

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng thận hư tiên phát là bệnh cầu thận mạn tính thường gặp ở trẻ em với sự thay đổi đáng kể cả về tỷ lệ mắc cũng như đáp ứng với thuốc steroid theo các chủng tộc khác nhau. Tỷ lệ mắc hội chứng thận hư tiên phát (HCTHTP) ở trẻ em trên thế giới trung bình từ 2 đến 16,9/100.000 trẻ em [1]. Tại Việt Nam, Lê Nam Trà và cộng sự thống kê thấy bệnh nhân mắc HCTHTP chiếm 1,7% số bệnh nhân nội trú toàn viện và chiếm 46,6% tổng số bệnh nhân của khoa Thận-Tiết niệu [2]. Theo Niaudet, 50% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid sẽ tiến triển thành bệnh thận mạn giai đoạn cuối sau 10 năm [3]. Bechrucchi và cộng sự (cs) (2016) thống kê thấy 10,4% số trẻ em mắc bệnh thận mạn ở các nước Âu Mỹ do HCTHTP kháng thuốc steroid và là nguyên nhân đứng hàng thứ hai trong các bệnh về cầu thận gây suy thận mạn giai đoạn cuối. Alberto và cs tại Brazil cho biết tỷ lệ bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển thành bệnh thận mạn giai đoạn cuối sau 10 năm là 42%, sau 25 năm là 72% [4]. Nguyễn Thị Quỳnh Hương và cs thống kê thấy HCTHTP kháng thuốc steroid chiếm 21,7% trẻ bị bệnh suy thận mạn tại Hà Nội và có tỷ lệ cao nhất trong nhóm bệnh lý cầu thận [5]. Khi trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid phải điều trị thêm bằng các thuốc ức chế miễn dịch khác, nhưng kết quả vẫn còn hạn chế, tỷ lệ suy thận mạn giai đoạn cuối cao, gây ảnh hưởng rất lớn đến sức khỏe và cuộc sống của trẻ cũng như gia đình trẻ [6]. Gần đây, các nghiên cứu về sinh học phân tử đã phát hiện thấy các đột biến trên gen *NPHS2* có ảnh hưởng lớn đến tiến triển cũng như đáp ứng điều trị của trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid [7],[8]. Trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid nếu có đột biến trên gen *NPHS2* thường đáp ứng kém với các thuốc ức chế miễn dịch và tỷ lệ suy thận mạn giai đoạn cuối cao hơn [9],[10],[11]. Do vậy ở một số nước đã thực hiện xác định các đột biến trên gen *NPHS2* ở bệnh nhân

bị HCTHTP kháng thuốc steroid trước khi điều trị bằng các thuốc ức chế miễn dịch. Khi đó bệnh nhân kháng thuốc steroid nếu mang đột biến gen sẽ không phải điều trị các thuốc ức chế miễn dịch đặc biệt không cần sinh thiết thận [12],[13],[14].

Tại Việt Nam hiện chưa có nghiên cứu nào phát hiện đột biến gen *NPHS2* để đánh giá những ảnh hưởng của gen này đến đáp ứng điều trị cũng như tiến triển ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được thực hiện. Xuất phát từ những lý do trên đây, nghiên cứu này được tiến hành với các mục tiêu sau đây:

**Mục tiêu 1:** Mô tả các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid.

**Mục tiêu 2:** Phát hiện các đột biến trên gen *NPHS2* ở trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid.

**Mục tiêu 3:** Đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến trên gen *NPHS2* ở trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid.

# CHƯƠNG 1

## TỔNG QUAN

### 1.1. Lịch sử nghiên cứu hội chứng thận hư

#### 1.1.1. Định nghĩa hội chứng thận hư

Hội chứng thận hư tiên phát thường gặp nhất trong các bệnh của cầu thận, nguyên nhân của bệnh đến nay vẫn chưa được sáng tỏ. Chẩn đoán xác định gồm 3 triệu chứng bắt buộc là: protein niệu  $\geq 50\text{mg/kg/24h}$ , hoặc protein niệu/creatinin niệu  $> 200 \text{ mg/mmol}$ ; albumin máu  $\leq 25 \text{ g/l}$ ; protein máu  $\leq 56 \text{ g/l}$ , ngoài ra có thể kèm theo phù, tăng lipid và cholesterol máu [15].

#### 1.1.2. Lịch sử nghiên cứu về hội chứng thận hư trên thế giới

Chứng sung phù ở người lớn đã được mô tả từ thời cổ đại, tuy nhiên những chứng sung phù này do đói, do suy dinh dưỡng, do bệnh ở gan, bệnh tim hay do bệnh thận thì chưa được phân biệt rõ. Những tài liệu mô tả các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của HCTH ở trẻ em tại thời điểm này ít được đề cập trong y văn. Trong sách “Liber de aegritudinibus infantium” lần đầu tiên xuất bản năm 1484 của tác giả Cornelius Roelan sống tại Bỉ (1450-1525) khi ông phát hiện thấy 51 trẻ bị phù toàn thân được cho là những mô tả HCTH ở trẻ em. Năm 1722, trong sách “Peadoiatreia practica” của Theodore Zwinger III một lần nữa lại nhắc đến các trường hợp bệnh với những triệu chứng như phù lúc đầu ít sau phù toàn thân với dấu ấn ngón tay, da xanh vàng bản, thở khó vì dịch màng bụng, trẻ lo lắng, ngủ kém. Năm 1811, John Blackall nhận thấy một số bệnh nhân có máu giống như sữa mà phải tới tận 25 năm sau mới biết đó là chất béo và hiện nay đã xác định là cholesterol, triglycerid [16].

Trước năm 1900, đã phát hiện thấy các biểu hiện giống bệnh Bright xuất hiện sau các biến chứng ở bệnh nhân bị đái tháo đường, giang mai, điều trị thủy ngân, amyloidosis, Schoenlein Henoch, lupus ban đỏ hệ thống. Năm 1827, nhà khoa học người Anh Richard Bright (1789-1858) mới mô tả một cách chi tiết

hơn và chỉ ra đó là bệnh liên quan đến cầu thận. Từ đó cho đến tận đầu thế kỷ XX, người ta vẫn gọi chung những bệnh nhân thận có phù và protein niệu là bệnh Bright. Trong khoảng thời gian đó John Bostock, Robert Christison và một số nhà khoa học khác đã chứng minh được các trường hợp giống bệnh Bright là do protein niệu bị dò rỉ ra ngoài qua nước tiểu. Đến 1905, Friedrich Von Muller, một nhà nội khoa người Đức thấy có những bệnh nhân bị thận với phù và protein niệu nhưng khi mổ tử thi thì không thấy hình ảnh viêm thận như trong bệnh Bright. Vì thế ông đã đưa ra khái niệm thận hư (Nephrose) để chỉ quá trình bệnh lý ở thận có tính chất thoái hoá mà không phải do viêm nhằm phân biệt với bệnh viêm thận do Bright mô tả. Năm 1913, Munk tìm thấy có hiện tượng thoái hoá mỡ ở thận nên đưa ra thuật ngữ “thận hư nhiễm mỡ” (Lipoid nephose). Năm 1914, Volhard và Fahr cũng tìm thấy sự thoái hoá mỡ ở ống thận nên cho rằng thận hư là một bệnh lý của ống thận. Năm 1917, Alois Epstein, một thầy thuốc nhi khoa người Séc phát hiện thấy những bệnh nhân thận hư có biến đổi protein và lipid máu nên cho rằng bệnh này có liên quan đến rối loạn chức năng tuyến giáp. Năm 1928, Govaerts (người Bỉ) và năm 1929, Bell (người Mỹ) cho rằng tổn thương chủ yếu của bệnh thận hư là ở cầu thận. Về sau, nhờ những nghiên cứu về siêu cấu trúc của cầu thận bằng những tiến bộ của khoa học kỹ thuật như sinh thiết thận, kính hiển vi điện tử và miễn dịch huỳnh quang, các nhà nghiên cứu đã khẳng định rằng thận hư là một bệnh cầu thận. Nhưng cho đến nay sự phân biệt ranh giới giữa thận hư và thận viêm cũng chưa hoàn toàn rõ ràng. Vì thế thuật ngữ “hội chứng thận hư” ra đời và được định nghĩa là hội chứng lâm sàng gồm phù, protein niệu cao, giảm protein và tăng lipid máu [2],[16].

## 1.2. Tổng quan HCTHTP kháng thuốc steroid

Trong những năm 1950 của thế kỷ XX, steroid bắt đầu được sử dụng trong điều trị cho bệnh nhân mắc HCTHTP, tuy nhiên có một số bệnh nhân sau điều trị 4 tuần và cả khi điều trị liều cao methylprednisolon truyền tĩnh mạch nhưng bệnh nhân không hề thuyên giảm, đặc biệt trong đó một số bệnh nhân ban đầu nhạy cảm với steroid nhưng sau những đợt tái phát lại bị kháng thuốc steroid. Cơ chế và nguyên nhân của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid vẫn chưa được rõ ràng [17],[18].

Đầu những năm 70, ISKDC (International Study of Kidney Disease in Children) đưa ra khái niệm về HCTHTP kháng thuốc steroid và thông báo tỷ lệ kháng thuốc steroid ở bệnh nhân mắc hội chứng thận hư (HCTH) là khoảng 10%-20%. Theo phác đồ điều trị steroid của ISKDC đưa ra ban đầu với liều 2mg/kg/ ngày (không quá 80 mg/ngày) trong 4 tuần, sau đó 4 tuần tiếp theo liều 1,5 mg/kg (không quá 60 mg/ngày) uống 3 ngày trong 1 tuần trong 4 tuần tiếp theo [18]. Nhóm thực hành lâm sàng thận nhi tại Đức khuyến nghị vào năm 1988, đưa ra liệu trình sau khi điều trị hết 4 tuần liều tấn công bằng prednisone với liều 60 mg/m<sup>2</sup>/24 giờ (tương đương 2mg/kg/24giờ, không quá 60 mg/ngày) và 4 tuần liều 1,5mg/kg uống cách ngày mà protein niệu vẫn  $\geq 50$  mg/kg/24 giờ được chẩn đoán kháng thuốc steroid. Tuy nhiên một số nghiên cứu thấy vẫn còn 6% bệnh nhân đạt được sự thuyên giảm sau 4 tuần điều trị bằng steroid liều 2 mg/kg/ngày. Năm 1993, hai tác giả là Ehrich và Brohdehl dựa trên những kinh nghiệm điều trị kết hợp khuyến cáo của ISKDC đã đưa ra phác đồ điều trị để chẩn đoán kháng thuốc steroid là sau 6 tuần điều trị prednisone liều 2mg/kg/ngày, tiêu chuẩn này được sử dụng rộng rãi ở châu Âu. Tuy nhiên, một số nước nói tiếng Pháp và tại Pháp thì áp dụng phác đồ điều trị hết 4 tuần tấn công bằng prednisone với liều 60 mg/m<sup>2</sup>/24 giờ (tương đương 2 mg/kg/24 giờ) và 3 liều Methylprednisolon bolus 1000 mg/1,73 m<sup>2</sup> da cơ thể/48 giờ mà protein

niệu của bệnh nhân vẫn  $\geq 50$  mg/kg/24 giờ thì chẩn đoán kháng thuốc steroid [18],[19]. Đến năm 2012, sự đồng thuận trong chẩn đoán và điều trị của KDIGO đã khuyến nghị tiêu chuẩn chẩn đoán về HCTHTP kháng thuốc steroid ở trẻ em khi điều trị hết 4 tuần tấn công bằng bằng prednisone với liều  $60\text{mg}/\text{m}^2/24$  giờ (tương đương  $2\text{mg}/\text{kg}/24$  giờ, không quá 60 mg/ngày) và 4 tuần tiếp theo với liều  $40\text{mg}/\text{m}^2/48$  giờ (tương đương  $1,5$  mg/kg/48 giờ) mà protein niệu vẫn  $\geq 50$  mg/kg/24 giờ hoặc protein/creatinin niệu  $> 200$  mg/mmol [15],[20]. Như vậy theo phác đồ điều trị này thời gian chẩn đoán xác định bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid là 8 tuần. ISKDC nghiên cứu 521 bệnh nhân mắc HCTHTP thấy tỷ lệ bệnh nhân kháng thuốc steroid chiếm khoảng 20%. Nếu bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid 70-80% bệnh nhân có tổn thương xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú [18]. Theo Niaudet 20% bệnh nhân mắc HCTHTP sẽ không đáp ứng với điều trị bằng thuốc steroid và các thuốc ức chế miễn dịch khác, khoảng 50% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển đến suy thận mạn hoặc bệnh thận mạn giai đoạn cuối [19],[21]. Tác giả Kevin và cs thống kê thấy 40% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid bị suy giảm mức lọc cầu thận sau 5 năm chẩn đoán [18]. Alberto và cs (2013) theo dõi dọc 136 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Brazil thấy tỷ lệ suy thận mạn giai đoạn cuối sau 10 năm là 42%, sau 25 năm là 72% [4]. Như vậy nếu trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid khi đến tuổi trưởng thành thì đa số sẽ tiến triển thành bệnh thận mạn giai đoạn cuối, ảnh hưởng rất nhiều đến cuộc sống của bệnh nhân cũng như gia đình và xã hội. Tỷ lệ kháng thuốc steroid ở bệnh nhân mắc HCTHTP khác nhau trên mỗi quần thể. Tỷ lệ của mắc mới của HCTHTP kháng thuốc steroid hàng năm trên thế giới cũng có sự khác biệt ở mỗi quần thể hoặc ở mỗi vùng địa lý khác nhau. Tổn thương mô bệnh học là xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú thì sẽ có tỷ lệ kháng thuốc steroid cao hơn các thể mô bệnh học khác [6],[18]. Sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân kháng thuốc steroid ở từng khu

vực lãnh thổ và trên từng quần thể người trên thế giới được tác giả Hussain và cs tổng hợp trong bảng 1.1. dưới đây [22].

**Bảng 1.1: Tỷ lệ HCTHTP kháng thuốc steroid theo các nghiên cứu trên từng quần thể khác nhau [22]**

Tác giả	Năm NC*	N	Chủng tộc	Tuổi mắc M ± SD (năm, khoảng)	Nam (%)	Năm theo dõi M ± SD (khoảng)	% Steroid
<b>Nghiên cứu tiền cứu</b>							
Ingulli	1991	177	Da màu và Tây Ban Nha	7,3±4,6 (1,0-16,75)	Không rõ	8,25±4,3 (1-15)	15,3%
		65	Người Da Trắng	7,8±4,8 (2-14,8)		8,8±4,1 (2-14,8)	6,2%
Bircan	2002	138	Thổ Nhĩ Kỳ	4,9±3,56(1-15)	61,2%	3,4±2,31 (1-6)	13,2%
Ozkaya	2004	392	Thổ Nhĩ Kỳ	4,6±3,4 (0,9-16)	59,2%	2	23%
Bhimma	2006	816	Da Đen và Ấn Độ	4,8 (1,2-16)	60,4%	2,5(0,1-16,5)	27,3%
Mubarak	2009	538	Pakistan	9,79±4,59 (0,8-18)	64,4%	Thông tin không đủ	31,1%
Otukesh	2009	73	Iran	5,9	52,0%	6,0±4,2 (0,5-16)	100%
Banaszak	2002	76	Da Trắng (Hà Lan)	2,7 (median)	54,5%	Thông tin không đủ	15,8%
	2012	102	Da Trắng (Hà Lan)	3,3 (median)	68%	Thông tin không đủ	31,3%
Kumar	2003	290	Đông Bắc Ấn Độ	7,9±5,1	73,4%	Thông tin không đủ	38%
Won	2007	49	NewZealand, Âu	6,1±3,8	71,4%	12,5(0,1-16,5)	19,6%

NC\*: Nghiên cứu; M: (median) trung vị, SD: (Standard Definition) độ lệch chuẩn, N: số bệnh nhân.

Theo thống kê các nghiên cứu trong bảng 1.1 tỷ lệ trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid ở một số nước châu Á như Ấn Độ, Pakistan, Iran giao động từ 30% đến 40%, cao hơn một số khu vực và quần thể khác. Trong nghiên cứu Banaszek và cs thực hiện trong 20 năm trên tổng số 178 bệnh nhân qua hai giai đoạn 1986-1995 và 1996-2005 đã chỉ ra tỷ lệ HCTH kháng thuốc steroid tăng

từ 15,8% lên 31,4% sau 10 năm [23]. Tại Việt Nam, Phạm Văn Đэм và cs (2015) thống kê trong một năm có 458 trẻ mắc HCTHTP điều trị nội trú tại khoa Thận-Lọc máu bệnh viện Nhi Trung ương, số bệnh nhân được chẩn đoán mắc HCTHTP kháng thuốc steroid trong nghiên cứu này là 258 bệnh nhân (chiếm 56,3%) trong tổng số bệnh nhân mắc HCTHTP nhập viện điều trị [24]. Tuy nhiên, đến nay chưa có một thống kê đầy đủ nào về tình hình HCTH kháng thuốc steroid trên cả nước.

### 1.3. Một số phân loại và định nghĩa liên quan đến HCTHTP

Hội chứng thận hư tiên phát: do các bệnh lý tại cầu thận, bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng HCTH. Hội chứng thận hư thứ phát: biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng của HCTH nhưng do một số bệnh toàn thân gây nên như Lupus, Schlein-Henoch, ngộ độc kim loại nặng, sốt rét, giang mai, HIV. Ngoài HCTH còn có các biểu hiện của các bệnh lý gây HCTH [2],[21]. KDIGO đã đưa ra một số phân loại và định nghĩa về HCTHTP ở trẻ em để áp dụng trong thực hành lâm sàng [15],[20].

- **Tiêu chuẩn chẩn đoán HCTH:** Phù, protein/creatinin niệu >200 mg/mmol; > 300 mg/dl hoặc tổng phân tích nước tiểu 3+ protein que thử; albumin máu < 2.5 g/dl ( $\leq$  25 g/l); protein máu < 56 g/l.

- **Thuyên giảm hoàn toàn (HCTH nhạy cảm steroid):** Sau 4 tuần điều trị prednisone (hoặc prednisolon) liều 2 mg/ kg/ 24 giờ chỉ số protein/creatinin niệu < 20 mg/mmol hoặc < 1+ protein trên que thử 3 ngày liên tiếp.

- **Thuyên giảm một phần (HCTH đáp ứng một phần steroid):** Sau 4 tuần điều trị prednisone (hoặc prednisolon) liều 2 mg/ kg/ 24 giờ giảm 50% protein niệu hoặc hơn so với ban đầu và protein/creatinin niệu > tuyệt đối nằm trong khoảng từ 20 đến 200 mg/mmol.



- **Không thuyên giảm:** Sau 4 tuần điều trị prednisone (hoặc prednisolon) liều 2mg/kg/24giờ không giảm được 50% protein niệu so với ban đầu hoặc protein/creatinin niệu dai dẳng > 200 mg/mmol.

- **Không đáp ứng với steroid (HCTH kháng thuốc steroid):** Sau 4 tuần điều trị prednisone (hoặc prednisolon) liều 2 mg/ kg/ 24 giờ và 4 tuần liều 1,5 mg/kg/48 giờ hoặc sau 6 tuần prednisone (hoặc prednisolon) liều 2 mg/ kg/ 24 giờ hoặc sau 4 tuần prednisone (hoặc prednisolon) liều 2 mg/kg/24 giờ và 3 mũi truyền methyprednisolon liều 1000 mg/ 1,73m<sup>2</sup> da/ 48 giờ không thuyên giảm.

- **HCTH kháng thuốc steroid sớm:** Kháng thuốc steroid ngay trong đợt điều trị steroid đầu tiên.

- **HCTH kháng thuốc steroid muộn:** Bệnh nhân nhạy cảm steroid trong đợt điều trị steroid đầu tiên nhưng kháng thuốc steroid trong những đợt tái phát.

- **HCTH phụ thuộc steroid:** Bệnh nhân nhạy cảm steroid trong đợt điều trị tấn công nhưng có  $\geq$  lần tái phát trong đợt giảm liều steroid.

- **HCTH tái phát:** Bệnh nhân đã đạt được thuyên giảm hoàn toàn nhưng sau đó protein/creatinin niệu  $\geq$  200 mg/mmol hoặc  $\geq$  3+ protein que thử x 3 ngày.

- **HCTH tái phát thưa (tái phát không thường xuyên):** Tái phát 1 lần trong vòng 6 tháng sau đáp ứng lần đầu hoặc 1 đến 3 lần tái phát trong bất kỳ chu kỳ 12 tháng nào.

- **HCTH tái phát dày (tái phát thường xuyên):** Tái phát  $\geq$  2 lần trong 6 tháng sau đáp ứng lần đầu hoặc  $\geq$  4 lần tái phát trong bất kỳ chu kỳ 12 tháng nào.

- **HCTHTP đơn thuần:** Bệnh nhân chỉ có HCTH không đái máu, không suy thận, không tăng huyết áp.

- **HCTHTP không đơn thuần:** Bệnh nhân có HCTH kết hợp hoặc đái máu hoặc suy thận hoặc tăng huyết áp.

## **1.4. Đặc điểm lâm sàng cận lâm sàng của HCTHTP kháng thuốc steroid**

### ***1.4.1. Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHP kháng thuốc steroid***

#### *1.4.1.1. Triệu chứng lâm sàng*

Cũng giống như hội chứng thận hư tiên phát, bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid cũng có biểu hiện lâm sàng ban đầu là phù, đây là triệu chứng lâm sàng cơ bản và hay gặp nhất trong hầu hết đợt phát bệnh, với các đặc điểm: phù mắt, mi mắt, sau đó lan xuống ngực bụng, tay chân, phù trắng, mềm, ấn lõm, thường xuất hiện tự nhiên. Phù tiến triển nhanh, thường bắt đầu từ mắt đến chân, sau đó phù toàn thân, thường kèm theo cổ chướng tự do, đôi khi có cả dịch ở màng phổi, hạ nang (trẻ trai). Cân nặng tăng nhanh, có thể tăng lên 10 - 30% cân nặng ban đầu. Phù hay tái phát, cùng với đợt tái phát bệnh, cơ chế chính gây phù trong HCTHTP là do giảm áp lực keo. Các dấu hiệu toàn thân khác như da trẻ xanh xao, kém ăn, đôi khi còn đau bụng, có thể sờ thấy gan to. Shock do giảm thể tích tuần hoàn có thể xảy ra nhưng hiếm gặp, nguyên nhân gây shock thường do mất lượng lớn albumin qua nước tiểu với các biểu hiện lâm sàng đột ngột đau bụng, suy tuần hoàn ngoại vi như chi lạnh, da tái, huyết áp hạ, phải cấp cứu kịp thời cho bệnh nhân nếu không có thể tử vong [2],[21]. Ngoài ra bệnh nhân có thể có thiếu niệu, số lượng nước tiểu ít, do giảm áp lực keo, máu cô đặc, giảm lưu lượng máu đến thận nên giảm lọc tại thận. Đặc biệt khi trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid bị suy thận có thể vô niệu, kèm theo huyết áp cao, đái máu đại thể hoặc vi thể (HCTHTP thể không đơn thuần). Với những bệnh nhân béo phì, tiểu đường hoặc kém vận động là những yếu tố thuận lợi xảy ra tắc mạch. Các triệu chứng của HCTH không đơn thuần ở trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid thường cao hơn bệnh nhân nhạy cảm. Theo nghiên cứu của Mortazavi và cs tại Iran trong 10 năm (1999-2010) trên 165 bệnh nhân mắc HCTHTP trong đó có 41 trẻ (24,8%) bị kháng thuốc steroid. Triệu chứng đái máu, tăng huyết áp ở nhóm kháng thuốc là 51,2% và 14,6%,

cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm (17,3% và 10,5%), có 9 bệnh nhân (5.4%) kháng thuốc steroid bị suy thận giai đoạn cuối. Nhìn chung các triệu chứng này thường không hằng định và cũng khác nhau theo từng nghiên cứu [18],[21],[25].

#### *1.4.1.2. Triệu chứng cận lâm sàng*

Thay đổi nước tiểu: protein niệu cao  $> 50 \text{ mg/ kg/ 24h}$ , hoặc protein/creatinine  $> 200 \text{ mg/mmol}$  có thể gặp trụ trong. Bệnh nhân bị HCTHTP kháng thuốc steroid, protein niệu thường không có tính chọn lọc khi làm điện di protein nước tiểu, tỷ số độ thanh thải IgG và transferrin  $> 0,1$ , có thể xuất hiện protein có trọng lượng lớn hơn là IgM, IgG và transferrin. Đái máu phụ thuộc thể tổn thương mô bệnh học, 22,7% bệnh nhân thể tổn thương tối thiểu xuất hiện đái máu, còn thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú là 48,4%, thể viêm cầu thận tăng sinh màng là 58,8%, tỷ lệ đái máu chung của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid là 32% [18], [21].

Thay đổi sinh hóa trong xét nghiệm máu bao gồm protein toàn phần giảm  $< 56 \text{ g/l}$ , 80% bệnh nhân mắc HCTHTP có mức giảm protein máu  $< 50 \text{ g/l}$ , 40% bệnh nhân có mức giảm  $< 40 \text{ g/l}$ . Albumin máu giảm  $< 25 \text{ g/l}$ , thường  $< 20 \text{ g/l}$  đặc biệt trường hợp nặng có thể giảm  $< 10 \text{ g/l}$ . Điện di protein máu thấy albumin giảm,  $\alpha_2$  tăng,  $\beta$  globulin tăng,  $\gamma$  globulin thường giảm. Lipid và cholesterol máu tăng, trong đó LDL-C và VLDL-C tăng nhiều nhất, còn HD-C ít thay đổi hoặc giảm. Điện giải đồ máu có thể gặp Natri máu giảm do hiện tượng pha loãng máu và tăng lipid máu, hoặc do ăn nhạt và dùng thuốc lợi niệu kéo dài, Kali máu cũng thường giảm tuy nhiên có thể tăng khi bị suy thận, Canxi máu giảm. Các yếu tố V, VII, VIII và X tăng, trong khi antithrombin III, heparin cofactor, yếu tố XI và XII giảm... Sự thay đổi các yếu tố này góp phần vào tình trạng tăng đông ở bệnh nhân bị HCTH. Các globulin miễn dịch: IgM tăng cao, IgG giảm, IgA giảm nhẹ, tốc độ lắng máu tăng cao [18],[19],[21].

