tái tổ hợp 20%.

Đã phát hiện được 9 đột biến chưa từng được công bố trong đó: MPS I có 2 đột biến sai nghĩa là p. R621P (kiểu hình thể nặng) và p.D349G (kiểu hình thể trung bình). MPS II có 5 đột biến p.D56GfsX2 (kiểu hình thể nhẹ); p.L377GfsX10 (kiểu hình thể nhẹ); p.Y158fs (kiểu hình thể nặng); p.Q272X (kiểu hình thể nặng); p.N350Y (kiểu hình thể nặng). MPS IVA phát hiện 1 đột biến mất đoạn p.V427SfsX14 (kiểu hình thể nặng). MPS VI phát hiện 1 đột biến sai nghĩa p.Y175C (kiểu hình thể nặng).

KIẾN NGHỊ

1. Những bệnh nhân có biểu hiện biến dạng xương, bộ mặt thô, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần cần được khám chuyên khoa di truyền lâm sàng để được chẩn đoán xác định sớm.
2. Cần tiến hành sàng lọc trên tất cả các trẻ là anh chị em của bệnh nhân.
3. Triển khai sớm phòng xét nghiệm hóa sinh và sinh học phân tử để sàng lọc, chẩn đoán xác định bệnh MPS tại Việt Nam.
4. Cần có nghiên cứu với số lượng lớn hơn để phát hiện nhiều đột biến hơn trên các bệnh nhân MPS Việt Nam.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Lê Thị Thúy Hằng, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng, Trần Thanh Tú, Vũ Chí Dũng, Cấn Thị Bích Ngọc (2014). Nghiên cứu triệu chứng lâm sàng, dấu ấn sinh học và hoạt độ các enzym của một số ca bệnh Mucopolysaccharidose I và II. Tạp chí Y - dược học quân sự số 8, trang 118 - 122.
2. Lê Thị Thúy Hằng, Trần Thanh Tú, Vũ Chí Dũng, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng (2015). Triệu chứng lâm sàng và hoạt độ các enzym của một số ca bệnh Mucopolysaccharidose. Tạp chí y học thực hành (947), trang 69 - 73.
3. Lê Thị Thúy Hằng, Vũ Chí Dũng, Shunji tomatsu, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Ngọc Khánh, Wuh Liang Hwu, Gu Hwan Ki, Han Wook Yoo (2015). Poster 32 and Abstract 082: Phenotype and genotype of Vietnamese patients with Mucopolysaccharidosis II: First case serie report. Annals of translational medicine - 11th Asia Pacific Conference on Human Genetics.
4. Lê Thị Thúy Hằng, Vũ Chí Dũng, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng (2016). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của 6 bệnh nhân Mucopolysaccharidosis týp VI. Tạp chí Y - dược học quân sự số 8, trang 108 - 112.
5. Lê Thị Thúy Hằng, Vũ Chí Dũng, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng (2016). Lâm sàng và tình trạng đột biến gen của một số ca bệnh Mucopolysaccharidosis týp II. Tạp chí nghiên cứu y học. Số 4, trang 10-18.
6. Lê Thị Thúy Hằng, Vũ Chí Dũng, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Yến, Trịnh Thanh Hùng (2017). Bệnh Mucopolysaccharidosis týp III: Báo cáo ca bệnh. Tạp chí Y - dược học quân sự số 4, trang 227 - 232.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agnieszka Jurecka, Agnieszka Lugowska et al (2015). Prevalence Rates of Mucopolysaccharidoses in Poland. *Journal of Applied Genetics. 56: 205-210*.
2. Rossella P, Francesca Bertola et al (2013). Molecular basis, diagnosis and clinical management of Mucopolysaccharidoses. *Cardiogenetics 3(s1): e2*.
3. Elizabeth f. Neufeld, Joseph Nuenzer (1989). The mucopolysaccharidoses. The metabolic and molecular basis of inherited disease - sixth edition: 1565-1587.
4. Maurizio Scarpa, Zsuzsanna Almassy et al (2011). Mucopolysaccharidosis type II: European recommendations for the diagnosis and multidisciplinary management of a rare disease. *Orphanet journal of rare Diseases* 6:72.
5. Roberto Giugliani, Andressa Federhen et al (2010). Mucopolysaccharidosis I, II and VI: brief review and guidelines for treatment. *Genetics and molecular Biology.33(4): 589-604.*
6. Minke H de Ru, Jaap J Boelens et al (2011). enzymreplacement therapy and/or hematopoietic stemcell transplantation at diagnosis in patients with mucopolysaccharidosis type l: results of a European consensus procedure. *Orphanet journal of rare Diseases.6:55.*
7. Edwards TN, Louboution JP et al (2014). Hematopoietic Stem Cell Therapy and Novel Approaches for Mucopolysaccharidoses. *Journal of Blood Disorders,* Volume 1, Number 2, 1 - 6.
8. Roberto Giugliani, Ana Carolina Brusius-Facchin et al (2015). Diagnosis and therapy options in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Expert Opinion on Orphan Drugs* 3(2):141-150.

9. Joseph Muenzer, James E. Wraith et al (2009). Mucopolysaccharidosis I: Management and Treatment Guidelines. *PEDIATRICS,* Volume 123, Number 1, 19 - 29.

10. Orazio Gabrielli, Lorne A. Clarke et al (2016). 12 year follow up of enzyme-replacement therapy in two siblings with attenuated mucopolysaccharidosis I: the important role of early treatment. *BMC Medical Genetics* 17:19.

11. J.F. Franco, D.C. Soares et al (2015). Impact of early enzyme-replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI: results of a long-term follow-up of Brazilian siblings. *Genetics and Molecular Research* 15 (2): gmr.15017850.

12. Charles Hunter, Major C.A.M.C (1917). A Rare Disease in Two Brothers. *Section for the Study of Disease in Children*. 104 - 116.

13. G. Brante (1952). Gargoylism - A mucopolysaccharidosis. C*andinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 43 - 46.

14. Rick Martin, MDa, Michael Beck et al (2008). Recognition and Diagnosis of Mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome). *PEDIATRICS* Volume 121, Number 2, 377 - 386.

15. Lê Minh Khôi, Nguyễn Hoàng Định (2012). Hở van hai lá ở trẻ em mắc hội chứng Hunter: Báo cáo trường hợp lâm sàng và tổng quan tài liệu. Nghiên cứu y học - Y học thành phố Hồ Chí Minh tập 16 số 1.

16. Hsiang Yu Lin, Shuan Pei Lin et al (2009). Incidence of the Mucopolysaccharidoses in Taiwan, 1984 - 2004. *American Journal of medical genetics*. Part A, 149A: 960 - 964.

17. Shuan-Pei Lin, Hsiang-Yu Lin et al (2013). A pilot newborn screening program for Mucopolysaccharidosis type l in Taiwan. *Orphanet joumal of Rare Diseases.8:147.*

18. Dimitry AC, Kirill VS, Lyudmila MK et al (2014). Molecular characteristics of patients with glycosaminoglycan storage disorders in Russsia. *Clinica Chimica Acta. 436: 113-120.*

19. M.J.Valstar. G.J.G.Ruijter.O.P.van Diggelen et al (2007). Sanfilippo syndrome: A mini review. *J Inherit Metab Dis 31: 240-252.*

20. J. Edward Wraith, Joe T.R. Clarke et al (2006). The Mucopolysaccharidoses. Physician's Guide to the Treatment and Follow - Up of Metabolic Diseases. *Springer*:195-203.

21. Robert J Gorlin, M. Michael Cohen et al (1990). Mucopolysaccharidoses - chapter 5 - Metabolic disorders. Syndromes of the head and neck. *Oxford monographs on medical genetics No. 19.*

22. Huiwen Zhang, Jing Li et al (2011). Analysis of the *IDS* Gen in 38 Patienswith Hunter Syndrome: The c.879G>A (p.Gln293Gln) Synonymous Variation in a Female Create Exonic Splicing. *Plos One*. www.plosone.org. Volume 6/ issue 8/ e22951.

23. Roseline Froissart, Isabel Moreira Da Silva et al (2007). Mucopolysaccharidosis type II: an update on mutation spectrum. *Acta Pædiatrica* 96, pp. 71-77.

24. Ibraheem Rasheeedah1, Oladele Patrick et al (2015). Challenges in the Management of Mucopolysaccharidosis Type II (Hunter’s Syndrome) in a Developing Country: a Case Report. *Ethiop J Health Sci. Vol. 25, No. 3*. 279 - 282.

25. Veronica Delgadillo, Maria del Mar Ocallaghan et al (2013). Natural history of Sanfilippo syndrome in Spain. *Orphanet journal of rare diseases,8:189 (http://www.ojrd.com/content/8/1/189).*

26. Elsa G. Shapiro, Igor Nestrasil et al (2016). A Prospective Natural History Study of Mucopolysaccharidosis Type IIIA. *The journal of pediatrics*. 278 - 287.

27. C.J.Hendriksz, P.Harmatz et al (2013). Review of clinical presentation and diagnosis of mucopolysaccharidosis IVA. *Molecular Genetics and Metabolism: www.elsevier.com/locate/ymgme*.

28. Mehwish Farrukh1, Ayesha Haque (2014). Atypical Presentation of Mucopolysaccharidosis. Morquio's Syndrome (Type IV-B): A Morbid Entity. *Students Corner - Case report.*

29. Piranit Nik Kantaputra, Hulya Kayserili et al (2014). Clinical manifestations of 17 patients affected with mucopolysaccharidosis type VI and eight novel *ARSB* mutations. *American journal of medical genetics part A. DOI 10,1002/ajmg..36489.*

30. ACMM Azevedo, Schwartz IV et al (2004). Clinical and biochemical study of 28 patients with mucopolysaccaridosis type VI. *Clin Genet* 66: 208 - 213.

31. Elena Garrido, Amparo Chabas et al (2007). Identification of the molecular defects in Spanish and Argentinian mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome) patients, including 9 novel mutations. *Molecular Genetics and Metabolism 92:122-130.*

32. Vassili Valayannopoulos, Helen Nicely et al (2010). Mucopolysaccharidosis VI. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 5:5.

33. Shunji Tomatsu, Adriana M, Montano et al (2009). Mutations and Polymorphisms in *GUSB* Gen in Mucopolysaccharidosis VII (Sly Syndrome). *Human Mutation. 511-519.*

34. Yvonne Cheng, Marion S, Verp et al (2003). Mucopolysaccharidosis type VII as a cause of recurrent non-immune hydrops fetailis. *J. Perinat. Med.*31, 535 - 537.

35. Montano, Adriana M et al (2017). Clinical course of sly syndrome (mucopolysaccharidosis type VII*). ProQuest*, 1 - 18.

36. Marvin R. Natowicz, M.Priscilla Short et al (1996). Clinical and biochemical manifestations of Hyaluronidase deficiency. Brief report. *The new England Jounal of medicine, Volume* 335, *number* 14, 1029 - 1033.

37. JE Wraith (2006). Mucopolysaccharidoses and Oligosaccharidoses - Inborn Metabolic Diseases. *Springer*. pp 496 - 507.

