

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**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI - 2018  
CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

*Người hướng dẫn khoa học:*

**TS. TRỊNH THANH HÙNG  
PGS.TS. NGUYỄN THỊ YẾN**

**Phản biện 1 : PGS.TS. NGUYỄN THỊ PHƯỢNG**

**Phản biện 2 : PGS.TS. TRẦN VĂN KHOA**

**Phản biện 3 : PGS.TS. ĐẶNG THỊ NGỌC DUNG**

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp trường tại Trường Đại học Y Hà Nội.

Vào hồi ..... giờ, ngày ..... tháng ..... năm 2018

Có thể tìm hiểu luận án:

**Thư viện Đại học Y Hà Nội**

**Thư viện Quốc gia**

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Mucopolysaccharide (MPS) là một nhóm bệnh rối loạn chuyển hóa hiếm gặp trên thế giới (khoảng 4,5/100000 trẻ sơ sinh sống) do thiếu hụt enzym của lysosom cần thiết để giáng hóa glycosaminoglycans. Bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trừ thể MPS II là di truyền lặn trên nhiễm sắc thể giới tính X.

Bệnh được chia thành nhiều thể phụ thuộc enzym thiếu hụt. Bệnh gây tổn thương đa cơ quan và tiến triển tăng dần dẫn đến tàn phế hoặc tử vong sớm trước 10 tuổi.

Bệnh hiếm gặp nên dễ bị bỏ sót, các triệu chứng không đặc hiệu nên khó chẩn đoán. Để chẩn đoán xác định thể bệnh phải dựa vào các xét nghiệm kỹ thuật cao mà Việt Nam chưa làm được. Trên thế giới hiện nay điều trị MPS đã có nhiều tiến bộ. Tuy nhiên việc điều trị cũng chỉ có hiệu quả cao với những bệnh nhân được phát hiện bệnh trước 2,5 tuổi.

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. Đứng trước thực trạng 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.*

### TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Tuy là bệnh hiếm nhưng số lượng bệnh nhân được phát hiện ngày càng nhiều. Bệnh có triệu chứng không đặc hiệu nên dễ bị bỏ sót. Bệnh gây tổn thương đa cơ quan tiến triển tăng dần nên chẩn đoán muộn sẽ để lại nhiều di chứng hoặc tử vong sớm trước 10 tuổi. Gánh nặng bệnh tật đối với bệnh nhân, gia đình bệnh nhân và xã hội vô cùng nặng nề. Điều trị kém hiệu quả vì phát hiện muộn. Đây là bệnh di truyền nhưng chúng ta chưa chẩn đoán trước sinh hay sàng lọc sơ sinh được cho bệnh nhân. Khắc phục những vấn đề trên đề tài tiến

hành nghiên cứu thời gian xuất hiện triệu chứng đầu tiên, những triệu chứng thường xuất hiện sớm ở bệnh nhân MPS, triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng đặc trưng riêng của từng thể giúp chẩn đoán sớm và điều trị đặc hiệu, phân tích gen một số bệnh nhân giúp tư vấn di truyền và sàng lọc trước sinh cho gia đình bệnh nhân. Vì thế, đề tài có tính cấp thiết và có giá trị thực tiễn.

## **ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN**

Luận án nghiên cứu trên 56 bệnh nhân, đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về bệnh MPS có qui mô và có hệ thống. Luận án đã xác định được tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên, các triệu chứng thường xuất hiện đầu tiên, các triệu chứng lâm sàng, hình ảnh X quang đặc trưng riêng cho từng thể của các bệnh nhân MPS ở Bệnh viện Nhi Trung ương. Phân tích gen cho 27 bệnh nhân nghiên cứu đã phát hiện được 9 đột biến gen chưa từng được công bố và mô tả biểu hiện lâm sàng đi cùng với mỗi đột biến góp phần dự báo kiểu hình cho đột biến gen trong sàng lọc trước sinh và sàng lọc sơ sinh. Nghiên cứu đóng góp dữ liệu cho ngân hàng gen.

## **CẤU TRÚC LUẬN ÁN**

Luận án có 129 trang chính thức, bao gồm 04 chương, 22 bảng, 61 hình: Đặt vấn đề (2 trang), chương 1- Tổng quan (41 trang), chương 2- Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (12 trang), chương 3- Kết quả nghiên cứu (37 trang), chương 4- Bàn luận (34 trang), kết luận (2 trang), kiến nghị (1 trang). Tài liệu tham khảo gồm 110 tài liệu, trong đó 6 tiếng Việt, 104 tiếng Anh. Có 51 tài liệu 5 năm trở lại đây. Ngoài ra, luận án còn có 25 trang phụ lục.

## **Chương 1: TỔNG QUAN**

### **1.1. Cơ chế bệnh sinh - thể bệnh**

Bệnh Mucopolysaccharide (MPS) do thiếu hụt 1 trong 11 enzym của lysosom cần thiết để giáng hóa glycosaminoglycans (GAGs) gây tích tụ GAGs tại các tế bào, các mô và các cơ quan trong cơ thể. Các GAGs chính là dermatan sulfate (DS), heparan sulfate (HS), keratan sulfate (KS) và chondroitin sulfate (CS). 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. Tùy vào mức độ tích tụ GAGs mà các triệu chứng lâm sàng được biểu hiện với các mức độ khác nhau.

Thể MPS I: Do thiếu hụt enzym  $\alpha$ -L-Iduronidase: Hội chứng Hurler, hội chứng Hurler - Scheie, hội chứng Scheie. Thể MPS II (hội chứng Hunter): Do thiếu hụt Iduronate-2-sulfatase. Thể MPS III (hội chứng Sanfilippo): do thiếu các enzym heparan N-sulfatase (týp A),  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidase (týp B);  $\alpha$ -glucosaminide acetyltransferase (týp C), N-acetyl glucosamine 6-sulfatase (týp D). Thể MPS IV: Do thiếu hụt Galactose 6-sulfatase (gây hội chứng Morquio A), thiếu B - Galactosidase (hội chứng Morquio B). Thể MPS VI (hội chứng Maroteaux-Lamy): Do thiếu hụt Arylsulfatase B. Thể MPS VII (hội chứng Sly): Do thiếu hụt B- Glucuronidase. Thể MPS IX (hội chứng Natowicz): Do thiếu hụt Hyaluronidase.

**1.2. Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng:** Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần, gan lách to, giảm thị lực, giảm thính lực, thoát vị bẹn hoặc rốn, tổn thương van tim, tiền triển bệnh tăng dần. X quang: Biến dạng xương sọ, giãn não thất. Biến dạng các đốt sống, chèn ép tủy sống. Xương sườn hình mái chèo. Biến dạng xương chi, xương chậu, loãng xương. Xét nghiệm định lượng GAGs trong nước tiểu tăng cao. Đo hoạt độ các enzym đặc hiệu (tùy theo thể) trong bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc trong nguyên bào sợi nuôi cấy giảm nhiều. Phân tích phân tử tìm đột biến các gen gây bệnh

**1.3. 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. Các gen *IDUA*, *IDS*, *SGSH*, *NAGLU*, *HGSNAT*, *GNS*, *GALNS*, *GLBI*, *ARSB*, *GUSB* mã hoá cho các enzym thiếu hụt gây các thể bệnh tương ứng. Đa số các đột biến của gen là các đột biến điểm trong đó chủ yếu là đột biến sai nghĩa, rồi đến đột biến 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.

#### **1.4. Chẩn đoán:**

1.4.1. Chẩn đoán xác định: Khi có  $\geq 1$  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. Xét nghiệm GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym trong bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc trong huyết thanh giảm dưới 10% chỉ số bình thường. Phân tích gen tìm đột biến.

1.4.2. Chẩn đoán trước sinh: Áp dụng cho tất cả các bệnh nhân MPS và anh, chị em của bệnh nhân 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.

1.4.3. Sàng lọc và chẩn đoán sơ sinh: Sàng lọc sơ sinh mở rộng có hệ thống bằng phổ khối kép sắc ký lỏng (LC/MS-MS) và 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.

## 1.5. Điều trị

1.5.1. Điều trị cụ thể: Liệu pháp 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, điều trị triệu chứng, phục hồi chức năng.

1.5.2. Tư vấn di truyền: 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.

## 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 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.

##### 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  $\geq 1$  triệu chứng 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, lùn, gan và/hoặc lách to, tai giảm thính lực có thể điếc, 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 enzym trong bạch cầu lympho máu ngoại vi hoặc trong huyết tương giảm (tiêu chuẩn bắt buộc khi chưa có kết quả phân tích gen). 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 nhóm ca bệnh.

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

## **2.4. 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.

## **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. 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).

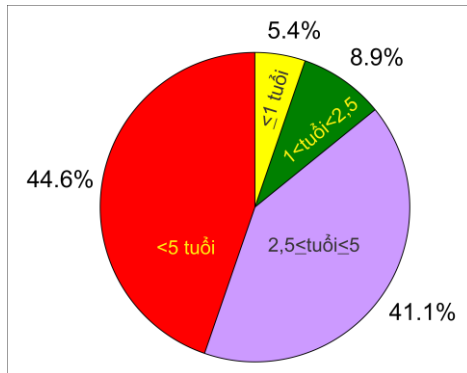
### Chương 3

## 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 theo nhóm tuổi



**Hình 3.1. Biểu đồ phân bố theo nhóm tuổi**

*Nhận xét:* Nhóm tuổi chẩn đoán gặp nhiều nhất là nhóm hơn 5 tuổi (44,6%).

#### 3.1.2. Phân bố theo thể và giới

**Bảng 3.1. Phân bố theo thể và giới**

	Nam	Nữ	Tổng	Tỷ lệ %
Thể MPS I	1	4	5	8,9
Thể MPS II	26	1	27	<b>48,2</b>
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	<b>43 (76,8%)</b>	13 (23,2%)	56	100

*Nhận xét:* Nhóm MPS II chiếm tỷ lệ cao nhất 48,2%. 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)
<b>TỔNG</b>	<b>56</b>	<b>0 - 4 tuổi (1,4 ± 1,1)</b>	<b>3 tháng - 13,5 tuổi (4,7 ± 3,2)</b>

*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
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:** (8 tháng - 7,5 tuổi), (1 nam - 4 nữ).