Năm 2001, tác giả Wygledowska và cs ở Hà Lan thực hiện nghiên cứu trên 58 trẻ mắc HCTHTP và 50 trẻ khỏe mạnh bình thường làm nhóm chứng thấy nồng độ hoạt chất protein C ở bệnh nhân mắc HCTHTP tăng một cách có ý nghĩa so với nhóm chứng, trong khi đó protein S và antithrombinIII ở nhóm trẻ mắc HCTH giảm nhiều so với nhóm chứng [26]. Citak và cs (2000) thông báo kết quả nghiên cứu trên 49 trẻ mắc HCTHTP và 17 trẻ khỏe mạnh làm nhóm chứng tại Thổ Nhĩ Kỳ, cho thấy nồng độ AntithrombinIII trung bình ở nhóm trẻ mắc HCTH là  $68,2 \pm 23,4$  mg/dl thấp hơn nhiều nhóm chứng có nồng độ AntithrombinIII trung bình là  $84,0 \pm 7,6$  mg/dl, có hai trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid bị huyết khối tĩnh mạch sâu, có nồng độ fibrinogen trên 750 mg/dl. Sau khi được điều trị và protein trong nước tiểu giảm đi nồng độ AntithrombinIII trong máu đã trở lại bình thường sau 4 tuần [27]. Như vậy mất các yếu tố đông máu do thoát protein qua cầu thận vào trong nước tiểu làm mất các yếu tố chống đông máu gây ra nguy cơ tăng đông và tắc mạch. Công thức máu ngoại biên: thường thấy huyết sắc tố giảm nhẹ, đôi khi cô đặc máu gặp huyết sắc tố tăng trên 15 g/l, bạch cầu tăng, tiểu cầu tăng. Xét nghiệm chức năng thận: urê, creatinin trong giới hạn bình thường, nhưng có thể tăng khi bị suy thận, natri máu thường giảm [18],[19]. Xét nghiệm nước tiểu thấy protein niệu ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thường không chọn lọc với sự xuất hiện cả globulin và transferrin trong điện di protein niệu, thường có hồng cầu xuất hiện trong nước tiểu. Xét nghiệm máu: điện di protein máu thấy gammaglobulin thường tăng, ure và creatinin máu tăng khi bệnh nhân bị suy thận [18],[19],[21].

Biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng ở trẻ HCTHTP kháng thuốc steroid có sự khác nhau với từng nghiên cứu. Trần Hữu Minh Quân và cs (2014) nghiên cứu trên 67 bệnh nhân mắc HCCTH kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I thấy triệu chứng phù chỉ gặp 68,7%, không gặp đái máu và suy thận

[28]. Alberto và cs nghiên cứu trên 112 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Brazil cho kết quả cao huyết áp gặp 15%, suy thận và đái máu gặp 18%. Roy và cs nghiên cứu 32 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid tại Banglades thông báo 71,8% có biểu hiện của HCTHTP không đơn thuần trong đó 40,63% cao huyết áp, đái máu gặp 22%, suy thận gặp 12,5%. Theo nghiên cứu của Mortazavi và cs tại Iran trên 41 trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid thấy đái máu gặp 51,2%, tăng huyết áp gặp 14,6%, có 9 bệnh nhân kháng thuốc steroid bị suy thận giai đoạn cuối [18],[25],[29]. Như vậy các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có sự khác biệt ở từng khu vực và quần thể bệnh nhân. Mặt khác, mỗi giai đoạn của bệnh, thời gian nghiên cứu, cỡ mẫu nghiên cứu và yếu tố chủng tộc cũng sẽ có sự khác biệt về những biểu hiện cận lâm sàng và thể tổn thương mô bệnh học.

#### *1.4.1.3. Mô bệnh học*

Theo Niaudet, tổn thương trên mô bệnh học bệnh nhân mắc HCTHTP thể nhạy cảm steroid chủ yếu gặp tổn thương tối thiểu chiếm 90%, chỉ 7% -10% thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú còn lại là các thể khác. Ngược lại, bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tổn thương xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú (FSGS: Focal and segmental glomerulosclerosis), chỉ khoảng 10% gặp tổn thương tối thiểu (MCD: minimal change disease). Theo kết quả nghiên cứu của ISKDC trên 521 bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm với steroid được sinh thiết thận, kết quả cho thấy đa số bệnh nhân có tổn thương thể MCD (76,4%), viêm cầu thận tăng sinh màng gặp 7,5 %, FSGS chỉ gặp 6,9%, ba thể tổn thương mô bệnh học này chiếm trên 90%, còn lại các thể khác. Tuy nhiên với bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thì mô bệnh học có sự thay đổi thể bệnh tổn thương tối thiểu chỉ gặp 20%, thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú gặp 70-80% [3],[30],[31].

Banh và cs (2016) nghiên cứu trên 711 trẻ mắc HCTHTP tại 3 vùng lãnh thổ là châu Âu, Nam Á, Đông Nam Á, có 133 trẻ được sinh thiết thận cho thấy

thể MCD gặp 62,4%, FSGS gặp 31%, còn lại là không phân loại được [1]. Alberto và cs (2013) nghiên cứu trên 136 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Brazil thấy thể FSGS gặp 64%, MCD chỉ gặp 30% [4]. Roy và cs (2014) nghiên cứu trên 32 bệnh nhân kháng thuốc steroid ở Bangladesh thấy trẻ có thể mô bệnh học là tăng sinh gian mạch chiếm tỷ lệ cao nhất 40,2%, thể bệnh tổn thương tối thiểu và xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú chỉ gặp 18,7% và 12,5% thể tổn thương khác [29]. Trong nghiên cứu trên 29 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được sinh thiết thận tại Thổ Nhĩ Kỳ của tác giả Renda và cs (2016) thấy thể FSGS chiếm 62%, MCD chỉ gặp 6,8%, thể tăng sinh gian mạch gặp 27% không gặp thể viêm cầu thận tăng sinh màng [32]. Al-salaita và cs (2016) sinh thiết cho 100 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Jordan kết quả cho thấy có sự khác nhau về tỷ lệ các thể mô bệnh học với từng nhóm tuổi. Nhóm dưới 2 tuổi, thể MCD chiếm ưu thế tuyệt đối (81%), trong khi ở nhóm trên 10 tuổi thể MCD chỉ chiếm 12%. Ngược lại, thể FSGS tăng dần theo tuổi 12,5% ở nhóm dưới 2 tuổi, tăng lên 48% ở nhóm trên 10 tuổi [33].

Tại Việt Nam, kết quả sinh thiết trên 67 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I của Trần Hữu Minh Quân và cs (2014) thấy thể FGSS chỉ gặp 24,8%, trong khi đó bệnh tổn thương tối thiểu 64,2%, tổn thương khác 7,4% [28]. Tuy có sự khác nhau về tổn thương mô bệnh học ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid trong các nghiên cứu, nhưng các nhà lâm sàng thận học đều thống nhất bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid biểu hiện tổn thương thể FSGS luôn chiếm ưu thế. Đôi khi giai đoạn đầu biểu hiện tổn thương thể MCD nhưng sinh thiết lần 2, hoặc lần 3 bệnh nhân lại biểu hiện tổn thương thể FSGS [4]. Sự khác nhau về tổn thương mô bệnh học ở bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm và kháng thuốc steroid đã được tổng hợp và thể hiện trong bảng 1.2 dưới đây.

***Bảng 1.2: Tỷ lệ các thể mô bệnh học trên bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm và kháng thuốc steroid tổng hợp từ các nghiên cứu***

Thể mô bệnh học	Nhạy cảm steroid		Kháng thuốc steroid		
	ISKDC [30] (n=512)	White [18] (n=145)	Alberto [4] (n=136)	Renda [32] (n=29)	T.H.M.Quân [28] (n=67)
Tỷ lệ MCD	76,4%	76,5%	30%	6,8%	64,2%
Tỷ lệ FSGS	6,9%	8,3%	64%	62%	24,8%
Tỷ lệ thể khác	16,7%	15,2%	6,0%	31,2%	7,4%

#### ***1.4.2. Biến chứng và tiến triển của HCTHTP kháng thuốc steroid***

Biến chứng của HCTHTP có thể do bản thân quá trình bệnh lý ở thận hoặc do tác dụng phụ của các thuốc điều trị.

##### ***1.4.2.1. Nhiễm trùng***

Nhiễm trùng là biến chứng hay gặp nhất của bệnh nhân mắc HCTH, trẻ bị HCTH dễ bị nhiễm khuẩn vì giảm miễn dịch dịch thể, giảm IgG huyết tương, giảm C<sub>3</sub>PA (yếu tố B) làm giảm khả năng thực bào, giảm miễn dịch tế bào cũng như dùng các thuốc ức chế miễn dịch [19],[21]. Năm 2008, tác giả Alwadhi và cs quan sát 60 trẻ mắc HCTH chưa được điều trị bằng steroid đã thống kê thấy có 57 trẻ có biến chứng nhiễm trùng, trong đó nhiễm trùng hô hấp trên hay gặp nhất với 16 trường hợp, nhiễm trùng đường tiêu hóa gặp 13 trường hợp, viêm phúc mạc 9 trường hợp, viêm phổi 8 trường hợp, nhiễm trùng dạ dày ruột cấp tính 6 trường hợp, viêm da 3 trường hợp [34]. Moorani và cs (2003) nghiên cứu trên 62 trẻ mắc HCTH có kèm theo nhiễm trùng ở Pakistan theo thấy 58% bệnh nhân mắc nhiễm trùng xuất hiện trong liệu trình điều trị steroid. Trong số 74 nhiễm trùng được phát hiện thấy nhiễm trùng hô hấp và nhiễm trùng da gặp với tỷ lệ cao nhất (29,27% và 27,02% ), tiếp theo đó là nhiễm trùng tiêu hóa 13,51% và nhiễm trùng đường tiêu hóa gặp 12,5%, viêm phúc mạc 10,81%. Có 2 trẻ mắc lao phổi, 3 trẻ có hơn một cơ quan nhiễm trùng (viêm mô tế bào, viêm phúc mạc

và viêm phổi) [35]. Biến chứng nhiễm trùng ít gặp hơn ở trẻ mắc HCTHTP nhưng nguy hiểm có thể gây tử vong đó là viêm phúc mạc. Theo Niaudet, trong nghiên cứu trên 268 trẻ mắc HCTH thấy có 24 trường hợp bị viêm phúc mạc. Khi cấy bệnh phẩm tìm vi khuẩn của 24 trường hợp mắc HCTH bị viêm phúc mạc thấy 12 trường hợp (50%) dương tính với phế cầu, 6 trường hợp (25%) dương tính với *Escherichia coli*, còn lại 4 trường hợp âm tính. Nhiễm trùng máu, viêm màng não cũng gặp nhưng tỷ lệ thấp hơn [21]. Tác giả Gorenssek khi nghiên cứu theo dõi dọc 214 trẻ mắc HCTH trong 20 năm từ 1967 đến 1986 tại Dallas nước Mỹ thấy có 62 trường hợp bị viêm phúc mạc tiên phát trong đó 37 trường hợp cấy dương tính với phế cầu. Biểu hiện lâm sàng của viêm phúc mạc tiên phát 95% có đau bụng, 95% có sốt, phản ứng thành bụng dương tính gặp 85%, 71% có nôn. Hầu hết những trường hợp bị nhiễm trùng xuất hiện trong giai đoạn điều trị tấn công steroid [36].

#### *1.4.2.2. Biến chứng tắc mạch*

Tuy ít gặp nhưng có thể gây tử vong nếu tắc động mạch phổi, động mạch não, động mạch mạc treo. Ở bệnh nhân bị HCTHTP thường có tăng đông do bị mất antithrombin III, protein S tự do, plasminogen do mất qua nước tiểu, hiện tượng cô đặc máu do thoát dịch và hiện tượng tăng tiểu cầu các yếu tố này làm tăng đông máu do tăng fibrinogen, yếu tố V và yếu tố VIII, tăng hoạt hóa tiểu cầu. Biến chứng tắc mạch sẽ tăng lên nếu bệnh nhân có đặt catheter tĩnh mạch trung tâm, nhiễm trùng, cơ địa huyết khối hoặc trẻ phù to, béo phì, kém vận động [21],[26]. Theo kết quả của tác giả Lillova và cs (2000) khi theo dõi 447 trẻ ở Bulgaria mắc HCTH trong thời gian 20 năm thấy có 9/447 (2%) trẻ bị huyết khối tắc mạch và 16 trẻ có triệu chứng lâm sàng của huyết khối. Tỷ lệ huyết khối ở trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid cao hơn khoảng 3,8%. Huyết khối hay gặp nhất là ở tĩnh mạch (81%), động mạch gặp 19% [37]. Tác giả Suri và cs (2014) khi tổng nghiên cứu từ 34 trẻ mắc HCTH thể kháng thuốc steroid và phụ thuộc steroid có biến chứng tắc mạch thấy trong số những trường hợp



bị huyết khối, vị trí xuất hiện huyết khối ở tĩnh mạch não gặp 11 bệnh nhân (31,45%), 9 bệnh nhân (25,7%) huyết khối mạch phổi và 6 trường hợp (16,6%) huyết khối tĩnh mạch sâu. Trong số trẻ mắc HCTH bị huyết khối có 31 trường hợp (91,1%) hồi phục hoàn toàn sau khi chống đông bằng heparin, 3 trường hợp tử vong trong đó 2 bệnh nhân do tắc mạch phổi [38]. Theo Niaudet biến chứng tắc mạch có thể xảy ra khi bệnh nhân có 2 trong 4 yếu tố nguy cơ: (1) Albumin máu giảm < 20 g/l; (2) Fibrinogen > 6 g/l; (3) Antithrombin III < 70%; (4) D-Dimer > 1.000 mg/ml, chỉ định thuốc chống đông phòng tắc mạch khi bệnh nhân có 2/4 tiêu yếu tố nguy cơ trên [21].

#### *1.4.2.3. Biến chứng ở thận*

Giảm albumin máu ở bệnh nhân mắc HCTH có thể dẫn đến tình trạng tổn thương thận cấp. Đồng thời bệnh nhân bị HCTH do có tình trạng tăng đông nên dễ gây huyết khối tĩnh mạch thận, làm tăng nguy cơ tổn thương thận cấp. Nếu không chẩn đoán và xử trí kịp thời có thể chuyển thành suy thận mạn và có thể tử vong [3],[21]. Rheault và cs (2014) khi theo dõi bệnh nhân mắc HCTH nhập viện tại nước Mỹ trong 3 năm từ 2006 đến 2009 thấy tỷ lệ tổn thương thận cấp tăng lên 158%, trong khi đó tỷ lệ biến chứng nhiễm trùng và tắc mạch giảm 50% [39]. Năm 2015, tác giả Rheault và cs khi nghiên cứu trên 615 trẻ mắc HCTH nhập viện tại 17 trung tâm Nhi khoa của miền Nam nước Mỹ cũng thông báo kết quả thấy 50,9% trẻ có tổn thương thận cấp. Mức độ tổn thương thận cấp theo phân loại RIFLE thấy 27,3% ở giai đoạn nguy cơ, 17,2% ở giai đoạn tổn thương và 6,3% ở giai đoạn suy giảm [40]. Nghiên cứu của tác giả Yaseen và cs tại Pakistan trong 2 năm (2014-2015) trên 119 trẻ mắc HCTH nhập viện cho thấy 61 (51,3%) trẻ ở giai đoạn nguy cơ, 43 (36,1%) trẻ ở giai đoạn tổn thương và 15 trẻ (12,6%) ở giai đoạn suy giảm, đa số trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid có tổn thương thận có mô bệnh học thể FSGS và có nguy cơ suy thận mạn và suy thận giai đoạn cuối cao hơn [41]. Từ các nghiên cứu này, các nhà lâm sàng thận nhi khuyến cáo cần chú ý điều trị

các tổn thương thận cấp cho trẻ khi nhập viện điều trị. Nếu không điều trị sớm các thương tổn thận cấp sẽ có nguy cơ tiến triển thành bệnh thận mạn giai đoạn cuối đặc biệt bệnh trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid thường bị protein niệu kéo dài [6]. Theo Becherucci thống kê thấy 10,4% trẻ em mắc bệnh thận mạn ở các nước Âu Mỹ do HCTHTP kháng thuốc steroid và là nguyên nhân hàng đầu trong các bệnh về cầu thận gây suy thận giai đoạn cuối [42]. Theo Niaudet, 50% trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối phải lọc máu sau 10 năm [3]. Thống kê năm 2013 của tác giả Alberto tại Brazil trên 136 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được theo dõi dọc thấy sau 10 năm có 42% trẻ và sau 25 năm 72% trẻ tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối [4]. Nguyễn Thị Quỳnh Hương và cs nghiên cứu năm 2009 trên 152 trẻ mắc bệnh thận mạn tính tại bệnh Nhi Trung ương, thấy nguyên nhân do các bệnh cầu thận chiếm 66,4%, trong đó hầu hết bệnh lý của cầu thận là trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid [5].

#### 1.4.2.4. Một số biến chứng khác

- *Sốc giảm thể tích*

Xảy ra khoảng < 10% các trường hợp và ít được mô tả đầy đủ trong y văn. Nguyên nhân của sốc giảm thể tích thường do mất dịch trong lòng mạch. Bệnh nhân có nguy cơ sốc giảm thể tích khi phù to, đái ít hoặc vô niệu, nhiễm trùng, dùng lợi tiểu liều cao, hoặc ỉa chảy và nôn. Giai đoạn sớm có thể có dấu hiệu mạch nhanh, huyết áp hạ theo tư thế. Đau bụng, nôn, tiêu chảy cấp là các triệu chứng thường gặp, trong đó đau bụng là triệu chứng hằng định do thể tích máu lưu thông giảm và phù nề ruột non. Xét nghiệm thấy có hematocrite tăng > 45% và hemoglobin > 15 g/dl, albumin máu giảm nặng [21]. Theo Wang và cs theo dõi 328 trẻ mắc HCTHTP nhập viện trong thời gian từ 1983 đến 1996 tại Đài Loan (Trung Quốc) đã ghi nhận được 19 trẻ (5,8%) có biểu hiện của sốc giảm thể tích. Kết quả cận lâm sàng những trường hợp có biểu hiện sốc giảm thể tích thấy hemoglobin tăng cao, giá trị huyết sắc tố trung bình ở trẻ có sốc là 19,6

+/- 2,2 g/dL; giảm natri máu, nồng độ natri trung bình là 127,3 +/- 7,2 mEq/L; 33/41 trường hợp xuất hiện triệu chứng giảm thể tích mà không biểu hiện hạ huyết áp. Tất cả những trường hợp cô đặc máu đều có hemoglobin tăng cao hơn so bình thường, 61 trẻ (18,5%) xuất hiện triệu chứng đau bụng và cô đặc máu. Những trẻ mắc HCTHTP bị cô đặc máu khi được truyền albumin thấy 58/61 trẻ có các chỉ số xét nghiệm trở lại bình thường [43]. Tác giả Tsau và cs theo dõi 193 trẻ mắc HCTH phải nhập viện tại Trung Quốc trong thời gian từ 1980 đến 1989 có 9 trường hợp xuất hiện sốc giảm thể tích, kết quả xét nghiệm những trường hợp bị cô đặc máu thấy hemoglobin trung bình ở trẻ xuất hiện sốc là 19,6 +/- 1,5 g/dl, nồng độ natri trung bình là 127,5 +/- 8,5 mmol [44].

- *Chậm lớn và một số biến chứng khác*

Chậm lớn ở trẻ mắc HCTHTP do trẻ điều trị lâu dài bằng steroid, do mất protein có gắn hormon như tuyến giáp (T3, T4, TSH) qua nước tiểu. Mặt khác trẻ mắc HCTH còn bị mất vitamin D nên ảnh hưởng đến hấp thu calci gây chậm lớn, khoảng 50-80% trẻ mắc HCTH có nồng độ calci thấp hơn so bình thường [21]. Nghiên cứu của tác giả Afroz và cs tại Banglades trên 85 trẻ mắc HCTH trong 2 năm (2006-2007) thấy nồng độ hormon tuyến giáp trung bình T3 là  $0.65 \pm 0,31$  ng/ml và T4 là  $5,04 \pm 4,18$   $\mu$ g/ml giảm hơn so với trẻ không mắc HCTH [45]. Theo nghiên cứu của tác giả Sharma và cs (2015) khi đánh giá tình trạng hormon giáp trạng trên 50 trẻ mắc HCTH có độ tuổi từ 1 tuổi đến 12 tuổi tại Ấn Độ được chia thành 3 nhóm là nhạy cảm, phụ thuộc và kháng thuốc steroid. Kết quả cho thấy 20% trẻ bị thiếu hormon giáp trạng T3, T4, đặc biệt là tất cả trẻ thiếu hormon tuyến giáp đều ở nhóm trẻ bị HCTH kháng thuốc steroid [46]. Hacihamdioglu và cs tại Thổ Nhĩ Kỳ nghiên cứu trên 33 bệnh nhân mắc HCTHTP được theo dõi dọc từ 6 tháng đến 10 năm thấy có 3 trường hợp (9%) xuất hiện tình trạng giảm mật độ khoáng của xương, 2 trường hợp (6%) có mật độ khoáng thấp hơn bình thường và 2 trẻ (6%) bị đục thủy tinh thể. Biến chứng

này xuất hiện ở những trẻ bị kháng thuốc steroid cao hơn do thời gian điều trị bằng thuốc steroid kéo dài hơn [47]. Ngoài các biến chứng của bệnh, trẻ mắc HCTHTP còn có thể gặp các biến chứng và tác dụng không mong muốn của thuốc steroid và các thuốc ức chế miễn dịch như Cushing, xạm da, rậm lông, trứng cá, đục thủy tinh thể, phì đại lợi, mụn cơm... [19],[21]. Thống kê 10 năm trên 89 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid của tác giả Hjorten và cs thấy các biến chứng và tác dụng phụ của thuốc gồm chiều cao thấp 6%, loãng xương 13%, béo phì 8%, đục thủy tinh thể 6%, tăng huyết áp 6% [48].

## **1.5. Tổng quan các nghiên cứu di truyền trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

### ***1.5.1. Nghiên cứu về di truyền phân tử trên HCTHTP kháng thuốc steroid***

Bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được điều trị bằng các thuốc ức chế miễn dịch nhưng kết quả điều trị vẫn còn hạn chế, có thể có tác dụng phụ không mong muốn, chi phí điều trị cao. Tác giả Colquitt và cs (2007) đã thống kê chi phí điều trị thuốc điều trị từ 250-930 bảng Anh/năm/cho 1 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid không có biến chứng [49]. Dù có một số thuốc ức chế miễn dịch mới được đưa vào điều trị cho bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, tuy nhiên kết quả vẫn còn hạn chế [3],[50].

Cho đến nay có nhiều giả thuyết được đưa ra nhằm mục đích lý giải quá trình hình thành và tiến triển của bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid trong đó yếu tố di truyền có vai trò rõ ràng nhất. Do vậy, các nghiên cứu về di truyền có ảnh hưởng đến HCTHTP kháng thuốc steroid đã được khẳng định trong nhiều báo cáo trên thế giới. Trong hơn 1 thập kỷ qua, những nghiên cứu nhằm phát hiện các đột biến gen ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng steroid đã được thực hiện. Kết quả cho thấy ít nhất 66% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid khởi phát trước 1 tuổi có thể phát hiện thấy các đột biến gen. Khoảng 30% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng steroid khởi phát trước 25 tuổi có mang ít nhất 1 đột biến tại một gen nào đó [10]. Đặc biệt, những bệnh nhân mắc HCTHTP

kháng thuốc steroid khi có đột biến gen thường đáp ứng kém hoặc không đáp ứng với các thuốc ức chế miễn dịch, tỷ lệ tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối cao hơn, nhưng khi bệnh nhân này nếu được ghép thận tỷ lệ tái phát lại thấp hơn so với bệnh nhân không mang đột biến gen [51],[9].

Những nghiên cứu nhằm khám phá vai trò sinh học các protein của tế bào podocyte trên màng lọc cầu thận đã được tiến hành trong suốt 15 năm qua. Nhờ đó vị trí, cấu trúc cũng như chức năng, mối liên quan và cơ chế tương tác giữa các protein trên, trong, ngoài màng podocyte của màng lọc cầu thận cũng được sáng tỏ [52]. Cách thức hoạt động cũng như vai trò tham gia vào cấu trúc, chức năng của những protein trên từng vị trí như giữa khe màng ngăn, khung xương protein, sợi actin, ti thể, protein xuyên màng, các protein bám dính của podocyte trên màng lọc cầu thận cũng được báo cáo [14],[52]. Từ protein, các nhà nghiên cứu đã xác định được các gen mã hóa cho những phân tử protein này. Tham gia vào quá trình hoàn thiện cấu trúc, chức năng chuyển hóa, hấp thu, bài tiết của thận là một hệ thống gồm 48 gen: 12 gen tham gia mã hóa protein khe màng ngăn và các protein khớp nối, 9 gen mã hóa cho protein màng đáy và cấu trúc liên kết hệ thống, 10 gen mã hóa cho protein nhân, 17 gen mã hóa cho protein ty thể và cấu trúc nội bào. Đột biến những gen này có thể trực tiếp hoặc gián tiếp gây ra thay đổi về cấu trúc hoặc chức năng của cầu thận từ đó gây nên các biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng khác nhau. Một số gen chỉ gây nên tình trạng bệnh lý của thận đơn thuần, một số gen khác thì gây ảnh hưởng và biểu hiện ra lâm sàng trên nhiều cơ quan khác nhau tạo nên các hội chứng lâm sàng đặc trưng. Hầu hết các gen được phát hiện đều gây bệnh theo cơ chế di truyền đơn gen (theo quy luật của Mendel): di truyền lặn, một số ít di truyền liên kết với giới tính (hội chứng Alport), một số khác di truyền theo kiểu trội [6],[14],[52],[53]. Danh sách 48 gen bị đột biến có liên quan đến HCTH đã được thống kê trong bảng 1.3 dưới đây [52].