38. Eriko Yasuda, William G et al (2015). Long-term follow-up of post hematopoietic stem cell transpalantion for Hurler syndrome: Clinical, biochemical, and pathological improvements. *Molecular Genetics and Metabolism Reports. 2: 65-76.*

39. Eveline Langereis,Naomi van Vlies, Frits wijburg et al **(**2015). Parts of this introduction have been publishes in Diagnosis,classification and treatment of mucopolysaccharidosis type l. *The institutional repository of the University of a Amsterdam.3:307-2.*

40. De Jong JG, Wevers RA, Laarakkers C at al (1989). Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidoses. *Clin Chem*; 35: 1472-7. *Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/*2503262 *PMID*: 2503262.

41. Chih-Kuang Chuang, Hsiang-Yu Lin et al (2014). A modified liquid chromatography/ tandem mass spectrometry method for predominant disaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with Mucopolysaccharidosis. *Orphanet Joumal of Rare Diseases . 9 :135*.

42. Roger Lawrence, jillian R.Brown et al (2012). Disease-Specific Non-Reducing End Carbohydrate Biomarkers for Mucopolysaccharidoses. *Nat Chem Biol*, 8(2): 197-204.

43. Võ Thị Thương Lan (2011). Giáo trình sinh học phân tử tế bào và ứng dụng. *Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam tr155- tr173.*

44. Phạm Thành Hổ (2010). Di truyền học. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam. 38 - 49, 104 - 109, 111 - 117, 157 - 165, 191 - 205, 591 - 603.

45. Robert L. N, Roderick R. M et al (2001). Thompson and Thompson Genetics in medecine. *Elsevier*. 54 - 55, 189 - 190, 345 - 347, 380 - 381.

46. Loryn N. Sellner1n and Graham R. Taylor (2004). MLPA and MAPH: New Techniques for Detection of Gen Deletions. *HUMAN MUTATION 23:413^419.*

47. R. Hochstenbach, J. Meijer et al (2005). Rapid detection of chromosomal aneuploidies in uncultured amniocytes by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA). *PRENATAL DIAGNOSIS Prenat Diagn 25: 1032-1039. Published online in Wiley Inter Science (www.interscience.wiley.com).*

48. Latifa Chkioua, Souhir Khedhiri et al (2011). Molecular analysis of mucopolysaccharidosis type I in Tunisia : identification of novelmutation and eight novel polymorphisms. *Diognostic Pathology.6:39.* http//www.diagnosticpathology.org/content/6/1/39.

49. S. Keeratichamoen, J.R. Ketudat Cairns et al (2008). Molecular analysis of the iduronate-2-sulfatase gen in Thai patients with Hunter Syndrome. *Springer*. http://www.researchgate.net/publication/5348796.

50. E.Martínez-Quintana, F.Rodríguez-González et al (2013). Mucopolysaccharidosis Type II and the G374sp Mutation. *Molecular Syndromology (4): 203-206.*

51. Isaac Canals Montferrer, Daniel Grinerg Vaisman et al (2014). Genetic and molecular analysis of Sanfilippo C syndrome. Generation of a neuronal model using human induced pluripotent stem (iPS) cells and therapeutic strategies. *Universitat de Barcelona.16 - 21, 29 - 40.*

52. Sunqu Zhang, Richard Bagshaw, William Hilson et al (2000). Characterization of b-galactosidase mutations Asp332Asn and Arg148Ser and a polymorphism, Ser532Gly, in a case of GM1 gangliosidosis. *Biochem. J. 348, 621±632 (Printed in Great Britain).*
53. Doris Hofer, Kari Paul et al (2009). GM1 Gangliosidosis and Morquio B disease: Expression Analysis of Missense mutations affecting the catalytic site of acid β galactosidase. *Human Mutation official Journal- Human genome variation societty.* www.hgvs.org.
54. Agnieszka Jurecka, Ewa Piotrowska et al (2012). Molecular analysis of mucopolysaccharidosis type VI in Poland, Belarus, Lithuania and Estonia. *Molecular Genetics and Metabolism. 105: 237-243.*
55. Filippo Vairo, Andressa Federhen et al (2015). Diagnostic and treatment strategies in mucopolysaccharidosis VI. *The Application of Clinical Genetics* 2015:8 245-255.
56. Kaustuv Bhattacharya, Shanti Balasubramaniam et al (2014). Overcoming the barriers to diagnosis of Morquio A syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 9:192.
57. Fernando Andrade,1 Luis Aldámiz-Echevarría et al (2015). Sanfilippo syndrome: Overall review. *Pediatrics International* 57, 331-338.
58. Thomas J. A. Lehman1, Nicole Miller et al (2011). Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology; 50*: v41_v48.
59. Aboul Nasr A, Fateen E (2004). Prenatal diagnosis of mucopolysaccharidoses (MPS): the first Egyptian experience. *Bratisl Lek Listy*. 105 (9): 291 - 340.
60. D Sillence, K Waters et al (2011). Combined enzym Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Mucopolysaccharidosis Type VI. *JIMD Reports. DOI 10,1007/8904_2011_56.*

61. Zyta Banecka-Majkutewicz, Joanna JB et al (2012). Putative Biological Mechanisms of Effeciency of Substrate Reduction Therapies for Mucopolysaccharidoses. *Arch.Immunol.Ther.Exp. 60: 461-468.*

62. Jessica de Ruijter, Marlies J. Valstar et al (2011). Chapter two: Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo Syndrome): Emerging treatment strategies. Sanfilippo disease. *Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA) http://hdl.handle.net/11245/2.126756, 19 - 36.*

63. Concetta Maria Spinello, LorenaMaria Novello et al (2013). Anesthetic Management in Mucopolysaccharidoses. *Hindawi Publishing Corporation ISRN, Anesthesiology: Volume 2013, Article ID 791983, 10 pages http://dx.doi.org/10.1155/2013/79 1983.*

64. Vũ Chí Dũng, Nguyễn Thị Hoàn, Bùi Phương Thảo và cs (2006). Chẩn đoán các thể bệnh trên những bệnh nhi được chẩn đoán mucopolysaccharidose tại bệnh viện Nhi Trung ương. *Tạp chí nghiên cứu y học,* 44 (4), 10-14.

65. Vũ Chí Dũng, Khu Thị Khánh Dung, Shunji Tomatsu (2010). Phân tích đột biến gen *GALNS* trong chẩn đoán trước sinh bệnh Morquio A. *Tạp chí nghiên cứu y học* Volume 67. N^{02}.

66. Vũ Chí Dũng, Nguyễn Phú Đạt (2011). Bệnh Mucopolysaccaridosis IVA: Tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình. Tạp chí nghiên cứu Y học phụ trương, 74(3): 107-112.

67. De Onis, M (2006). WHO child growth standards. *World Health organization.*

68. Konus OL, Ozdemir A, Akkava A et al (1998). Normal liver, spleen, and kidney dimensions in neonates, infants and children evaluation with sonography. *AJR Am J Roentgenol, 171(6): 1693-8.*

69. Bhavna Dhingra, Suvasini Sharma et al (2010). Normal values of liver and spleen size by ultrasonography in Indian children. *Indian Pediatrics Volume 47, Pages 487 - 492.*

70. Titi Sularyo B. E., Tri Lestari H1, 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.

71. Sung Yoon Cho, Young Bae Sohn et al (2014). An overview of Korean patients with Mucopolysaccharidosis and collaboratin through the Asia Pacifie MPS Network. *Intractable & Rare Diseases Research.3(3): 79-86.*

72. Alzbeta Vazna, Clare Beesley, linda Berna et al (2009). Mucopolysaccharidosis Type l in 21 Czech and Slovak Patients: Mutation Analysis Suggests a Functional Importance of C-terminus of the IDUA Protein. *American journal of medical genetscs.149A:965-974*

73. Tatiana Pineda, Sulie Marie, Janneth Gonzalez et al (2014). Genotypic and bioinformatic evaluation of the alpha-l-iduronidase gen and protein in patients with mucopolysaccharidosis type l from Colombia, Ecuador and Peru. *Molecular Genetics and Metabolism reports* 1, 468 - 473.

74. Luning Sun, Chunyi Li et al (2011). Three novel alpha-iduronidase mutations in 10 unrelated Chinese mucopolysaccharidosis type l families. *Genetics and Molecular Biology*. 34, 2, 195-200.

75. Wang X, Zhang W, Shi H, Qiu Z et al (2012). Mucopolysaccharidosis I mutations in Chinese patients: identification of 27 novel mutations and 6 cases involving prenatal diagnosis. *Clin Genet 2012: 81: 443-452.*

76. Ida VD Schwartz, Marcia G Ribeiro et al (2007). A clinical study of 77 patients with mucopolysaccharidosis type II. *Journal Compilation @2007 Foundation Acta Pediatrica* 96, 63 - 70.

77. Dimitry A.Chistiakov, Lyudmila M.Kuzenkove et al (2014). Genetic Analysis of 17 Children with Hunter Syndrome: Indentification and Functional Characterization of Four Novel Mutations in the Iduronate - 2- Sulfatase Gen. *Journal of Genetics Genomics*.41:197-203.
78. Christina Lampe, Ann-Kathrin Bosserhoff et al (2014). Long-term experience with enzyme replacement therapy (ERT) in MPS II patients with a severe phenotype: an international case series. *J Inherit Metab Dis*. 37: 823-829.
79. Sung Yoon Cho, Rimm Huh et al (2014). Impact of Enzyme Replacement Therapy on Linear Growth in Korean Patients with Mucopolysaccharidosis Type II (Hunter Syndrome). *J Korean Med sol.* 29: 254-260.
80. Mary Anne D. Chiong1,2,3*, Daffodil M. Canson et al (2017). Clinical, biochemical and molecular characteristics of Filipino patients with MPS type II - Hunter syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases.*
81. Dhanya Lakshmi Naranan, Priyanka Srivastava et al (2016). Hunter Syndrome in Northern India: Clinical features and Mutation Spectrum. *Indian Pediatrics;* 53: 134-136.
82. Uttarilli A., Ranganath P., Matta D et al (2016). Identification and characterization of 20 novel pathogenic variants in 60 unrelated Indian patients with mucopolysaccharidoses type I and type II. *Clinical Genetics: 90:* 496-508.
83. Frits A Wijburg, Grzegorz Wegrzyn at al (2013). Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder. *Acta Pediatrica ISSN* 0803-5253, 102, 462 - 470.
84. Hsiang Yu Lin, Chih Kuang Chuang et al (2014). Natural history and clinical assessment of Taiwanese patients with mucopolysaccharidosis IVA. *Orphanet journal of rare diseases,9:21* *http://www.ojrd.com/content/9/1/21*.