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

<b>Triệu chứng</b>	<b>n/N</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
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.

**3.2.4. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS II:** (21 tháng - 13,5 tuổi), (26 nam - 1 nữ)

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

<b>Triệu chứng (N=27)</b>	<b>n/N</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
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.

**3.2.5. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS III:** (5,2 - 5,5 tuổi), (1 nam - 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
Tổn 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.

**3.2.6. Các triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân MPS IVA:** (1,3 - 7,5 tuổi), (9 nam - 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
Cổ 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.

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

(3 tháng - 7,2 tuổi), (6 nam - 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.

### 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.

### **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)	Nồng độ GAGs của bệnh nhân MPS
	Giá trị trung bình (Min - Max)	
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	<b>111,52 - 505,66</b>	<b>379,08 ± 90,82</b>	<b>10,3 ± 2,8</b>
Trung bình, nặng	<b>63,04 - 1738,61</b>	<b>575,89 ± 48,37</b>	<b>13,2 ± 0,9</b>

*Nhận xét:* Nồng độ GAGs ở những bệnh nhân mức độ nhẹ cao hơn giá trị bình thường 10 lần, 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)	$\alpha$ -L-Iduronidase (Trong bạch cầu)	0,43 (0,01 - 22,4) (4,78 $\pm$ 9,86)	41,8 $\pm$ 15,9 nmol/mg Prot/hrs
MPS II (n = 27)	Iduronate-2-sulphatase (Trong huyết tương)	0,07 (0,00 - 14,99) (0,88 $\pm$ 2,88)	496,3 $\pm$ 165,7 nmol/ml Plasma/4hrs
MPS IIIA (n = 1)	Heparan-N-sulphatase (Trong bạch cầu)	0,03	4,6 $\pm$ 2,2 nmol/mg Prot/24hrs
MPS IIIB (n = 1)	A-N-acetylglucosaminidase (Trong huyết tương)	0,93	320,4 $\pm$ 131,3 nmol/ml Plasma/17hrs
MPS IVA (n = 13)	Galactose 6-sulphatase (Trong bạch cầu)	0,74 (0,01 - 66,24) (11,38 $\pm$ 22,18)	158,9 $\pm$ 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 $\pm$ 13,24)	92,3 $\pm$ 49,6 nmol/mg Prot/hrs

*Nhận xét:* Hoạt độ enzyme của các bệnh nhân mắc các thể MPS giảm nặng so với giá trị bình thường tương ứng 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 làm phân tích gen 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 IV và 1 bệnh nhân MPS VI.

### 3.3.1. Phân bố các dạng đột biến gen của bệnh nhân

**Bảng 3.13. Phân bố các 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
<b>Tổng (N; %)</b>	<b>5</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>30</b>	<b>100.0</b>

*Nhận xét:* 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)

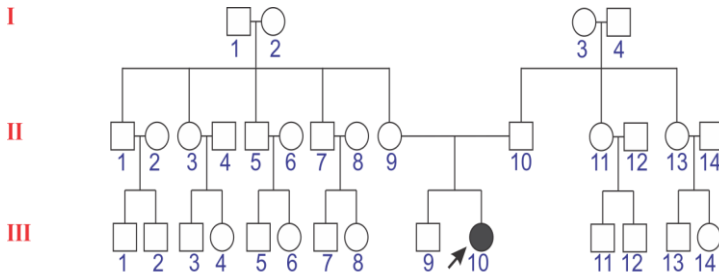
### 3.3.2. Các đột biến của gen IDUA và tương quan kiểu gen - biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân MPS I

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

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

*Nhận xét:* Bệnh nhân số 1 chỉ phát hiện được 1 alen đột biến 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 lâm sàng thể Hurler.

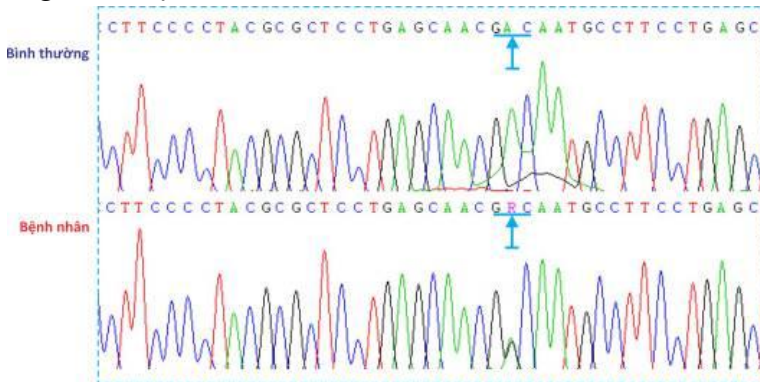
### Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS I số 1



**Hình 3.2. 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 3.3. 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.

### 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 MPS II phát hiện đột biến ở 14 bệnh nhân.

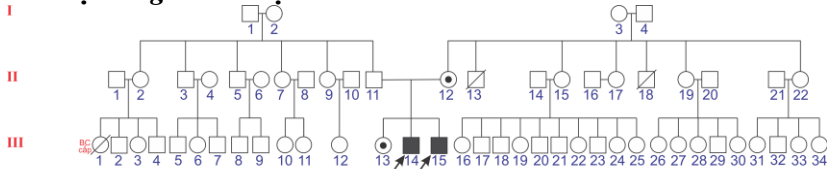


**Bảng 3.15. Kiểu gen và biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân MPS II.**

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_1128 dup	<b>p.L377RfsX16</b>	0,01	476,36	Nhẹ
BN số 15	c.473del	<b>p.Y158FfsX55</b>	0,41	532,99	Nặng
BN số 16	c.814C>T	<b>p.Q272X</b>	0,35	479,22	Nặng (Mẹ mang gen)
BN số 17	c.1048A>T	<b>p.N350Y</b>	0,63	391,53	Nặng (Em trai bị bệnh, mẹ và chị gái mang gen)
BN số 19	c.166dup	<b>p.D56GfsX2</b>	0,01	422,79	Nhẹ

*Nhận xét:* Có 9 đột biến khác nhau của gen *IDS* được phát hiện: 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.

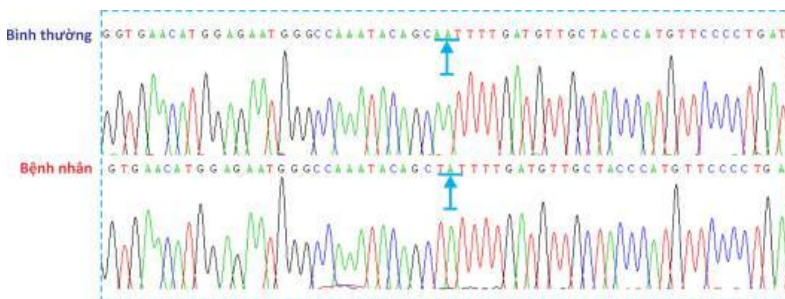
#### **Phả hệ của gia đình bệnh nhân MPS II số 17**



**Hình 3.4. 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 3.5. Hình ảnh dot 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).

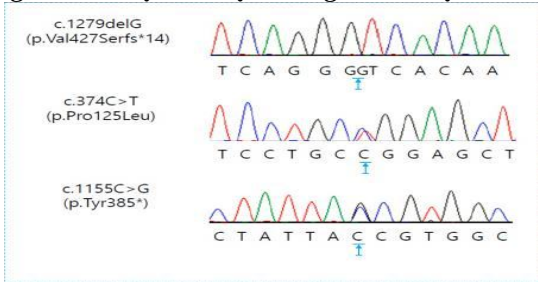
#### 3.3.4. Các đột biến của gen *GALNS* trên 5 bệnh nhân *MPS IVA* nghiên cứu

**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. 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.

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

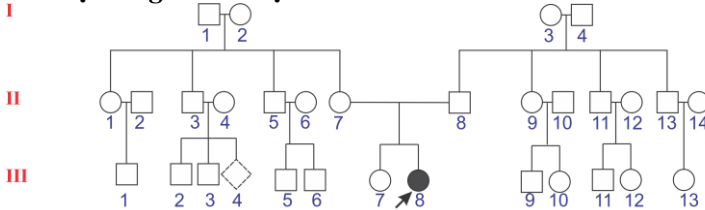


**Hình 3.6. Hình ảnh giải trình tự 1 số đột biến của bệnh nhân MPS IVA**

Nhận xét: Đột biến mất đoạn p.V427SfsX14 chưa từng được công bố

**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 3.7. 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 3.8. 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).

## 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 (85,7%), đặc biệt là nhóm > 5 tuổi (44,6%) 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  $5,8 \pm 3,7$  tuổi. Một số nước trên thế giới bệnh MPS được chẩn đoán khá sớm bằng sàng lọc sơ sinh.

#### 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. Tỷ lệ bệnh nhân MPS II chiếm tỷ lệ cao nhất 48,2% cũng giống như nghiên cứu của Hsiang Yu Lin tại Đài Loan và nghiên cứu của Sung Yoon Cho ở Hàn Quốc. Nghiên cứu ở Đức và Ba Lan thì tỷ lệ cao nhất là thể MPS III 48%.

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.

### 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 chẩn đoán thường cách khá xa tuổi xuất hiện triệu chứng tương tự như nghiên cứu của Alzbeta Vazna (Czech và Slovak), Latifa Chkioua (Tunisia). Triệu chứng xuất hiện sớm là biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần và thoát vị tương tự nghiên cứu của Latifa và cộng sự.

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 trong các nghiên cứu và thường xuất hiện khá sớm. Nhóm triệu chứng này gợi ý tiếp cận chẩn đoán sớm bệnh MPS I.