**Bảng 1.3. Bảng thống kê các gen có liên quan đến HCTH [52]**

<b>Tên gen</b>	<b>DT</b>	<b>Tên protein</b>	<b>Vị trí</b>	<b>Kiểu hình</b>
<b>Các protein tại khe màng ngăn và khớp nối</b>				
<i>NPHS1</i>	Lặn	Nephrin	19q13.1	THBS/THKTS
<i>NPHS2</i>	Lặn	Podocin	1q25-q21	THBS/THKTS
<i>PLCE1</i>	Lặn	Phospholipase C epsilon1	10q23	THKTS
<i>CD2AP</i>	Lặn	CD-2associated protein	6p12.3	THKTS
<i>FAT1</i>	Lặn	FAT1	4q35.2	HCTH, ciliopathy
<b>Các protein cấu trúc khung tế bào</b>				
<i>ACTN4</i>	Trội	Alpha-Actin 4	19q13	THKTS muộn
<i>INF2</i>	Trội	Interved formin 2		THKTS, bệnh Charcot-Marie-Tooth
<i>MYO1E</i>	Lặn	Myosin 1E	15q22.2	THKTS trẻ lớn
<i>ARHGDI A</i>	Lặn	Rho-GDPdissociation inhibitor $\alpha$	17q25.3	THKTS kết hợp co giật, điếc sâu và mù
<i>ANLN</i>	Trội	Anillin	7p14.2	Xơ hóa cầu thận
<i>ARHGAP24</i>	Trội	Rho-GTPase-activating protein 24	4q22.1	THKTS vị thành niên.
<i>MYH9</i>	Trội	Myosin chuỗi nặng 9	22q12.3-13.1	HC tiêu cầu to + điếc sâu, HC Eptein, Sebastian, Fechtner
<b>Các protein của màng đáy và các cấu trúc liên kết hệ thống</b>				
<i>LAMB2</i>	Lặn	Laminin $\beta$ 2 subnit	3p21	HC Pierson
<i>ITGB4</i>	Lặn	Intergin $\beta$ 4 submit	17q25.1	Viêm da phỏng nước, HCTH
<i>ITGA3</i>	Lặn	Intergin $\alpha$ 3 submit		Viêm da phỏng nước, HCTH
<i>CD151</i>	Lặn	Tetraspanin CD 151	11p15.5	Viêm da phỏng nước, HCTH, điếc sâu
<i>EXT1</i>	Lặn	Glycosyltransferase	8q24.11	THKTS
<i>COL4A3,4</i>	Trội /lặn	Collagen4- $\alpha$ 3,4	2q36-q37	HC Alport, FSGS
<i>COL4A5</i>	LK	Collagen4- $\alpha$ 5	Xq22.3	HC Alport, FSGS
<b>Các protein trên màng</b>				

<b>Tên gen</b>	<b>DT</b>	<b>Tên protein</b>	<b>Vị trí</b>	<b>Kiểu hình</b>
<i>TRPC6</i>	Trội	Transient receptor potential channel 6	11q21-q22	THKTS, FSGS
<i>EMP2</i>	Trội	Epithelial membrane protein 2	16p13	THKTS, THBS
<b>Các protein nhân</b>				
<i>SMARCA1</i>	Lặn	SWI/SNF-related matrix-associated	2q35	Schimke imuno-osseuos dysplasia
<i>LMX1B</i>	Trội	LIM homeodomain transcription factor 1B	9q34.1	HCTH, HC xương móng
<i>WT1</i>	Trội	Protein u Wilms	11p13	THKTS, Denys-Drash, Frasier, HC Nail-patella,
<i>PAX2</i>	Trội	Paired box gen2	10q24.3-q25.1	THKTS ở người lớn
<i>MAFB</i>	Trội	A transcription factor	20q11.2-q13.1	HC tiêu xương kèm suy thận giai đoạn cuối
<i>LMNA</i>	LK	Lamins A và C	1q22	Tiêu mỡ gia đình, FSGS
<i>NXF5</i>	LK	Nuclear RNA export factor 5	Xq21	THKTS, rối loạn dẫn truyền tim mạch
<i>GATA3</i>	Trội	Protein bám dính GATA3	10p4	Thiếu năng cận giáp, điếc sâu, bất sản thận
<i>NUP93</i>	---	Nucleoporin 93kD	10p14	TH KTS
<i>NUP107</i>	----	Nucleoporin 107kD	12q15	THKTS khởi phát sớm
<b>Các protein của ty thể</b>				
<i>COQ2</i>	Lặn	Para-hydroxybenzoate polyprenyltransferase	4q21-q22	HCTH KTS khởi phát sớm, thiếu coQ10
<i>PDSS2</i>	Lặn	Decaprenyl-diphospho synthase2	6q21	HC Leigh, thiếu coQ10
<i>COQ6</i>	Lặn	CoenzymeQ10 monooxygenase6	14q24.3	HCTH kèm theo điếc sâu, thiếu coQ10
<i>MTTL1</i>	Lặn	tRNA leu (UUR)	Mt DNA	Tiểu đường do ty thể, điếc, HC MELAS

<b>Tên gen</b>	<b>DT</b>	<b>Tên protein</b>	<b>Vị trí</b>	<b>Kiểu hình</b>
<i>ADCK4</i>	Trội	aarF domaincontaining kinase4	19q13.1	HCTH KTS khởi phát muộn, thiếu coQ10
<b>Các protein của lysosome</b>				
<i>SCARB2</i>	Lặn	Lysosome membrane protein2	4q13-q21	Bệnh suy thận, thiếu hụt lysosome
<i>NEU1</i>	Lặn	N-Acetyl- $\alpha$ -Nêuaminidase	6q21.33	TH KTS, Nephrosialidosis
<b>Các protein nội bào khác</b>				
<i>WDR73</i>	Lặn	WD40-repeat-containing protein	15q25.2	HC Galloway-Mowat, THKTS
<i>APOL1</i>	Lặn	Apolipoprotein L1	22q12.3	FSGS Mỹ gốc Phi
<i>DGKE</i>	Lặn	Diacylglycerol kinase	1q34	HC huyết tán ure huyết cao
<i>CUBIN</i>	Lặn	Cubilin	10p13	HC thiếu máu, gan to, THKTS trẻ lớn
<i>TTC21B</i>	Trội	Intraflagellar transport protein IFT139	2q24.3	Nephronophthisis, FSGS
<i>CRB2</i>	Trội	Crumbs homolog2 protein	9q33.3	THKTS khởi phát sớm
<i>PTPRO</i>	Lặn	Receptor-type tyrosin-protein phosphattase O	12p12.3	THKTS
<i>PMM2</i>	Lặn	Phosphomannomutase2	16p13.2	Rối loạn glucosyl hóa bẩm sinh
<i>ALG1</i>	Lặn	B1,4 mannosyltransferase	16p13.3	Rối loạn glucosyl hóa bẩm sinh, THBS
<i>ZMPSTE24</i>	Lặn	Zinc metallo-proteinase	1q34	Loạn sản cơ xương hàm mặt

DT: Di truyền; THKTS: thận hư kháng thuốc steroid; THBS: thận hư bẩm sinh, LK: Di truyền liên kết giới tính; HC: hội chứng; FSGS: Focal &segmental glomerulosclerosis: Xơ hóa cầu thận từng phần và khu trú.

Bệnh nhân nếu mang đột biến trên một gen nào đó mà gây nên các bệnh lý của cầu thận đặc biệt ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của podocyte



thì có nguy cơ cao bị HCTH kháng thuốc steroid. Những bệnh nhân này cũng sẽ kháng các thuốc ức chế miễn dịch khác, tỷ lệ tiến triển thành bệnh thận mạn giai đoạn cuối cũng cao hơn hẳn. Do vậy, ở một số quốc gia sàng lọc đột biến gen trên bệnh nhân bị HCTHTP kháng thuốc steroid sẽ giúp tiên lượng tiến triển của bệnh, lựa chọn liệu pháp điều trị tốt nhất và tư vấn di truyền cho bệnh nhân và gia đình. Do có nhiều gen mã hóa cho các protein tham gia vào cấu trúc và chức năng podocyte của cầu thận, nên đột biến của những gen đó trực tiếp gây nên HCTH hay chỉ là yếu tố thuận lợi để thúc đẩy gây nên bệnh đến nay vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu. Một số gen khi bị đột biến thường có biểu hiện ra kiểu hình đặc trưng gây nên các hội chứng lâm sàng điển hình. Những hội chứng này có biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng ở nhiều cơ quan, bộ phận khác nhau, trong đó HCTHTP chỉ là một phần biểu hiện của những hội chứng này. Thông thường những hội chứng này thường nặng nề, hiếm gặp, HCTH xuất hiện sớm và thường kháng thuốc steroid cũng như các thuốc ức chế miễn dịch, diễn biến nặng nề hơn và có tỷ lệ suy thận mạn giai đoạn cuối cao hơn, sớm hơn [6],[14],[53].

### ***1.5.2. Một số hội chứng liên quan đến đột biến gen kết hợp HCTHTP kháng thuốc steroid***

Bên cạnh những triệu chứng lâm sàng thường gặp của HCTHTP như đã mô tả trong y văn, bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có thể xuất hiện những thay đổi trên kiểu hình đặc trưng cho sự thay đổi di truyền ở một số gen. Hội chứng Denys-Dash biểu hiện lâm sàng là HCTH kháng thuốc steroid, suy thận và cao huyết áp sớm, có kiểu hình là tinh hoàn ẩn, lỗ đái thấp, còn hội chứng Frasier kiểu gen là nam 46,XY nhưng bộ phận sinh dục ngoài là nữ. Hai hội chứng này thường vô sinh, phải ghép thận sớm, tổn thương trên mô bệnh học là tăng sinh màng ở hội chứng Denys-Dash, xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú ở hội chứng Frasier. Đến nay trên thế giới mới thông báo

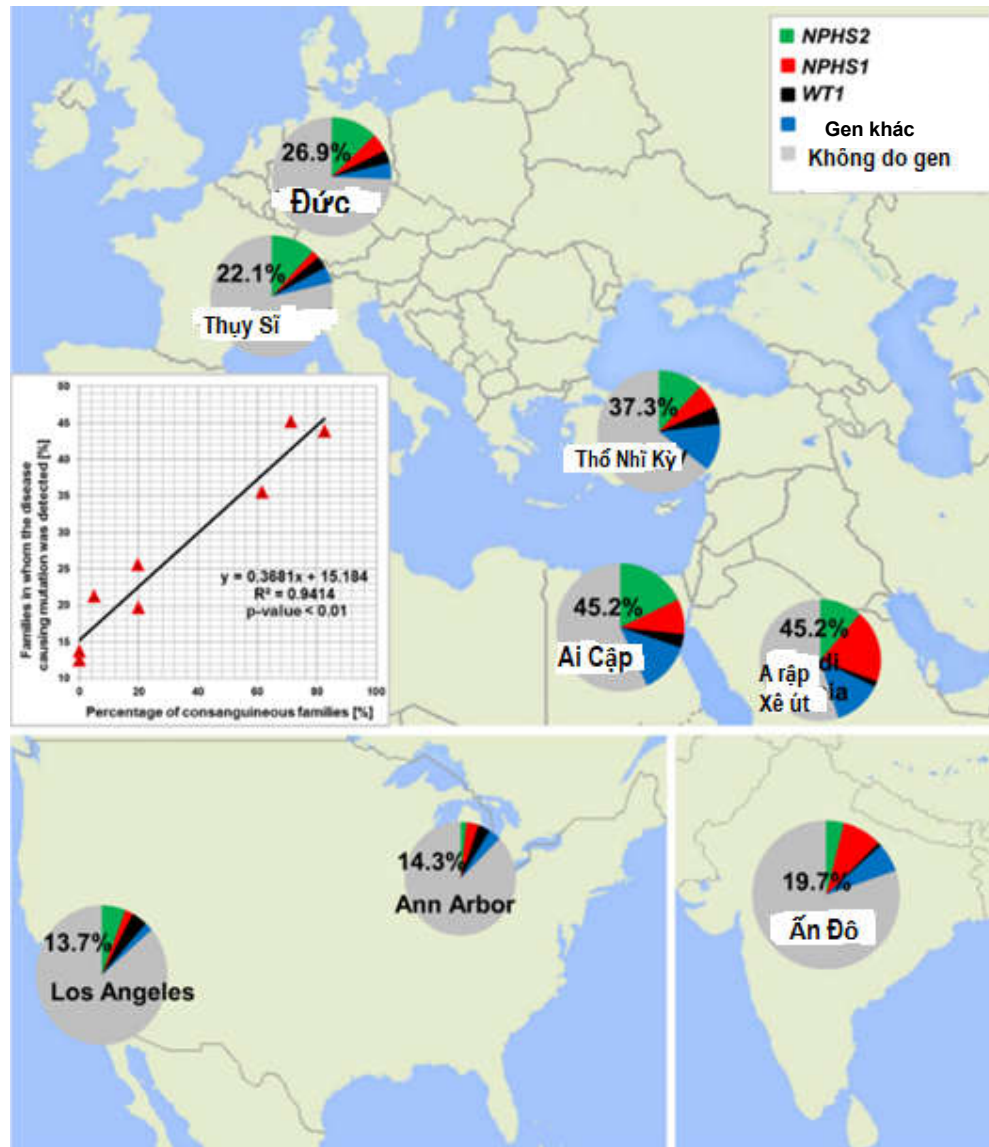
khoảng 60 ca mắc hội chứng Denys-Dash, 80% bệnh nhân mắc HCTH kèm u Wilm hoặc hội chứng Denys-Dash tìm thấy đột biến gen *WT1*. Đột biến gen *WT1* có thể phát hiện trên cả bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid đơn độc nhưng với tỷ lệ thấp hơn. Trong số bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid mang đột biến gen *WT1* có 73% bệnh nhân kèm theo có u Wilm, chỉ 11% bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid mang đột biến gen *WT1* nhưng không kèm u Wilm. Trautmann và cs thống kê trong 10 năm trên 1174 bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid, HCTHBS và protein niệu kéo dài, trong số 902 bệnh nhân được giải trình tự gen *WT1* thấy có 48 bệnh nhân (5,3%) mang đột biến trên gen [53],[54],[55],[56],[57],[58].

Đột biến gen *SMARCAL1* gây hội chứng Schimke có biểu hiện loạn sản phế quản, rối loạn phát triển đa cơ quan, di truyền theo kiểu lặn trên nhiễm sắc thể thường, biểu hiện trên hiệu hình là chậm phát triển, suy giảm chức năng tế bào T kèm theo HCTH kháng thuốc steroid, mô bệnh học thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú. Đột biến gen *LMX1B* gây nên hội chứng NPS (Nail-Patella Syndrome) biểu hiện kiểu hình thiếu sản xương bánh chè-móng tay là một rối loạn di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường hiếm gặp, kèm theo HCTH kháng steroid với mô bệnh học là FSGS. Hội chứng Alport do đột biến gen *COL4A5* là bệnh di truyền liên kết nhiễm sắc thể X- với biểu hiện đặc trưng là đái máu di truyền, rối loạn chức năng thận, có thể kèm theo HCTH kháng thuốc steroid kèm theo điếc sâu và bất thường thị giác [6],[52].

Đột biến gen *LAMB2* mã hóa cho laminin- beta2 gây nên hội chứng Pierson, đây là đột biến gen di truyền theo kiểu lặn nằm trên nhiễm sắc thể thường. Biểu hiện lâm sàng là THBS kèm theo dị tật đồng tử nhỏ mù hoàn toàn khi trẻ 2 tuổi, chậm phát triển cơ quan thần kinh, chậm phát triển tâm thần, suy thận giai đoạn cuối khi trẻ 5-10 tuổi, mô bệnh học là xơ cứng lan tỏa màng. Đột biến gen *SMARCAL1* gây hội chứng Schimke biểu hiện loạn sản phế quản, rối

loạn phát triển đa cơ quan, chậm phát triển, suy giảm chức năng tế bào T kèm theo HCTHTP kháng thuốc steroid. Mô bệnh học là xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú [6],[52].

Hội chứng thận hư bẩm sinh (HCTHBS) là bệnh di truyền hiếm gặp biểu hiện bệnh trước 3 tháng tuổi, theo Niaudet trẻ mắc HCTHBS tuýp Phần Lan thường sinh non và cân nặng thấp, suy thận sớm, trẻ thường chết trước 2 tuổi nếu không được ghép thận. Trong thời kỳ mang thai có tình trạng rau bám rộng, trọng lượng bánh rau lớn trên 25% trọng lượng thai, xét nghiệm sàng lọc trước sinh thường có AFP (Alpha feto protein) trong nước ối tăng cao, khi trẻ sinh ra thường có mũi nhỏ, tai thấp, khớp háng, khớp gối, khớp khuỷu thường biến dạng (hậu quả của của bánh rau lớn, bám rộng) [59]. Tuy nhiên trong một số báo cáo ca lâm sàng THBS tại Trung Quốc và Hàn Quốc đã không thấy mô tả các bất thường này [60], [61]. Tác giả Lovric và cs (2016) dựa vào thống kê từ 8 trung tâm lớn với 1.783 bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid đến từ 506 gia đình đã đưa ra bản đồ phân bố tỷ lệ phát hiện thấy các đột biến gen ở từng khu vực trên thế giới trong hình 1.1 [62].



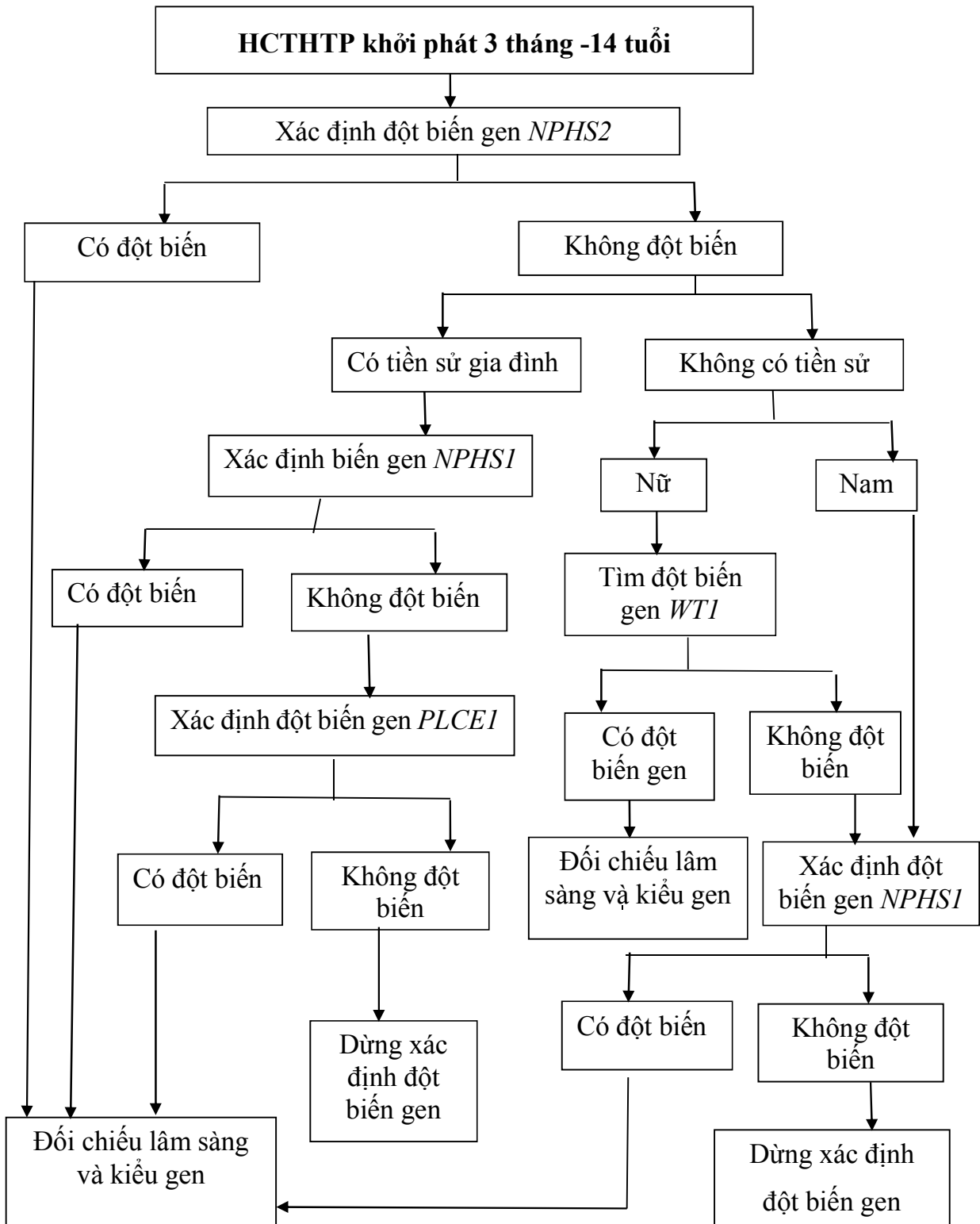
**Hình 1.1: Bản đồ phân bố các đột biến các gen trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid có tính chất gia đình [62].**

Một số nghiên cứu trên thế giới đã tập trung vào xác định đột biến gen *NPHS2* trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Kari và cs (2013), nghiên cứu trên 44 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Ả Rập Xê Út thấy 5 trẻ bị đột biến (11,4%) trong đó 3 trường hợp đột biến trên gen *NPHS2* và 2 trường hợp xuất hiện trên gen *NPHS1* [53]. Các nghiên cứu về di truyền khác

cho thấy đột biến gen *NPHS2* chủ yếu xuất hiện ở trẻ em bị HCTHTP kháng thuốc steroid còn đột biến gen *NPHS1* được phát hiện chủ yếu trên trẻ mắc HCTHBS đặc biệt tuýp Phần Lan. Tỷ lệ phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid thì có sự khác biệt. Tại Mỹ tỷ lệ này là 26%, Thổ Nhĩ Kỳ 24,7%, trong khi đó ở Hy Lạp chỉ khoảng 9%, Ấn Độ 4% -19%, Pakistan 3,4%, Trung Quốc 4,3%, Nhật Bản 4% [21],[62].

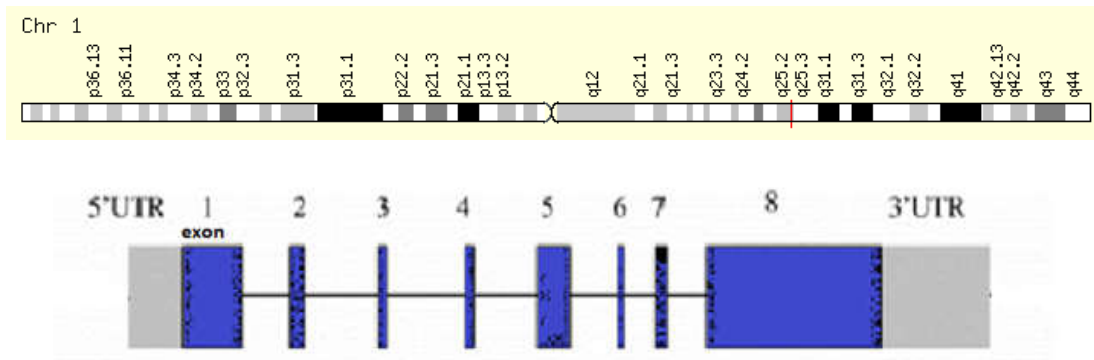
Do gen *NPHS2* luôn được phát hiện trong hầu hết các nghiên cứu di truyền ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, nên phát hiện đột biến gen *NPHS2* luôn được lựa chọn đầu tiên, thông qua đó có chiến lược điều trị đúng đắn cho bệnh nhân [6]. Một số gen khi có đột biến thường có biểu hiện ra kiểu hình đặc trưng gây nên các hội chứng lâm sàng điển hình đã được y văn mô tả nên có thể xác định gen đột biến trên những trẻ có HCTH kháng thuốc steroid một cách thuận lợi hơn [6],[53]. Tuy nhiên có rất nhiều gen bị đột biến được cho là có liên quan đến HCTH kháng thuốc steroid nhưng lại không có biểu hiện ra kiểu hình đặc trưng vì vậy trong thực hành lâm sàng không thể xác định đột biến trên tất cả các gen có liên quan ở trẻ chỉ có HCTHTP kháng thuốc steroid đơn độc. Dựa vào dữ liệu trong các nghiên cứu đã công bố, Satin và cs (2013) đưa ra gợi ý tiếp cận di truyền để xác định đột biến gen trên trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid có độ tuổi từ 4 tháng đến 14 tuổi tại một số nước châu Âu theo sơ đồ 1.1 dưới đây [13].

Sơ đồ 1.1: Tiếp cận di truyền ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid [13]



### 1.5.3. Nghiên cứu đột biến gen *NPHS2* ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid

Gen *NPHS2* có tên là nephrosis 2 được cho là có liên quan nhiều đến HCTHTP kháng thuốc steroid (Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) No.600995). *NPHS2* là một gen mã hóa cho protein có tên là podocin, gen nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể số 1 (1q25-q31), kích thước 25438 bp. Sơ đồ vị trí và thành phần gen *NPHS2* được minh họa trên hình 1.2 dưới [63],[64].

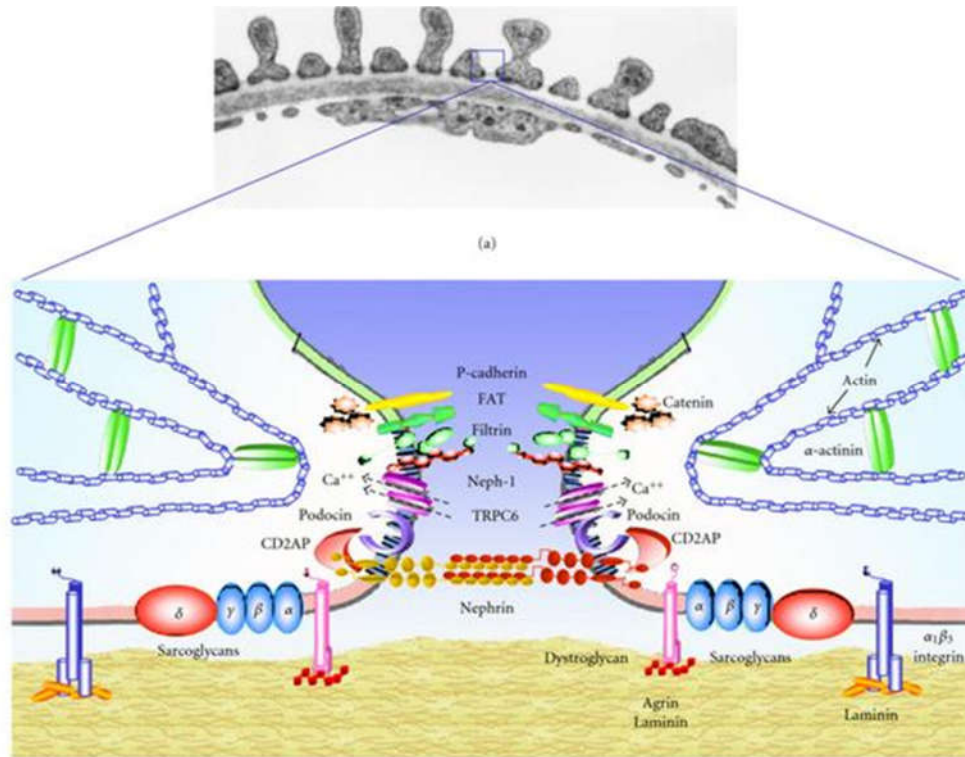


**Hình 1.2:** Sơ đồ minh họa vị trí gen và các exon trên gen *NPHS2* [63]

Con số và kích thước trên các ô màu xanh chỉ thứ tự và kích thước các exon, các intron được thể hiện bằng đường gạch nối giữa các exon màu xám. UTR là vùng không phiên mã: khởi đầu (5') và vùng kết thúc (3').