85. Souhir Khedhiri, Latifa Chkioua et al (2011). Polymorphisms in Tunisian patiens with N- acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase gen deficiency: Implication in Morquio A disease. *Diagnostic pathology*. http://www.diagnosticpathology.org/content 6/1/11.
86. Timothy C. Wood, Katie Harvey et al (2013). Diagnosing mucopolysaccaridosis IVA. *J Inherit Metab. 36: 293-307.*
87. Maurizio Scarpa, Rita Barone et al (2009). MPS VI: the Italian experience. *Eur J Pediatr* 168: 1203 - 1206.
88. Juby Mathewa, Sujatha M. Jagadeesh et al (2015). Mutations in ARSB in MPS VI patients in India. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* 4, 53-61. http://www.researchgate.net/publication/14447828.
89. SJ Chen, YW Li, TR Wang et al (1996). Bony Changes in common mucopolysaccharidoses. *Acta Paed Sin* 37: 178-184.
90. Klane K. White (2011). Orthopaedic aspects of mucopolysaccharidoses. *Rheumatology*, 50, v26 - v33.
91. Dafne Dain, Gandelman Horovitz, Alessandra Pena et al (2011). Spinal cord compression in young children with type VI mucopolysaccharidosis. *Molecular Genetics and Metabolism* 104: 295-300.
92. Zbigniew Zuber, Agnieszka Jurecka et al (2015). Cervical spine MRI findings in patients with mucopolysaccharidosis type II. *Pediatric Neurosurgery DOI*: 10.1159/000371658.
93. Hsiang Yu Lin, Shou Chuan Shih et al (2013). Assessment of bone mineral density by dual energy x-ray absorptimetry in patients with Mucopolysaccharidoses. *Orphonet Joumal of Rare Diseases* . 8 :71.
94. Sonia Pajares, Carlos Alcalde et al *(2012). Molecular analysis of* Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio) in Spain. *Molecular Genetics and metabolism 106: 196 - 201.*
95. Marion M. Brands, Marlanne Hoogeveen-Westerveld et al (2013). Mucopolysaccharidosis type VI phenotypes-genotypes and antibody response to galsulfase. *Orphanet Journal of Rare Diseases. 8:51.*

96. Latifa chkioua, Chaker aloui, Sandrine Laradi et al (2015). Genetic heterogeneity of 72 patients with MPS in Tunisia. *International journal of new technology and research, (ISSN 2454-4116), volume 1, pages 1 - 6.*

97. Guey Jen Lee Chen, Shuan-Peilin et al (2002). Mucopolysaccharidosis type l : Identification and characterizationof mutations affecting alpha-L -iduronidase activity. *Journal of the formosan medical association* .Vol 101. No 6, 425 - 428.

98. Sudhakar Sarath Chandar,Kulandaivelu Mahalingam et al (2012). Mucopolysaccharidosis type l: Homology modeling and docking analysis of the lysosomal enzyme, human anpha-L-iduronidase. *African Journal of Pharmacy and Phamacology. Vol 6(27). 2027 - 2038.*

99. Susanna Lualdi, Stefano Regis et al (2005). Characterization of iduronate 2 sulfatase gen - Pseudogene recombinations in eight patients with Mucopolysaccharidosis type lI revealed by a rapid PCR based method. *Human mutation* 25: 491 - 497.

100. Motomichi Kosuga, Ryuichi Mashima et al (2016). Molecular diagnosis of 65 families with mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome) characterized by 16 novelmutations in the IDS gene: Genetic, pathological, and structural studies on iduronate-2-sulfatase. *Molecular Genetics and Metabolism* 118 190-197.

101. Chi Hwa Kim, Hye Zin Hwang et al (2003). Mutation spectrum of the iduronate 2 sulfatase gen in 25 unrelated Korean hunter syndrome patients: Identification of 13 novel mutations. *Human mutation, mutation in Brief #599.* DOI:10.1002/humu.9128.

102. Peining Li, Amy B Bellows, Jerry N Thompson et al (1999). Molecular basis of iduronate-2-sulphatase gen mutations in patients with mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome). *J Med Genet*; 36: 21-27.

103. Schröder W, Wulff K, Wehnert M et al (1994). Mutations of the iduronate-2-sulfatase (IDS) gen in patients with Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II). *Hum Mutat*; 4(2):128-131.

104. Latifa Chkiou, Souhir Khedhirl,Hadhami Ben Turkia et al (2011). Mucopolysaccharidosis type l: molecular characteristics of two novel alpha-L-iduronidase mutations in Tunisian patients. *Diagnostic Pathology.6:47. http://www.diognosticpathology.org/content/6/1/47.*

105. Michaela Rathmann, Susanna Bunge et al (1996). Mucopolysaccharidosis Type II (Hunter Syndrome) Mutations “Hot Spots”in the induronate-2-Sulfatase Gen. *Am. J. Hum. Gennet. 59: 1202 - 1209.*

106. Anna Caciotti, Rodolfo Tonin et al (2014). Optimizing the molecular diagnosis of *GALNS*: novel methods to define and characterize Morquio A syndrome-associated mutations. (Morquio A syndrome associated mutation: A review of alterations in the *GALNS* gen and a new locus specific database). H*uman mutation*. http://www.researchgate.net/publication/264867262.

107. E.R. Tamarozzi, E. Torrieri et al (2014). In silico analysis of mutations occurring in the protein N-acetylgalactosamine-6-sulfatase (*GALNS*) and causing mucopolysaccharidosis IVA. *Genetics and Molecular Research 13(4): 10025-10034.*

108. S. Tomatsu, T Nishioka at al (2003). Mucopolysaccharidosis IVA: Identification of mutation and methylation study in *GALNS* gen. *J Med Genet,* 41: e98. *(http://www.jmedgenet.com/cgi/content/full*/41/7/e98)

109. Litsa Karageorgos, Doug A Brooks et al (2007). Mutation analysis of 105 mucopolysaccharidosis type VI patients. *Human mutation* 28(9), 897 - 903.

110. Chi-Fan Yang, Jer-Yuarn Wu et al (2001). Mucopolysaccharidosis type VI: Report of two Taiwanese Patients and Identification of one Novel Mutation. *J Formos Med Assoc. 100:820-3.*

PHỤ LỤC 1
BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU
BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE

Mã bệnh án: ....

STT: ………………………

Họ và tên: .... Nam ☐; Nữ ☐

Ngày sinh: ....

Địa chỉ: ....

Điện thoại liên hệ: ....

Chẩn đoán: ....

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE

I. HÀNH CHÍNH:

Họ và tên:.. Nam ☐ Nữ ☐

Ngày sinh:.................... Ngày vào viện:..............................

Địa chỉ:...

Điện thoại:.......................................

Họ tên bố:...................................... Tuổi:..........ĐT:

Họ tên mẹ:.. Tuổi:.......... ĐT:

II. LÝ DO VÀO VIỆN

III. TIỀN SỬ

1. Tiền sử sản khoa:

2. Tiền sử bệnh tật:

Triệu chứng sớm của bệnh:

Triệu chứng nổi bật làm gia đình phát hiện:

Các triệu chứng khác

3. Tiền sử gia đình:

4. Phả hệ:

IV. THĂM KHÁM

1. Toàn trạng:

Chiều cao:.................. Cân nặng:.......................... Vòng đầu:……………..

Thóp: Mạch:.................. Nhịp thở:

Bộ mặt:

Da:

2. Tuần hoàn:

Bệnh lý van tim: Có ☐ Không ☐

Tổn thương:

3. Tiêu hóa:

Gan: Lách: Thoát vị:

Triệu chứng khác:

4. Hô hấp:

Lồng ngực:

Cơn ngừng thở khi ngủ:

Triệu chứng khác:

5. Thận- Tiết niệu- Sinh dục:

6. Tâm thần kinh:

Phát triển tinh thần: Chậm Bình thường

Thời gian xuất hiện:

7. Cơ xương khớp:

Biến dạng xương: Có ☐ Không ☐

Xương biến dạng:

Lỏng lẻo dây chằng: Có ☐ Không ☐

Khớp tổn thương:

Cứng khớp: Có ☐ Không ☐

Khớp tổn thương:

Dấu hiệu khác:

8. Mắt:

Đục giác mạc: Có ☐ Không ☐

Dấu hiệu khác:

9. Răng hàm mặt:

10. Tai mũi họng:

Giảm thính lực: Có ☐ Không ☐

Thời gian xuất hiện:

Dấu hiệu khác:

V. CẬN LÂM SÀNG

1. Công thức máu:

2. Sinh hóa:

Ure:	*SGOT:*
Creatinin:	*Bilirubin toàn phần:*
Glucose:	*Bilirubin trực tiếp:*
Canxi:	*Photphatase kiềm:*
SGPT:	

3. Tổng phân tích nước tiểu:

4. Siêu âm ổ bụng:

5. Siêu âm tim, điện tim:

6. X-quang sọ não (thẳng nghiêng):

7. X-quang phổi:

8. X-quang xương cột sống (thẳng - nghiêng):

9. X-quang xương chi 2 bên (thẳng - nghiêng):

10. Điện não:

11. Khám tâm bệnh - Đo IQ/DQ:

12. Chụp MRI sọ não – cột sống:

13. Xét nghiệm đo GAG toàn phần trong nước tiểu:

14. Xét nghiệm đo hoạt độ enzym:

15. Phân tích kiểu gen

VI. CHẨN ĐOÁN

Chẩn đoán sơ bộ: ………………………………………………………..

Chẩn đoán xác định: ………………………………………………………..

VII. ĐIỀU TRỊ

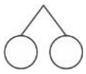
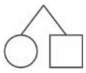
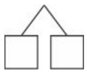
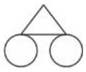
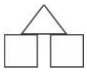
VII. DIỄN BIẾN VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ

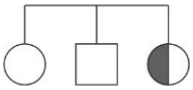
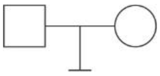
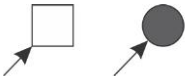
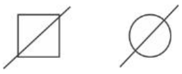
Ngày...........Tháng.............Năm 201

Bác sỹ

QUY ƯỚC CÁC KÝ HIỆU SỬ DỤNG TRONG SƠ ĐỒ PHẢ HỆ

(theo quy định của Hội di truyền người quốc tế)

	Nam, nữ không bị bệnh
	Người mang gen dị hợp tử trong di truyền liên kết giới tính
	Người mang gen dị hợp tử trong bệnh di truyền lặn NST thường
	Bệnh nhân
	Không rõ giới tính
	
	Sinh đôi khác trứng
	
	Sinh đôi cùng trứng
	

	Mối quan hệ vợ chồng
	Kết hôn cận huyết
	Số thứ tự của con
	Anh, chị, em ruột
	Vô sinh
	Đối tượng nghiên cứu
	Chết
	

KÝ HIỆU CÁC ACID AMIN

Alanine	ala	A
Arginine	arg	R
Asparagine	asn	N
Aspartic acid	asp	D
Cysteine	cys	C
Glutamic acid	glu	E
Glutamine	gln	Q
Glycine	gly	G
Histidine	his	H
Isoleucine	ile	I
Leucine	leu	L
Lysine	lys	K
Methionine	met	M
Phenyl alanine	phe	F
Proline	pro	P
Serine	ser	S
Threonine	thr	T
Tryptophan	trp	W
Tyrosine	tyr	Y
Valine	val	V

PHỤ LỤC 2
TIÊU CHUẨN CHẨN ĐOÁN BỆNH MUCOPOLYSACCHARIDE

1. Triệu chứng lâm sàng

Chậm phát triển tinh thần tăng dần, trí nhớ giảm dần (thường bộc lộ rõ vào tầm 1- 2 tuổi). Trẻ thường chậm nói, có thể tăng động, giảm tập trung, rối loạn hành vi, rối loạn giấc ngủ.