##### 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 cách khá xa tuổi chẩn đoán tương đồng với nghiên cứu của Sung Yoon Cho (Hàn Quốc), Mary Anne D.

Chiong (Philipin). 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.

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. Cứng khớp chiếm tỷ lệ 88,8% thấp hơn nghiên cứu của Dimitry A Chistiakov, 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. 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.

#### 4.2.1.3. Các bệnh nhân MPS III

Trong nghiên cứu cả 2 bệnh nhân đều được chẩn đoán muộn. Các triệu chứng xuất hiện sớm là tăng động, khó tập trung, hay đập phá, chậm phát triển tinh thần tương tự nghiên cứu của M.J. Valsta, Veronica Delgadillo. 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. Theo 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. 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 chẩn đoán của bệnh nhân MPS IVA cũng cách khá xa tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên. Triệu chứng xuất hiện sớm của các bệnh nhân nhóm này chủ yếu là biến

dạng xương. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của C. J. Hendriks, Hsiang Yu Lin .

Trong nghiên cứu của chúng tôi các triệu chứng lâm sàng tương tự với các triệu chứng lâm sàng trong nghiên cứu của Souhir Khedhiri, Timothy C Wood: Lòng 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.

#### *4.2.1.5. Các bệnh nhân MPS VI*

Tuổi chẩn đoán của bệnh nhân MPS VI cũng cách tuổi xuất hiện triệu chứng đầu tiên vài năm tương tự với nghiên cứu của Agnieszka Jurecka, Piranit Nik Kantaputra. Triệu chứng được phát hiện sớm là biến dạng xương. Triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với nghiên cứu của Maurizio Scarpa trên 9 bệnh nhân Ý, Juby Mathew trên 9 bệnh nhân Ấn Độ các bệnh nhân đều có biểu hiện bộ mặt thô, lùn, biến dạng xương, cứng khớp, đục giác mạc, một số có gan hoặc lách to, tổn thương van tim, giảm thính lực, thoát vị bẹn hoặc rốn. 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.

#### **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*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với Elizabeth, Shyn Jye Chen, Klane K White, Hendriks. Các tác giả đều nhận định 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 má 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. Nghiên cứu của Souhir Khedhiri trên hình ảnh X quang của 7 bệnh nhân MPS IVA có 5 bệnh nhân có chèn ép đốt sống cổ. Nghiên cứu của Maurizio Scarpa trên 9 bệnh nhân MPS VI Ý 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.

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

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.

Hoạt độ enzyme  $\alpha$  Iduronidase trong bạch cầu lym pho máu ngoại vi của các bệnh nhân MPS I trong nhóm nghiên cứu giảm nhiều so với chỉ số bình thường. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Luning Sun (Trung Quốc), Latifa Chkioua (Tunisia).

GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym  $\alpha$ -Iduronate sulfatase trong huyết thanh của các bệnh nhân MPS II trong nghiên cứu giảm nhiều so với chỉ số bình thường. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Ida VD Schwartz, Dimitry A Chistiakov, Mary Anne D. Chiong.

GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym trong máu của các bệnh nhân MPS III trong nghiên cứu giảm nhiều so với chỉ số bình thường. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Veronica Delgadillo.

GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym galactose-6-sulphate trong bạch cầu của các bệnh nhân MPS IVA trong nghiên cứu giảm nhiều so với chỉ số bình thường. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Souhir Khedhiri, Sonia Pajares, Hsiang Yu Lin.

GAGs nước tiểu tăng cao, hoạt độ enzym Arylsulfatase B trong bạch cầu của các bệnh nhân MPS VI trong nghiên cứu giảm nhiều so với chỉ số bình thường. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Azevedo, Marion M Brands.

#### 4.3. Phân tích đột biến gen trên 27 bệnh nhân

Nghiên cứu tiên 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. Trong số 23 bệnh

nhân được làm phân tích gen đột biến gặp nhiều nhất là đột biến sai nghĩa tương tự với nhận định của Rossella P, Latifa Chkioua.

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

Đột biến p.Q584X đã được báo cáo trong nghiên cứu của Guey-Jen Lee-Chen 2002 (Đài Loan) và Luning Sun 2011 ( Trung Quốc). Bệnh nhân MPS I số 2 trong nghiên cứu (p.Q584X/p.R621P) biểu hiện kiểu hình Hurler. 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. Cả 2 bệnh nhân đều có kiểu hình Hurler. Đột biến p.D349G gây kiểu hình Hurler/Scheie cho bệnh nhân MPS I số 1.

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/>).

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

Trong 14 bệnh nhân MPS II phát hiện được đột biến 6 bệnh nhân có đột biến tái tổ hợp phức tạp (Recombination event) giữa gen *IDS* và giả gen. Biểu hiện lâm sàng 6 bệnh nhân này là 5 nặng và 1 trung bình. Nghiên cứu Susanna Lualdi, Huiwen Zhang, Motomichi Kosuga cũng phát hiện đột biến tái tổ hợp phức tạp với giả gen, bệnh nhân thường biểu hiện lâm sàng thể nặng.

Đột biến mất đoạn c.120-122del (p.L41del) đã được mô tả trong nghiên cứu của Chi Hwa Kim 2003. Bệnh nhân số 12 mang đột biến p.L41del biểu hiện lâm sàng nặng. Đột biến sai nghĩa ở exon 7 c.1001A>G (p.D334G) đã được Peining Li mô tả trong nghiên cứu 1998. Bệnh nhân số 13 mang đột biến p.D334G biểu hiện lâm sàng nặng. Đột biến sai nghĩa c.879G >C (p.Q293H) đã được Schröder mô tả trong nghiên cứu 1994. Bệnh nhân số 11 mang đột biến p.Q293H biểu hiện lâm sàng nặng.

Có 5 bệnh nhân (35,7%) mang đột biến chưa từng được báo cáo là đột biến c.166dup (p.D56Gfs\*2) (bệnh nhân số 19 kiểu hình nhẹ). Đột biến thêm đoạn c.1124 - 1128 dup (p.L377Gfs\*10) (bệnh nhân số 14 kiểu hình nhẹ). Đột biến mất đoạn ở exon 4 c.473del (p.Y158fs) (bệnh nhân số 15 kiểu hình nặng). Đột biến vô nghĩa c.814C>T (p.Q272\*) (bệnh nhân số 16 kiểu hình nặng). Đột biến sai nghĩa ở exon 8 c.1048A>T (p.N350Y) (bệnh nhân số 17 kiểu hình



nặng). 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).

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

Đột biến p.P125L đã được Anna Caciotti, Tamarozzi mô tả. Đột biến p.Y385X đi cùng với đột biến p.P125L trên bệnh nhân số 36 biểu hiện lâm sàng nặng.

Đột biến A291T đã được mô tả trong nghiên cứu của S Tomatsu, Tamarozzi. Trên lâm sàng biểu hiện mức độ nặng (bệnh nhân số 44).

Đột biến vị trí cắt nối c.899-2A>C cũng làm sai lệch quá trình dịch khung làm ngừng sớm quá trình phiên mã làm chuỗi protein bị cắt ngắn. Lâm sàng bệnh nhân biểu hiện kiểu hình nặng (bệnh nhân số 35).

Đột biến mất đoạn p.V427SfsX14 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). Cả 2 bệnh nhân này trên lâm sàng đều có kiểu hình là thể nặng.

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

Nghiên cứu 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. Bệnh nhân trên lâm sàng thấy biểu hiện kiểu hình nặng.

### **KẾT LUẬN**

Nghiên cứu trên 56 bệnh nhân MPS được chẩn đoán, theo dõi và điều trị tại khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền bệnh viện Nhi Trung ương chúng tôi rút ra 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.

Triệu chứng lâm sàng hay gặp:

Thể MPS I: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, đục giác mạc, chậm phát triển tinh thần.

Thể MPS II: Bộ mặt thô, biến dạng xương, cứng khớp, chậm phát triển tinh thần và không đục giác mạc.

Thể MPS III: Chậm phát triển tinh thần, tăng động, hung tính.

Thể MPS IVA: Dây chằng lỏng lẻo, biến dạng xương, lùn, rất ít bị chậm phát triển tinh thần.

Thể 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 mác chèo, biến dạng cột sống, biến dạng xương dài, MRI sọ não có tổn thương.

## **2. Các đột biến gen gây bệnh Mucopolysaccharide ở 27 bệnh nhân MPS tại Bệnh viện Nhi Trung ương**

Trong 56 bệnh nhân MPS chúng tôi phân tích gen được cho 27 bệnh nhân trong đó: 3 bệnh nhân MPS I, 18 bệnh nhân MPS II, 5 bệnh nhân MPS IV và 1 bệnh nhân MPS VI. Có 4 bệnh nhân không tìm thấy đột biến (14,8%).

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%.

Phát hiện 9 đột biến chưa từng được công bố trong đó: Thể MPS I có 2 đột biến sai nghĩa là p.R621P (lâm sàng thể nặng) và p.D349G (thể trung bình). Thể MPS II có 5 đột biến p.D56GfsX2 (thể nhẹ); p.L377GfsX10 (thể nhẹ); p.Y158fs (thể nặng); p.Q272X (thể nặng); p.N350Y (thể nặng). Thể MPS IVA phát hiện 1 đột biến mất đoạn p.V427SfsX14 (thể nặng). Thể MPS VI phát hiện 1 đột biến sai nghĩa p.Y175C (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 phát hiện bệnh 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 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 CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ 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 - 11<sup>th</sup> 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 tít 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 tít 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 tít III: Báo cáo ca bệnh. *Tạp chí Y – dược học quân sự số 4*, trang 227 - 232.