Vùng mã hóa của gen *NPHS2* gồm 8 exon, có kích thước 1149 bp mã hóa cho protein có tên là podocin liên kết với nhiều protein khác nhau của podocyte. Podocin có cấu trúc gồm 383 axit amin và trọng lượng 42kD, là một loại protein bám dính trên khe màng ngăn của podocyte, thuộc họ stomatin. Cấu trúc không gian 3 chiều của podocin có hình dạng giống như kẹp tóc, hai đầu podocin đều nằm trong tế bào chất. Podocin tồn tại dưới dạng oligo trên màng lipid kép và tập trung nhiều ở khu vực khe giữa màng ngăn, tại đây podocin tương tác với các protein khác như *CD2AP* và nephrin để đảm bảo chức năng cầu thận. Ngoài ra, podocin còn đóng vai trò chủ yếu trong việc tham gia xây dựng cấu tạo nên cấu trúc bộ khung protein cho màng podocyte trên

màng lọc cầu thận và màng tế bào hồng cầu để thực hiện chức năng thay đổi hình dạng tế bào trong một số trường hợp. Podocin được xem như là một khung đỡ protein tạo nên mối liên kết giữa tế bào biểu mô và podocyte để hình thành cấu trúc khe màng ngăn cầu thận. Vị trí của podocin tại màng ngăn cầu thận và mối liên kết với các protein trong và ngoài màng của tế bào podocyte được minh họa trên hình 1.3 dưới đây [65].



**Hình 1.3: Vị trí các protein trên podocyte của màng lọc cầu thận [65]**

Khe màng ngăn là nơi thực hiện các chức năng lọc chính của hệ thống lọc cầu thận trong đó podocyte đóng vai trò là một hàng rào để ngăn không cho các phân tử hữu hình trong máu đi qua màng lọc này. Một chức năng quan trọng khác của podocin là tham gia vào quá trình hoàn thiện và phát triển chức năng thận từ trong bào thai. Các kết quả nghiên cứu đã chứng minh cho thấy phân tử ARN thông tin có trọng lượng 2 kb được sao chép từ gen *NPHS2* nhân lên với số lượng lớn ngay từ trong thời kỳ bào thai của thận và hầu như phân tử ARN này chỉ có



mất trong cấu trúc cầu thận. Trên chuột thực nghiệm, thông qua đánh bật gen *NPHS2* để gây ra thiếu hụt podocin cũng làm cho chuột bị mất protein qua nước tiểu từ thời kỳ bào thai với các biểu hiện lâm sàng cận lâm sàng giống HCTH và bị chết sau sinh vài ngày. Trong một thực nghiệm khác cũng đã chứng minh khi gây ra các đột biến gen *NPHS2* sẽ làm cho podocin không được nitơ hóa dẫn đến khả năng gắn kết với calcineurin bị giảm, do đó mối liên kết với các protein khác trong bào tương của podocyte bị ảnh hưởng. Ngoài ra khi gen *NPHS2* bị đột biến làm cho nửa đời sinh học của podocin bị giảm nghiêm trọng [64],[65],[66]. Các nghiên cứu còn cho thấy đột biến gen *NPHS2* chủ yếu xuất hiện trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và đã ghi nhận có ảnh hưởng đến tiên tri, đáp điều trị của những bệnh nhân này. Nghiên cứu tìm đột biến gen *NPHS2* ban đầu chủ yếu được thực hiện trên quần thể trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại châu Âu. Năm 2000, tác giả Boute và cs lần đầu tiên thông báo phát hiện ra đột biến gen *NPHS2* khi nghiên cứu 14 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Pháp. Trong đó đã phát hiện thấy 10 bệnh nhân mang đột biến gen *NPHS2* bao gồm 3 đột biến lệch khung (thêm G tại vị trí 104 trên exon 1, mất G tại vị trí 419 trên exon 3, mất A tại vị trí 855 trên exon 7); 6 đột biến sai nghĩa (59 C>T, 274 G>T trên exon 1, 413 G>A exon 3, 479 A>G trên exon 4, 583 G>A trên exon 5, 871 C>T trên exon 7) và 1 đột biến vô nghĩa (413 C>T trên exon 3). Đặc biệt tất cả những bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến gen trong nghiên cứu này được báo cáo cũng kháng với thuốc ức chế miễn dịch khác [67]. Đột biến gen *NPHS2* được phát hiện với tỷ lệ cao nhất trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid khởi phát từ sau sinh đến 6 tuổi. Khi bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid nếu mang đột biến gen *NPHS2* còn không đáp ứng với các thuốc ức chế miễn dịch khác, hầu hết tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối trong 10 năm đầu đời [6]. Theo thống kê của tác giả Henkes và cs, khi giải trình tự 4 gen *NPHS1*, *NPHS2*, 2 exon 8,9

gen *WT1* và *LAMB2* trên 89 trẻ từ 80 gia đình, có tuổi dưới 12 tháng mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại một số nước châu Âu. Tỷ lệ đột biến chung là 66,3% gia đình (53/80), trong đó 84,8% bệnh nhân mắc HCTHBS, 44,1% bệnh nhân nhỏ tuổi (4-12 tháng) phát hiện thấy đột biến gen. Tỷ lệ đột biến của gen *NPHS2* cao nhất (39,1% ở trẻ HCTHBS, 35,3% ở trẻ nhỏ tuổi), đột biến gen *NPHS1* chỉ phát hiện thấy ở bệnh nhân mắc HCTHBS. Hai gen *WT1* và *LAMB2* có tỷ lệ phát hiện thấy đột biến thấp hơn (3,8% và 2,5%). Tất cả bệnh nhân bị đột biến gen không đạt được thuyên giảm khi điều trị bằng steroid và các thuốc ức chế miễn dịch khác [11],[68].

Carini và cs (2001) công bố kết quả nghiên cứu ở Italy trên 44 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thấy 9 bệnh nhân (chiếm 20,5%) mang đột biến gen *NPHS2* các dạng đột biến của gen này cũng rất phong phú bao gồm 7 đột biến dịch khung (6 trường hợp 419delG trên exon 3, 1 trường hợp 467/8insT trên exon 2), 7 đột biến sai nghĩa R138Q (413G>A), 2 đột biến sai nghĩa V180M (538G>A), 1 vô nghĩa R138X (412C>T), 2 đột biến sai nghĩa trên exon 8 (c951T>C, c1038A>G) là hai đột biến mới. Trong 9 trẻ có đột biến gen *NPHS2* chỉ có 2 trường hợp chưa bị suy thận, 7 trường hợp tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối phải ghép thận, cả 9 trẻ mang đột biến gen *NPHS2* không đáp ứng với các thuốc ức chế miễn dịch khác [69].

Yaacov và cs (2002) nghiên cứu 27 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid ở Israel thấy đột biến gen *NPHS2* chỉ xuất hiện trên trẻ em là người Israel gốc Ả-rập với tỷ lệ phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* là 55% trong khi đó trẻ gốc Do Thái thì hoàn toàn không thấy thay đổi di truyền trên gen này [70].

Tác giả Ruf và cs (2004) tại Mỹ, đã tiến hành giải trình tự gen *NPHS2* trên 190 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid từ 165 gia đình khác nhau làm nhóm bệnh, 124 trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid từ 120 gia đình làm nhóm chứng. Kết quả cho thấy: đột biến gen *NPHS2* chỉ xảy ra trên bệnh nhân mắc HCTHTP

kháng thuốc steroid (nhóm bệnh), nhóm nhạy cảm (nhóm chứng) không phát hiện thấy đột biến trên gen này. Tỷ lệ phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* là 26%, đặc biệt những trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid mà có đột biến gen *NPHS2* sau khi ghép thận tỷ lệ tái phát chỉ có 8%, trong khi đó nhóm trẻ không có đột biến gen tái phát sau ghép thận là 35% [9].

Werber và cs (2004), khi thực hiện nghiên cứu trên 338 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid ở châu Âu và Bắc Phi quan sát thấy tỷ lệ đột biến thể R138Q của gen *NPHS2* là 32%. Nếu bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử gen này sẽ có biểu hiện protein niệu sớm ngay trong năm đầu đời [51]. Berdeli và cs (2007) cũng đã xác định đột biến gen *NPHS2* trên 295 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Thổ Nhĩ Kỳ thấy 73 trường hợp (24,7%) xuất hiện đột biến, trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid có thời gian tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối nhanh hơn [71].

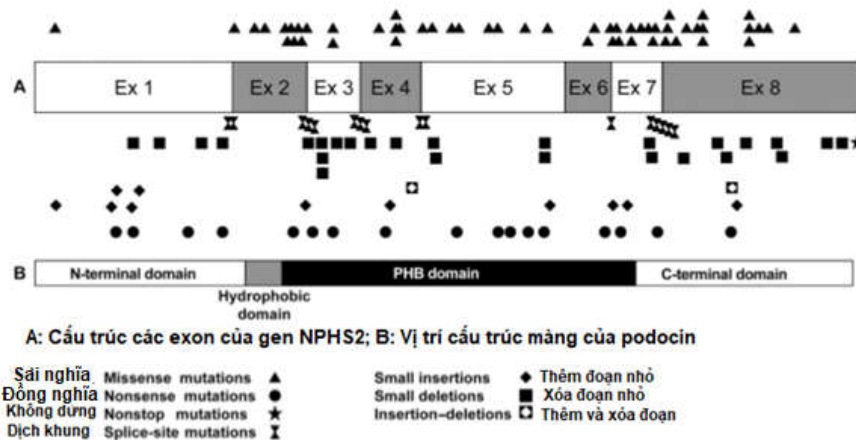
Trong nghiên cứu trên 430 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid từ 404 gia đình ở một số nước châu Âu, tác giả Hinkes và cs đã xác định có 73/404 gia đình (18,1%) xuất hiện đột biến tại gen *NPHS2*, trong đó 69,9% các đột biến phát hiện được là đột biến vô nghĩa, dịch khung và sai nghĩa R138Q của gen *NPHS2*, đặc biệt thể đột biến R138Q có tỷ lệ phát hiện cao nhất (2/3 các đột biến đã xác định được), mặt khác tất cả những trẻ mắc HCTHTP có mang đột biến gen *NPHS2* đều khởi phát bệnh HCTH trước 6 tuổi [68].

Büscher và cs (2016) tiến hành phân tích tìm đột biến của 3 gen là *NHS1*, *NPHS2* và *WT1* trên 231 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid và HCTHBS tại nước Đức thấy 57% bệnh nhân xuất hiện thay đổi di truyền trong 3 gen trên. Trong đó sự thay đổi di truyền được phát hiện thấy ở 97% bệnh nhân mắc HCTHBS và 41% bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid [72].

Tại châu Á, nhiều nghiên cứu về di truyền cũng đã phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, tuy nhiên ở từng khu

vực lãnh thổ tỷ lệ phát hiện thấy đột biến của gen *NPHS2* có sự khác nhau. Basiratnia và cs (2013) giải trình tự gen *NPHS2* trên 99 trẻ em mắc HCTHTP bao gồm 44 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid (nhóm bệnh), 50 trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid làm nhóm chứng tại Iran. Kết quả nghiên cứu này thấy tỷ lệ đột biến ở nhóm bệnh là 31%, những bệnh nhân có tiền sử gia đình có tỷ lệ đột biến là 57%, nhóm chứng cũng phát hiện thấy 4% trẻ có thay đổi di truyền trên gen *NPHS2* [73]. Tại Ấn Độ, Dhandapani và cs (2017) nghiên cứu trên 200 trẻ mắc HCTHTP (100 bệnh nhân kháng thuốc steroid, 100 bệnh nhân nhạy cảm) và 100 trẻ khỏe mạnh bình thường. Kết quả nghiên cứu này đã phát hiện thấy 18% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến gen *NPHS2*, trong khi đó nhóm nhạy cảm và nhóm trẻ khỏe mạnh không phát hiện được đột biến nào trên gen này [74]. Behnam và cs (2016) phân tích hệ thống các nghiên cứu tại Iran từ 1970 đến 2015 thấy tỷ lệ đột biến gen *NPHS2* gặp 43% trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có tính chất gia đình và 10,5% trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid không có tính chất gia đình. Trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến gen thường không đáp ứng với các thuốc ức chế miễn dịch [75]. Tuy nhiên nghiên cứu của Maruyama và cs tại Nhật Bản không phát hiện đột biến gen *NPHS2* đối với trẻ em người Nhật mắc HCTH kháng steroid ngay cả các trường hợp đã được chẩn đoán giải phẫu bệnh là FSGS [76]. Rachmadi và cs (2016) nghiên cứu 28 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid tại Indonesia, khi giải trình tự 3 exon 1, exon 2 và exon 8 của gen *NPHS2* thấy 7 trẻ xuất hiện đột biến chủ yếu trên exon 2 (4 bệnh nhân) [77]. Tại Trung Quốc tác giả Wang và cs (2017) khi giải trình tự 5 gen (*NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1*, *WT1* và *TRPC6*) trên 38 trẻ và giải trình tự thể hệ mới 17 gen trên 33 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid tại miền Trung của Trung Quốc chỉ thấy 1 trường hợp mang đột biến gen *NPHS2* trong tổng số 19 bệnh nhân (31,7%) phát hiện thấy các đột biến gen [78]. Nghiên cứu khác của Wang và cs (2017) trên 110 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid

cũng tại Trung Quốc thấy đột biến gen *NPHS2* chỉ gặp 2 bệnh nhân (3,3%) [79]. Azocar và cs (2016) phát hiện thấy 7/34 (21%) trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến trên gen *NPHS2* tại Chile, trong khi đó nghiên cứu phân tích trên 233 trẻ khỏe mạnh thì không phát hiện thấy đột biến *NPHS2* [80]. Như vậy đột biến gen *NPHS2* chủ yếu được phát hiện trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, một số trẻ mắc HCTHBS cũng phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2*. Bouchireb và cs (2014) dựa vào các nghiên cứu trên toàn thế giới được công bố trong thời gian từ 1999 đến 2013 tại các phòng xét nghiệm gen học toàn cầu và dữ liệu trên database thấy gen *NPHS2* đã có 101 đột biến đã được báo cáo bao gồm: 53 đột biến sai nghĩa, 17 đột biến vô nghĩa, 26 mất đoạn, 11 chuyển đoạn nhỏ, 16 dịch khung, 2 thêm cặp và 1 đột biến stop codon. Ngoài ra vẫn còn 43 điểm thay đổi di truyền của gen này vẫn chưa xếp loại [81]. Tổng hợp các đột biến đã xác định và đã công bố trong các nghiên cứu trong thống kê của Bouchireb được thể hiện trên hình 1.4 dưới đây [81].



**Hình 1.4: Thống kê các đột biến gen *NPHS2* đã ghi nhận trong y văn [81]**

Biểu hiện cận lâm sàng ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến gen *NPHS2* chủ yếu là FSGS trên mô bệnh học. Trong khi đó ở trẻ mắc HCTHBS gặp thể tăng sinh màng lan tỏa. Ngoài ra bệnh nhân thường có biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHTP không đơn thuần bệnh nhân

nếu mang đột biến gen *NPHS2* bao gồm suy thận, đái máu hoặc cao huyết áp, gặp với tỷ lệ cao hơn [6],[9],[11],[12],[13].

Các báo cáo khác nhau về tần số đột biến gen *NPHS2* từng quần thể trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và trên từng khu vực khác nhau cho thấy chủng tộc có thể đóng một vai trò quan trọng. Tuy nhiên, số lượng exon được đánh giá và kích thước mẫu và yếu tố chủng tộc của quần thể nghiên cứu có vai trò quan trọng ảnh hưởng đến khác biệt giữa các nghiên cứu, đặc biệt kỹ thuật phát hiện các đột biến cũng đóng vai trò không nhỏ đến kết quả phát hiện các đột biến gen. Tuy nhiên, đa số các nghiên cứu trên thế giới đều thống nhất đột biến gen *NPHS2* có liên quan nhiều nhất và có ảnh hưởng lớn nhất đến trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid khởi phát trước 6 tuổi [6],[70]. Guaragna và cs (2017) tổng hợp thông tin và dữ liệu các nghiên cứu được công bố đến tháng 1 năm 2017 trên toàn thế giới thấy tỷ lệ phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid rất khác nhau giữa các vùng lãnh thổ cũng như chủng tộc. Tỷ lệ đột biến gen *NPHS2* được phát hiện cao hơn ở châu Âu như Thổ Nhĩ Kỳ là 24,7%, Mỹ là 26%, tuy nhiên ở Hy Lạp chỉ gặp 45%. Tại châu Á, Trung Quốc 4,3%, Ấn Độ 4%, Pakistan 3,4%, Indonesia 18%, Nhật Bản 4%, Hàn Quốc chưa thông báo thấy đột biến gen *NPHS2* trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid [82]. Tỷ lệ phát hiện thấy các đột biến gen *NPHS2* trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đã công bố trên thế giới được tóm tắt trong bảng 1.4 dưới đây.

**Bảng 1.4: Tổng hợp các nghiên cứu xác định đột biến gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid [82].**

Năm	Tác giả [tài liệu]	Tên gen	Địa điểm	Số bệnh nhân (%)
2000	Boute [67]	<i>NPHS2</i>	Pháp	32/35(92%)
2001	Carini [69]	<i>NPHS2</i>	Italia	9/44 (20,8%)
2004	Ruf [9]	<i>NPHS2</i>	Mỹ	49/190 (26%)
	Werber [51]	<i>NPHS2</i>	Châu Âu và Bắc Phi	108/338 (32%)
2005	Yu [83]	<i>NPHS2</i>	Trung Quốc	1/23 (4,3%)
2007	Berdeli [71]	<i>NPHS2</i>	Thổ Nhĩ Kỳ	73/295(24,7%)
2015	Rachmadi [77]	<i>NPHS2</i>	Indonesia	6/28 (21,4%)
	Dhandapani [74]	<i>NPHS2</i>	Ấn Độ	36/200 (18%)
2016	Azocar [80]	<i>NPHS2</i>	Chile	7/34 (21%)

**1.5.4. Một số thể đột biến gen *NPHS2* đã phát hiện ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid và kỹ thuật phát hiện đột biến gen**

**1.5.4.1. Một số vị trí đột biến gen *NPHS2* đã phát hiện**

Đột biến 288C>T (S96S) là một sự thay thế C=>T tại nucleotid 16170 ở exon 2 của gen *NPHS2*. Đột biến này tạo ra 3 kiểu gen, kiểu gen đồng hợp kiểu dại (CC), kiểu dị hợp tử (CT) và kiểu đồng hợp tử đột biến (TT) [84]. Nghiên cứu 44 bệnh nhân mắc HCTHTP đã được chẩn đoán mô bệnh học thể FSGS của Caridi năm 2001 tại Italia cũng đã phát hiện thấy đột biến 288C>T (S96S) Megremis và cs cũng phân tích 14 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và 100 người bình thường khỏe mạnh làm nhóm chứng tại Hy Lạp đã phát hiện thấy 3 bệnh nhân (21%) có mang đột biến gen *NPHS2* trong đó 1 bệnh nhân có mang đột biến 288C>T (S96S) [69],[85]. Năm 2002, theo nghiên cứu của Karle và cs trên 78 bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid ở Châu Âu thấy một số đột biến gen *NPHS2*, trong đó ở exon 2 chỉ gặp đột biến 288C>T (S96S) thể đồng hợp [8]. Trong nghiên cứu của Yu năm 2005 trên 23 bệnh nhi Trung Quốc

đã gặp 1 trường hợp đồng hợp, 1 trường hợp dị hợp đột biến 288C>T (S96S). Nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt rõ về kiểu gen và tần số alen giữa 23 bệnh nhi và 53 đối chứng [86]. Theo nghiên cứu của Junli trên hơn 97 bệnh nhân ở Singapore cũng phát hiện thấy có 7 dị hợp và 1 đồng hợp thể 288C>T (S96S) [84]. Nghiên cứu của Dai và cs trên 70 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid muộn và 70 trẻ khỏe mạnh cùng độ tuổi, cùng chủng tộc làm nhóm chứng tại Trung Quốc phát hiện thấy 3 bệnh nhân xuất hiện đột biến trong đó có 1 bệnh nhân mang đột biến thể 288C>T (S96S), trong khi đó đột biến 288C>T (S96S) không phát hiện thấy trên nhóm chứng [87]. Nghiên cứu của Rachmadi năm 2015 trên 52 bệnh nhi mắc HCTH ở Indonesia, có 28 bệnh nhân được phân tích đột biến trên 3 exon 1, exon 2 và exon 8 đã phát hiện thấy có 4/28 trường hợp (14%) thể dị hợp mang đột biến 288C>T (S96S). Những bệnh nhân mang đột biến không có sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng với các trường hợp mắc HCTH kháng thuốc steroid mà không mang đột biến, tuy nhiên bệnh nhân mang đột biến gen *NPFS2* có tỷ lệ suy thận cao hơn [77].

Đột biến 413G>A (R138Q) là một sự thay thế G=>A tại nucleotid 19623 ở exon 3 của gen *NPFS2*. Sự thay thế này dẫn đến acid amin Arginine bị thay thế bởi acid amin Glycin. Đột biến này tạo ra 3 kiểu gen, đồng hợp tử kiểu dại GG, dị hợp tử GA và đồng hợp tử kiểu đột biến AA. Đột biến 413G>A lần đầu tiên được Boute và cs (2000) phát hiện ở dạng đồng hợp tử trong 4 gia đình và dạng dị hợp tử ở một gia đình khác trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Pháp [67]. Caridi và cs năm 2001 đã nhận thấy đột biến đồng hợp tử 413G>A ở 3 bệnh nhân HCTH kháng thuốc steroid và có mô bệnh học thể FSGS, bệnh nhân khởi phát bệnh trước 2 tuổi và đều tiến triển thành suy thận mạn giai đoạn cuối [69]. Koziell và cs (2002) đã phát hiện thấy trên một trẻ người Anh có đột biến đồng hợp tử 413G>A bị HCTHBS [88]. Nghiên cứu của Maruyama tại Nhật Bản không phát hiện thấy đột biến 413G>A tại gen *NPFS2*



trên trẻ mắc HCTH được chẩn đoán giải phẫu bệnh là FSGS [76]. Huber và cs đã chỉ ra rằng đột biến 413G>A gây ra hiện tượng không oligomer hóa protein nên bị giữ lại trong lưới nội chất, ảnh hưởng đến quá trình vận chuyển lipid [89]. Nghiên cứu thực nghiệm của Seranto-Perez và cs thông qua gây đột biến 413G>A phát hiện thấy phân tử podocin không được nitơ hóa, do đó không gắn được calnexin trong bào tương, ảnh hưởng liên kết với các phân tử khác, đột biến 413G>A còn làm giảm thời gian nửa đời của podocin [64]. Các nghiên cứu của Hinkes và Weber cũng cho biết đột biến gen *NPHS2* làm cho trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid sớm hơn và đáp ứng kém với các thuốc ức chế miễn dịch khác [11],[51],[68]. Các kết quả nghiên cứu xác định đột biến gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại châu Âu đã công bố thấy đột biến 413G>A chiếm tỷ lệ cao hơn, tại châu Á thì ít gặp hơn [6],[53].

Ruf và cs (2005) thấy gần 50% đột biến phát hiện được là do mất nucleotit ở exon 3 của gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Đột biến trên exon 3 của gen *NPHS2* ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được phát hiện thấy nhiều hơn ở một số nước châu Âu như Ý, Pháp, Đức và Hy Lạp nhưng lại hiếm gặp hơn ở Trung Quốc và Nhật Bản [8],[9],[11],[78],[79],[80]. Tác giả Guaragna và cs đã tổng hợp vị trí các đột biến trên gen *NPHS2* trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đã công bố trong thời gian từ năm 2013 đến năm 2017 trong bảng 1.5 dưới đây [82].