Loạn sản hệ xương bao gồm 1 hoặc nhiều triệu chứng: Lùn, cong vẹo cột sống, xẹp các đốt sống, cứng khớp, biến dạng khớp, biến dạng lồng ngực, dây chằng lỏng lẻo, hội chứng ống cổ tay, chèn ép tủy sống, bộ mặt thô (trán dô, sống mũi tẹt, cánh mũi to, lưỡi to dày), răng mọc lộn xộn, men răng hỏng, có thể có u nang răng.

Ngoài ra có thể thoát vị rốn hoặc thoát vị bẹn. Gan, lách có thể to. Tai có thể giảm thính lực, điếc. Mắt có thể bị đục giác mạc. Tim có thể có bệnh lý van tim, suy tim. Da có thể có nhiều mảng sắc tố, rậm lông, sẩn ban. Trẻ hay bị viêm nhiễm đường hô hấp, viêm tai, có cơn ngừng thở khi ngủ. Tràn dịch não thất thường xuất hiện sau 2- 3 tuổi nhưng cũng có thể sớm từ 6 tháng dẫn tới tăng áp lực nội sọ.

2. Xét nghiệm

*** Các xét nghiệm:** Công thức máu. Sinh hóa máu: Ure, creatinine, Bilirubine (toàn phần, trực tiếp), SGOT- SGPT, Canxi, Photphatase kiềm, T4, TSH. Xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu.

*** Siêu âm:** Siêu âm ổ bụng, siêu âm tim.

*** Khám chuyên khoa:** Khám tâm bệnh đo IQ hoặc DQ. Khám tai mũi họng đo thính lực. Khám mắt. Khám răng miệng.

*** X quang**: sọ não, lồng ngực, cột sống, xương dài có biến dạng.

*** MRI:** MRI cột sống cổ, lưng, thắt lưng có biến dạng. MRI sọ não.

*** Xét nghiệm glycosaminoglycan** toàn phần trong nước tiểu tăng:

- Định lượng GAGs trong nước tiểu được tiến hành theo phương pháp dimethyl-methylene blue (DMB) binding assay sử dụng BlyscanTM Sulfated Glycosaminoglycan Assay Kit từ Biocolor Ltd (www.biocolor.co.uk) [41],[42],[43].

- Nồng độ GAGs sẽ được tính theo đơn vị mg GAGs/gram creatinine. Nồng độ GAGs đo được ở các mẫu bệnh phẩm sàng lọc sẽ được so sánh với trị số bình thường theo tuổi (giá trị bình thường của phòng xét nghiệm) như sau:

≤ 1 tuổi là 90,76 (20,26 - 312,38) mg GAGs/gram creatinine

Từ 1 - 3 tuổi là 56,19 (19,97 - 110,53) mg GAGs/gram creatinine

Từ 3 - 5 tuổi là 45,16 (10,74 - 112,02) mg GAGs/gram creatinine

Hơn 5 tuổi là 35,74 (10,77 - 77,5) mg GAGs/gram creatinine

*** Đo hoạt độ enzym:**

- Bệnh phẩm là 10 ml máu chống đông bằng K3-EDTA và được bảo quản bằng gel lạnh, phân tích mẫu bệnh phẩm trong vòng 3 ngày tại phòng xét nghiệm di truyền bệnh viện đại học quốc gia Đài Loan.

- Ly tâm tách bạch cầu và plasma rồi được ủ với cơ chất đặc hiệu theo quy trình

- Bệnh phẩm bạch cầu máu ngoại vi đo hoạt độ các enzyme cho các thể bệnh: MPS I, II, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, VI, VII

- Bệnh phẩm plasma cho các thể MPS II, IVB và IIIB

- Phương pháp: 4MU-Fluorometric assay hoặc Spectrophotometric assay [3],[19].

- Điều kiện và thời gian phản ứng từ 30 phút đến 24 giờ tùy thuộc vào từng cơ chất và enzym (bảng 2.1).

- Đọc kết quả trên máy Shimadzu RF-1501 spectrofluorophotometer.

- Hoạt độ enzyme được tính theo mg protein và đối chiếu với giá trị tham chiếu của labo (bảng 2.1).

Bảng 2.1. Các enzyme, thời gian phản ứng và trị số tham chiếu

Thể bệnh	Enzyme	Cơ chất được sử dụng	Thời gian phản ứng	Giá trị tham chiếu
MPS I	α-L-Iduronidase	4-methylumbelliferyl α-L-iduronide	nmol/mg protein/giờ	41,8 ± 15,9
MPS II	Iduronate-2-sulfatase	4-methylumbelliferyl-α-iduronate 2-sulfate	nmol/mg protein/4 giờ	28,8 ± 11,3
MPS IIIA	Heparan-N-sulfatase	fluorogenic 4 methylumbelliferyl-α-D-sulfoglucosamine	nmol/mg protein/24 giờ	4,6 ± 2,2
MPS IIIB	α-N-acetylglucosaminidase	4-methylumbelliferyl-N-acetyl-α-D-glucosaminide	nmol/mg protein/17 giờ	17,2 ± 6,4
MPS IIIC	Acetyl-CoA: α-glucosaminide acetyltransferase	4 methylumbelliferyl β-D-glucosaminide	nmol/mg protein/17 giờ	7,5 ± 2,2
MPS IIID	N-acetylglucosamine 6-sulfatase	4-methylumbelliferyl-α-N-Acetylglucosamine 6-sulfate	nmol/mg protein/24 giờ	7,76 ± 5,15
MPS IVA	N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase	fluorogenic 4 methylumbelliferyl-β-D-galactopyranoside-6-sulfate	nmol/mg protein/17 giờ	158,9 ± 82,8
MPS IVB	B-Galactosidase	Beta - galactosidase	nmol/mg protein/30 phút	93,85 ± 28,75
MPS VI	N-acetylgalactosamine-4-sulfatase	4- methylumbelliferyl-N- acetylgalactosamine - 4 -sulfate	nmol/mg protein/giờ	92,3 ± 49,6
MPS VII	B-D-glucuronidase	4 - methylumbelliferyl β-D-glucuronid	nmol/mg protein/giờ	110,3 ± 32,4
MPS IVB	B-Galactosidase		nmol/ml plasma/30 phút	10,22 ± 5,03
MPS II	Iduronate-2-sulfatase		nmol/ml plasma/4 giờ	496,3 ± 165,7

Thể bệnh	Enzyme	Cơ chất được sử dụng	Thời gian phản ứng	Giá trị tham chiếu
MPS IIIB	α-N-acetylglucosaminidase		nmol/ml plasma/17 giờ	320,4 ± 131,3

Nhận định kết quả:

+ Hoạt độ enzyme chứng = 40-60% giá trị tham chiếu: bệnh phẩm kém chất lượng, lấy bệnh phẩm lại, có thể nhận định kết quả.

+ Hoạt độ enzyme chứng < 40% giá trị tham chiếu: bệnh phẩm kém chất lượng, thu thập lại và không nhận định kết quả.

+ Hai hoặc ba enzyme cần kiểm tra có hoạt độ thấp (trừ sulfatase): bệnh phẩm kém chất lượng và cần thu thập lại. Có thể nhận định kết quả.

+ Hoạt độ enzyme cần kiểm tra < 10% so với bình thường: thiếu hụt enzyme.

+ Hoạt độ enzyme cần kiểm tra 10-30% so với bình thường: hoạt độ enzyme thấp.

+ Hoạt độ còn 30% của bình thường (trung bình - 1SD): Hoạt độ enzyme giảm nhẹ.

+ Đối với MPS VI:

- Hoạt độ enzyme < 10%: thiếu hụt enzyme
- Hoạt độ enzyme 10-20%: hoạt độ thấp
- Hoạt độ còn 20% (trung bình - 1SD): Hoạt độ giảm nhẹ: cần khẳng định chẩn đoán bằng phân tích phân tử.

*** Phân tích gen tìm đột biến**

- Chiết tách DNA từ bạch cầu lympho máu ngoại vi

- Tất cả các exon và vùng gắn nối exon-intron của các gen này được khuyếch đại bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình

tự trực tiếp bằng phương pháp Sanger [44],[45],[46]. Phản ứng giải trình tự được phân tích trên hệ thống ABI Prism 3730 DNA automatic sequencer (Applied Biosystems, Warrington, UK) và được so sánh với trình tự gen đã được công bố, sử dụng “ Mutation Surveyor version 3.24” (Softgenetics PA, USA).

Bảng 2.2. Trình tự primers và kích thước sản phẩm PCR của gen *IDUA*

MPS I—IDUA gene

PCR sequences, amplicon length and PCR reaction temperature

Exon	primer sequence	amplicon length (bp)	annealing temperature (℃)
1	F: 5'-CCGCAGTCCCCGAGCAC-3'	277	60 *
	R: 5'-GCTCCGGTCTCTGAAGCTCT-3'		
2	F: 5'-CCCTCGTCTTACTGCTGCTG-3'	401	60 *
	R: 5'-TCCCATCTGTGCCTCTGTAA-3'		
3, 4	F: 5'-CATACCAGGCCTTCATAGGG-3'	708	58
	R: 5'-CCAACCTATCCCTTGTCACC-3'		
5	F: 5'-CATCACCTTGCACCCTCC-3'	273	60
	R: 5'-CGTCTACACCTGCCCTGG-3'		
6	F: 5'-CCGCTCATCCCCAGGGCAGGTGTA-3'	301	60
	R: 5'-ACAGCGGCTGAGGGCGCAGAACAC-3'		
7	F: 5'-CATCTCCCTCCACAGGAAGGTG-3'	500	60 *
	R: 5'-GGTAGCTCAGGAAGGCATTGTC-3'		
8	F: 5'-TTCCTCCCGAGACGGGACAGGCGA-3'	437	60 *
	R: 3'-CTCCCCTTGGTGAAGGAGTC-3'		
9	F: 5'-TGGGGACTCCTTCACCAAGGGGAG-3'	370	60 *
	R: 5'-CAGAGCCCCAGCGGGGCCAGAGAC-3'		
10	F: 5'-ATCTACGCGAGCGACGAC-3'	470	60 *
	R: 5'-GGTCCTCAGGGTTCTCCAG-3'		
11	F: 5'-GTGTGGGTGGGAGGTGGAGCGGTG-3'	302	60 *
	R: 5'-AGGGAAGGGCTGTGATGGCGTCGG-3'		
12	F: 5'-GCTTTTGCTGGTGCACGTGT-3'	295	60
	R: 5'-AAGTGGCCCGAGTGACCGCAT-3'		
13, 14	F: 5'-CCTAGGGGACATGAGATGGA-3'	814	58
	R: 5'-CGGGGTTTACCCTTGGAG-3'		

∗5% DMSO in PCR reaction

+ Phân tích đột biến gen *IDUA*.