MINISTRY OF EDUCATION & TRAINING    MINISTRY OF HEALTH  
HA NOI MEDICAL UNIVERSITY



**LE THI THUY HANG**

**STUDY ON CLINICAL, INVESTIGATION  
CHARACTERISTICS AND MUTATION  
ANALYSIS FOR  
MUCOPOLYSACCHARIDOSIS**

**Speciality           : Pediatrics**

**Code                 : 62720135**

**SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL THESIS**

**HA NOI - 2018  
THE THESIS HAS BEEN COMPLETED AT:  
HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

*Supervisor:*

**PhD. TRINH THANH HUNG**

**Ass. Pro. Dr. NGUYEN THI YEN**

**Counter-Argument 1: Ass. Pro. Dr. NGUYEN THI PHUONG**

**Counter-Argument 2: Ass. Pro. Dr. TRAN VAN KHOA**

**Counter-Argument 3: Ass. Pro. Dr. DANG THI NGOC DUNG**

The Thesis was defended before the University-level Thesis Committee at Hanoi Medical University.

At ..... , ..... day of ..... 2018

**Thesis can be leant about at:  
Library of Hanoi Medical University  
National Library of Vietnam**

## INTRODUCTION

Mucopolysaccharide (MPS) is a rare groups of metabolic disorders (about 4.5/100,000 live births) caused by the absence of lysosomal enzymes needed to break down glycosaminoglycans. The disease is recessively inherited on normal chromosome, excepted for MPS II which is recessively inherited on X-chromosomes. The disease is divided into many deficient enzyme-dependent subtypes. The disease causes damages to multi-organs and progressive injuries leading to disability or premature death before the age of 10.

As being rare diseases, this group of disorders is easily missed, and non-specific symptoms are difficult to diagnose. Diagnosing the disease must base on the high-tech tests to what Vietnam has no access. Nowadays, MPS treatment in the world has made a lot of progress. However, treatment is only effective for patients who are diagnosed before 2.5 years of age.

In Vietnam, patients with MPS are often diagnosed late. Researchs on MPS are few and on a very small number of patients. However, the number of patients with MPS in the Department of Endocrinology - Metabolism - Genetics of the National Hospital of Paediatrics is increasing in recent years. Facing this situation, and with the support of Vietnamese - American protocol on metabolic disorders, the topic: "Study on clinical, investigation characteristics and mutation analysis for mucopolysaccharidosis" was conducted with two targets:

- 1. Description of Clinical and Subclinical Characteristics of Mucopolysaccharide diseases in Children.*
- 2. Identification of Mucopolysaccharide Gene Mutations in Children treated at the National Hospital of Paediatrics*

### **THE IMPERATIVENESS OF THE SUBJECT**

The disease is rare, but the number of infected patients has been increasingly reported. The disease has non-specific symptoms and is easily missed. The disease causes multi-organ and progressive lesions and, therefore, late diagnosis results in multiple sequelae or premature death before the age of 10. The burden of illness on patients, their families and society is extremely heavy. Treatment is not effective because of late detection. This is a genetic disease, but we have not yet made a prenatal diagnosis or neonatal screening for

the patients. To overcome the problems mentioned above, the topic targets to investigate the onset time of the first symptoms, the usual early symptoms appearing in patients with MPS, clinical and sub-clinical symptoms specific for each type that can help diagnose early and specific treatments, genetic analysis of some patients to help genetic counseling and prenatal screening for the patient's family. Therefore, the topic is imperative and of practical value.

### **NEW CONTRIBUTION OF THESIS**

The thesis is based on 56 patients. This is the first large-scale and systematic study in Vietnam on MPS. The thesis identified the onset age at which the first symptoms appear, the initial usual symptoms to appear, the clinical symptoms, the radiological images specific to each type of MPS patients in the National Hospital of Paediatrics. Genetic analysis of 27 subject patients detected 9 previously unreported genetic mutations and described the clinical manifestations associated with each mutation that contributed to the phenotypic prediction for the gene mutation in prenatal screening. and neonatal screening. The study contributed mutation databases for gene bank.

### **STRUCTURE OF THESIS**

The thesis consists of 129 main pages, including 04 chapters, 22 tables, 62 figures: Introduction (2 pages), Chapter 1 - Overview (41 pages), Chapter 2 - Objectives and research methods (12 pages). Chapter 3 - Results (37 pages), Chapter 4 - Discussion (34 pages), Conclusion (2 pages), Recommendations (1 page). Reference includes 110 documents, of which 6 in Vietnamese, 104 in English. There are 51 documents from the last 5 years. In addition, the thesis includes 25 Appendices.

## **Chapter 1: OVERVIEW**

### **1.1. Mechanism - Type of Disease**

Mucopolysaccharide disease (MPS) is caused by the absence of 01 of 11 lysosomal enzymes needed to degrade glycosaminoglycans (GAGs) causing storage of GAGs in cells, tissues and organs in the body. GAGs are dermatan sulfate (DS), heparan sulfate (HS), keratan sulfate (KS) and chondroitin sulfate (CS). The continuous storage of un-degraded GAGs results in lysosomal hypertrophy, leading to enlarged cells and causing visceral hypertrophy. Depending on the level of GAGs accumulation, the clinical symptoms are manifested to varying degrees.

MPS I: Due to deficiency of  $\alpha$ -L-Iduronidase enzyme: Hurler syndrome, Hurler-Scheie syndrome, Scheie syndrome. MPS II (Hunter syndrome): Due to deficiency of iduronate-2-sulfatase. MPS III (Sanfilippo syndrome): due to the absence of heparin N-sulfatase (type A),  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidase (type B) enzymes;  $\alpha$ -glucosaminide acetyltransferase (type C), N-acetyl glucosamine 6-sulfatase (type D).

MPS IV: Due to deficiency of Galactose 6-sulfatase (Morquio A syndrome), B-Galactosidase deficiency (Morquio B syndrome). MPS VI (Maroteaux-Lamy syndrome): deficiency of Arylsulfatase B.

MPS VII (Sly syndrome): Due to B-Glucuronidase deficiency.

MPS IX (Natowicz syndrome): Due to hyaluronidase deficiency.

## 1.2. Clinical, subclinical symptoms

Coarse facial features, bone deformity, joint stiffness, mental retardation, hepatosplenomegaly, loss of vision, hearing impairment, inguinal or umbilical hernia, cardiac valve damage, increasing disease progression. X-ray: Skull fracture, ventricular dilatation. Deformation of the vertebrae, spinal cord compression. Oar-shaped ribs. Deformities of limb, pelvis, osteoporosis bone. Increased quantitative GAGs tested in the urine. Significantly decreased specific enzyme activity (depending on each type) measured in peripheral blood lymphocytes or cultured fibroblasts. Molecular analysis helped seek for mutant genes

## 1.3. Genetic characteristics

MPS is an autosomal recessive genetic disease, excluding MPS II, which is X-link recessive genetics. *IDUA*, *IDS*, *SGS*, *NAGLU*, *HGSNAT*, *GNS*, *GALNS*, *GLB1*, *ARSB*, *GUSB* genes code for absent enzymes that cause the corresponding diseases. Most of gene mutations are point mutations, which are mainly missense mutations and large re-arrangement mutations; the rest are partial or complete deletion mutations, insertion, small duplication mutations, mutations at splicing joints.

## 1.4. Diagnosis

**1.4.1. Definitive diagnosis:** When there are  $\geq 1$  symptoms of MPS suspected symptoms such as bone deformity, joint stiffness, mental retardation, hyperactivity, corneal clouding, inguinal or umbilical hernia, splenomegaly or hepatomegaly, cardiac valve damage, hearing impairment, short stature. Urine tested GAGs elevated, enzyme activity in



peripheral blood leukocyte or serum leukocytes dropped below 10% of normal value. Gene analysis helped seek for mutant.

**1.4.2. Prenatal diagnosis:** Apply to all MPS patients and their siblings for early detection to intervene during pregnancy, postpartum or abortion decision with genetic abnormality that is unable to overcome.

**1.4.3. Neonatal diagnosis:** In high-risk children for early detection of MPS patients to manage, follow-up and early treat in order to reduce sequelae, minimize child mortality and disability.

## 1.5. Treatment

**1.5.1. Specific treatment:** bone marrow stem cell therapy, replacement enzyme therapy, gene therapy, mitral therapy, Chaperone small molecule therapy, symptomatic treatment, rehabilitation.

1.5.2. Genetic counseling: Treatment, nursing methods for disease children, methods to prevent their family, and other members of the family line, the ability to treat fetal diseases for the family to choose to give birth or not to give birth.

## Chapter 2: OBJECTS AND METHODOLOGY

### 2.1. Location and Study Time

The study was conducted at the National Hospital of Paediatrics from January 1, 2012 to December 31, 2015.

Tests of urine GAGs, enzyme activity were performed at the genetic testing laboratory of the Taiwan National University Hospital. Genetic analysis was taken at Aasn central genetic testing laboratory - Seoul - Korea.

The study was conducted at the National Hospital of Paediatrics from January 1, 2012 to December 31, 2015

### 2.2. Study Objects

The study consists of 56 patients diagnosed with Mucopolysaccharidosis according to the diagnostic criteria of Thomas J. Lehman et al. 2011

#### 2.2.1. Patients Selection Criteria

Patients were selected for the study when they met the following conditions

\* **Clinical criteria:** Patients with one or more of the following suspected symptoms of MPS: Mental retardation (memory loss, hyperactivity may be possible), coarse facial features (big head, frontal bossing, depressed nasal bridge, flat nose wings, thick lips,

enlarged tongue), joints deformation, joint stiffness or loose ligaments, inguinal and umbilical hernia, short stature, splenomegaly or hepatomegaly, hearing impairment, deaf may be possible, corneal clouding, cardiac valve damage, heart failure may occur, family history (siblings of MPS patients).

\* **Investigation criteria:** Decreased enzyme activity in peripheral blood lymphocytic leucocytes or plasma (compulsory criteria when gene analysis results are not available). Increased total urinal Glycosaminoglycan test.

### **2.2.2. Exclusion criteria**

Patients, whose families did not agree to participate in tests during the study. Patients with MPS who lack the necessary information such as incomplete records for clinical examination, lack of enzyme tests though the clinical symptoms were adequate.