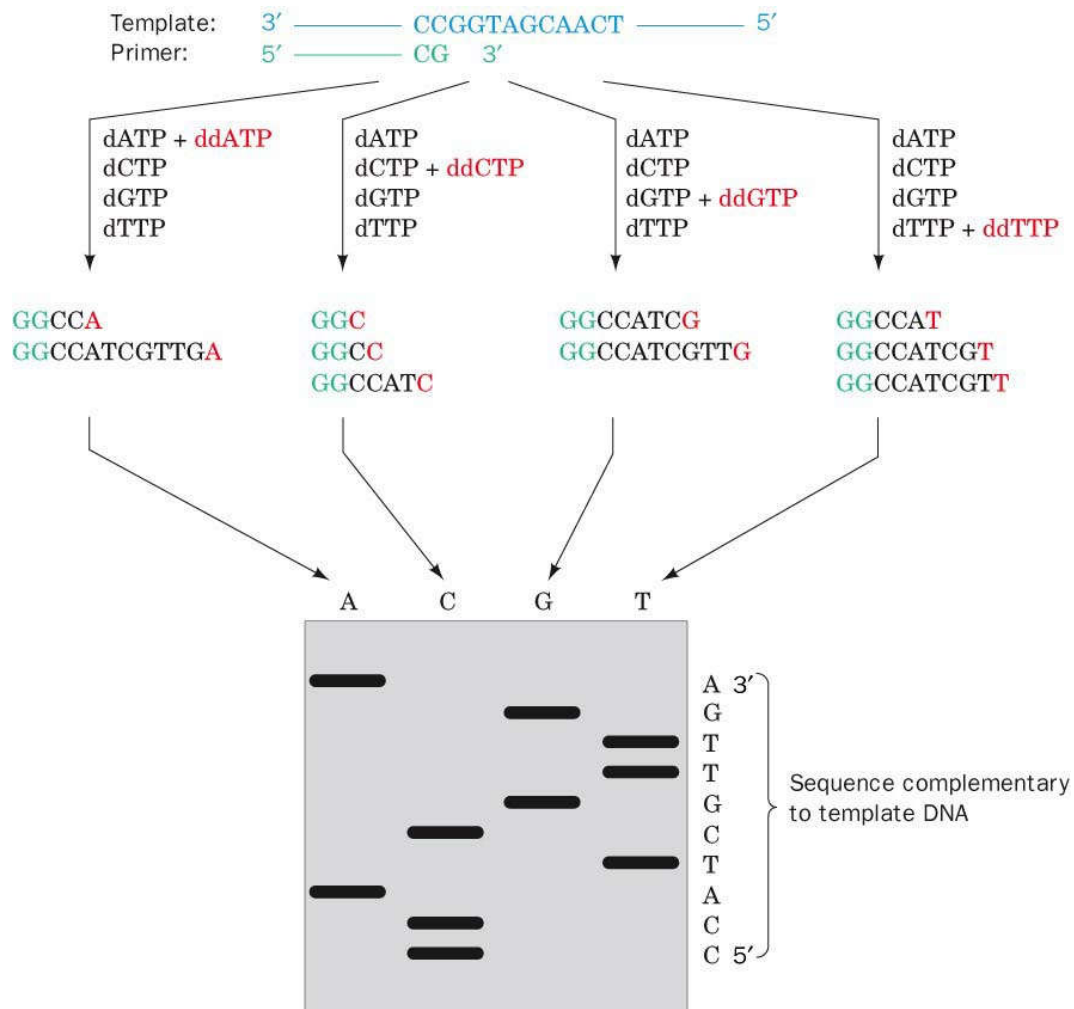
**Bảng 1.5: Tổng hợp các vị trí và dạng đột biến gen *NPHS2* trong thời gian từ 2013 đến 2017 [82]**

Exon	Vị trí nucleotit và dạng đột biến	Vị trí thay đổi acid amin	Nơi nghiên cứu
Exon 1	c.133T>C	p.Ser46Pro	Ấn Độ
Exon 3	c.415T>A	p.Leu139Arg	Mexico
Exon 4	c.500T>C	p.Leu167Pro	Ấn Độ
Exon 4	c.523C>T	p.Pro175Ser	Ấn Độ
Exon 8	c.946C>T	p.Pro316Ser	Italia
Exon 5	c.714delG	p.Lis239Argfs 13	Brazil
Exon 8	c.988_989delCT	p.Ser329=fs 14	Phần Lan

Do có sự khác biệt về tần suất, vị trí cũng như ảnh hưởng lên kiểu hình của các đột biến gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid trong các nghiên cứu, nên việc xác định các đột biến cũng như ảnh hưởng của đột biến gen *NPHS2* trên bệnh nhân mắc HCTHTP nói chung và HCTHTP kháng thuốc steroid nói riêng vẫn còn đang tiếp tục nghiên cứu.

#### *1.5.4.2. Phương pháp phát hiện đột biến gen *NPHS2* ứng dụng trong chẩn đoán*

Phương pháp giải trình tự Sanger được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu phát hiện đột biến gen. Nguyên tắc cơ bản của phương pháp dideoxy dựa vào hoạt động của enzym DNA polymerase trong quá trình tổng hợp DNA [90],[91],[92]. Phương pháp này có thể giải trình tự được cả đoạn gen, không quá phức tạp, phát hiện cả những đột biến mới, được minh họa trong hình 1.5.



**Hình 1.5: Giải trình tự theo phương pháp Sanger**

(Nguồn: [http://www.siumed.edu/~bbartholomew/course\\_material/methods\\_B.html](http://www.siumed.edu/~bbartholomew/course_material/methods_B.html))

### 1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước về HCTHTP kháng thuốc steroid

Nguyễn Ngọc Sáng (1999) có nghiên cứu: “Đánh giá hiệu quả điều trị bằng Methylprednisolon và những thay đổi miễn dịch trước và sau điều trị hội chứng thận hư tiên phát ở trẻ em” làm Luận án tiến sĩ Y học. Đây là nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng có định hướng. Nghiên cứu được thực hiện trong 3,5 năm (từ tháng 6 năm 1994 đến tháng 12 năm 1997) đã thống kê được 130 trẻ bị HCTHTP nhập viện điều trị tại khoa Thận, bệnh viện Nhi Trung ương. Kết quả của nghiên cứu thống kê được 42 trẻ bị kháng thuốc steroid (chiếm 32,3%).

Trong số 42 trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid thể không đơn thuần chiếm 52%, khi được điều trị bằng methylprednisolone liều 1000mg/1,73m<sup>2</sup> da/48 giờ theo phác đồ của Murnaghan chỉ có 33,33% trẻ đạt được thuyên giảm hoàn toàn, 35,7% trẻ không đạt được thuyên giảm. Theo dõi sau 6 tháng, có 3 trẻ (7,14%) bị tử vong.

Năm 2009, Trần Thanh Thúy, Vũ Huy Trụ có nghiên cứu hồi cứu: “Đặc điểm hội chứng thận hư nguyên phát kháng thuốc steroid có sang thương xơ hóa cầu thận từng phần và khu trú ở trẻ em” trên 41 trẻ em tại bệnh viện Nhi Đồng I. Đây là nghiên cứu hồi cứu trong 2 năm từ 2006 đến 2007. Kết quả nghiên cứu thấy tuổi mắc trung bình là  $7,7 \pm 3,3$  tuổi. Triệu chứng lâm sàng hay gặp là phù, tăng huyết áp gặp khá cao (53,65%), đặc biệt có 30,3% trẻ bị suy thận. Dù được điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch nhưng vẫn còn 14,5% trẻ hoàn toàn không đáp ứng.

Dương Thị Thúy Nga (2011) có nghiên cứu: “Nhận xét kết quả điều trị hội chứng thận hư tiên phát kháng corticosteroid tại khoa Thận-Tiết niệu bệnh viện Nhi Trung Ương” trong Luận văn thạc sĩ Y học. Đây là nghiên cứu hồi cứu kết hợp tiền cứu trên 132 trẻ mắc HCTHTP được thực hiện trong 3 năm từ 2008 đến 2011 tại khoa Thận-Tiết niệu, bệnh viện Nhi Trung ương. Trong 132 trẻ mắc HCTHTP được chia thành 2 nhóm bao gồm 64 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và 68 trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid. Kết quả nghiên cứu này cho thấy trẻ HCTHTP kháng thuốc steroid có triệu chứng lâm sàng (phù, đái máu, cao huyết áp, suy thận) nặng nề hơn nhóm nhạy cảm steroid. Biến chứng ở nhóm trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid cũng xuất hiện nhiều hơn và nặng nề hơn so với nhóm nhạy cảm steroid. Tử vong của nhóm trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid là 8,3%, nhóm nhạy cảm steroid không có tử vong.

Năm 2014, Trần Hữu Minh Quân, Huỳnh Thoại Loan, Nguyễn Đức Quang

và cộng sự có nghiên cứu: “Đặc điểm hội chứng thận hư kháng thuốc steroid trên 67 bệnh nhân tại bệnh viện Nhi Đồng I”. Đây là nghiên cứu hồi cứu được thực hiện trong 2 năm từ 2011 đến 2013 trên 67 trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid. Kết quả nghiên cứu này cho thấy trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có biểu hiện phù chỉ gặp 68,7%, tổn thương mô bệnh học thể FSGS chỉ gặp 28,4%, đặc biệt không có trường hợp nào bị suy thận. Kết quả điều trị sau 6 tháng bằng thuốc ức chế miễn dịch thấy 10,4% trẻ không đáp ứng với thuốc ức chế miễn dịch.

Như vậy các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam hầu hết là các nghiên cứu hồi cứu, trên trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid và chủ yếu tập trung vào đánh giá các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đáp ứng điều trị. Đến thời điểm hiện tại, trong nước chưa có nghiên cứu nào về di truyền nói chung, phát hiện đột biến gen *NPHS2* nói riêng trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được thực hiện.

## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 140 trẻ mắc HCTHTP trong đó 94 trẻ được chẩn đoán mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và 46 trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid, khởi phát bệnh từ 4 tháng đến 14 tuổi có đủ tiêu chuẩn chẩn đoán và tự nguyện tham gia nghiên cứu.

##### 2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Chẩn đoán HCTHTP theo tiêu chuẩn của KDIGO năm 2012: protein/creatinin niệu 1 mẫu bất kỳ buổi sáng  $\geq 200$  mg/mmol, albumin máu  $\leq 25$  g/l, protid máu  $\leq 56$  g/l [15],[20].

+ Nhóm nhạy cảm steroid: khi điều trị bằng prednisolon liều 2 mg/ kg/ ngày sau 4 tuần đạt được sự thuyên giảm hoàn toàn (protein niệu âm tính, albumin máu  $>25$  g/l; protein máu  $> 56$  g/l).

+ Nhóm kháng thuốc steroid: Tại bệnh viện Nhi Trung ương chúng tôi áp dụng tiêu chuẩn kháng thuốc steroid khi điều trị 6 tuần bằng prednisolon liều 2 mg/ kg /ngày mà bệnh nhân không đạt được sự thuyên giảm (protein/creatinin niệu mẫu bất kỳ buổi sáng  $\geq 200$  mg/mmol).

##### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Loại trừ bệnh nhân mắc HCTH thứ phát.

##### 2.1.3. Địa điểm nghiên cứu

Đề tài được tiến hành tại khoa Thận-Lọc máu, phòng xét nghiệm sinh hóa, huyết học, vi sinh và khoa Giải phẫu bệnh của Bệnh viện Nhi Trung ương là nơi chẩn đoán, điều trị và quản lý bệnh nhân.

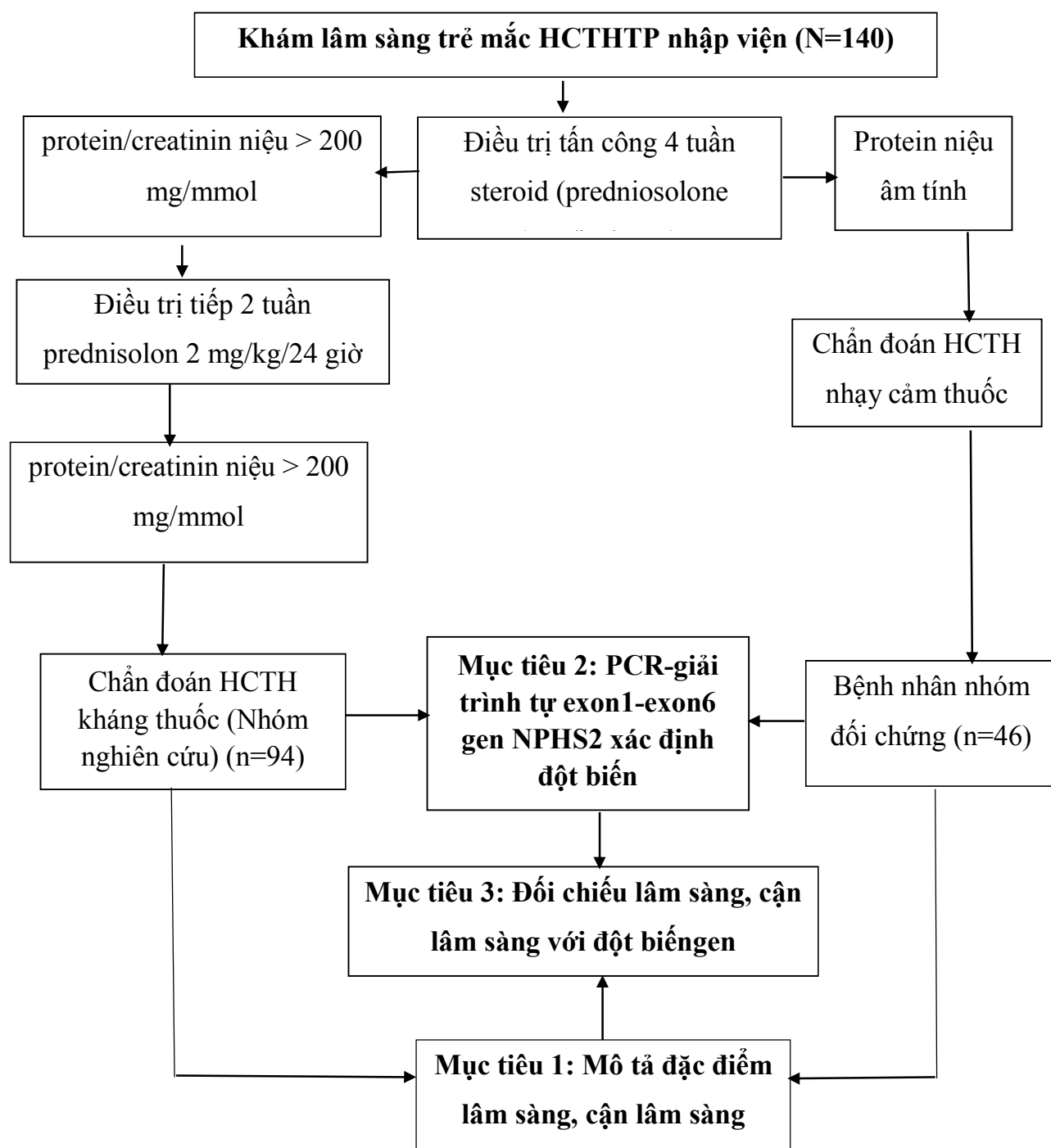
Các xét nghiệm sinh học phân tử thực hiện tại khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### 2.1.4. Thời gian nghiên cứu

Thời gian 3 năm: từ tháng 11 năm 2014 đến 11 năm 2017.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu được thực hiện theo sơ đồ 2.1



Sơ đồ 2.1: Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

### **2.2.1. Phương pháp nghiên cứu**

Phương pháp nghiên cứu mô tả hàng loạt ca bệnh theo dõi tiến cứu. Phát hiện đột biến trên 6 exon (từ exon 1 đến exon 6) của gen *NPHS2* qua phân tích ADN thu nhận từ mẫu máu ngoại vi của trẻ mắc HCTHTP, sử dụng kỹ thuật PCR- Giải trình bằng máy giải trình tự theo nguyên lý của Sanger.

### **2.2.2. Cơ mẫu nghiên cứu**

Số lượng bệnh nhân theo phương pháp chọn mẫu tiện ích: lấy trong 1 năm.

### **2.2.3. Các chỉ số, biến số nghiên cứu**

#### **2.2.3.1. Mục tiêu 1: Mô tả các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

Các đặc điểm lâm sàng chung của đối tượng nghiên cứu: Tuổi, giới, lý do vào viện, thời gian phát bệnh, tính chất khởi phát, số lần tái phát, mức độ tái phát, thời gian phát bệnh đến thời điểm nghiên cứu, tiền sử bệnh có liên quan, tiền sử gia đình.

Các phân loại và định nghĩa theo KDIGO-2012 [15],[20].

- Chẩn đoán HCTH: Phù, protein/creatinin niệu mẫu bất kỳ buổi sáng > 200 mg/mmol; albumin máu < 25 g/l; protein máu < 56 g/l.
- Thuyên giảm hoàn toàn (HCTH nhạy cảm steroid): Sau 4 tuần điều trị prednisolon liều 2 mg/ kg/ 24 giờ chỉ số protein/creatinin niệu < 20 mg/mmol.
- Thuyên giảm một phần: chỉ số protein/creatinin niệu nằm trong khoảng từ 20 đến 200 mg/mmol.
- HCTH kháng thuốc steroid: Bệnh nhân được chẩn đoán HCTHTP, điều trị sau 6 tuần bằng prednisolon liều 2 mg/ kg/ 24 giờ mà không đạt được sự thuyên giảm (protein/creatinin niệu mẫu bất kỳ >200 mg/mmol).
- HCTH kháng thuốc steroid sớm: Kháng thuốc steroid ngay trong đợt điều trị steroid đầu tiên.



- HCTH kháng thuốc steroid muộn: Bệnh nhân nhạy cảm steroid trong đợt điều trị steroid đầu tiên nhưng kháng thuốc steroid trong những đợt tái phát.

- HCTH tái phát: Bệnh nhân đã đạt được thuyên giảm hoàn toàn nhưng sau đó protein/creatinin niệu mẫu bất kỳ buổi sáng  $\geq 200$  mg/mmol.

- HCTH tái phát thưa (tái phát không thường xuyên): Tái phát 1 lần trong vòng 6 tháng sau đáp ứng lần đầu hoặc 1 đến 3 lần tái phát trong bất kỳ chu kỳ 12 tháng nào.

- HCTH tái phát dày (tái phát thường xuyên): Tái phát  $\geq 2$  lần trong 6 tháng sau đáp ứng lần đầu hoặc  $\geq 4$  lần tái phát trong bất kỳ chu kỳ 12 tháng nào.

- HCTHTP đơn thuần: Bệnh nhân chỉ có HCTH không có đái máu, không có suy thận, không có tăng huyết áp.

- HCTHTP không đơn thuần: Bệnh nhân có HCTH kết hợp hoặc đái máu hoặc suy thận hoặc tăng huyết áp.

- HCTHTP trên bệnh nhân nhỏ tuổi: Khi trẻ mắc HCTHTP phát bệnh trong độ tuổi từ 4 tháng đến 12 tháng.

- HCTHTP ở trẻ em: Khi trẻ mắc HCTHTP phát bệnh trong độ tuổi từ 12 tháng đến 14 tuổi.

- HCTHTP ở trẻ lớn: Khi trẻ mắc HCTHTP khởi phát ở độ tuổi từ 14 đến 18 tuổi.

- Đánh giá mức độ phù khi vào viện: so sánh cân nặng khi vào viện với cân nặng lúc hết phù [2],[21].

+ Không phù: khám lâm sàng không thấy phù, cân nặng không thay đổi.

+ Phù nhẹ: bệnh nhân phù mắt và chân, cân nặng tăng nhỏ hơn 10% trọng lượng cơ thể.

+ Phù vừa: bệnh nhân phù rõ, thoát nhìn đã thấy, cân nặng tăng từ 10 - 20% trọng lượng cơ thể.

+ Phù nặng: cân nặng tăng trên 20% trọng lượng cơ thể kèm theo tràn dịch đa màng như màng bụng, màng phổi, phù hạ nang (ở trẻ trai). Cổ chướng: xác định qua kết quả siêu âm ổ bụng hoặc phát hiện trên lâm sàng.

$$\text{Cách tính \% phù} = \frac{(\text{Cân nặng phù khi to nhất} - \text{Cân nặng khi hết phù}) \times 100}{\text{Cân nặng khi hết phù}}$$

+ Đánh giá tăng huyết áp theo tuổi (dựa bảng phân loại dành cho trẻ em) chẩn đoán tăng huyết áp khi trị số huyết áp tâm thu và hoặc tâm trương tăng trên 99 bách phân vị so với tuổi [93].

+ Ngày nằm viện được tính từ khi bệnh nhân nhập viện đến khi ra viện.

+ Chẩn đoán đái máu: đái máu đại thể khi quan sát thấy nước tiểu có màu đỏ như máu, xầm màu hoặc hồng như nước rửa thịt. Đái máu vi thể khi soi tươi trên vật kính  $40 \geq 2$  lần hồng cầu niệu (++) [94],[95].

- Đặc điểm cận lâm sàng

+ Các xét nghiệm sinh hóa, huyết học: công thức máu, D-Dimer, Fibrinogen, ATTP, AT3, ure, creatinin, protid, albumin, cholesterol, tryglycerid, LDL, HDL,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ , GOT, GPT.

Phân loại thiếu máu dựa vào bảng phân loại thiếu máu của Tổ chức Y tế Thế giới WHO (WHO: World Health Organization), bảng 2.1. dưới đây [96].

**Bảng 2.1: Phân loại mức độ thiếu máu [96]**

Tuổi	Chẩn đoán thiếu máu Hb(g/l)	Thiếu máu mức độ nhẹ	Thiếu máu mức độ vừa	Thiếu máu mức độ nặng
0.5-5	<110	100-109	70-90	<70
5-12	<115	110-114	80-109	<80
12-15	<120	110-119	80-109	<80

- Xét nghiệm sinh hóa máu: Ure máu, Protein máu toàn phần, Albumin máu,  $\text{Ca}^{++}$ , Phospho máu, phosphatase kiềm: Sử dụng phương pháp so màu

với thuốc thử Greimer trên máy DSH tự động Olympus AU-400-AU 2700 (Olympus, Tokyo, Nhật Bản).

- Dựa vào hằng số sinh học người Việt Nam đánh giá [97]

+ Ure máu: bình thường: < 8 mmol/l; Tăng vừa: 10-20 mmol/l; Tăng nặng >20 mmol/l.

+ Creatinin máu: Sử dụng phương pháp jaffe trên máy Olympus AU 400 – AU 2700 (Olympus, Tokyo, Nhật Bản). Đánh giá: bình thường: <100  $\mu$ mol/l; Tăng: 120-200  $\mu$ mol/l; Tăng nặng: >200  $\mu$ mol/l.

+ Protein máu toàn phần: giá trị bình thường là 60-80 g/l xác định là giảm khi protein máu <60 g/l. Chẩn đoán xác định HCTHTP là protein máu < 56 g/l.

+ Albumin máu: Giá trị bình thường là 30-50 g/l. Xác định giảm khi albumin <30 g/l. Chẩn đoán xác định HCTHTP là albumin máu < 25 g/l.

+ Điện giải đồ: Sử dụng phương pháp chọn lọc ion trên máy siemens 744 (Đức). Đánh giá tình trạng rối loạn điện giải dựa vào :

- Na<sup>+</sup>: Bình thường :135-145 mmol/l; Tăng: >150 mmol/l; Giảm: <130 mmol/l.
- K<sup>+</sup>: Bình thường: 3,5-5 mmol/l; Tăng: >5,5 mmol/l; Giảm: < 3 mmol/l
- Ca toàn phần: Định lượng bằng phương pháp so màu. Bình thường: 2,1-2,6 mmol/l; Tăng: >3 mmol/l; Giảm: <1,7 mmol/l.
- Mức lọc cầu thận, được tính theo công thức Swcharzt cải tiến [98]

$$\text{Mức lọc cầu thận} = \frac{h(\text{cm}) \cdot k}{\text{Cre máu}(\mu\text{mol/l})} \quad (\text{ml/phút}/1,73\text{m}^2 \text{ da}).$$

Với hệ số k: Trẻ sơ sinh < 2,5 kg: k = 29,1. Trẻ sơ sinh  $\geq$  2,5 kg: k = 39,7. Trẻ < 2 tuổi: 40. Trẻ từ nữ 2-21 tuổi : k = 48,6. Trẻ nam 2-12 tuổi: k = 48,6. Trẻ nam 12-21 tuổi: k = 61,7.

-Đánh giá tổn thương thận cấp (suy thận cấp) theo theo phân loại RIFLE

[RIFLE: Risk (nguy cơ), Injury (thương tổn), Failure (suy thận), Loss (mất chức năng thận), End Stage Kidney Disease (bệnh thận giai đoạn cuối)] [98].

Chẩn đoán suy thận mạn: mức lọc cầu thận giảm  $< 60$  ml/phút/1,73m<sup>2</sup> da kéo dài trên  $\geq 3$  tháng. Phân chia giai đoạn suy thận mạn dựa vào mức lọc cầu thận (MLCT) theo KDIGO-2013 [99]

+ Giai đoạn 1: MLCT  $\geq 90$  ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup>, MLCT bình thường.

+ Giai đoạn 2: MLCT 60-89 ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup>, MLCT giảm nhẹ.

+ Giai đoạn 3: MLCT 30-59 ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup>, MLCT giảm vừa.

- Giai đoạn 3a: MLCT: 30-59 ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup> .

- Giai đoạn 3b: MLCT: 15-29 ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup>.

+ Giai đoạn 4: MLCT 15-29 ml/ phút/ 1,73m<sup>2</sup>, MLCT giảm nặng.

+ Giai đoạn 5: MLCT  $< 15$  ml/phút/1,73 m<sup>2</sup>, MLCT giảm rất nặng (suy thận mạn giai đoạn cuối hoặc bệnh thận mạn giai đoạn cuối).

+ Thu thập nước tiểu 24 giờ [100]: Khi trẻ ngủ dậy khoảng 8h sáng, cho trẻ đi tiểu (bỏ bãi nước tiểu này, không hứng vào xô). Sau đó trong ngày, khi nào trẻ đi tiểu thì hứng vào xô, cho đến bãi nước tiểu cuối cùng vào 8h sáng ngày hôm sau. Đánh giá: thiếu niệu khi số lượng nước tiểu 0,5-1 ml/ kg/ giờ; Vô niệu khi số lượng nước tiểu  $< 0,5$  ml/ kg/ giờ; Đa niệu khi số lượng nước tiểu  $> 4$  ml/ kg/ giờ.

+ Xét nghiệm tế bào niệu để chẩn đoán nhiễm trùng tiết niệu hoặc đái máu [94],[95]: Đái ra bạch cầu khi: 3 - 5 bạch cầu/vi trường (+);  $> 5$  bạch cầu/vi trường (++);  $> 10$  bạch cầu/ vi trường (+++);  $> 20$  bạch cầu/ vi trường (++++). Đái máu vi thể: 1-2 hồng cầu trong 1 vi trường là (+); Có  $> 3$  hồng cầu trong 1 vi trường là (++); Có 4-5 hồng cầu trong 1 vi trường là (+++); Có 6-7 hồng cầu trong 1 vi trường là (++++). Cây nước tiểu nếu nghi ngờ có nhiễm trùng đường tiểu.

+ Sinh thiết thận chẩn đoán mô bệnh học: bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có chỉ định, đủ điều kiện sinh thiết thận (không có nguy cơ tắc mạch, đồng ý cha mẹ và có sự hợp tác của trẻ) được sinh thiết thận tại khoa Thận lọc máu. Mẫu bệnh phẩm sau khi sinh thiết được gửi đến khoa Giải phẫu bệnh, bệnh viện Nhi Trung ương do bác sĩ chuyên khoa giải phẫu bệnh đọc (Ths. Diệp, Ths. Thạch) để phân loại mô bệnh học.