Toàn bộ 14 exon và các vùng gắn nối exon-intron của gen *IDUA* được khuyếch đại sử dụng các cặp mồi đặc hiệu (Bảng 2.2). Sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình tự trên hệ thống ABI 3730 DNA sequencer (Applied Biosystems).

+ Phân tích đột biến gen *IDS*.

Toàn bộ 9 exon và vùng gắn nối của gen *IDS* được khuyếch đại với các primers và điều kiện PCR được trình bày tại bảng 2.3. Sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình tự. Sau đó để phát hiện đột biến tái tổ hợp với giả gen thì kỹ thuật PCR được tiến hành.

Bảng 2.3. Trình tự primers và kích thước sản phẩm PCR của gen *IDS*

MPS II—IDS gene

PCR sequences, amplicon length and PCR reaction temperature

Exon	primer sequence	amplicon length (bp)	annealing temperature (℃)
1	F: 5'-ACGAGGAGGTCTCTGTGGCT-3'	240	56
	R: 5'-GGAGGAAGGGAGAAGAGATG-3'		
2	F: 5'-TCAGTGTCAGTGCAGGTTAAC-3'	276	56
	R: 5'-CTGTGCCATCTGACAATAGC-3'		
3	F: 5'-AGATGGCAGACATGTTTTGC-3'	266	56
	R: 5'-GAGAACCCAGACTCTGGACA-3'		
4	F: 5'-GGAGTGGGGTGTTGAAAGAC-3'	245	56
	R: 5'-TGGTATATAACCAGCTTCACAG-3'		
5	F: 5'-CTTGCACTTAAAAAGCTG-3'	285	56
	R: 5'-TGTCACAGCTGTGCTGGA-3'		
6	F: 5'-TTGTGCTTTTGCTAAAAG-3'	276	56
	R: 5'-ACGACACTATGTCATCAG-3'		
7	F: 5'-GCTGTGACTCTGTGGGTGAA-3'	454	56
	R: 3'-CCAGGATCCCACTTTGTTTG-3'		
8	F: 5'-CAAGCTGTGGTATGATGATT-3'	276	56
	R: 5'-AGGTGATCTTACTGTCAAGC-3'		
9	F: 5'-GTAACCCATTCTGCTCTGTC-3'	541	56
	R: 5'-GCACATCACATTTGCCATCC-3'		

+ Phân tích đột biến gen *GALNS*.

Bảng 2.4.   Trình tự primers của gen *GALNS*

MPS IVA—GALNS gene

PCR sequences, amplicon length and PCR reaction temperature

Exon	primer sequence	amplicon length (bp)	annealing temperature (℃)
1	F: 5'-CACTGGTCACGAGGCAGTC-3'	407	58*
	R: 5'-GCCTCCCCTCACCTCTCC-3'		
2	F: 5'-ACACGCTCTTGGCACCAT-3'	376	58
	R: 5'-GGCTGGGATTTGATGAGAAA-3'		
3	F: 5'-TGTCTACTCGTTGGGGCTCT3'	393	58
	R: 5'-CTCAGCTCCTTAGGCCAGAC-3'		
4	F: 5'-GGAAAAATCTTGGGAAGTGC-3'	383	58
	R: 5'-GACACCCTCCTCATTTGGAA-3'		
5	F: 5'-TGAAGGTGGTATCTGTTGCT-3'	421	58*
	R: 5'-CAGGCAGGAGTCTCATAGGC-3'		
6	F: 5'-CCTGACCTCAATGATCCACCT-3'	351	58*
	R: 5'-GGTGAGGTTGATGCATTCCT-3'		
7	F: 5'-GGTTCAGGGACCTCATCACC-3'	474	58*
	R: 3'-CTCAGCTCCTTAGGCCAGAC-3'		
8	F: 5'-CTGAGGCCATTCCTCTTCTG-3'	414	58
	R: 5'-AGAGGGACCCTTCATGCTCT-3'		
9	F: 5'-GCATGATGTCCCCACTTTCT-3'	498	58*
	R: 5'-GAGGGTGGTGAGGCTGAG-3'		
10	F: 5'-TGAGCATGTATGCATATCTG-3'	372	58*
	R: 5'-CCTGTGTCCAGAACCAGGAG-3'		
11	F: 5'-GCATGAGCCACTGATGACAG-3'	336	58
	R: 5'-CACACAGAGAAGGCTGTGGA-3'		
12	F: 5'-CTGCTAGGCACAGGCAGAC-3'	445	58*
	R: 5'-CAAGCACGTGTGGGTATGAA-3'		
13	F: 5'-TGCTCACTGTGGTTCTCAGC-3'	439	58*
	R: 5'-GTTGTTCTGGTCCCCGAGT-3'		
14-1	F: 5'-ACAGAGTGAGACTGTCTCAG-3'	657	58*
	R: 5'-TTCAGTGGAAGGCTGACTGA-3'		
14-2	F: 5'-AAGCCAGACAGACAGCACCT-3'	647	58*
	R: 5'-ATAAATCTCCGGACCCCAAA-3'		

∗5% DMSO in PCR reaction

Gen *GALNS* được chia làm 5 đoạn để có thể khuyếch đại nhanh. Năm bộ primers được thiết kế để khuyếch đại toàn bộ 14 exon và các vùng gắn nối exon-intron của gen *GALNS*. Đoạn 1 bao gồm exon 1 (300 bp), đoạn 2 bao gồm exon 2 đến exon 4 (2 kb), đoạn 3 bao gồm exon 5 đến exon 9 (5,8 kb), đoạn 4 bao gồm exon 10 đến exon 12 (5 kb) và đoạn 5 bao gồm exon 13 đến 14 (3,7 kb).

Các phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: : 94°C 3 phút, 35 chu kỳ [94°C-45 giây, 60-65°C cho mỗi cặp mồi đặc biệt- 45 giây, 68-72°C từ 20 giây-6 phút], 68-72°C -7 phút (bảng 2.4).

+ Phân tích đột biến gen *ARSB*.

Để phát hiện đột biến gen *ARSB* thì 8 exon và vùng gắn nối exon-intron được khuyếch đại với các cặp mồi đặc hiệu và giải trình tự. Phản ứng PCR được tiến hành trong 30 chu kỳ với thời gian biến tính ban đầu là 8 phút tại 960C và thời gian kéo dài cuối cùng trong 7 phút tại 720C (bảng 2.5).

Bảng 2.5. Primers và điều kiện PCR để phân tích đột biến gen *ARSB*.

Table I. PCR conditions used for amplification of *ARSB* gene

Exon no:	(5'-3') Forward primer	(5'-3') Reverse primer	Denaturation Temperature (°C)-period (min)	Annealing Temperature (°C)-period (sec)	Extension Temperature (°C) -period (min)	Amplicon length (bp)
1	GTTCGTCTCTGGCTCCTCCT	GCCTGGAAGAGCGAGGTT	96-8	64-45	72-7	686
2	TCCTCAAGCCAGTACAGGAA	AAAGCAGCCCCATTACAGTG	96-8	60-55	72-7	481
3	TGGTGCTGATTAGCCTTGTC	AAGCTTCCCAGGCTGATTCT	96-8	60-55	72-7	486
4	GCCTTTTGTGTATCCTCTTTGG	TCAAGCCACAGTCCCAGAAT	96-8	60-55	72-7	696
5	CACTGGGCCTTACTTATGTCTG	AAACACAGGCCCACAATCTC	96-8	60-55	72-7	641
6	GACTGCTTGAAGATGCACCA	CTCTGAGATGAGCGGGAGAT	96-8	60-55	72-7	392
7	TTGCGGTGGTTTATGACTGA	GGTGGGAAACGGTTAGACA	96-8	60-55	72-7	487
8	CACACACGTTTCTGGGTGTC	GTCGTGAGAAAAGGCCTGAG	96-8	60-55	72-7	551

- Nhận định kết quả phân tích gen:

+ Đột biến đồng hợp tử: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố và mẹ ở cùng một vị trí trên gen.

+ Đột biến dị hợp tử kép: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố và mẹ ở vị trí khác nhau trên gen.

+ Đột biến dị hợp tử từ bố hoặc mẹ: Khi bệnh nhân có nhận đột biến từ bố hoặc mẹ. Trong khi đó mẹ hoặc bố còn lại là không có đột biến.

Bảng 2.6. Đặc điểm di truyền của các thể bệnh MPS.

Thể bệnh	**Enzym thiếu hụt**	**Đặc điểm di truyền**	**Gen**	**Chất ứ đọng**
MPS I (Hurler)	α -L-Iduronidase	AR	IDUA (4p16.3)	HS, DS
MPS II (Hunter)	Iduronate-2-sulphatase (IDS)	XR	IDS (Xq28)	HS, DS
MPS IIIA (Sanfilippo A)	Heparan-N-sulphatase	AR	SGSH (17q25.3)	HS
MPS IIIB (Sanfilippo B)	α -N-Acetylglucosaminidase	AR	NAGLU (17q21)	HS
MPS IIIC (Sanfilippo C)	α -Glucosaminidase acetyltransferase	AR	HGSNAT (8p11.1)	HS
MPS IIID (Sanfilippo D)	Acetylglucosamine 6- sulphatase	AR	GNS (12q14)	HS
MPS IVA (Morquio A)	Galactose 6-sulphatase	AR	GALNS (16q24.3)	KS, CS
MPS IVB (Morquio B)	β -Galactosidase	AR	GLB1 (3p21.33)	KS
MPS VI (Maroteaux-Lamy)	N-Acetylgalactosamine-4-Sulphatase	AR	ARSB (5q11-q13)	DS, CS
MPS VII (Sly)	β- Glucuronidase	AR	GUSB (7q21.11)	DS, HS, CS

3. Mức độ nặng (thể lâm sàng): Tùy thuộc vào độ tuổi phát bệnh, bệnh tiến triển nhanh hay chậm và có bị chậm phát triển tinh thần hay không, mức độ chậm phát triển tinh thần nhẹ hay nặng mà bệnh nhân MPS được chia thành các thể nặng nhẹ khác nhau.

*** MPS I: Được chia làm 3 thể**

Hội chứng Hurler (MPS IH): Đây là thể nặng nhất có đầy đủ các triệu chứng điển hình của bệnh MPS, suy thoái thần kinh sớm, khởi phát vào giai đoạn sơ sinh, bệnh tiến triển nhanh.

Hội chứng Hurler-Scheie (MPS IH/S): Thể trung bình, khởi phát khi còn nhỏ, suy giảm nhận thức nhẹ đến trung bình, bệnh tiến triển chậm hơn.

Hội chứng Scheie (MPS IS): Thể nhẹ nhất, khởi phát khi còn nhỏ và phát triển tinh thần bình thường, bệnh tiến triển rất chậm.