## **2.3. Study Method**

**2.3.1. Study Design:** Case series study

**2.3.2. Study Sample:** Sample size is selected by the utility model. All qualified patients at the National Hospital of Paediatrics were taken for the study from January 1, 2012 to December 31, 2015.

## **2.4. Data processing and analysis**

**2.4.1. Data Clean up:** The medical records collected must be checked before and after data entry.

**2.4.2. Encryption Method:** The data was entered into computer using Epidata 3.0 software, the information was encoded by numbers or characters.

**2.4.3. Data Processing:** The collected data of the study will be processed in accordance with the computerized medical statistical algorithm using STATA 12.0 software to calculate the experimental parameters.

## **2.5. Ethics in the Research**

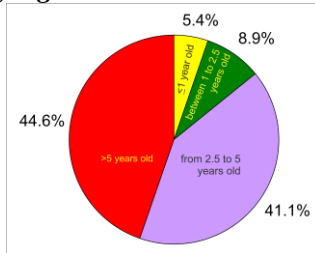
The Study is closely adhered to Research Ethics in Medicine. The patients' families voluntarily participated in the study. Information of the patient and their family will be kept confidential. The subject was approved by Medical Ethics Board of the National Hospital of Paediatrics (approval date: February 21, 2012).

## **Chapter 3: RESULTS**

From January 1, 2012 to December 31, 2015 we conducted a physical examination and diagnosis for 56 MPS patients. Molecular analysis test was performed on 27 patients. The results are as follows:

### 3.1. Characteristics of the Studied Cohort

#### 3.1.1. Distribution by Age



**Figure 3.1. Chart of Distribution by Age**

*Remark:* The most commonly diagnosed group is the age group of over 5 years (44.6%).

#### 3.1.2. Distribution by Type and Gender

**Table 3.1. Distribution by Disease Type and Gender**

	Male	Female	Total	Rate %
MPS I	1	4	5	8.9
MPS II	26	1	27	<b>48.2</b>
MPS III	1	1	2	3.6
MPS IVA	9	4	13	23.2
MPS VI	6	3	9	16.1
Total	<b>43 (76.8%)</b>	13 (23.2%)	56	100

*Remarks:* MPS II group holds the highest rate of 48.2%. The male ratio in the study group is quite high.

### 3.2. Clinical and Subclinical Characteristics of MPS Patients

#### 3.2.1. Age of the early symptoms and age of diagnosis

**Table 3.2. Age of the early symptoms and age of diagnosis**

Disease type	n	Age of the early symptoms	Age of diagnosis
MPS I	5	6 months – 2 years (1.1 ± 0.5)	8 months – 7.5 years (3.4 ± 2.6)
MPS II	27	0 months – 4 years (1.8 ± 1.2)	21 months – 13.5 years (5.8 ± 3.9)
MPS IIIA	1	3 years	5.5 years
MPS IIIB	1	2 years	5.2 years
MPS IVA	13	0 – 3 years (1 ± 0.8)	1.3 – 7.5 years (3.9 ± 1.9)
MPS VI	9	0 – 3 years (0.9 ± 1.3)	3 months – 7.2 years (3.4 ± 2.6)
<b>TOTAL</b>	<b>56</b>	<b>0 – 4 years (1.4 ± 1.1)</b>	<b>3 months – 13.5 years (4.7 ± 3.2)</b>

Remarks: It took 2-4 years from the onset of the first symptoms to the diagnosis.

### 3.2.2. The early symptoms of MPS patients

**Table 3.3. The early symptoms of MPS patients**

Disease type	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IVA	MPS VI	Tổng	Tỷ lệ (%)
Number	5	27	2	13	9	56	100.0
Bone deformation	2			12	4	18	32.1
Joint Stiffness	1	12			2	15	26.8
Mental retardation	1	7		1		9	16.1
Speech delay		5				5	8.9
Hyperactivity		1	2			3	5.4
Coarse face		1			1	2	3.6
Hirsutism					2	2	3.6
Inguinal and umbilical hernia	1	1				2	3.6

Remarks: The first symptoms in MPS patients detected by the family holding the highest rate is bone deformation (32.1%), followed by stiff joint (26.8%), mental retardation (16.1%).

**3.2.3. Clinical symptoms of the MPS I patients:** (8 months - 7.5 years), (1 boy - 4 girls).

**Table 3.4. Clinical symptoms of 5 MPS I patients**

Symptoms	n/N	Rate (%)
Coarse face	5/5	100.0
Bone deformation	5/5	100.0
Corneal clouding	5/5	100.0
Joint stiffness	4/5	80.0
Sternum deformity	4/5	80.0
Mental retardation	4/5	80.0
Hearing impairment	3/4	75.0
Short stature	3/5	60.0
Splenomegaly or hepatomegaly	3/5	60.0
Inguinal and umbilical hernia	3/5	60.0
Cardiac valve damage	2/5	40.0
Family history	1/5	20.0

Remarks: Symptoms are found at a high rate in patients with MPS I, including: Coarse face, bone deformation, Corneal clouding (5/5 cases). Followed by joint stiffness, sternal deformity, mental retardation and hearing impairment.

**3.2.4. Clinical symptoms of the MPS II patients: (21 months – 13.5 years), (26 boys – 1 girls)**

**Table 3.5. Clinical symptoms of the MPS II patients**

<b>Symptomes (N=27)</b>	<b>n/N</b>	<b>Rate (%)</b>
Coarse facial features	27/27	100.0
Joint stiffness	24/27	88.8
Mental retardation	23/27	85.2
Bone deformation	21/27	77.8
Splenomegaly or hepatomegaly	16/27	59.3
Cardiac valve damage	12/26	46.2
Inguinal and umbilical hernia	12/27	44.4
Hearing impairment	8/25	32.0
Short stature	8/27	29.6
Sternum deformity	7/27	25.9
Family history	7/27	25.9
Corneal clouding	0/27	0.0

*Remarks:* MPS II patients have symptoms of coarse facial feature, joint stiffness, mental retardation, bone deformation at high rate and followed by manifestation of hepatosplenomegaly, cardiac valve damage.

**3.2.5. Clinical symptoms of MPS III patients: (5.2 - 5.5 years), (1 boy - 1girl)**

**Table 3.6. Clinical symptoms of 2 MPS III patients**

<b>Symptomes</b>	<b>BN 1 (IIIA)</b>	<b>BN 2 (IIIB)</b>	<b>Total</b>
Mental retardation	+	+	2/2
Hyperactivity	+	+	2/2
Aggressive, exciting	+	+	2/2
Bone deformation	+	+	2/2
Joint stiffness	-	±	1/2
Hepatosplenomegaly	+	-	1/2
Coarse face	±	-	1/2
Short stature	-	-	0/2
Sternum deformity	-	-	0/2
Corneal clouding	-	-	0/2
Hearing impairment	-	-	0/2
Cardiac valve damage	-	-	0/2

*Remarks:* Only two MPS III patients were diagnosed and all had symptoms of hyperactivity, aggressiveness, excitability, mental retardation.

**3.2.6. Clinical symptoms of MPS IVA patients:** (1.3 - 7.5 years of age), (9 boys - 4 girls).

**Table 3.7. Clinical symptoms of 13 MPS IVA patients**

Symptomes	Number of patients	Rate (%)
Loose ligaments	13/13	100.0
Bone deformation	12/13	92.3
Sternum deformity	12/13	92.3
Short stature	8/13	61.5
Hearing impairment	7/12	58.3
Mental retardation	5/13	38.5
Corneal clouding	4/13	30.8
Cardiac valve damage	4/13	30.8
Family history	3/13	23.1
Coarse face	2/13	15.4
Hepatomegaly	1/13	7.7
Joint stiffness	0/13	0.0
Inguinal and umbilical hernia	0/13	0.0

*Remarks:* Loose ligaments, bone deformities, sternum deformity are symptoms that account for a high proportion of patients with MPS IVA, followed by Short stature, hearing impairment.

**3.2.7. Clinical symptoms of MPS VI patients**

(3 months – 7.2 years of age)), (6 boys – 3 girls)

**Table 3.8. Clinical symptoms of MPS VI patients**

Symptomes (N = 9)	n/N	Rate (%)
Coarse face	9/9	100.0
Bone deformation	7/9	77.8
Joint stiffness	6/9	66.7
Inguinal and umbilical hernia	6/9	66.7
Sternum deformity	6/9	66.7
Corneal clouding	5/9	55.6
Cardiac valve damage	4/8	50.0
Hearing impairment	2/5	40.0
Mental retardation	3/8	37.5
Short stature	3/9	33.3
Polytrichia	3/9	33.3
Hepatomegaly	2/9	22.2
Family history	2/9	22.2

*Remarks:* The symptoms of coarse facial features, bone deformities, joint stiffness, hernia, and sternal bone deformation are at high rate in MPS VI patients.

### 3.2.8. Bone damage on X-ray images of the MPS types

**Table 3.9. Bone damage on X-ray images of the MPS types**

<i>Bone damage on X-ray images</i>	<b>MPS I</b>	<b>MPS II</b>	<b>MPS IIIA</b>	<b>MPS IIIB</b>	<b>MPS IVA</b>	<b>MPS VI</b>	<b>Total</b>
Oar-shaped ribs	4/5	25/27	1/1	1/1	10/13	5/9	46/56 (82.1%)
Spinal distortions, vertebrae injuries	5/5	20/27	1/1	1/1	11/13	5/9	43/56 (76.8%)
Reduced vertebral body height	5/5	11/18	0/1	0/1	8/11	3/7	27/43 (62.8%)
MRI shows skull brain lesion	2/5	11/15	1/1	1/1	2/10	2/5	19/37 (51.4%)
Long bone deformation	4/5	8/27	0/1	1/1	10/13	5/9	28/56 (50.0%)
Cervical vertebrae compression	2/4	4/15	0/1	0/1	8/8	2/4	16/33 (48.5%)
Osteoporosis	1/5	10/27	0/1	0/1	6/13	2/9	19/56 (33.9%)

*Remarks:* Oar-shaped ribs symptoms are at the highest rates in all MPS types as well as MPS patients in general. Images of spinal deformities, vertebral injuries are common in patients with MPS I, MPS II, MPS IVA, MPS VI. Decreased vertebral body height is more common in patients with MPS I, MPS II, MPS IVA. Image of spiral cord compression were seen in MPS IVA. Brain lesions detected by MRI are more common in patients with MPS III, MPS II.