+ Các xét nghiệm sinh hóa, huyết học, vi sinh nước tiểu: protein/creatinin niệu, tế bào niệu, trụ niệu, cấy nước tiểu để đánh giá đáp ứng với thuốc điều trị và chẩn đoán nhiễm trùng tiết niệu kèm theo.

+ Các xét nghiệm về chẩn đoán hình ảnh: X quang tim phổi, siêu âm ổ bụng, siêu âm tim để đánh giá tràn dịch các màng, hình thái kích thước thận.

Các xét nghiệm sinh hóa huyết học, nước tiểu, chẩn đoán hình ảnh, sinh thiết thận được thực hiện tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

Dựa vào biểu hiện của đái máu (đại thể hoặc vi thể), mức độ tổn thương thận theo RIFLE, giai đoạn suy thận mạn theo KDIGO và phân loại huyết áp để phân loại thể lâm sàng: HCTHTP đơn thuần khi không có tăng huyết áp, không đái máu, không suy thận. HCTHTP không đơn thuần khi có HCTH kết hợp hoặc tăng huyết áp, hoặc suy thận hoặc đái máu.

+ Đánh giá một số biến chứng và tác dụng không mong muốn của thuốc và của bệnh: nhiễm trùng hô hấp, tiết niệu, phúc mạc, viêm mô tế bào.

\*Nhiễm khuẩn đường tiết niệu: sốt cao, rét run, ở trẻ sơ sinh có thể không sốt, đái ít, đái buốt hoặc đái nước tiểu đục như mù. Xuất hiện hồng cầu niệu, bạch cầu niệu (2 lần bạch cầu niệu 2+), cấy nước tiểu giữa dòng có thể có vi khuẩn niệu dương tính, xét nghiệm máu có thể có bạch cầu máu tăng cao, CRP tăng...

\* Viêm phúc mạc tiên phát: bệnh nhân sốt, đau bụng, nôn, ỉa chảy, cảm ứng phúc mạc. Nước màng bụng đục như mù, hoặc trong trường hợp hơi vẩn đục thì phản ứng Rivalta (+).

\* Viêm phổi: Ho, sốt, thở nhanh theo tuổi (2 tháng -12 tháng nhịp thở > 50 lần/phút, trên 12 tháng nhịp thở >40 lần/phút), rút lõm lồng ngực.

\* Viêm mô tế bào: có biểu hiện sưng nóng đỏ, đau tại chỗ trên vị trí nào đó của cơ thể có thể kèm theo sốt cao, rét run, bạch cầu, CPR máu tăng.

\* Hội chứng Cushing: Mặt tròn, mọc ria mép, rối loạn phân bố mỡ, xạm da, dạn da, rậm lông.

Các chỉ số, biến số lâm sàng và cận lâm sàng của trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được so sánh với nhóm trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid từ đó đánh giá các đặc điểm và sự khác biệt các biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng.

#### *2.2.3.2. Mục tiêu 2: Phát hiện các đột biến trên gen NPHS2 ở trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid*

Tất cả đối tượng nghiên cứu được lấy 2ml máu ngoại biên chứa vào ống chuyên dụng chứa sẵn EDTA chống đông, đảm bảo không bị nhiễm bẩn và không bị lẫn các mẫu với nhau. Mỗi ống máu đủ cho 1 lần tách DNA bằng Phenol/Chloroform theo phương pháp thường quy của phòng Xét nghiệm Sinh học Phân tử. Sử dụng E.Z.N.A blood DNA Mini Kit để tách DNA tổng số. Nguyên lý của kit này dựa trên sự hấp thụ chọn lọc của các acid nucleic vào màng silica-gel trong điều kiện nhất định với 4 giai đoạn chính: Phá vỡ tế bào để giải phóng DNA; DNA liên kết với màng silica-gel; Loại bỏ tạp chất trên màng silica-gel với Wash Buffer. Thu DNA và kiểm tra chất lượng DNA tổng số: Sản phẩm DNA sau quy trình tách chiết được kiểm tra theo hai phương pháp: kiểm tra chất lượng DNA bằng phương pháp đo quang và kiểm tra chất lượng DNA thông qua điện di.

Quy trình PCR cho từ exon 1 đến exon 6 được thực hiện theo cặp môi trong bảng 2.2. dưới đây (các cặp môi này do nhóm nghiên cứu thuộc đề tài mã số QG 16.23 cấp ĐHQG tại khoa Y Dược tự thiết kế).

**Bảng 2.2: Mồi từ exon 1 đến exon 6**

<b>Exon</b>	<b>Mồi xuôi</b>	<b>Mồi ngược</b>
1	GCA GCG ACT CCA CAG GGA CT	TCC ACC TTA TCT GAC GCC CC
2	CTCTGACTACTCTGATTTGACTTA	GGCTTCCTGTTTACATTTGAG
3	CTAGGATCATTCTTATGCCA	GAGGTCCATATTACAAATCTGC
4	TCC CTG TTT ATA CCTATT GTC C	CCC ATT CCC TAG ATT GCC
5	AAA GGA GCC CAA GAA TCA AG	AAA TAT TTC AGC ATA TTG GCC
6	GTT TAG GCA TGC TCT CCT C	GATATGGCTATAGTA CTC AGT G

Cách bảo quản mẫu máu: Tại địa điểm thu nhận, mẫu được bảo quản trong điều kiện ngăn đá tủ lạnh dân dụng không quá 3 giờ, sau đó được vận chuyển đảm bảo nguyên tắc an toàn sinh học đến phòng thí nghiệm của bộ môn Y dược học Cơ sở - Khoa Y dược- Đại học quốc gia Hà Nội. Tại phòng xét nghiệm các mẫu máu được giữ lạnh ở  $-30^{\circ}\text{C}$  cho đến khi được sử dụng. Ống chứa máu phải có đầy đủ thông tin: mã bệnh nhân, tên, tuổi, ngày lấy mẫu. Thông tin về mẫu máu của bệnh nhân phải được lưu trong sổ với các thông tin: tên, tuổi, ngày lấy mẫu, tình trạng mẫu khi được bàn giao và khi sử dụng để tách DNA.

- Tách chiết và kiểm tra chất lượng DNA tổng số.
- Phân tích exon 1- exon 6 của gen *NPHS2* theo các bước sau:
  - + Xử lý mẫu
  - +Tách chiết DNA tổng số
  - + Kiểm tra chất lượng DNA tổng số
  - + Khuếch đại exon 1-exon 6 của gen *NPHS2*
  - + Kiểm tra chất lượng sản phẩm PCR
  - +Tinh sạch sản phẩm PCR
  - + Giải trình tự exon1-exon6 của gen *NPHS2*

+ Đọc và phân tích kết quả

Giải trình tự: 20µl sản phẩm PCR lên băng đặc hiệu và sáng nét được gửi đi tinh sạch và giải trình tự tại hãng First Base (Malaysia). Kết quả giải trình tự được đọc bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9. Các nucleotid trên gen sẽ được biểu hiện bằng các đỉnh (peak) với 4 màu tương đương với 4 loại nucleotid A,T,G,C. Trình tự gen *NPHS2* thu được sau khi giải trình tự cho các bệnh nhân nghiên cứu sẽ được so sánh với trình tự gen *NPHS2* tham khảo tại: [https://www.ensembl.org/Transcript: NPHS2-201/ENST00000367615.8](https://www.ensembl.org/Transcript:NPHS2-201/ENST00000367615.8). Các đột biến của *NPHS2* phát hiện được ở các bệnh nhân nghiên cứu sẽ được so sánh với dữ liệu từ Human Gene Mutation database (HGMD), <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=NPHS2> và so sánh với dữ liệu của uỷ ban danh pháp Cytochrome P450 allele người. Đọc và phân tích các đột biến gen *NPHS2* được thực hiện tại khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các đột biến gen xác định được phân loại thành các thể sau [101]:

Đột biến đồng nghĩa/im lặng (synonymous/silent): Khi đột biến làm thay đổi nucleotit này bằng nucleotit khác nhưng không làm thay đổi amino acid.

Đột biến sai nghĩa (missense): Khi có sự thay thế nucleotit này thành nucleotit khác dẫn đến sự thay đổi amino acid.

Đột vô nghĩa (nonsense): Tạo stop codon là dừng quá trình tổng hợp chuỗi polypeptit là thay đổi cấu trúc protein.

Các nguyên liệu và phương tiện nghiên cứu tách DNA và giải trình tự PCR được thống kê trong phụ lục III. Để đánh giá tỷ lệ, tần suất xuất hiện các đột biến gen tại 6 exon của gen *NPHS2* trên 96 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid chúng tôi kết hợp phân tích trên 46 bệnh nhân được chẩn đoán mắc HCTHTP nhạy cảm steroid từ đó đánh giá sự khác biệt.

*2.2.3.3. Mục tiêu 3: Đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng với đột biến trên gen NPHS2 ở trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid*



Dựa vào kết quả giải trình tự và các thông tin lâm sàng, cận lâm sàng thu thập được, phân tích các mối tương quan giữa kiểu hình và kiểu gen của bệnh nhân. Đối tượng nghiên cứu được phân thành hai nhóm, nhóm có đột biến gen và nhóm không có đột biến gen từ đó so sánh mức độ biểu hiện cận lâm sàng: mức độ phù, mức độ tái phát, tần xuất tái phát, thời gian nằm viện, số ngày nằm viện.

Dựa vào kết quả xét nghiệm cận lâm sàng đối chiếu với những thay đổi di truyền của gen *NPHS2* đã được xác định là đột biến ở trẻ mắc HCTHTP. So sánh mức độ thay đổi các chỉ số sinh hóa máu, huyết học, chức năng lọc của cầu thận, so sánh các chỉ số ure, creatinin máu, tiến triển của bệnh, phân giai đoạn suy thận mạn, tỷ lệ tử vong, giữa bệnh nhân có đột biến và không có đột biến, giữa nhóm nhạy cảm steroid và nhóm kháng thuốc steroid. Từ đó đánh giá vai trò, tác động của đột biến gen *NPHS2* trên nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.

Tìm mối tương quan giữa đột biến gen và đáp ứng thuốc steroid thông qua đó đánh giá vai trò ảnh hưởng của các đột biến gen *NPHS2* trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và so sánh với nhóm nhạy cảm steroid.

Theo dõi tiến triển của bệnh cũng như đáp ứng với thuốc điều trị để đánh giá những ảnh hưởng của đột biến gen *NPHS2*.

### **2.3. Công cụ thu thập thông tin và xử lý kết quả**

Bệnh nhân được thu thập theo mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất, bệnh án xây dựng trên cơ sở bộ câu hỏi và các bảng kê các chỉ số cận lâm sàng.

Sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện (thu thập bệnh nhân mắc HCTHTP nhập viện trong 12 tháng). Sử dụng phần mềm SPSS version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) để xử lý các kết quả thống kê, giải trình tự gen *NPHS2* được đọc bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9.

Các số liệu được diễn tả dưới dạng các phân bố về tần số (frequency distributions) hoặc các tham số thống kê mô tả và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm, hoặc trị số trung bình  $\pm$  SD (SD: Standard Definition) và trung vị. Tuổi trung bình của các bệnh nhân của từng nhóm kiểu hình được so sánh với nhau. Giá trị trung bình hoặc trung vị của các biến liên tục như albumin máu, protein máu, ure máu, creatinin máu, protein nước tiểu, protein/creatinin niệu, điện giải đồ (Na<sup>+</sup>; K<sup>+</sup> và Cl<sup>-</sup>), tế bào máu, huyết thanh của các nhóm bệnh chứng và kiểu gen được so sánh với nhau sử dụng T-test. Các giá trị trung bình được so sánh với nhau sử dụng test ANOVA khi so sánh nhiều giá trị trung bình hoặc T-test khi so sánh hai giá trị trung bình nếu là phân bố chuẩn (kiểm định lại bằng test BONFERRONI). So sánh tỷ lệ phần trăm các triệu chứng lâm sàng ở các nhóm bệnh nhân theo nhóm bệnh và nhóm nghiên cứu, nhóm kiểu gen với các biểu hiện trên lâm sàng, cận lâm sàng, tính tỷ suất chênh OR (odds ratio) giữa các nhóm sử dụng test  $X^2$  hoặc FISHER'S EXACT (nếu n nhỏ). So sánh tỷ lệ phần trăm suy thận, suy thận mạn giai đoạn cuối, tỷ lệ tử vong và tính tỷ suất chênh OR giữa nhóm bệnh, nhóm chứng, các nhóm kiểu gen bằng test  $X^2$  hoặc FISHER'S EXACT (nếu n nhỏ). Giá trị  $p \leq 0,05$  được coi là khác nhau có ý nghĩa thống kê.

#### **2.4. Đạo đức trong nghiên cứu**

Lợi ích đối với người bệnh: được cung cấp thêm các thông tin về di truyền là cơ sở để tư vấn, tiên lượng tiến triển bệnh.

Lợi ích đối với khoa học: kết quả nghiên cứu sẽ là bằng chứng khoa học về dữ liệu đột biến gen *NPHS2* ở người Việt Nam mắc HCTHTP, đóng góp cho dữ liệu về đột biến gen *NPHS2* ở ngân hàng gen.

Giá trị đối với công tác đào tạo và thực hành lâm sàng: kết quả nghiên cứu sẽ giúp các bác sỹ lâm sàng có cơ sở để tư vấn điều trị cũng như tiên lượng bệnh, làm cơ sở để các nhà lâm sàng cá thể hóa điều trị đối với từng bệnh nhân.

Sự chấp thuận: Đề tài đã thông qua và chấp thuận của Hội đồng Y đức, bệnh viện Nhi Trung ương theo quyết định số 796/BVNTW-VNCSKTE. Có sự đồng ý của cha mẹ, người chăm sóc đối tượng nghiên cứu, được giải thích, tư vấn và ký cam kết tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Mức độ rủi ro: đây là nghiên cứu không can thiệp, chi phí xét nghiệm xác định các đột biến gen *NPHS2* trên đối tượng nghiên cứu được miễn phí hoàn toàn từ kinh phí đề tài cấp Đại học Quốc gia Hà Nội tại Khoa Y Dược.

Kết quả nghiên cứu phân tích gen được sử dụng trong nghiên cứu đã được thông qua tại Hội đồng đánh giá, nghiệm thu đề tài cấp Đại học Quốc gia Hà Nội mã số QG16.23. Có sự chấp thuận của chủ nhiệm đề tài khi sử dụng kết quả phân tích gen. Người thực hiện nghiên cứu là thư ký khoa học cho đề tài QG16.23, cùng tham gia nghiên cứu phân tích gen và trực tiếp khám bệnh, thu thập số liệu, điều trị và theo dõi trên đối tượng nghiên cứu.

## **2.5. Các loại sai số và cách khắc phục**

### **2.5.1. Sai số mắc phải**

- Sai số trong quá trình lựa chọn bệnh nhân.
- Sai số trong quá trình tiến hành xét nghiệm và thí nghiệm: sai số hệ thống do máy móc hoặc do các loại test, kit. Sai số do người làm xét nghiệm hoặc thí nghiệm, do ảnh hưởng của môi trường tác động lên kết quả xét nghiệm.
- Sai số trong quá trình thu thập số liệu: Có thể gặp trong quá trình thăm khám bệnh nhân, phát hiện và ghi chép các biểu hiện lâm sàng. Sai số trong quá trình nhập liệu và phân tích số liệu.

### ***2.5.2. Cách khắc phục sai số***

- Đối với sai số khi lựa chọn bệnh nhân: khắc phục bằng việc cố gắng lựa chọn các bệnh nhân có đặc điểm về tuổi giới tương đồng với nhau, lấy ngẫu nhiên đảm bảo khách quan, lấy trong khoảng thời gian xác định (trong 1 năm).

- Đối với sai số trong quá trình xét nghiệm: khắc phục bằng việc chuẩn hóa quy trình xét nghiệm, các bộ test, kit trước khi thực hiện. Đào tạo tập huấn cán bộ phòng xét nghiệm làm thành thạo các quy trình, chuẩn hóa các loại máy móc, trang thiết bị ngay trước khi thực hiện.

- Đối với sai số trong quá trình thu thập số liệu: làm sạch số liệu trước khi nhập, phiếu thu thập thông tin và bệnh án thống nhất.

- Nghiên cứu sinh trực tiếp thăm khám, điều trị, thu thập thông tin và theo dõi bệnh nhân nên hạn chế sai số này.

## CHƯƠNG 3

### KẾT QUẢ

#### 3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.

##### 3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

- Tuổi trung bình của bệnh nhân là  $5,8 \pm 3,6$  tuổi, nhỏ nhất 4 tháng lớn nhất 16 tuổi.

- Tuổi mắc (tuổi khởi phát bệnh) là  $4,09 \pm 2,87$  (4 tháng-14 tuổi).

- Thời gian mắc bệnh trung bình là  $2,5 \pm 0,2$  năm.

- Thời gian từ khi khởi phát đến thời điểm nghiên cứu trung bình là  $1,5 \pm 0,3$  năm. Thời gian theo dõi trung bình là  $1,2 \pm 0,4$  năm.

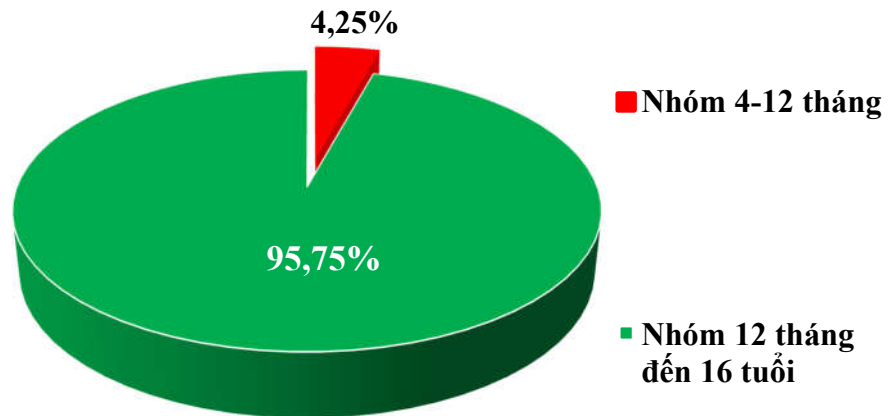
- Có 100 trẻ trai chiếm 71,4%, 40 trẻ gái chiếm 28,6%, tỷ lệ trẻ trai/trẻ gái là 2,5.

- Khi kết thúc nghiên cứu đã có 9 bệnh nhân tử vong trong đó có 8 bệnh nhân tử vong do suy thận giai đoạn cuối, 1 bệnh nhân tử vong vì sốc nhiễm khuẩn, tất cả bệnh nhân tử vong đều thuộc nhóm kháng thuốc steroid.

**Bảng 3.1: So sánh tuổi trung bình và tuổi khởi phát bệnh của đối tượng nghiên cứu khi bắt đầu nghiên cứu**

Phân nhóm	Nhóm nhạy cảm steroid	Nhóm kháng thuốc steroid	p
Tuổi trung bình			<i>T-test</i>
Tuổi khi nghiên cứu (năm)	$5,32 \pm 3,1$	$5,7 \pm 3,8$	0,53
Tuổi khởi phát bệnh (năm)	$4,5 \pm 2,7$	$3,9 \pm 2,9$	0,25

**Nhận xét:** Hai nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm steroid và kháng thuốc steroid không có sự khác biệt về tuổi cũng như tuổi khởi phát bệnh khi bắt đầu nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).



**Biểu đồ 3.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

*Nhận xét:* Bệnh nhân nhóm tuổi nhỏ chiếm 4,25%, 95,75% trong nhóm tuổi từ 12 tháng đến 16 tuổi.

**Bảng 3.2: Phân bố về giới của của đối tượng nghiên cứu**

<b>Giới</b> \ <b>Phân nhóm</b>	<b>Nhạy cảm steroid (n,%)</b>	<b>Kháng thuốc steroid (n,%)</b>	<b>Tổng, p</b> <i>Chi-Square Tests</i>
Trẻ trai	33 (71,7%)	67 (71,3%)	100 (71,4%)
Trẻ gái	13 (28,3%)	27 (28,7%)	40 (28,6%)
<b>Tổng</b>	46	94	140 ( $\chi^2 = 0,003$ ; p=0,955 )

*Nhận xét:* Hai nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm steroid và kháng thuốc steroid không có sự khác biệt về phân bố giới với  $\chi^2 = 0,003$ ; p>0,05.

### 3.1.2. Đặc điểm lâm sàng

**Bảng 3.3: Liên quan tính chất phát bệnh tại thời điểm nghiên cứu của đối tượng nghiên cứu khi bắt đầu nghiên cứu**

<b>Phân nhóm</b> <b>Tính chất</b>	<b>Nhạy cảm steroid</b>	<b>Kháng thuốc steroid</b>	<b>Tổng, p</b> <i>Chi-Square Tests</i>
Khởi phát	32 (69,6%)	40 (42,6%)	72
Tái phát	14 (30,4%)	54 (57,4%)	68
<b>Tổng</b>	46	94	140 ( $\chi^2 = 9,022$ ; p=0,003)

*Nhận xét:* Tại thời điểm nghiên cứu, nhóm HCTHTP kháng thuốc steroid số bệnh nhân tái phát cao hơn nhóm nhạy cảm steroid, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê  $\chi^2=27,49$ ; p<0,05.

**Bảng 3.4: Liên quan mức độ tái phát của đối tượng nghiên cứu**

<b>Phân nhóm</b> <b>Mức độ</b>	<b>Nhạy cảm steroid</b>	<b>Kháng thuốc steroid</b>	<b>Tổng, p</b> <i>Chi-Square Tests</i>
Tái phát dày	7 (15,2%)	58 (62,4%)	65
Tái phát thưa	39 (84,8%)	35 (37,6%)	74
<b>Tổng</b>	46	93	139 ( $\chi^2 = 27,49$ ; p=0,0001)

*Nhận xét:* Bệnh nhân mắc HCTHTP nhóm kháng thuốc steroid có số tái phát dày cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm steroid, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 27,49$ ; p<0,05.

**Bảng 3.5: So sánh số ngày nằm viện trung bình và số lần nhập của đối tượng nghiên cứu trong thời gian 12 tháng**

<b>Phân nhóm</b> <b>Số ngày/lần</b>	<b>Nhạy cảm steroid</b>	<b>Kháng thuốc steroid</b>	<b>p</b> <i>T-test</i>
Số ngày nằm viện (ngày)	8,8 ± 4,7	24,9 ± 23,5	0,0001
Số lần tái phát (lần)	1,5 ± 0,7	4,2 ± 1,6	0,0001

*Nhận xét:* Theo dõi trong 12 tháng thấy nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có số ngày nằm viện và số lần tái phát cao hơn hẳn nhóm bệnh nhân nhạy cảm steroid, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

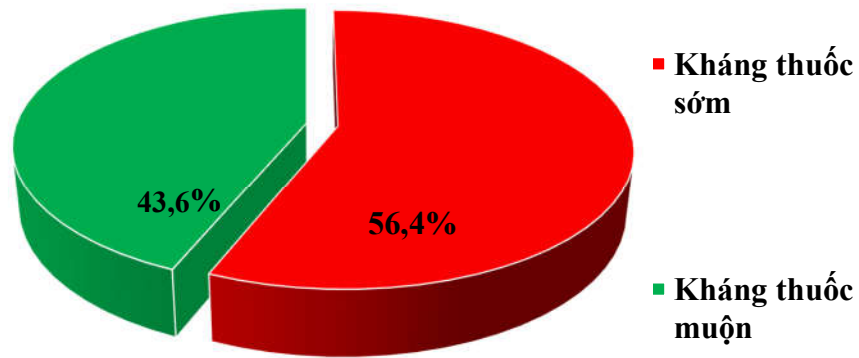
**Bảng 3.6: Liên quan thể lâm sàng của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu**

<b>Phân nhóm</b> <b>Thể lâm sàng</b>	<b>Nhạy steroid (n,%)</b>	<b>Kháng thuốc Steroid (n,%)</b>	<b>Tổng, p (Fisher's Exact Test)</b>
Đơn thuần	46 (100%)	76 (79,8%)	121
Không đơn thuần	0 (0%)	19 (20,2%)	19
<b>Tổng</b>	46	94	140 (p=0,001)

*Nhận xét:* Tất cả số bệnh nhân mắc HCTHTP thể không đơn thuần đều thuộc nhóm kháng thuốc steroid, trong khi đó nhóm nhạy cảm steroid không gặp bệnh nhân thể không đơn thuần, sự khác biệt với  $p < 0,05$ .

Trong số 19 bệnh nhân có biểu hiện thể lâm sàng là HCTH không đơn thuần, chúng tôi thấy suy mạn gặp 14 bệnh nhân (15,9%), đái máu 9 bệnh nhân (9,6%), cao huyết áp 8 bệnh nhân (8,5%)





**Biểu đồ 3.2: Tính chất kháng thuốc của bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid**

*Nhận xét:* Tỷ lệ bệnh nhân kháng thuốc sớm là 56,4%, kháng muộn 43,6%.