*** MPS II, MPS III, MPS IV, MPS VI, MPS VII:** Được chia làm 3 thể

+ ***Thể nặng:*** Khởi phát sớm từ giai đoạn sơ sinh hoặc trước 2 tuổi. Tổn thương nhiều cơ quan, tiến triển nhanh đến tàn phế hoặc tử vong sớm trước 10 tuổi, chậm phát triển tinh thần mức độ nặng (MPS IV và MPS VII ít có biểu hiện này).
+ ***Thể trung bình:*** Khởi phát ở giai đoạn tuổi nhỏ hoặc thiếu niên, tổn thương ít cơ quan, tiến triển chậm, chậm phát triển tinh thần nhẹ đến trung bình.
+ ***Thể nhẹ***: Khởi phát ở giai đoạn thiếu niên hoặc muộn hơn, tổn thương ít cơ quan, tiến triển chậm ít ảnh hưởng đến vận động, không bị chậm phát triển tinh thần.

PHỤ LỤC 3
ĐÁNH GIÁ SỰ PHÁT TRIỂN TÂM THẦN - VẬN ĐỘNG

Tất cả bệnh nhân được đánh giá sự phát triển tâm thần - vận động bởi chuyên gia tâm bệnh theo mẫu nhất định.

+ 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.

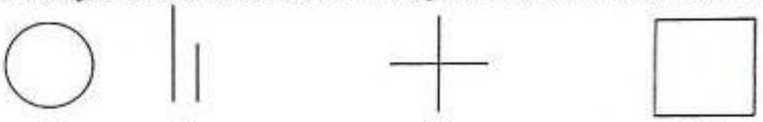
+ Bệnh nhân trên 6 tuổi dựa vào chỉ số IQ, sử dụng test Raven.

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 cho đến người già. Các đối tượng trẻ nhỏ và người quá cao tuổi chỉ nên giải các bài trong bộ A và B và các bài mở đầu của các bộ C và D.

Khuôn hình tiếp diễn Raven màu (progressive matrices coloured-PMC) gồm các bộ A, AB và B được xây dựng cho các trẻ từ 3 đến 10 tuổi và người già bằng cách xen giữa vào bộ A và B của khuân hình tiếp diễn Raven chuẩn là bộ AB gồm 12 bài. Các bài này có mức khó hơn các bài từ 1 đến 7 của bộ B. Mỗi bài đều in trên nền màu tươi để thu hút sự chú ý của trẻ nhỏ.

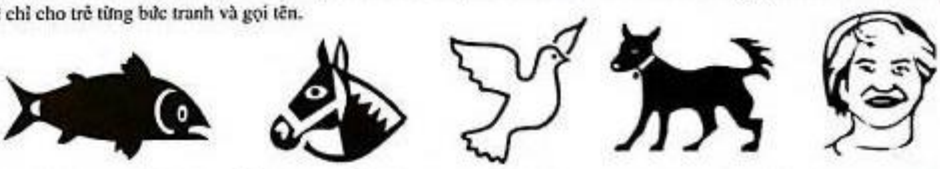
Hướng dẫn tiến hành DENVER

1. Cố gắng làm cho trẻ cười bằng cách mỉm cười, nói hay vẫy tay nhưng khôngđược chạm vào trẻ.
2. Đứa trẻ cần nhìn chăm chú vào tay khoảng 10 giây.
3. Bố mẹ có thể giúp hướng dẫn đánh răng và cho thuốc vào bàn chải.
4. Đứa trẻ không cần phải buộc giầy, cài cúc hay kéo phéc mơ tuya ở phía sau lưng.
5. Đung đưa quả cầu bằng len đỏ chạm theo hình vòng cung từ bên này sang bên kia, khoảng 8 giây trước mặt trẻ.
6. Nếu trẻ nắm cái xúc xắc khi chạm cái xúc xắc vào đầu ngón tay trẻ thì coi như trẻ đã vượt qua item này.
7. Nếu trẻ cố gắng nhìn quả cầu len đỏ rơi đi đâu thì trẻ vượt qua item này (quả cầu bằng len đỏ sẽ được thả rơi tự do từ tay người làm test xuống mà tay vẫn giữ nguyên)
8. Đứa trẻ phải chuyển khối gỗ từ tay này sang tay kia mà không cần dùng miệng, thân thể hay bàn tay người trợ giúp.
9. Trẻ vượt qua item này nếu nhặt được các quả nho khô (có thể dùng bất kỳ phần nào của ngón cái và các ngón tay).
10. Đường kẻ chỉ có thể nghiêng 30 độ so với đường kẻ dọc của người làm test.
11. Nắm bàn tay lại trừ ngón cái thì giơ lên và xoay vòng ngón cái. Trẻ qua được item này nếu bắt chước làm mà không cử động các ngón tay khác.
12. Vẽ vòng tròn, qua nếu vẽ được vòng kín, còn không qua vòng tiếp tục vẽ vòng tròn hở hoặc chuyển động.
13. So sánh đường nào dài hơn (không phải to hơn). Lật ngược tờ giấy và hỏi lại (trẻ đúng được item này nếu trả lời đúng 3/3 hoặc 5/6).
14. Vẽ hình chữ thập, qua với mọi đường thẳng cắt nhau ở gần điểm giữa.
15. Vẽ hình vuông, trước hết xem trẻ bắt chước vẽ hình vuông như thế nào? Nếu trẻ không vẽ được cần kiểm tra lại.



12 13 14 15

16. Khi chấm điểm, mỗi cặp chân, hai tay đều tính là một phần.
17. Đặt khối gỗ vào trong cốc và lắc nhẹ bên tai trẻ (nhưng không được để trẻ nhìn thấy). Làm lại với tai bên kia.
18. Chỉ các bức tranh để trẻ gọi tên. (Chỉ công nhận lời nói của trẻ). Nếu có ít hơn bốn bức tranh được gọi tên chính xác thì người làm test sẽ chỉ cho trẻ từng bức tranh và gọi tên.



19. Lấy con búp bê và yêu cầu trẻ chỉ mắt, mũi, tai, mồm, tay, chân, bụng hay tóc ... (đúng item này chỉ khi đúng 6/8 bộ phận)
20. Đưa bức tranh cho trẻ và hỏi con vật nào biết bay, kêu meo meo, nói, sủa hay phi ... (đúng item này nếu 2/5 hoặc 4/5).
21. Hỏi trẻ: Cháu sẽ làm gì khi lạnh, mệt đói (qua nếu đúng 2/3 hoặc 3/3).
22. Hỏi trẻ: Cái cốc, cái ghế, cái bút chì dùng để làm gì (những từ chỉ hành động phải có trong câu trả lời. VD: uống nước, ngồi, viết...).
23. Trẻ qua item này nếu đọc và nói chính xác có bao nhiêu khối trên tờ giấy.
24. Nói với trẻ: Cháu hãy bỏ khối gỗ này lên bàn, dưới bàn, trước mặt tôi, sau lưng tôi (đúng nếu làm được 4/4). Không được giúp trẻ bằng cách chỉ, quay đầu hay đánh mắt.
25. Quả bóng là gì? Hồ nước, cái bàn, cái nhà, quả chuối, cửa sổ, cống hay trần nhà là gì? Trẻ coi như đạt nếu định nghĩa được công dụng của nó, hình dáng của nó, vật làm bằng gì hay nó thuộc loại gì...(VD: chuối là hoa quả, không phải là vàng). Đạt nếu đúng 5/8 hoặc 7/8).
26. Hỏi trẻ: nếu con ngựa to, con chuột thì sao..............? Nếu lửa nóng, đá thì..........? Nếu mặt trời tỏa sáng ban ngày thì mặt trăng tỏa sáng...........? (Đạt nếu đúng 2/3).
27. Trẻ có thể bám tường hoặc tay vịn nhưng không phải ủ người. Không được bò.
28. Trẻ phải ném bóng xa quá ba bước ngoài tầm tay với của người làm test.
29. Trẻ phải đứng và nhảy qua được tờ giấy của người làm test có chiều rộng 21 cm.
30. Yêu cầu trẻ đi nối gót tiến (gót chân chỉ cách ngón chân 2.5 cm). Người làm test có thể giải thích. Trẻ phải đi được bốn bước liên tiếp mới đạt yêu cầu.
31. Trong năm thứ hai, một nửa số trẻ bình thường sẽ không dễ dãi phục tùng mệnh lệnh.