### 3.2.9. Tests of urinary GAGs of Patients with MPS in the Study

**Table 3.10. Urinary GAGs of Patients with MPS**

Age	Normal GAGs (mg/g creatinine) Mean value (Min - Max)	GAGs concentration of patients with MPS
< 1 year of age	90.76 (20.26 – 312.38)	1738.61 (244 – 1864) (n = 3)
1-3 years of age	56.19 (19.97 – 110.53)	498.50 (112 – 1190) (n = 7)
3- 5 years of age	45.16 (10.74 – 112.02)	528.44 (63 – 1106) (n = 20)
> 5 years of age	35.74 (10.77 – 77.5)	477.79 (109 – 709) (n = 22)

*Remarks:* The total urinary GAGs concentration of MPS patients is high compared to the standard GAGs level.

**Table 3.11. Comparison of urinary GAGs levels between diseases**

Disease degree	GAGs concentration		
	Min - Max	X ± SD	Higher than the average value (times)
Mild	111.52 – 505.66	379.08 ± 90.82	10.3 ± 2.8
Moderate, severe	63.04 – 1738.61	575.89 ± 48.37	13.2 ± 0.9

*Remarks:* GAGs levels in mild patients 10 times higher than normal values, and 13 times higher in moderate and severe patients than the normal GAGs.

### 3.2.10. Enzyme activity of MPS patients in this Study

**Table 3.12. Enzyme activity of MPS patients in this Study**

Type of MPS	Quantitative deficient Enzym	Patients with MPS	Normal value
MPS I (n = 5)	α -L-Iduronidase (in leukocytes)	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 (in plasma)	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 (in leukocytes)	0.03	4.6 ± 2.2 nmol/mg Prot/24hrs
MPS IIIB (n = 1)	A-N-acetylglucosaminidase (in plasma)	0.93	320.4 ± 131.3 nmol/ml Plasma/17hrs
MPS IVA (n = 13)	Galactose 6-sulphatase (in leukocytes)	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 - in leukocytes)	6.28 (0.00 - 42.18) (9.97 ± 13.24)	92.3 ± 49.6 nmol/mg Prot/hrs



*Remarks:* The enzyme activity of patients with MPSs greatly reduced comparing with the corresponding laboratory normal values.

### 3.3. Gene analysis results of some MPS patients

In the Study, 27 patients were analyzed for genes, but no mutation was found in 4 patients. Among 23 patients, 3 were with MPS I, 14 with MPS II, 5 with MPS IV and 1 with MPS VI

#### 3.3.1. Genotype distribution in patients

**Table 3.13. Genotype distribution in 23 MPS patients**

Mutation Type	MPS I 3 patients	MPS II 14 patients	MPS IVA 5 patients	MPS VI 1 patients	n	%
Missense mutation	4	3	2	2	11	36.6
Deletion mutation		2	4		6	20.0
Recombination mutation		6			6	20.0
Nonsense mutation	1	1	1		3	10.0
Duplication mutation		2			2	6.7
Splicing mutation			2		2	6.7
<b>Total (N; %)</b>	<b>5</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>30</b>	<b>100.0</b>

*Remark:* Missense mutation accounted for the highest rate of mutations in 23 MPS patients, especially in MPS I (4/5)

#### 3.3.2. IDUA gene mutational profile and genotype correlations - clinical manifestations of patients with MPS I

**Table 3.14. Genotype and clinical manifestation of patients with MPS I.**

STT	c.DNA	Protein	Enzyme activity $\alpha$ -L-Iduronidase (nmol/mg Prot/hrs)	GAGs (mg/gram creatinine)	Clinical type
1	c.1046A>G	<b>p.D349G</b>	0.43	508.83	Hurler/Scheie
2	c.750C>T/ c.1862G>C	p.Q584X/ <b>p. R621P</b>	0.12	1019.50	Hurler
3	c.1862G>C/ c.1862G>C	<b>p.R621P/ p.R621P</b>	0.94	1738.61	Hurler

*Remarks:* In patient 1, only 1 mutant allele was detected, showing Huren/Scheie average clinical manifestation. Patient 2 had heterozygous double mutation and patient 3 had Hurler clinical homozygous mutation.

### Family tree of patient MPS I Nr. 1

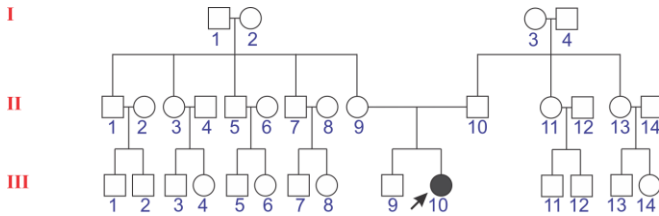


Figure 3.2. Family tree of patient MPS I Nr. 1, 2013

Remarks: The family has a daughter with Hurler/Scheie MPS I. In the pedigree, no one suffered the disease as the patient.

#### Genotype of MPS I Nr. 1

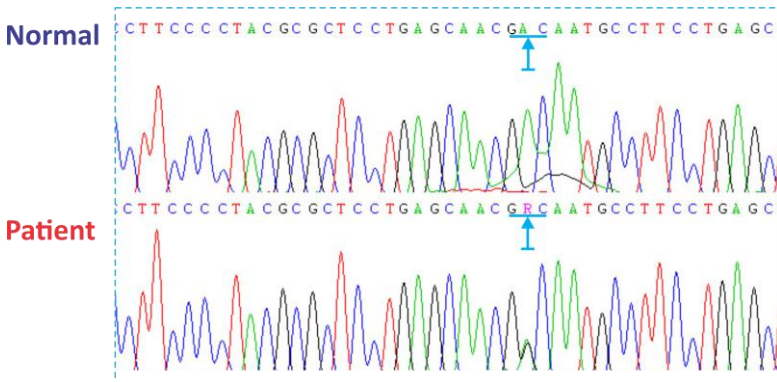


Figure 3.3. Illustrated IDUA gene sequence of MPS I patient Nr. 1

Remarks: Patients carried an un-reported missense mutation c.1046A>G as A were replaced with G at 1046 position on the IDUA gene.

#### 3.3.3. Mutations of IDS gene and genotype correlation - clinical manifestations of studied MPS II patients

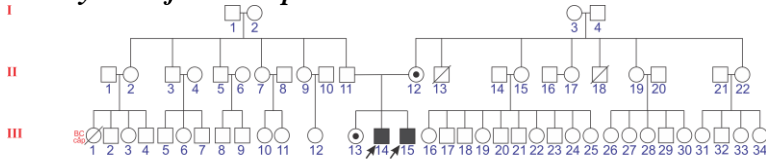
Analysis of *IDS* gene mutation on 18 MPS II patients detected mutations in 14 patients.

**Table 3.15. Genotype and clinical manifestations of patients with MPS II.**

<b>Patients</b>	<b>Nucleotid change</b>	<b>Protein change</b>	<b>Enzyme activity</b> Iduronate-2-sulphatase (nmol/mg plasma/4hrs)	<b>GAGs</b> (mg/gram creatinine)	<b>Clinical type</b>
Patient Nr. 5	Recombination		0.01	835.45	Moderate
Patient Nr. 6	Recombination		0.01	701.22	Severe
Patient Nr. 7	Recombination		0.14	755.36	Severe
Patient Nr. 8	Recombination		0.01	473.57	Severe
Patient Nr. 9	Recombination		2.42	605.46	Severe (Brother of patient Nr. 8)
Patient Nr. 10	Recombination		0	498.50	Severe (Mother carries gene)
Patient Nr. 11	c.879G>C	p.Q293H	0.01	789.59	Severe
Patient Nr. 12	c.120_122del	p.L41 deletion	0.01	771.84	Severe
Patient Nr. 13	c.1001A>G	p.D334G	0.01		Severe
Patient Nr. 14	c.1124_1128dup	<b>p.L377RfsX16</b>	0.01	476.36	Mild
Patient Nr. 15	c.473del	<b>p.Y158FfsX55</b>	0.41	532.99	Severe
Patient Nr. 16	c.814C>T	<b>p.Q272X</b>	0.35	479.22	Severe (Mother carries gene)
Patient Nr. 17	c.1048A>T	<b>p.N350Y</b>	0.63	391.53	Severe (brother suffers disease, Mother and sister carry gene)
Patient Nr. 19	c.166dup	<b>p.D56GfsX2</b>	0.01	422.79	Mild

*Remarks:* There 9 different mutations of *IDS* gene were detected: 6 patients carry recombination mutation, 3 patients carry reported mutations, and 5 unreported mutations were detected in 5 patients

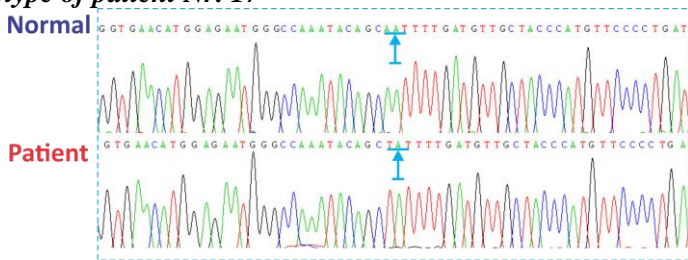
### Family tree of MPS II patient Nr. 17