**Bảng 3.7: Liên quan mức độ phù của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện**

Phân nhóm / Mức độ phù	Nhạy cảm steroid (n,%)	Kháng thuốc steroid (n,%)	Tổng, p (Chi-Square Tests)
Phù nhẹ	5 (10,9%)	3 (3,2%)	8
Phù vừa	35 (76,1%)	35 (37,3%)	70
Phù nặng	6 (13,0%)	56 (59,6%)	62
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	139 ( $\chi^2 = 27,61$ ; $p=0,0001$ )

*Nhận xét:* Nhóm HCTHTP kháng thuốc steroid có 56 bệnh nhân (chiếm 59,6%) bị phù mức độ nặng cao hơn hẳn nhóm bệnh nhân nhạy cảm steroid chỉ có 6 bệnh nhân (chiếm 13,0%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 27,61$ ;  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.8: Liên quan tràn dịch đa màng của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện**

<b>Phân nhóm</b> <b>TD* đa màng</b>	<b>Nhạy cảm steroid (n,%)</b>	<b>Kháng thuốc steroid (n,%)</b>	<b>Tổng, p (Fisher's Exact Test)</b>
Có tràn dịch đa màng	3 (6,5%)	53 (65,4%)	56
Không có TD đa màng	43 (93,5%)	41 (43,6%)	84
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	140 (p=0,0001)

TD\*: tràn dịch

*Nhận xét:* Nhóm HCTHTP kháng thuốc steroid có 53 bệnh nhân (chiếm 65,4%) bị tràn dịch đa màng cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm thuốc steroid chỉ có 3 bệnh nhân (chiếm 6,5%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.9: Liên quan số bệnh nhân bị nhiễm trùng khi tái phát bệnh của đối tượng nghiên cứu**

<b>Phân nhóm</b> <b>Nhiễm trùng</b>	<b>Nhạy cảm steroid (n,%)</b>	<b>Kháng thuốc steroid (n,%)</b>	<b>Tổng, p (Fisher's Exact Test)</b>
Có nhiễm trùng	1 (2,2%)	31 (33,0%)	32
Không nhiễm trùng	45 (97,8%)	63 (67,0%)	108
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	140 (p=0,0001)

*Nhận xét:* Nhóm HCTHTP kháng thuốc steroid chỉ có 31 bệnh nhân (chiếm 33,0%) bị nhiễm trùng khi tái phát cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm thuốc steroid chỉ có 1 bệnh nhân (2,2%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### 3.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng

**Bảng 3.10: So sánh chỉ số sinh hóa máu và nước tiểu trung bình của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện**

<b>Chỉ số</b>	<b>Phân nhóm</b>	<b>Nhạy cảm steroid</b>	<b>Kháng thuốc steroid</b>	<b>p</b> <i>T-test</i>
Protein máu (g/l)		43,4 ± 5,1	38,8 ± 4,9	0,001
Albumin máu		14,6 ± 2,4	13,3 ± 2,2	0,002
Protein niệu (g/l)		13,1 ± 6,1	18,9 ± 13,9	0,001
Protein/creatinin niệu (mg/mmol)		1.808 ± 866	2.556 ± 1499	0,001
Ure máu (mmol/l)		4,6 ± 2,2	6,6 ± 5,8	0,004
Creatinin máu (mmol/l)		42,5 ± 14,5	68,9 ± 106,8	0,02
Cholesterol máu (mmol/l)		10,7 ± 2,5	11,7 ± 3,9	0,09

*Nhận xét:* Nhóm kháng thuốc steroid có nồng độ protein trung bình và albumin trung bình trong máu thấp hơn, ngược lại protein niệu và chỉ số protein/creatinin niệu cao hơn nhóm nhạy cảm. Chỉ số ure/creatinin máu nhóm kháng thuốc steroid cũng cao hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.11: Liên quan thay đổi mức lọc cầu thận của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện**

<b>Phân nhóm</b> <b>Phân loại</b>	<b>Nhạy cảm steroid (n,%)</b>	<b>Kháng thuốc steroid (n,%)</b>	<b>Tổng, p (Fisher's Exact Test)</b>
MLCT* bình thường	40 (87,0%)	69 (74,1%)	108
Nguy cơ	3 (6,5%)	10 (10,8%)	13
Tổn thương	3 (6,5%)	9 (9,7%)	12
Suy thận	0 (0%)	4 (4,3%)	4
Suy thận giai đoạn cuối	0 (0%)	2 (2,2%)	2
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	140 (p = 0,03)

MLCT\*: Mức lọc cầu thận

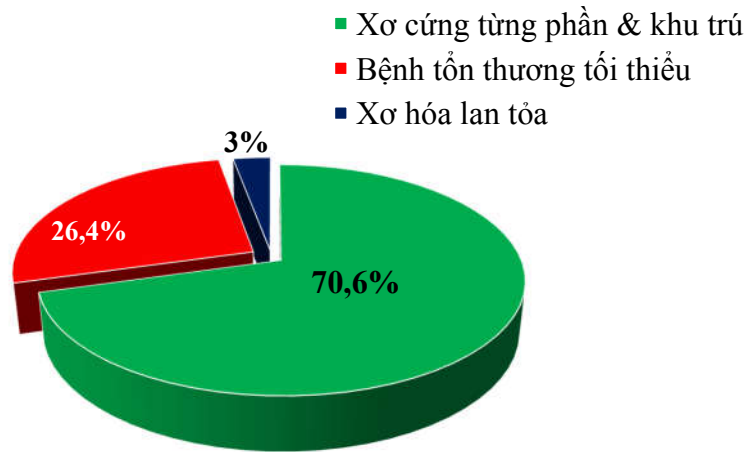
*Nhận xét:* Không có bệnh nhân nào nhóm nhạy cảm steroid bị suy thận hoặc suy thận giai đoạn cuối tại thời điểm nhập viện, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.12: So sánh kết quả xét nghiệm huyết học của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện**

<b>Phân nhóm</b> <b>Kết quả</b>	<b>Nhạy cảm steroid</b>	<b>Kháng thuốc steroid</b>	<b>p</b> <i>T-test</i>
Số lượng hồng cầu (T/l)	4,2 ± 0,63	4,1 ± 0,4	0,40
Số lượng bạch cầu (G/l)	11,07 ± 4,5	11,06 ± 0,51	0,509
Số lượng tiểu cầu (G/l)	335 ± 113	349 ± 133	0,77
Huyết sắc tố (g/l)	134,4 ± 15,5	130,4 ± 18,2	0,202

*Nhận xét:* Sự khác biệt số lượng các tế bào trong máu ngoại vi tại thời điểm nhập viện giữa nhạy cảm và kháng thuốc steroid không có ý nghĩa với  $p > 0,05$ .

Trong số 94 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid chúng tôi chỉ sinh thiết được 34 bệnh nhân (do cha mẹ trẻ không đồng ý hoặc không có sự hợp tác của trẻ). Kết quả được thể hiện trong biểu đồ 3.3. dưới đây:



**Biểu đồ 3.3: Phân bố bệnh nhân theo thể mô bệnh học của nhóm kháng thuốc steroid**

*Nhận xét:* HCTHTP kháng thuốc steroid thể mô bệnh học chủ yếu là FSGS 70,6%, thể MCD chỉ gặp 26,4%, có 1 (3%) bệnh nhân bị xơ hóa lan tỏa.

**Bảng 3.13: Liên quan thay giai đoạn suy thận mạn của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Giai đoạn STM	Nhạy cảm steroid	Kháng thuốc steroid	Tổng, p (Fisher's Exact Test)
Giai đoạn 1	39 (84,4%)	61 (64,9%)	100
Giai đoạn 2	6 (13,0%)	9 (9,6%)	13
Giai đoạn 3	1 (2,2%)	7 (7,4%)	8
Giai đoạn 4	0	2 (2,1%)	2
Giai đoạn 5	0	15 (16,0%)	15
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	140 (p=0,008)

STM: Suy thận mạn

*Nhận xét:* Nhóm nhạy cảm steroid chưa có bệnh nhân tiến triển đến suy thận giai đoạn 4 và 5, trong khi đó nhóm kháng thuốc steroid có 2 bệnh nhân ở giai đoạn 4, 15 bệnh nhân giai đoạn 5, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.14: Liên quan tỷ lệ tử vong của đối tượng nghiên cứu khi kết thúc nghiên cứu**

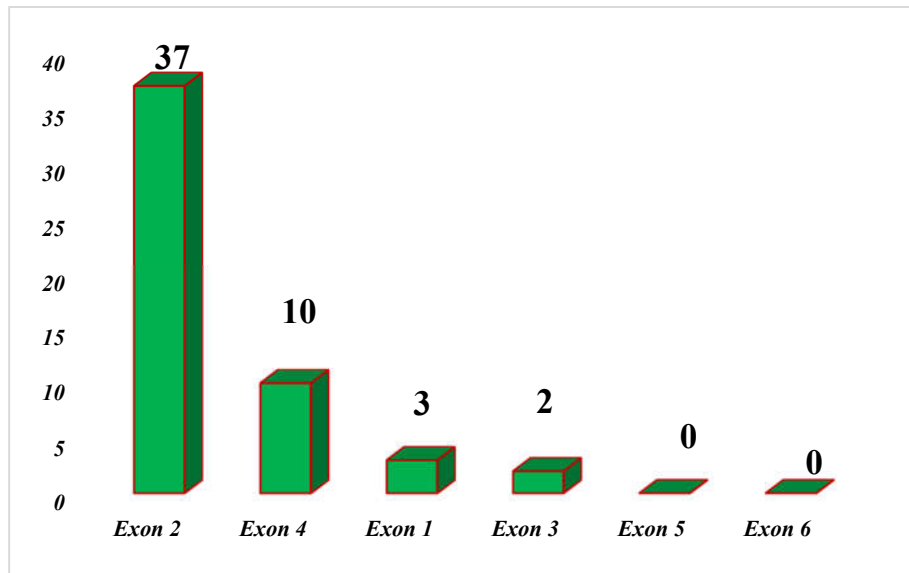
Phân nhóm Tử vong	Đáp ứng thuốc steroid		Tổng, p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Nhạy n (%)	Kháng n (%)	
Tử vong	0 (0%)	9 (9,6%)	9
Sống	46 (100%)	85 (90,4%)	131
<b>Tổng</b>	46 (100%)	94 (100%)	140 (p=0,03)

*Nhận xét:* Khi kết thúc nghiên cứu, không có bệnh nhân nào nhóm nhạy cảm steroid bị tử vong, trong khi đó nhóm kháng thuốc steroid có 9 bệnh nhân (9,6%) tử vong, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### 3.2. Kết quả giải trình tự 6 exon (ex1-ex6) gen NPHS2

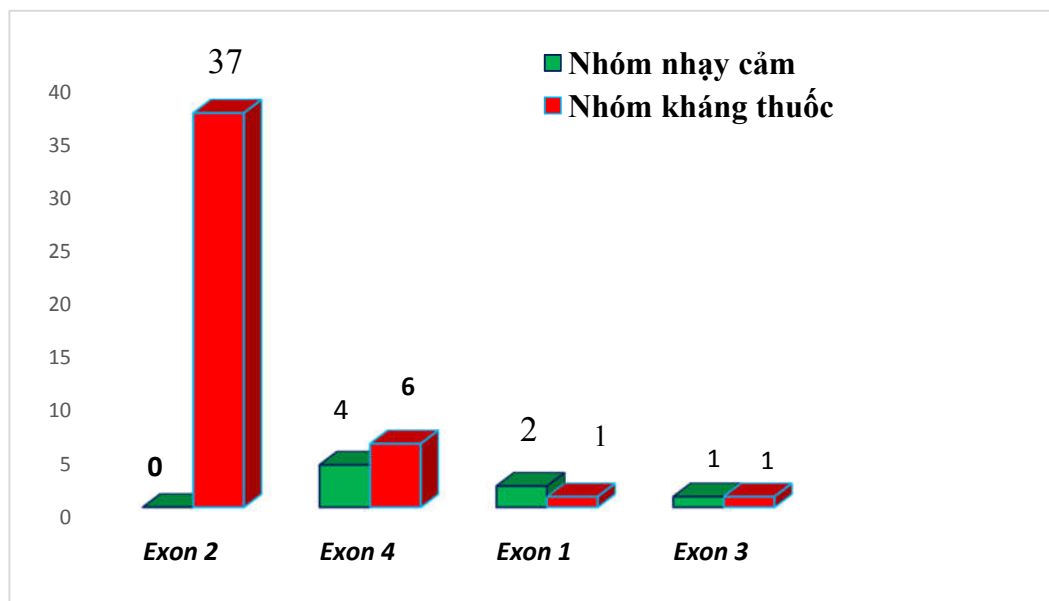
#### 3.2.1. Kết quả giải trình tự tìm đột biến gen NPHS2

Chúng tôi đã giải trình tự 6 exon của gen *NPHS2* (từ exon 1 đến exon 6), đã xác định được 5 thể đột biến với tần số 52 lần ở 51 trẻ (1 trường hợp mang 2 đột biến tại exon 4 thuộc nhóm kháng thuốc steroid). Tỷ lệ các đột biến gen *NPHS2* đã xác định được chung là 36,4%, trong đó nhóm kháng thuốc steroid có 44 trẻ (chiếm 31,4%), nhóm nhạy cảm có 7 trường hợp (chiếm 5%). Tỷ lệ trẻ mang đột biến gen *NPHS2* ở nhóm kháng thuốc 46,8%, nhóm nhạy cảm là 15,2%. Trong 52 đột biến đã xác định được, có 45 đột biến đồng nghĩa, 6 đột biến sai nghĩa. Đột biến đồng nghĩa xác định được chủ yếu tại exon 2 của gen *NPHS2* với 37/52 trường hợp (71,2%) và chỉ xuất hiện ở nhóm trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid. Có 51 đột biến dạng dị hợp, 1 đột biến dạng đồng hợp 288C>T (S96S).



**Biểu đồ 3.4: Phân bố số đột biến trên 6 exon của gen NPFS2**

*Nhận xét:* Đa số các đột biến xác định tại exon 2 của gen NPFS2 (37/52), tiếp theo là ở exon 4 có 10 đột biến.



**Biểu đồ 3.5: Phân bố đột biến trên từng exon của gen NPFS2 ở hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid**

*Nhận xét:* Đột biến tại exon 2 chỉ có ở nhóm kháng thuốc steroid. Đột biến tại exon 4, exon 3 và exon 1 xuất hiện trên cả nhóm nhạy cảm thuốc steroid.

**Bảng 3.15: Tần số và tỷ lệ thể đột biến đã xác định được trên gen NPHS2**

Đột biến Exon	Các đột biến gen NPHS2		Tần số	Tỷ lệ %
	c.DNA	protein		
Exon 2	288C>T	p.S96S	37	71,2
Exon 4	507C>T	p.L169F	4	7,7
	425G>A	p.G150G	6	11,5
Exon 1	102G>A	p.G34G	3	5,7
Exon 3	385G>T	p.Q128H	2	3,8
<b>Tổng số</b>			<b>52</b>	<b>100%</b>

*Nhận xét:* 71,2% các đột biến đã xác định được xuất hiện tại exon 2 của gen NPHS2, exon 4 có 10 đột biến chiếm 19,2%, exon 1, exon 3 chiếm tỷ lệ thấp.

**Bảng 3.16: Phân bố tần số và tỷ lệ đột biến của 52 đột biến gen NPHS2 ở hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid**

Đột biến Phân nhóm	Nhạy cảm steroid (n,%)	Kháng thuốc steroid (n,%)	Tổng n (%), p (Fisher's Exact Test)
Exon 2: 288C>T (S96S)	0 (0%)	37 (71,2%)	37 (71,2)
Exon 4: 507C>T(L169F)	0 (0%)	4 (7,7%)	4 (7,7)
Exon 4: 452G>A (G150G)	4 (7,7%)	2 (3,8%)	6 (11,5)
Exon 1: 102G>A (G34G)	2 (3,8%)	1 (1,9%)	3 (5,7)
Exon 3: 385G>T (Q128H)	1 (1,9%)	1 (1,9%)	2 (3,8)
<b>Tổng</b>	<b>7</b>	<b>45</b>	<b>52 (100%), 0,0001</b>

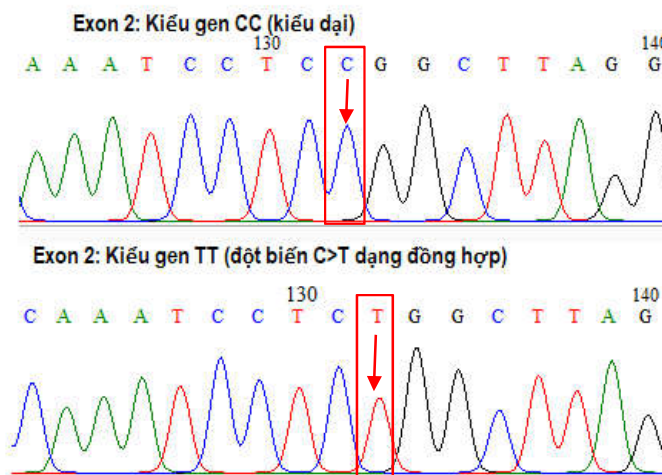
*Nhận xét:* Nhóm kháng thuốc steroid thấy đột biến trên cả 4 exon của gen NPHS2, tại exon 2 chiếm 71,2%. Nhóm nhạy cảm steroid thấy đột biến trên exon 4, exon 1 và exon 3 nhưng với tỷ lệ thấp hơn nhiều. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .



### 3.2.2. Minh họa kiểu hình và kiểu gen ở một số bệnh nhân

<i>Kiểu hình</i>		<i>Kiểu gen</i>
<p>Hoàng Văn T, giới: nam</p> <p>Khởi phát lúc 6 tháng tuổi.</p> <p>Chẩn đoán:</p> <p>HCTHTP kháng thuốc sớm, không đơn thuần (suy thận), thời gian bị bệnh 10 tháng.</p> <p>Lâm sàng: Phù to, tràn dịch đa màng; Nhiễm trùng; Suy thận giai đoạn cuối khi 10 tháng và tử vong tại nhà.</p>		<p>Exon 2</p> <p>288C&gt;T</p> <p>(S96S)</p>

**Hình 3.1: Kiểu hình trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

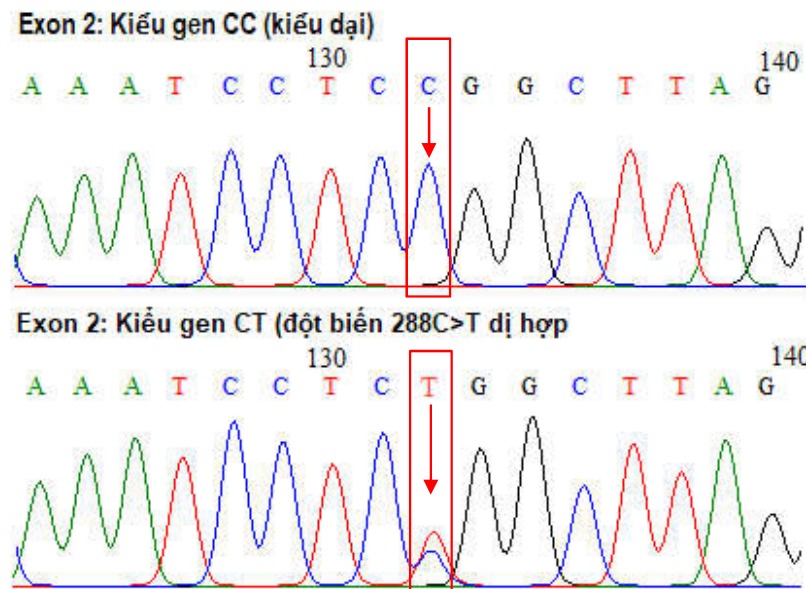


**Hình 3.2: Hình ảnh kiểu dại và đột biến 288C>T (S96S) đồng hợp trên đối tượng nghiên cứu**

**Nhận xét:** Đột biến đồng nghĩa 288C>T (S96S) đồng hợp do thay thế nucleotid tại vị trí 16170 C>T làm cho bộ ba thứ 96 từ TCC thành TCT cùng mã hóa Serine.

<i>Kiểu hình</i>		<i>Kiểu gen</i>
Hoàng Bá T nam		Exon 2
6 tuổi, thời gian bị bệnh 12 tháng		288C>T
Chẩn đoán: HCTHTP kháng thuốc sớm		(S96S)
Lâm sàng: Phù to		
Tràn dịch đa màng, Nhiễm trùng, Suy thận giai đoạn cuối sau 24 tháng. Tử vong do suy thận giai đoạn cuối.		

**Hình 3.3: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**



**Hình 3.4: Hình ảnh kiểu đại và dị hợp tử chứa đột biến 288C>T (S96S)**

**Nhận xét:** Đột biến đồng nghĩa 288C>T (S96S) dị hợp do thay thế nucleotid tại vị trí 16170 C>T làm cho bộ ba thứ 96 từ TCC thành TCT cùng mã hóa Serine.

**Kiểu hình**

Nguyễn Vũ Ngọc K nam; 12 tuổi

Chẩn đoán:

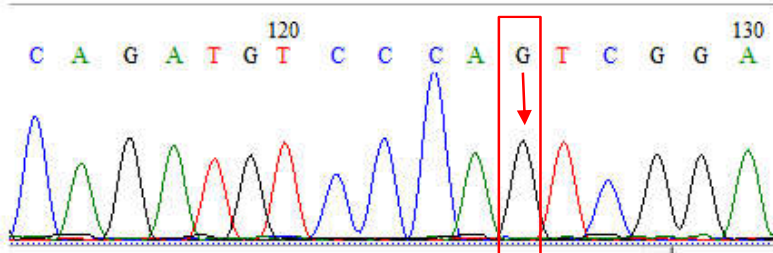
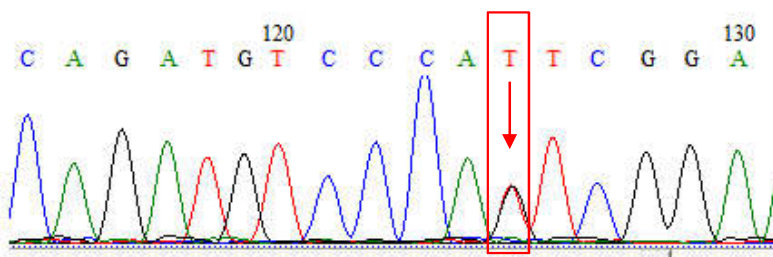
HCTHTP kháng thuốc muộn, thể không đơn thuần (tăng huyết áp), thời gian bị bệnh 7 năm.

Lâm sàng: Phù vừa; Cushing; mô bệnh học trên sinh thiết thận thể FSGS

**Kiểu gen**

Exon 3:  
385G>T  
(Q128H)

**Hình 3.5: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

**Exon 3: Kiểu gen GG (Kiểu đại)****Exon 3: Kiểu gen GT (Dị hợp)**

**Hình 3.6: Hình ảnh kiểu đại và dị hợp tử chứa đột biến 385G>T (Q128H)**

**Nhận xét:** Đột biến sai nghĩa 387G>T (Q128H) dị hợp do thay thế nucleotid G>T làm cho bộ ba thứ 128 từ CAG (mã hóa Glutamin) thành CAT (mã hóa Histamin).

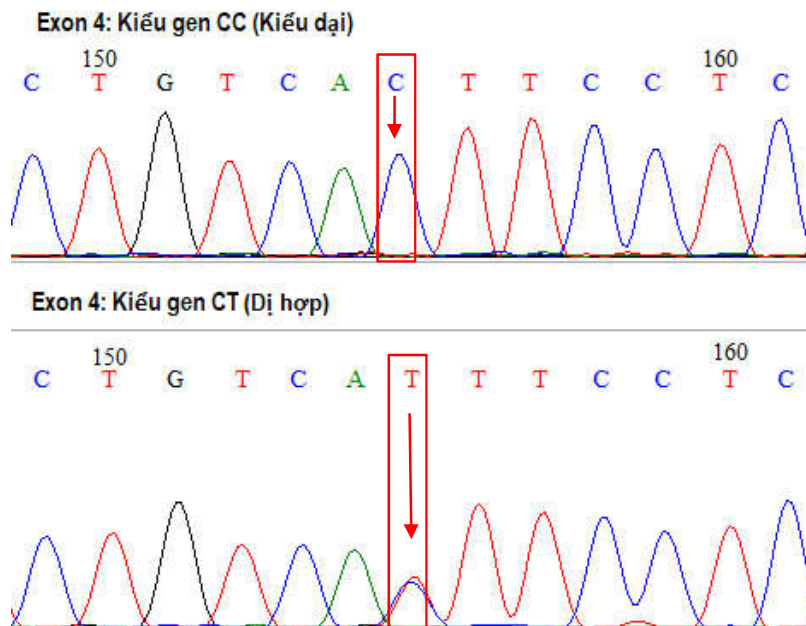
**Kiểu hình**

Kiều Thị Hải M;  
 9 tuổi, nữ  
 Chẩn đoán:  
 HCTHTP kháng thuốc  
 muộn, thời gian mắc 5 năm.  
 Thở lâm sàng: không đơn  
 thuần (đái máu)  
 Lâm sàng: phù nặng; mô  
 bệnh học: FSGS. Suy thận  
 giai đoạn cuối, chờ ghép  
 thận.

**Kiểu gen**

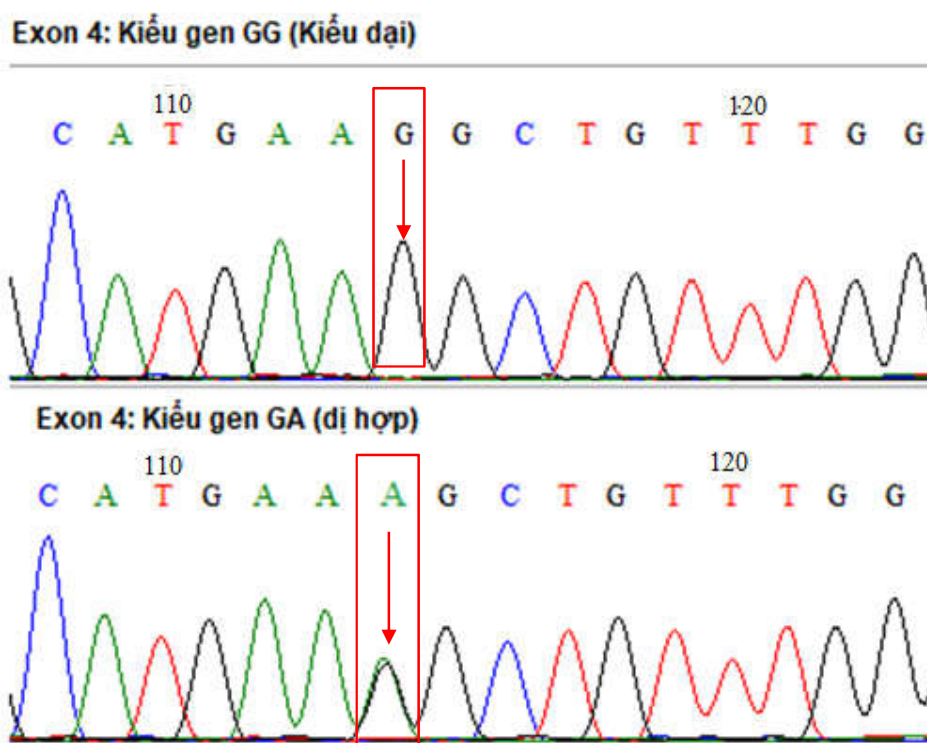
Exon 4:  
 507 C>T  
 (L169F)  
 và 452 G>A  
 (G150G)

**Hình 3.7: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**



**Hình 3.8:**  
**Hình ảnh**  
**kiểu gen bình**  
**thường và đột**  
**biến 507 C>T**  
**(L169F) dị**  
**hợp**

**Nhận xét:** Đột biến sai nghĩa 507 C>T (L169F) tại exon 4 làm cho bộ ba thứ 169 là CTT mã hóa Leucin thành TTT mã hóa Phenylalanin.