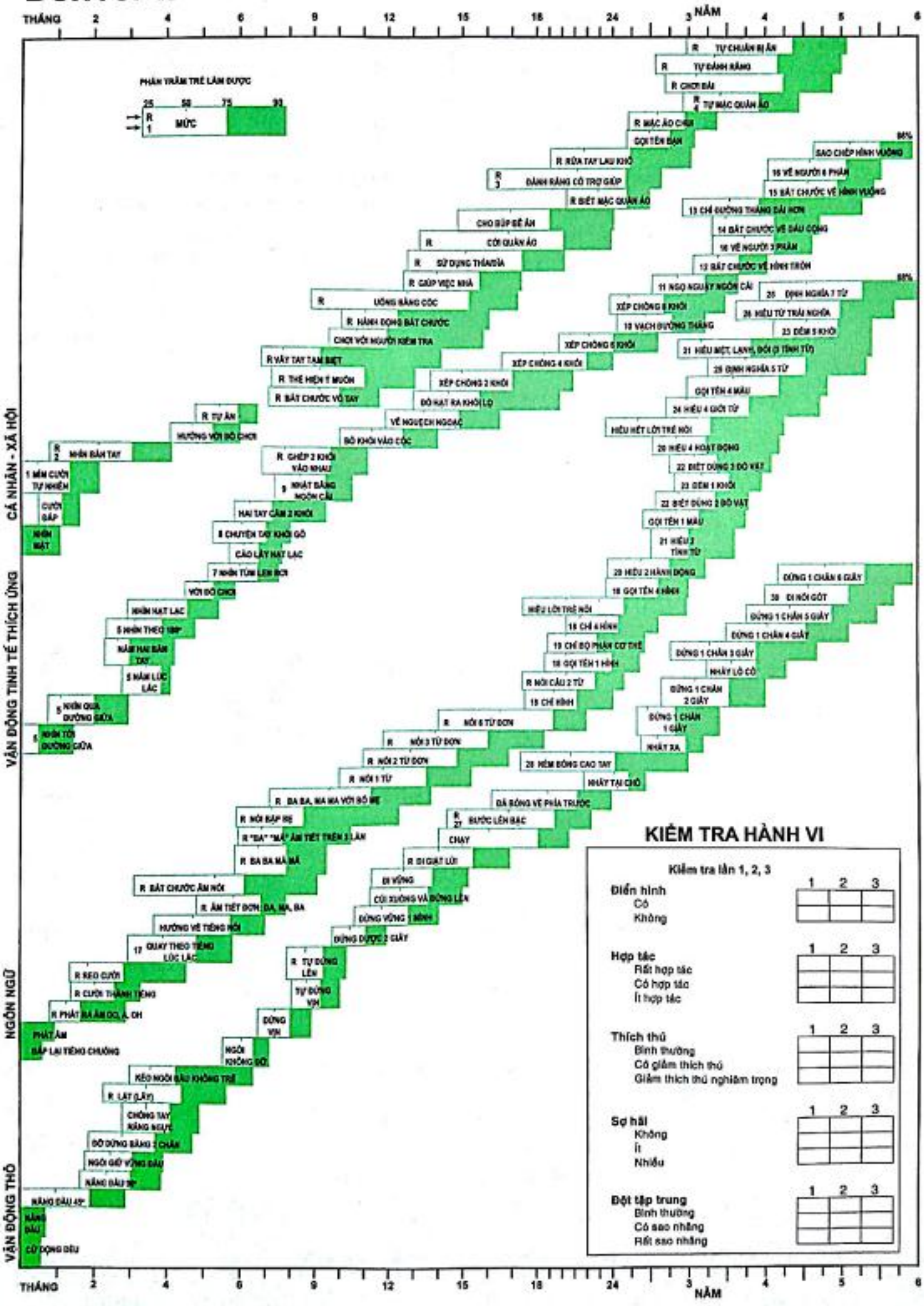
Bệnh viện Nhi Trung ương

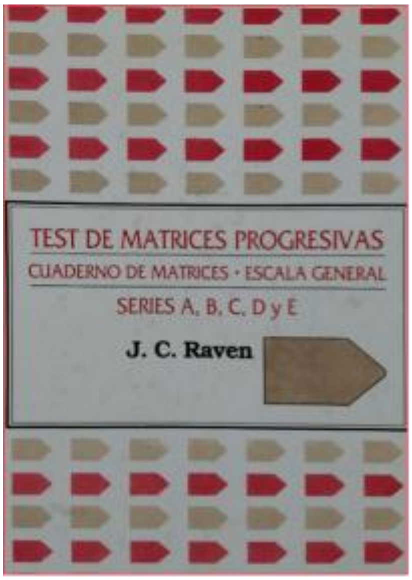
KHOA TÂM BỆNH

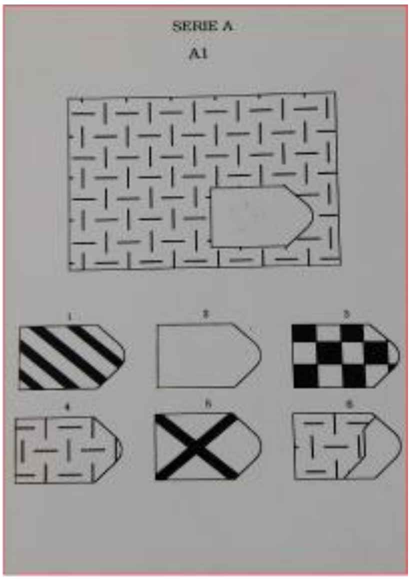
Denver II

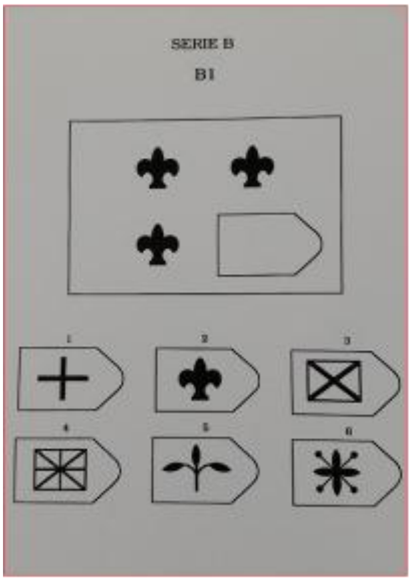
Người kiểm tra :
Ngày :

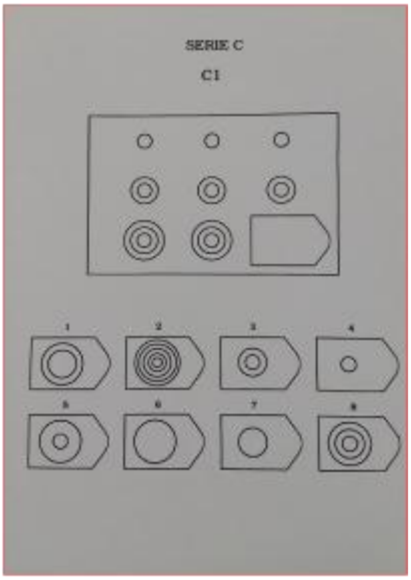
Họ tên :
Ngày sinh :
Mã :