**Figure 3.4. Family tree of MPS II patient Nr. 17, 2014**

**Remarks:** The patient's family has two siblings with the same disease. Mother and sister are disease gene carrier.

### Genotype of patient Nr. 17



**Figure 3.5. The image of mutation in patient Nr. 17 using gene sequencing method.**

**Remarks:** Patient carries the missense mutation p.N350Y (un-reported mutation or novel mutation).

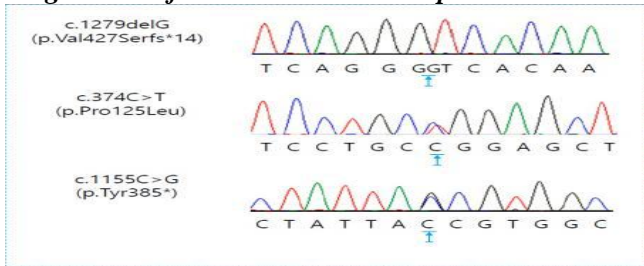
### 3.3.4. Mutations of GALNS gene on 5 MPS IV patients of the Study

**Table 3.16. Genotype and clinical manifestations of MPS IVA patients**

Item	c.DNA	Protein	Enzym activity (nmol/mg Prot/17hrs)	GAGs (mg/gram creatinine)	Clinical type
Patient Nr. 34	c.1279delG/c.1279delG	p.V427SfsX14/p.V427SfsX14	0.74	332.73	Severe
Patient Nr. 35	c.899-2A>C/c.899-2A>C		0.67	193.38	Severe
Patient Nr. 36	c.374C>T/c.1155C>G	p.P125L/p.Y385X	0.09	269.68	Severe
Patient Nr. 43	c.1279delG/c.1279delG	p.V427SfsX14/p.V427SfsX14	0.01	320.25	Severe
Patient Nr. 44	c.871G>A	p.A291T	0.02	291.44	Severe

**Remarks:** There 5 different pathogenic mutations of GALNS gene were detected. In which, the un-reported deletion mutation P. V427SfsX14 was identified in two patients in homozygous form.

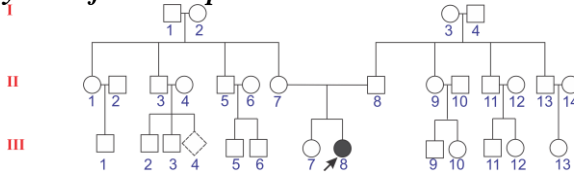
### Sequencing results of certain mutations in patients with MPS IVA



**Figure 3.6. Image of certain mutations sequencing in patients with MPS IVA**

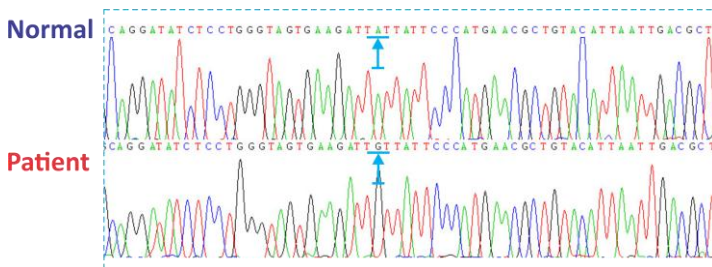
Remarks: Deletion mutation p.V427SfsX14 has not been reported

### 3.3.5. Mutation of ARSB gene on patient with MPS VI in the Study Family tree of MPSVI patient Nr. 47



**Figure 3.7. Illustrated image of family tree of MPSVI patient Nr. 47 in 2013**

Remarks: No one of the genealogy suffered disease as of the patient. Genotype of MPS VI patient Nr. 47



**Figure 3.8. The image of mutation in patient Nr. 47 using gene sequencing method.**

Remarks: the patient carries homozygous mutation on ARSB gene which is un-reported mutation, c.524A>G (p.Y175C).

## Chapter 4: DISCUSSION

### 4.1. Characteristics of the Cohort

#### 4.1.1. Patient Distribution by Age

The study of 56 patients showed that the diagnosis age of the patients was really late, mostly at  $> 2.5$  years (85.7%), especially at the age of  $> 5$  years (44.6%). This is the major reason that limits the course of treatment. As per research by Vu Chi Dzong, the average age of diagnosis is  $5.8 \pm 3.7$  years. In some countries in the world, MPS disease are diagnosed quite early by neonatal screening.

#### 4.1.2. Patient Distribution by Disease Type and Gender

The ratio of male/female in the cohort was 76.8% male and 23.2% female. Male rate is relatively high because the patients with MPS II are of the highest incidence. The incidence of patients with MPS II accounts for the highest rate of 48.2%, the same as the Hsiang Yu Lin's study in Taiwan and Sung Yoon Cho's study in Korea. Studies in Germany and Poland show the highest rate of 48% for MPS III.

Studies show that in European countries, MPS III takes the highest rates, whereas in Asian countries the highest rate belongs to MPS II - similar to our study results.

### 4.2. Clinical and subclinical characteristics of MPS patients in the Study

#### 4.2.1. Clinical characteristics of MPS patients in the Study

##### 4.2.1.1. Patients with MPS I

In our Study, the age at diagnosis was quite long late away from the age of symptoms onset, similar to the studies by Alzbeta Vazna (Czech and Slovak), Latifa Chkioua (Tunisia). The early symptoms were bone deformation, joint stiffness, mental retardation, and hernia, similar to the study by Latifa et al.

The proportion of patients with coarse facial features in our Study is similar to that of Tatiana Pineda and Latifa Chkioua's study, Wang X's study has a lower proportion. Symptoms of bone deformities, joint stiffness, mental retardation, inguinal or umbilical hernia, corneal

clouding also account for high rate in the studies and often occur quite early. This group of symptoms suggests an early diagnosis of MPS I.

#### *4.2.1.2. Patients with MPS II*

In our Study, the age of first symptoms of patients with MPS II was quite far from the age of diagnosis, similar to that of Sung Yoon Cho (South Korea), Mary Anne D. Chiong (Philippines) studies. The first clinical manifestations are usually mental retardation, joint stiffness, coarse facial features, hernia, or respiratory infection.

In our Study, the coarse facial features accounted for 100%, similar to that of Ida VD Schwartz, Sung Yoon Cho's study. Stiff joints accounted for 88.8%, lower than those of Dimitry A Chistiakov, Dhanya Lakshmi, but higher than those of Uttarilli A. Mental retardation was 85.2%, similar to that of Dimitry A Chistiakov, Ida VD Schwartz. Bone deformation was 77.8%, lower than that of Dhanya Lakshmi's study, but much higher than that of Uttarilli A, suggesting early diagnosis. Splenomegaly or hepatomegaly symptoms were 59.3%, 46.2% for cardiac valve damage, inguinal and umbilical hernia - 44.4%, 32% for hearing impairment, all of these were significantly lower than those of other authors's studies.

#### *4.2.1.3. Patients with MPS III*

In the Study, both patients were diagnosed late. Early symptoms were hyperactivity, attention deficit, hard to concentrate, easy demolition, mental retardation, similar to that of M.J. Valsta, Veronica Delgadillo's studies. Both patients in the Study showed hyperactivity, mental retardation, aggressiveness, mild bone deformity. Other symptoms such as hepatomegaly, coarse facial features, joint stiffness but less than other types. Both patients had no corneal clouding, no cardiac valve damage, normal hearing function, normal height. According to M.J. Valsta et al. 2007, Frits A Wijburg et al., 2013, symptoms of MPS III patients are characterized by mental retardation, cognitive decline, speech delay, hyperactivity, behavioral disorder, aggressiveness, sleep disturbance, convulsion. The authors also commented the coarse facial features were present in most patients but milder and might appear later than other type. In

addition, some patients also have mild bone deformities (hump, scoliosis), hearing loss, inguinal or umbilical hernia, or respiratory infections, otitis. A small number of patients had splenomegaly or hepatomegaly, might have cardiac valve damage. The number of patients of this type was small, therefore the symptoms were not manifested as many as that of other studies.

#### ***4.2.1.4. Patients with MPS IVA***

In our study, the diagnosis age of MPS IVA was quite far from the age at which the first symptoms appeared. Early symptoms of this group of patients were mainly bone deformities. Our study is also similar to that of C. J. Hendriks, Hsiang Yu Lin.

In our Study, the clinical symptoms were similar to those in the study conducted by Souhir Khedhiri, Timothy C Wood: Loose ligaments of the wrist joint, bone deformity, protruding or concave chest, short stature, scoliosis are prominent symptoms, suggestive of diagnosis. In addition, patients also were vulnerable to respiratory inflammation, possible hearing impairment, mild corneal clouding, inguinal or umbilical hernia, splenomegaly or hepatomegaly. The facial features were not coarse and mental retardation was almost unlikely present.

#### ***4.2.1.5. Patients with MPS VI***

The diagnosis age of MPS VI patients is also few years apart from the onset age of the first symptoms, similar to those of Agnieszka Jurecka, Piranit Nik Kantaputra's studies. Early symptoms detected were bone deformities. The clinical symptoms of the patients in our Study were similar to that of Maurizio Scarpa's study on 9 Italian patients, Juby Mathew's study on 9 Indian patients who had coarse facial features, bone deformities, stiff joints, corneal clouding, some had splenomegaly or hepatomegaly, cardiac valve damage, hearing impairment, inguinal or umbilical hernia. The expression of hearing impairment, mental retardation in our study was similar to that of other studies. Manifestations of corneal clouding, cardiac valves damage, short stature, hirsutism, splenomegaly or hepatomegaly were at lower rate than many other studies



#### ***4.2.2. The major subclinical characteristics of patients with MPS of the Study***

##### *4.2.2.1. X-ray images of patients with MPS of the Study*

Our results matched with that of Elizabeth, Shyn Jye Chen, Klane K White, Hendriksz. The authors identified spiral deformities (hump, scoliosis) and vertebral injuries in patients with severe MPS I, Hurler MPS II, MPS IVA, and MPS VI. Spinal cord compression was more common in patients with MPS IVA, MPS I (Hurler). Image of oar-shaped ribs found in most types. Long bone deformity image was found in patients with Hurler, severe MPS II, MPS IV, MPS VI. In Souhir Khedhiri's study on radiography of 7 patients with MPS IVA, there 5 patients had cervical vertebrae compression. Maurizio Scarpa's study on 9 Italian patients with MPS VI reported 7 out of 9 patients (77.8%) had cervical vertebrae compression and 9 of 9 patients (100%) had cerebral lesions on MRI scans.