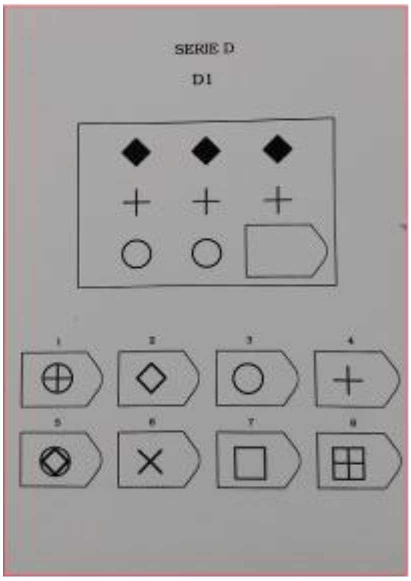


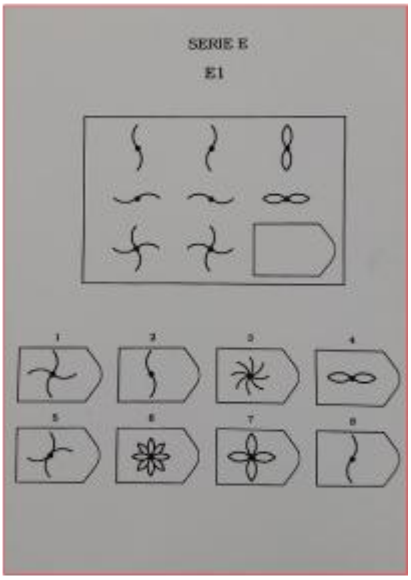

TEST DE MATRICES PROGRESIVAS
CUADERNO DE MATRICES · ESCALA GENERAL
SERIES A, B, C, D y E
J. C. Raven

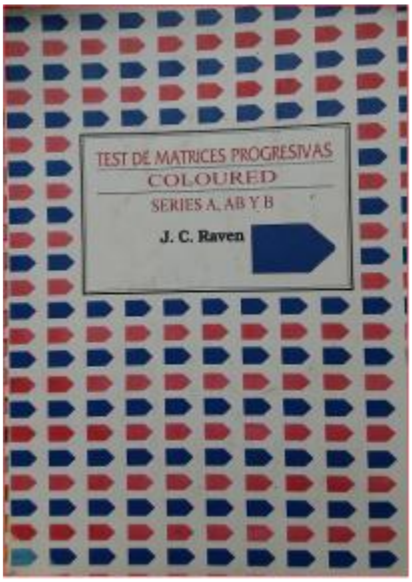

SERIE A
A1

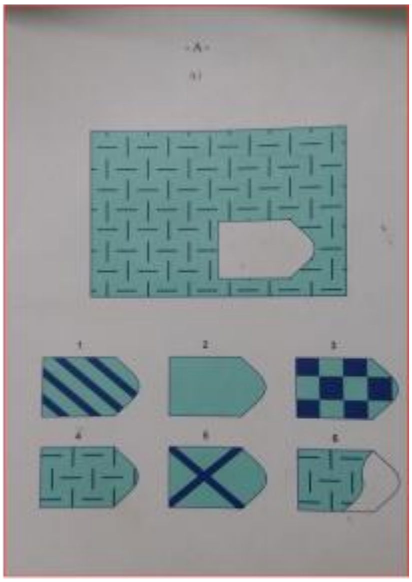

SERIE B
B1

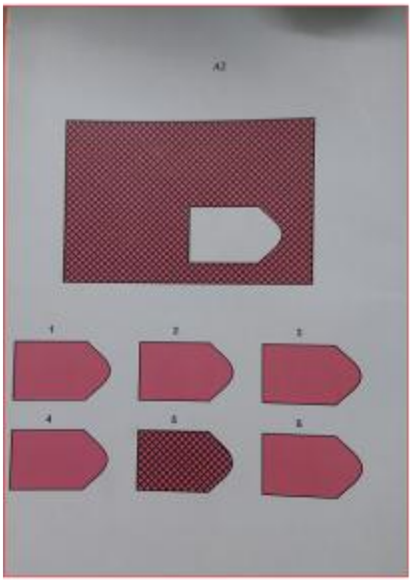

SERIE C
C1

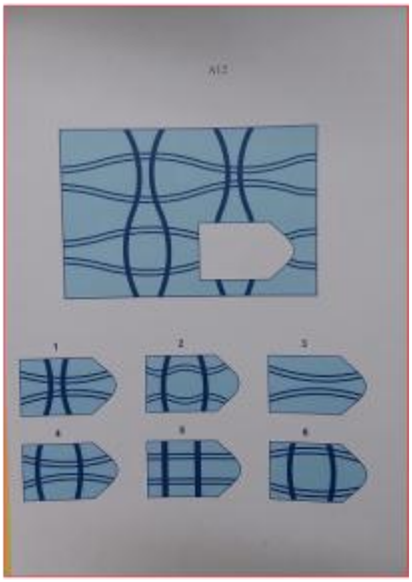

SERIE D
D1

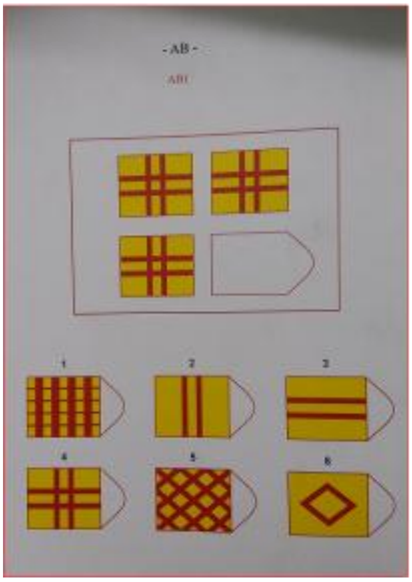

SERIE E
E1

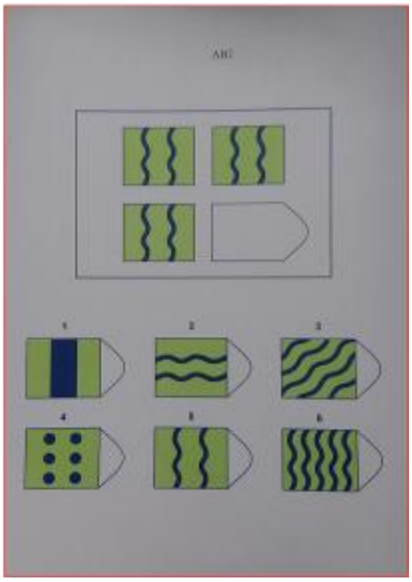

TEST DE MATRICES PROGRESIVAS
COLOURED
SERIES A, AB Y B
J. C. Raven

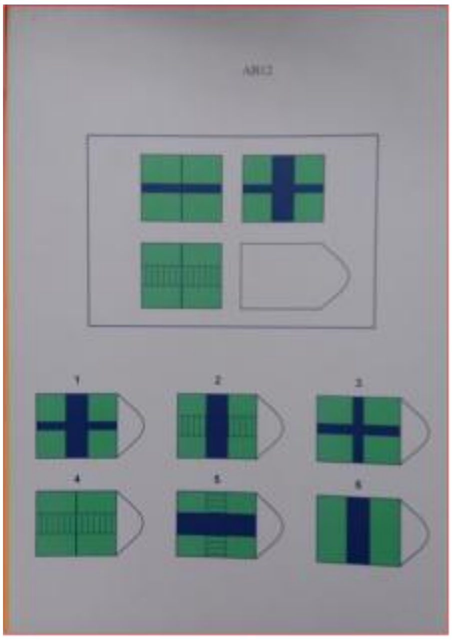

- A -
A1

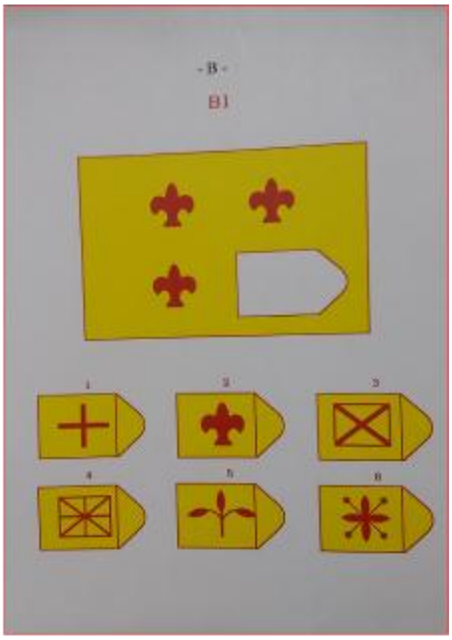

A2

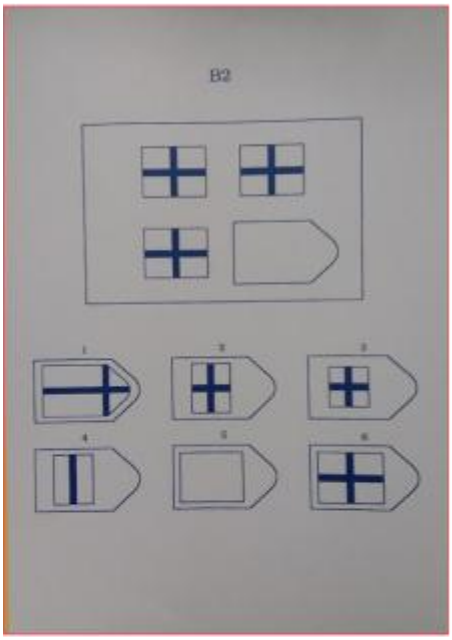

A12

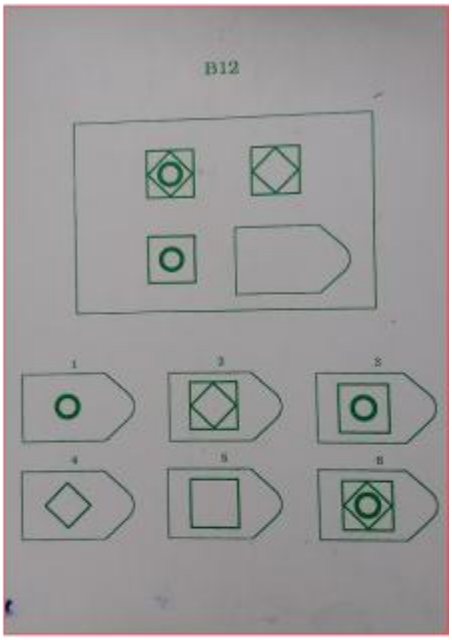

- AB -
AB1


AB2









KHÓA CHẤM RAVEN MÀU

Bt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	4	5	1	2	6	3	6	2	1	3	5	4
AB	4	5	1	6	2	1	3	4	6	3	6	2
B	2	6	1	2	1	3	5	6	4	3	4	3

	5,5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	9	9.5	10	10.5	11
[illegible]	19	24	25	24	25	26	29	30	32	32	33	34
[illegible]	17	20	21	22	23	24	27	29	31	31	32	34
[illegible]	15	17	18	17	20	21	23	26	28	28	29	31
[illegible]	14	15	15	16	17	18	20	22	24	24	25	27
[illegible]	12	13	14	14	15	15	17	19	21	22	22	23
[illegible]	-	12	12	13	14	19	15	16	18	20	20	24
[illegible]	-	-	-	12	12	13	14	15	16	17	18	19

Ngoài ra để đánh giá sự phát triển tâm thần của trẻ trên 6 tuổi chúng tôi còn dựa vào khả năng đi học và học lực của trẻ bao gồm: Tuổi bắt đầu đến trường, học lực của trẻ (dựa vào kết quả xếp loại cuối năm của nhà trường: giỏi, khá, trung bình, yếu).

+ Các trắc nghiệm do các cử nhân tâm lý của Bệnh viện Nhi Trung ương tiến hành khi bệnh nhân được gọi đến kiểm tra. Kết quả được đánh giá cụ thể theo bốn khả năng trên và tính theo thương số phát triển theo công thức của Stern W đưa ra 1992:

$$\mathbf{IQ\ (DQ) = \frac{Tuổi\ tinh\ thần}{Tuổi\ thực} \times 100}$$

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

- *Chỉ số phát triển ≥ 75%: Bình thường*
- *Chỉ số phát triển từ > 66,7 - < 75%: Chậm phát triển mức độ nhẹ*
- *Chỉ số phát triển từ > 50 - ≤ 66,7%: Chậm phát triển mức độ vừa*
- *Chỉ số phát triển ≤ 50%: Chậm phát triển mức độ nặng trầm trọng*

PHỤ LỤC 3

KINH PHÍ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

Đề tài được thực hiện trên cơ sở của một đề tài hợp tác quốc tế theo nghị định thư Việt Mỹ: “Hợp tác nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến trong sàng lọc, chẩn đoán và điều trị một số bệnh nội tiết nhi khoa và rối loạn chuyển hóa bẩm sinh”

Chủ nhiệm đề tài: TS Trần Thanh Tú

Với sự tài trợ kinh phí từ ngân sách sự nghiệp khoa học cấp nhà nước

DANH SÁCH BỆNH NHÂN MPS TRONG NGHIÊN CỨU

STT	Tên bệnh nhân	Giới	Mã số	Thể bệnh	Kết quả đột biến
1	Nguyễn Mai H	Nữ	09160508	MPS I	D349G*
2	Bùi Bích T	Nữ	13342173	MPS I	Q584X*/R621P *
3	Nguyễn Thị Thanh H	Nữ	14145235	MPS I	R621P**
4	Phạm Thị Thanh H	Nữ	08068156	MPS I	
5	Bùi Thành Đ	Nam	13250267	MPS II	Tái tổ hợp
6	Đàm Xuân N	Nam	13313792	MPS II	Tái tổ hợp
7	Nguyễn Đức Ngọc L	Nam	10169114	MPS II	Tái tổ hợp
8	Nguyễn Xuân A	Nam	09143412	MPS II	Tái tổ hợp
9	Nguyễn Xuân L	Nam	13393438	MPS II	Tái tổ hợp
10	Vương Hoàng P	Nam	14068070	MPS II	Tái tổ hợp
11	Đào Hoài N	Nam	06952803	MPS II	Q293H*
12	Trân Vũ Bảo L	Nam	10523290	MPS II	L41xóa đoạn*
13	Phùng Văn Thiên P	Nam	09237347	MPS II	D334G*
14	Lê Quốc L	Nam	07902010	MPS II	L377RfsX16*
15	Nguyễn Văn H	Nam	04052314	MPS II	Y158FfsX55*
16	Lưu Thành N	Nam	07198940	MPS II	Q272X*

STT	Tên bệnh nhân	Giới	Mã số	Thể bệnh	Kết quả đột biến
17	Trần Văn D	Nam	14485451	MPS II	N350Y*
18	Trần Văn Q	Nam	09104586	MPS II	
19	Lê Đức T	Nam	09100734	MPS II	D56GfsX2*
20	Phạm Tùng L	Nam	547762	MPS II	Không ĐB
21	Đặng Đức T	Nam	0489392	MPS II	Không ĐB
22	Ngô Sỹ C	Nam	13087491	MPS II	Không ĐB
23	Nguyễn Thị Hồng N	Nữ	9159832	MPS II	Không ĐB
24	Nguyễn Ngọc H	Nam	10166273	MPS II	
25	Ngô Quốc H	Nam	07253779	MPS II	
26	Trần Nam T	Nam	15173007	MPS II	
27	Nguyễn Danh T	Nam	14289105	MPS II	
28	Phùng Nhật P	Nam	15667474	MPS II	
29	Vũ Xuân L	Nam	15145034	MPS II	
30	Nguyễn Quốc L	Nam	15270738	MPS II	
31	Nguyễn Xuân T	Nam	1149826	MPS II	
32	Đào Thị Hồng P	Nữ	10322425	MPS III	
33	Lê Minh Trí H	Nam	07414808	MPS III	
34	Nguyễn Hồng P	Nữ	13130806	MPS IV	V427SfsX14**
35	Trần Thị Mai Q	Nữ	0845205	MPS IV	c.899-2A>C**
36	Nguyễn Hồng Q	Nam	07029984	MPS IV	P125L/Y385X*
37	Trần Đăng Thịnh L	Nam	15060621	MPS IV	
38	Nguyễn Thị Bích P	Nữ	13089786	MPS IV	
39	Dương Thị Q	Nữ	15116017	MPS IV	
40	Bùi Mạnh H	Nam	15172812	MPS IV	
41	Đinh Xuân H	Nam	15153931	MPS IV	
42	Trần Ngọc H	Nam	14248364	MPS IV	V427SfsX14**
43	Phạm Ngọc Khánh B	Nam	09105318	MPS IV	A291T/?*
44	Vũ Như H	Nữ	14246339	MPS IV	
45	Ngô Duy B	Nam	1039246	MPS IV	
46	Nguyễn Thị Huyền T	Nữ	13263972	MPS VI	Y175C**

STT	Tên bệnh nhân	Giới	Mã số	Thể bệnh	Kết quả đột biến
47	Chu Nguyễn Phương K	Nữ	14211523	MPS VI	
48	Bùi Vũ P	Nam	14111843	MPS VI	
49	Chu Nguyễn Tiến P	Nam	15140987	MPS VI	
50	Đỗ Thành T	Nam	06025425	MPS VI	
51	Nguyễn Quỳnh L	Nữ	14390140	MPS VI	
52	Nguyễn Văn C	Nam	14222391	MPS VI	
53	Đào Duy H	Nam	12342445	MPS VI	
54	Lê Văn M	Nam	150096587	MPS VI	
55	Vi Mạnh T	Nam	15400610	MPS IV	
56	Nguyễn Phi Trung N	Nam	120234725	MPS I	

** Bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử

* Bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử

Thầy hướng dẫn

Xác nhận của khoa Nội tiết Chuyển hóa Di truyền bệnh viện Nhi Trung ương

Xác nhận của Bệnh viện Nhi Trung ương