##### *4.2.2.2. Tests of Urinary GAGs and enzyme activity in the blood of patients in the study*

The patients were divided into 2 groups according to the severity of the disease, including mild and severer (moderate and severe). The average values of total urinary GAGs of the milder group were 10 times higher than normal urinary GAGs by age groups. The average values of total urinary GAGs of the severer group were 13 times higher than that of normal urinary GAGs by age groups.

Enzyme activity of  $\alpha$ -Iduronidase in peripheral blood lymphocyte of patients with MPS I in the cohort was significantly lower than the normal values. Our results were similar to that of Luning Sun (China), Latifa Chkioua (Tunisia).

Urinary GAGs increased, serum  $\alpha$ -Iduronate sulfatase enzyme activity in MPS II patients in the study were significantly lower than the normal values. Our results were similar to that of Ida VD Schwartz, Dimitry A Chistiakov, Mary Anne D. Chiong.

Urinary GAGs increased, enzyme activity in the blood of patients with MPS III in the study was much lower than normal. Our results were similar to that of Veronica Delgadillo.

Urinary GAGs increased, galactose-6-sulphate enzyme activity in the white blood cells of patients with MPS IVA in the study were significantly lower than normal. Our results were similar to that of Souhir Khedhiri, Sonia Pajares, Hsiang Yu Lin.

Urinary GAGs increased, Arylsulfatase B enzyme activity in the leukocytes of patients with MPS VI in the study was significantly lower than normal. Our results were similar to that of Azevedo, Marion M Brands.

### **4.3. Analysis of Gene Mutations in 23 patients**

Gene analysis was conducted on 27 patients with MPS, but mutations were detected in only 23 patients, no mutation was detected in 4 patients with MPS II. Among 23 patients analyzed for gene mutations, the most common mutation was missense, similar to that observed by Rossella P, Latifa Chkioua.

#### ***4.3.1. IDUA mutation in 3 patients with MPS I***

Mutation p.Q584X was reported in the study by Guey-Jen Lee-Chen 2002 (Taiwan) and Luning Sun 2011 (China). Patient Nr. 2 with MPS I in the study (p.Q584X/p.R621P) showed the Hurler phenotype. Mutation p.R621P was encountered in a homozygous patient and in another patient in dual heterozygous form, who carried the mutation p.R621P on exon 14 and mutation p.Q584X on exon 13. Both patients had Hurler phenotype. Mutation p.D349G causes Hurler/Scheie phenotype in MPS I patient number 1.

Mutations p.R621P and p.D349G had never been reported in 1000 genomes, dbSNP or SWISSprot data. These mutations were predicted to be disease-causing mutants using the prediction software (<http://sift.jcvi.org> (SIFT score 0.00, affected). (SIFT score 0.01, affected); <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>.

#### ***4.3.2. IDS Mutation on 14 patients with MPS II***

Among 14 patients with MPS II, 6 patients were detected to have complex recombination events between IDS gene and the pseudogene. Clinical manifestations of these 6 patients were severe in 5 patients and moderate in 1 patient. Studies by Susanna Lualdi, Huiwen Zhang and Motomichi Kosuga also found complex

recombinant mutations with pseudo-genes. The patients often had severe clinical manifestations.

Deletion mutation c.120-122del (p.L41del) was reported in Chi Hwa Kim's study, 2003. Patient Nr. 12 carried p.L41del mutation with severe clinical manifestations. The missense mutation at exon 7 c.1001A>G (p.334G) was described by Peining Li in 1998 study. Patient Nr. 13 carried pD334G mutation with severe clinical manifestations. Missense mutation c.879G>C (p.Q293H) was described by Schröder in 1994 study. Patient Nr. 11 carried p.Q293H mutation with severe clinical manifestations.

Five patients (35.7%) carried mutation that was not reported before, c.166dup (p.56Gfs \* 2) (patient Nr. 19 with mild phenotype).

Duplication mutation c.1124 - 1128 dup (p.L377Gfs \* 10) (patient Nr. 14 with mild phenotype). Deletion mutation at exon 4 (c.473del) (p.YY158fs) (patient Nr. 15 with severe phenotype). Nonsense mutation at c.814C>T (p.Q272 \*) (patient Nr. 16 with severe phenotype). Missense mutation at exon 8 c.1048A>T (p.N350Y) (patient Nr. 17 with severe phenotype). These 5 mutations were not reported in the 1000 genomes, dbSNP or SWISSprot database and were predicted to be disease mutants using software mêm (Xq28.(3)<http://sift.jcvi.org> (SIFT score 0.00, affected) (4)<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/> (1.000, probably damage).

#### **4.3.3. *GALNS mutation on 5 patients with MPS IVA:***

Mutation p.P125L was described by Anna Caciotti, Tamarozzi. Mutation p.Y385X was associated with p.P125L mutation in patient Nr. 36 with severe clinical manifestations.

Mutation p.A291T was described in the study of S. Tomatsu, Tamarozzi. Clinical manifestations of severity (patient Nr. 44).

Splicing mutation c.899-2A>C interferes with the the frame translation process, which halts early transcription, leading to truncated protein chain. Clinical manifestations of severe phenotype (Patient Nr. 35).

Un-reported deletion mutation p.V427SfsX14 was identified in two homozygous patients (patient 34 and patient 43). Both of these patients had clinically severe phenotypes.

#### **4.3.4. ARSB mutation on 1 patient with MPS VI**

The Study analyzed gene for 1 patient with MPS VI. This patient carried the homozygous missense mutation c.524A>G/ c.524A>G (p.Y175C/p.Y175C) that was novel mutation. The patient had clinical manifestations of severe phenotype.

## **CONCLUSION**

After having study on 56 patients with MPS followed-up and treated at Department of Endocrinology - Metabolism - Genetics of the National Hospital of Paediatrics, we have come to following conclusions:

### **1. Clinical and subclinical characteristics of patients with Mucopolysaccharidosis**

There 5 types of MPS are detected: MPS I, II, III (IIIA and IIIB), IVA, VI. MPS II is the most common with the highest incidence of 48.2%.

Late age at diagnosis, usually after age of 2.5

Early symptoms of patients with MPS with high incidence are: bone deformation, joint stiffness, mental retardation, speech delay.

Common clinical symptoms:

MPS I: coarse facial features, bone deformity, joint stiffness, corneal clouding, mental retardation.

MPS II: coarse facial features, bone deformity, joint stiffness, mental retardation, no corneal clouding.

MPS III: mental retardation, hyperactivity, aggressiveness.

MPS IVA: Loose ligaments, bone deformity, short stature, very unlikely mental retardation.

MPS VI: coarse facial features, bone deformity, joint stiffness, corneal clouding, unlikely mental retardation.

X-rays bone damage: oar-shaped ribs, spinal deformities, long bony deformities, skull lesion detected by MRI.

## **2. Mutation spectrum in 27 patients with MPS at the National Hospital of Paediatrics**

Among 56 patients with MPS, gene analysis was performed for 27 patients including 3 MPS I patients, 18 MPS II patients, 5 MPS IV patients and 1 MPS VI patient. No mutation was found in 4 patients (14.8%).

There 6 types of mutations were found, in which the missense mutation was at the highest rate of 36.6%, deletion mutation of 20%, and recombination mutation of 20%.

Nine un-reported mutations (novel mutations) were detected: two missense mutations for MPS I: p.R621P (clinically severe type) and p.D349G (moderate type). Five mutations for MPS II: p.56GfsX2 (mild type); p.L377GfsX10 (mild type); P.Y158fs (severe type); p.Q272X (severe type); p.N350Y (severe type). One deletion mutation was detected for MPS IVA: p.V427SfsX14 (severe type). One missense mutation was detected for MPS VI: p.Y175C (severe type).

## **RECOMMENDATIONS**

1. Patients with manifestations of bone deformities, coarse facial features, joint stiffness, mental retardation should have specialized obstetric consultation for early diagnosis.
2. Screening should be performed on all children who are siblings of the patients.
3. Early deployment of biochemistry and molecular biological laboratories to diagnose MPS disease in Vietnam.
4. Larger-scale study is required to detect more mutations in patients with MPSs in Vietnam.

**LIST OF RESEARCH PIECES PUBLISHED**  
**BY THE AUTHOR IN RELATION TO THE THESIS**

1. Le Thi Thuy Hang, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung, Tran Thanh Tu, Vu Chi Dzung, Can Thi Bich Ngoc (2014). Study on clinical symptoms, biomarkers and enzyme activity of some cases of Mucopolysaccharidose I and II. *Journal of Military Medicine and Pharmacy* No. 8, pages 118 - 122.
2. Le Thi Thuy Hang, Tran Thanh Tu, Vu Chi Dzung, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung (2015). Clinical symptoms and enzyme activity of some Mucopolysaccharidose cases. *Journal of Practical Medicine* (947), pages 69-73.
3. Le Thi Thuy Hang, Vu Chi Dzung, Shunji Tomatsu, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Ngoc Khanh, 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 series report. *Annals of Translational Medicine - 11th Asia Pacific Conference on Human Genetics*.
4. Le Thi Thuy Hang, Vu Chi Dzung, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung (2016). Study on clinical and subclinical characteristics of 6 patients with Mucopolysaccharidosis VI. *Journal of Military Medicine and Pharmacy* No. 8, pages 108-112.
5. Le Thi Thuy Hang, Vu Chi Dzung, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung (2016). Clinical and genetic mutations of some cases of Mucopolysaccharidosis type II. *Journal of Medical Research* No. 4, pages 10-18.
6. Le Thi Thuy Hang, Vu Chi Dzung, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Thi Yen, Trinh Thanh Hung (2017). Mucopolysaccharidosis type III: Case Report. *Journal of Military Medicine and Pharmacy* No. 4, pages 227-232