**Hình 3.9: Hình ảnh kiểu gen bình thường và đột biến 452G>A trên bệnh nhân mang 2 đột biến tại exon 4.**

**Nhận xét:** Bệnh nhân có kiểu hình là trẻ nữ bị HCTHTP kháng thuốc steroid, mang hai đột biến sai nghĩa là 507C>T (L169F) và đột biến đồng nghĩa 452G>A (G150G).

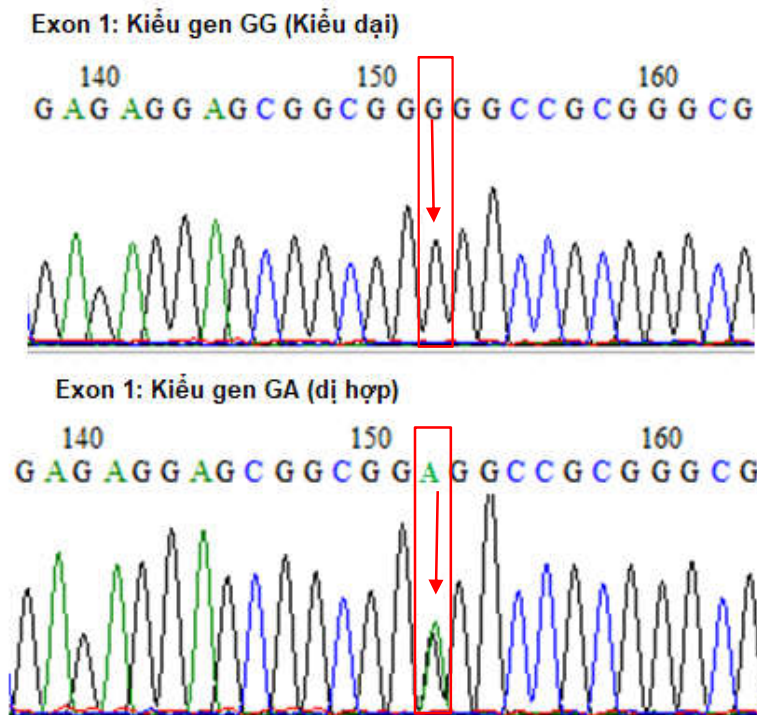
**Kiểu hình**

Vương Ngọc Anh Đ  
 Nam 4 tuổi  
 Chẩn đoán: HCTHTP  
 nhạy cảm steroid  
 Thời gian mắc bệnh: 12  
 tháng.  
 Lâm sàng: Phù to

**Kiểu gen**

Exon 1  
 102 G>A  
 G34G

**Hình 3.10: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm steroid**



**Hình 3.11: Hình ảnh đột biến 102 G>A (G34G)**

**Nhận xét:** Đột biến đồng nghĩa 102G>A tại exon 1 do thay thế G>A làm bộ ba GGG thành GGA cùng mã hóa Glycin ở trẻ bị HCTHTP nhạy cảm steroid.

### 3.3. Liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen

#### 3.3.1. Liên quan đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu và đột biến gen NPHS2

**Bảng 3.17: Liên quan về giới giữa nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 trên đối tượng nghiên cứu**

<b>Giới</b> \ <b>Phân nhóm</b>	<b>Có đột biến</b>	<b>Không đột biến</b>	<b>Tổng, p</b> <i>Chi-Square Tests</i>
Trẻ trai	36 (70,6%)	64 (71,9%)	100
Trẻ gái	15 (29,4%)	25 (28,1%)	40
<b>Tổng</b>	51 (100%)	89 (100%)	140 ( $\chi^2 = 0,28$ ; $p=0,868$ )

*Nhận xét:* Không có sự liên quan về giới giữa hai nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 với  $\chi^2 = 0,28$ ;  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.18: Liên quan về tuổi giữa hai nhóm bệnh nhân có đột biến và không có đột biến gen NPHS2**

<b>Nhóm tuổi</b> \ <b>Phân nhóm</b>	<b>Có đột biến</b>	<b>Không có đột biến</b>	<b>Tổng, p</b> <i>Fisher's Exact Test</i>
<12 tháng	3 (5,9%)	1 (1,1%)	4
12 tháng-16 tuổi	48 (94,1%)	88 (98,9%)	136
<b>Tổng</b>	51 (100%)	89 (100%)	140 $p=0,868$

*Nhận xét:* Không có sự liên quan về nhóm tuổi trên bệnh nhân xuất hiện đột biến và không có đột biến gen NPHS2 giữa nhóm trẻ nhỏ dưới 12 tháng mắc HCTHTP và nhóm trẻ từ 12 tháng đến 16 tuổi  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.19: Liên quan mức độ phù giữa hai nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Mức độ	Đột biến gen NPHS2		Tổng, p <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Phù nhẹ	3 (5,9%)	5 (5,6%)	8
Phù vừa	21 (41,2%)	49 (55,1%)	70
Phù nặng	27 (52,9%)	35 (39,3%)	62
<b>Tổng</b>	51 (100%)	89 (100%)	140( $\chi^2 = 2,61$ ; p=0,27)

*Nhận xét:* Không có sự liên quan về mức độ phù giữa nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 với  $\chi^2 = 2,61$ ; p>0,05.

**Bảng 3.20: Liên quan mức độ tái phát và đột biến gen NPHS2 của đối tượng nghiên cứu**

Phân nhóm Mức độ	Đột biến gen NPHS2		Tổng, p <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Tái phát dày	28 (56,0%)	37 (41,6%)	65
Tái phát thưa	22 (44,0%)	52 (58,4%)	74
<b>Tổng</b>	50 (100%)	89 (100%)	139 ( $\chi^2 = 2,672$ ; p=0,122)

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về mức độ tái phát giữa hai nhóm bệnh nhân có đột biến gen và không có đột biến gen với  $\chi^2 = 2,672$ ; p>0,05.



**Bảng 3.21: Liên quan giữa đáp ứng thuốc và đột biến gen NPHS2 của đối tượng nghiên cứu**

Phân nhóm / Đáp ứng thuốc	Đột biến gen NPHS2		Tổng, p
	Có (n,%)	Không (n,%)	Chi-Square Tests
Nhạy cảm	7 (13,7%)	39 (44,9%)	46
Kháng thuốc	44 (86,3%)	50 (55,1%)	94
<b>Tổng</b>	<b>51 (100%)</b>	<b>89(100%)</b>	<b>140 (<math>\chi^2 = 14,1</math>; <math>p=0,0001</math>)</b>

*Nhận xét:* 86,3% bệnh nhân có đột biến gen NPHS2 ở nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm thuốc steroid (chỉ có 13,7%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 14,1$ ;  $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.22: Nguy cơ kháng thuốc steroid ở trẻ mang đột biến gen NPHS2**

Đáp ứng thuốc / Đột biến gen	Có đột biến		Không đột biến		OR,p (95%CI)
	n	%	n	%	
Nhạy cảm	7	13,7	40	44,9	4,903 (1,992-12,069)
Kháng thuốc	44	86,3	49	55,1	
<b>Tổng</b>	<b>46</b>	<b>100</b>	<b>89</b>	<b>100</b>	<b>0,001</b>

*Nhận xét:* Đột biến gen NPHS2 làm tăng nguy cơ kháng thuốc steroid. Trong nghiên cứu này 86,3% bệnh nhân trong nhóm có mang đột biến bị kháng thuốc trong khi đó nhóm nhạy cảm chỉ có 15,2% ( $p < 0.05$ ). Bệnh nhân mắc HCTHTP có đột biến gen làm tăng nguy cơ kháng thuốc steroid lên 4,903 (95%CI: 1,992-12,069)

**Bảng 3.23: Liên quan giữa đột biến gen và nhiễm trùng trên đối tượng nghiên cứu**

Phân nhóm Nhiễm trùng	Đột biến gen NPHS2		Tổng, p <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Có nhiễm trùng	15 (29,4%)	17 (9,1%)	32 (22,9%)
Không nhiễm trùng	38 (70,6%)	72 (80,9%)	108 (77,1%)
<b>Tổng</b>	<b>51 (100%)</b>	<b>89(100%)</b>	<b>140 (<math>\chi^2 = 1,95</math>; <b>p=0,15</b>)</b>

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm trùng giữa hai nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP có mang đột biến và không mang đột biến với  $\chi^2 = 1,95$ ;  $p > 0,05$ .

### 3.3.2. Tương quan đặc điểm cận lâm sàng và kiểu gen

**Bảng 3.24: So sánh một số chỉ số hóa sinh máu và nước tiểu trung bình khi nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Chỉ số	Đột biến gen NPHS2		p <i>T-test</i>
	Có (X ± SD)	Không (X ± SD)	
Ure (mmol/l)	7,3 ± 6,7	5,2 ± 3,5	0,04
Creatinin (mmol/l)	86,4 ± 14,9	45,3 ± 22,6	0,008
Cholesterol (mmol/l)	11,2 ± 4,3	11,5 ± 3,1	0,63
Protein (g/l)	37,5 ± 5,3	42,7 ± 4,8	0,001
Albumin (g/l)	13,1 ± 2,5	14,2 ± 2,1	0,01
Protein niệu (g/l)	20,1 ± 15,1	15,1 ± 9,8	0,04
Protein/creatinin niệu(mg/mmol)	2509 ± 1432	1948 ± 991	0,001

*Nhận xét:* nồng độ ure, creatinin máu ở trẻ có đột biến cao trẻ không mang đột biến, protein máu và albumin máu lại thấp hơn, protein niệu và protein/creatinin niệu nhóm có đột biến cao hơn nhóm không đột biến. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.25: So sánh kết quả điện giải đồ và calci máu tại thời điểm nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Chỉ số	Đột biến gen NPHS2		p T-test
	Có (X ± SD)	Không (X ± SD)	
Natri máu (mmol/l)	131,6 ± 4,5	133,6 ± 4,2	0,21
Kali máu (mmol/l)	3,5 ± 1,1	3,6 ± 0,6	0,465
Clo máu (mmol/l)	101,3 ± 5,2	102,7 ± 4,1	0,152
Calci máu (mmol/l)	2,22 ± 0,3	2,2 ± 0,2	0,950

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về kết quả điện giải đồ và calci trung bình giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không mang đột biến với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.26: So sánh kết quả số lượng tế bào máu tại thời điểm nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Chỉ số	Đột biến gen NPHS2		p T-test
	Có (X ± SD)	Không (X ± SD)	
Số lượng hồng cầu (T/l)	4,1 ± 0,8	4,2 ± 0,6	0,44
Số lượng bạch cầu (G/l)	11,3 ± 4,8	11,5 ± 4,6	0,8
Số lượng tiểu cầu (G/l)	330,4 ± 134,6	363,7 ± 120,8	0,147
Huyết sắc tố (g/l)	131,4 ± 18,2	132 ± 17,1	0,767

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về các chỉ số huyết học trung bình giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không có đột biến với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.27: Liên quan giữa thể mô bệnh học và đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Mô bệnh học	Đột biến gen NPHS2		Tổng <i>p, Fisher's Test</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Xơ cứng từng phần và khu trú	14 (87,5%)	10 (55,6%)	24
Bệnh tổn thương tối thiểu	2 (12,5%)	7 (38,9%)	9
Xơ hóa lan tỏa	0 (0%)	1 (5,6%)	1
<b>Tổng</b>	<b>16 (100%)</b>	<b>18 (100%)</b>	<b>34 (p=0,076)</b>

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về kết quả mô bệnh học giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không mang đột biến với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.28: Liên quan giai đoạn suy thận và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Giai đoạn	Đột biến gen NPHS2		Tổng, <i>p</i> <i>Fisher's Exact Test</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Giai đoạn 1	32 (62,7%)	71 (79,8%)	103
Giai đoạn 2	4 (7,8%)	9 (10,1%)	13
Giai đoạn 3	2 (3,9%)	5 (5,6%)	9
Giai đoạn 4	2 (3,9%)	0 (0%)	2
Giai đoạn 5	11 (21,6%)	4 (4,5%)	15
<b>Tổng</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>140 (p=0,006)</b>

*Nhận xét:* Bệnh nhân có mang có tỷ lệ suy thận giai đoạn 4 và 5 cao hơn bệnh nhân không mang đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.29: So sánh sự thay đổi mức lọc cầu thận tại các thời điểm giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2**

Phân nhóm Thời điểm	Đột biến gen NPHS2		p T-test
	Có (X ± SD)	Không (X ± SD)	
Vào viện (ml/ph/1,73m <sup>2</sup> da)	108 ± 47	123 ± 42	0,21
Ra viện (ml/ph/1,73m <sup>2</sup> da)	108 ± 46	125 ± 30	0,3
Sau 12 tháng (ml/ph/1,73m <sup>2</sup> da)	89 ± 48	119 ± 33	0,004
Kết thúc NC (ml/ph/1,73m <sup>2</sup> da)	85 ± 55	110 ± 36	0,002

NC: nghiên cứu

*Nhận xét:* không có sự khác biệt về mức lọc cầu thận của bệnh nhân có đột biến và không đột biến khi vào viện và ra viện với  $p > 0,05$ . Sau 12 tháng và kết thúc nghiên cứu, bệnh nhân có đột biến gen NPHS2 có mức lọc cầu thận thấp hơn nhóm bệnh nhân không có đột biến gen với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.30: Liên quan kết quả điều trị và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Kết quả	Đột biến gen NPHS2		Tổng, p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Thuyên giảm hoàn toàn	18 (35,3%)	53 (59,6%)	71
Thuyên giảm một phần	16 (31,4%)	28 (31,5%)	44
Không thuyên giảm	3 (5,9%)	3 (3,4%)	6
Suy thận giai đoạn cuối	6 (11,8%)	4 (4,5%)	10
Tử vong	8 (15,7%)	1 (1,1%)	9
<b>Tổng</b>	<b>51 (100%)</b>	<b>89 (100%)</b>	<b>140 (p=0,006)</b>

*Nhận xét:* Kết thúc nghiên cứu, nhóm có đột biến gen có tỷ lệ tử vong và suy thận giai đoạn cuối cao hơn nhóm không có đột biến gen với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.31: Nguy cơ suy thận giai đoạn cuối ở bệnh nhân mang đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm	Có đột biến		Không có đột biến		OR* (95%CI)
	n	%	n	%	
Suy thận GĐC					
Có suy thận GĐC	11	26,6%	4	4,5%	5,58
Không suy thận GĐC	40	78,4%	85	95,5%	(1,76-
<b>Tổng</b>	<b>51</b>	<b>100</b>	<b>89</b>	<b>100</b>	<b>19,49)</b>

**OR\***: Odds Ratio: tỷ suất chênh; **GĐC**: Giai đoạn cuối

*Nhận xét:* Tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối ở nhóm có đột biến gen NPHS2 là 26,6%, trong khi đó trẻ không có đột biến chỉ gặp 4,5%. Đột biến gen NPHS2 làm tăng nguy cơ suy thận giai đoạn cuối lên 5,85 lần (95%CI; 1,76-19,49).

**Bảng 3.32: Nguy cơ tử vong và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu**

Nhóm bệnh	Có đột biến		Không có đột biến		OR (95%CI)
	n	%	n	%	
Tử vong					
Tử vong	8	15,7%	1	1,1%	16,37
Sống	43	84,3%	88	98,9%	(1,98-
<b>Tổng</b>	<b>51</b>	<b>100</b>	<b>89</b>	<b>100</b>	<b>135,12)</b>

**OR**: Odds Ratio: tỷ suất chênh

*Nhận xét:* Tỷ lệ tử vong nhóm có mang đột biến là 15,7% trong khi đó nhóm không mang đột biến không có bệnh nhân nào tử vong. Đột biến làm tăng nguy cơ tử vong lên 16,37 lần (95%CI; 1,98-135,12).

### 3.3.3. Tương quan đặc điểm cận lâm sàng, cận lâm sàng với từng kiểu đột biến của gen *NPHS2*

**Bảng 3.33: Liên quan giữa vị trí đột biến tại các exon và tràn dịch đa màng**

Biểu hiện lâm sàng Đột biến gen	Tràn dịch đa màng		Tổng n (%), p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Có n (%)	Không n(%)	
Không có đột biến	32 (57,1)	57 (67,9)	69 (63,6)
Đột biến trên exon 1	0 (0)	2 (2,4)	2 (2,4)
Đột biến trên exon 2	21 (35,5)	16 (19)	37 (26,4)
Đột biến trên exon 3	0 (0)	1 (1,2)	2 (1,4)
Đột biến trên exon 4	3 (5,4)	7 (8,3)	10 (7,1)
<b>Tổng</b>	<b>56 (100)</b>	<b>84 (100)</b>	<b>140(100), p=0,08</b>

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng tràn dịch đa màng và vị trí đột biến của các exon gen *NPHS2* ở trẻ bị HCTHTP với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.34: Liên quan giữa vị trí đột biến tại các exon và kết quả điều trị khi kết thúc nghiên cứu**

Biểu hiện lâm sàng Đột biến gen	Kết quả điều trị		Tổng n (%), p <i>Fisher's Exact Test</i>
	TG n (%)	Không TG và tử vong n(%)	
Không có đột biến	71 (71)	18 (45)	89 (63,8)
Đột biến trên exon 1	2 (2,1)	0 (0)	2 (1,4)
Đột biến trên exon 2	19 (19)	18 (45)	37 (26,4)
Đột biến trên exon 3	2 (2)	0 (0)	2 (1,4)
Đột biến trên exon 4	6 (6)	4 (10)	10 (7,1)
<b>Tổng</b>	<b>100 (100)</b>	<b>40 (100)</b>	<b>140(100), p=0,01</b>

TG: Thuyên giảm

*Nhận xét:* Trẻ bị đột biến gen có tỷ lệ không thuyên giảm và tử vong cao hơn hẳn trẻ không bị đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Chúng tôi đã xác định kiểu đột biến đồng nghĩa 288C>T (S96S) do thay thế C=>T tại nucleotid 16170 trên exon 2 của gen *NPHS2* ở 37 bệnh nhân mắc HCTHTP, đây là kiểu đột biến tất cả đều xuất hiện ở nhóm kháng thuốc steroid. Đột biến này tạo ra 3 kiểu gen, kiểu gen đồng hợp kiểu dại (CC), kiểu dị hợp tử (CT) và kiểu đồng hợp tử đột biến (TT). Chỉ có trường hợp mang đồng hợp tử đột biến có kiểu gen TT, 36 trường hợp dị hợp tử CT.

**Bảng 3.35: Liên quan giữa đột biến 288C>T (S96S) và biểu hiện mức độ phù ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

Phân nhóm Mức độ phù	Đột biến 288C>T (S96S)		Tổng, p <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Phù nhẹ	3 (8,1%)	5 (4,9%)	8 (5,7%)
Phù vừa	11 (27,9%)	59 (57,3%)	70 (55,0%)
Phù nặng	23 (62,2%)	39 (47,9%)	62 (44,3%)
<b>Tổng</b>	37 (100%)	103 (100%)	140 ( $\chi^2 = 8,266$ ; p=0,01)

*Nhận xét:* Có 23 bệnh nhân (62,2%) mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) biểu hiện phù mức độ nặng, tỷ lệ này cao hơn hẳn nhóm không có đột biến 288C>T (S96S), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 8,266$ ; p>0,05.



**Bảng 3.36: Liên quan và nguy cơ nhiễm trùng ở trẻ trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S)**

Phân nhóm Nhiễm trùng	Đột biến 288C>T (S96S)		Tổng, p, OR (95%CI) <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Có nhiễm trùng	15 (40,5%)	17 (16,5%)	32 (22,9%)
Không nhiễm trùng	22 (59,5%)	86 (83,5%)	108 (77,1%)
<b>Tổng</b>	37 (100%)	103 (100%)	140 ( $\chi^2 = 8,9$ ; $p=0,003$ ); OR= 3,45(1,51-7,79)

*Nhận xét:* Tỷ lệ bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) bị nhiễm trùng là 40,5% cao hơn nhóm không có đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 8,9$ ;  $p<0,05$ . Đột biến 288C>T (S96S) làm tăng nguy cơ nhiễm trùng ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid lên 3,45 lần (95%CI: 1,51-7,79).

**Bảng 3.37: Liên quan giữa đột biến gen 288C>T (S96S) mô bệnh học**

Phân nhóm Thể mô bệnh học	Đột biến 288C>T (S96S)		Tổng, p (Fisher's <i>Exact Test</i> )
	Có (n,%)	Không (n,%)	
FSGS	12 (92,3%)	12 (57,1%)	24 (70,6%)
MCD	1 (7,7%)	8 (38,1%)	9 (26,5%)
Thể khác	0 (0%)	1 (4,8%)	1 (2,9%)
<b>Tổng</b>	13 (100%)	21 (100%)	34(100%); $p=0,076$

*Nhận xét:* 12/13 bệnh nhân (chiếm 92,3%) mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) biểu hiện tổn thương thể là FSGS, cao hơn nhóm không mang đột biến 288C>T (S96S), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ .

**Bảng 3.38: Liên quan và nguy cơ suy thận giai đoạn cuối ở trẻ mắc có đột biến 288C>T (S96S) khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm STGĐC*	Đột biến 288C>T (S96S)		Tổng, p, OR (95%CI) <i>Chi-Square Tests</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Có STGĐC	10 (27,0%)	5 (4,9%)	15 (10,7%)
Không STGĐC	27 (73,0%)	98 (95,1%)	125 (89,3%)
<b>Tổng</b>	37 (100%)	103 (100%)	140 ( $\chi^2 = 13,9$ ; $p=0,001$ ); OR= 7,26 (2,29-23,04)

STGĐC\*: Suy thận giai đoạn cuối

*Nhận xét:* Kết thúc nghiên cứu, tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) là 27% cao hơn hẳn nhóm có đột biến với  $\chi^2 = 13,9$ ;  $p<0,05$ . Trẻ mắc HCTHT kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) tăng nguy cơ tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối lên 7,26 lần (95%CI: 2,29-23,04).

**Bảng 3.39: Liên quan và nguy cơ tử vong ở trẻ mắc HCTTH kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T (S96S) khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Kết quả	Đột biến 288C>T (S96S)		Tổng, p, OR (95%CI) <i>Fisher's Exact Test</i>
	Có (n,%)	Không (n,%)	
Tử vong	8 (21,6%)	1 (1,0%)	9 (6,4%)
Sống	29 (78,4%)	102 (99,0%)	131 (93,6%)
<b>Tổng</b>	37 (100%)	103 (100%)	140 ( $p=0,0001$ ); 28,14 (3,38-234,27)

*Nhận xét:* Kết thúc nghiên cứu, tỷ lệ tử vong ở trẻ có đột biến 288C>T (S96S) là 21,6%, trong khi đó nhóm không có đột biến chỉ có 1%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Đột biến 288C>T (S96S) làm tăng nguy cơ tử vong ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid lên 28,14 lần.

Trong số 52 đợt biến xác định được chỉ có 1 đợt biến dạng đồng hợp và 51 đợt biến dạng dị hợp nên chúng tôi không đánh giá mối tương quan về dạng đợt biến. Có 45 trẻ mang đợt biến thể đồng nghĩa và 6 trẻ mang đợt biến thể sai nghĩa.

**Bảng 3.40: Liên quan giữa kháng thuốc steroid và thể đợt biến**

Phân nhóm Đáp ứng thuốc	Thể đợt biến		Tổng n (%), p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Đồng nghĩa (n,%)	Sai nghĩa (n,%)	
Kháng thuốc steroid	40 (88,8)	5 (83,7)	39 (6,4%)
Nhạy cảm steroid	5 (11,2%)	1 (16,3)	12 (93,6%)
<b>Tổng</b>	45 (100)	6 (100)	51 (100) ( p=0,69)

*Nhận xét:* Hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc không có sự khác biệt về thể đợt biến với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.41: Liên quan giữa suy thận giai đoạn cuối và thể đợt biến khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Suy thận GĐC	Thể đợt biến		Tổng n (%), p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Đồng nghĩa (n,%)	Sai nghĩa (n,%)	
Có suy thận GĐC	9 (20,5)	2 (28,7)	11 (21,6%)
Không suy thận GĐC	36 (79,5%)	4 (71,3)	40 (78,4%)
<b>Tổng</b>	45 (100)	6 (100)	51 (100) ( p=0,47)

GĐC: Giai đoạn cuối

*Nhận xét:* Hai nhóm đợt biến đồng nghĩa và sai nghĩa không có sự khác biệt về tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối tại thời điểm kết thúc nghiên cứu với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.42: Liên quan giữa tử vong và thể đột biến khi kết thúc nghiên cứu**

Phân nhóm Tử vong	Thể đột biến		Tổng n (%), p <i>Fisher's Exact Test</i>
	Đồng nghĩa (n,%)	Sai nghĩa (n,%)	
Có tử vong	8 (77,8)	0 (0)	8 (15,7%)
Không tử vong	37 (82,2%)	6(100)	43 (84,3%)
<b>Tổng</b>	45 (100)	6 (100)	51 (100) ( p=0,34)

*Nhận xét:* Hai nhóm đột biến đồng nghĩa và sai nghĩa không có sự khác biệt về tỷ lệ tử vong khi kết thúc nghiên cứu với  $p > 0,05$ .

## CHƯƠNG 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHTP kháng thuốc steroid

##### 4.1.1. Tuổi

- Tuổi trung bình của bệnh nhân tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu là  $5,8 \pm 3,6$  tuổi, nhỏ nhất 4 tháng lớn nhất 16 tuổi. Tuổi mắc (tuổi khởi phát bệnh) là  $4,09 \pm 2,87$  (4 tháng-14 tuổi). Bệnh nhân nhỏ tuổi nhất thuộc nhóm kháng thuốc steroid.

- Thời gian mắc bệnh trung bình là  $2,5 \pm 0,2$  năm.

- Thời gian từ khi khởi phát đến thời điểm nghiên cứu trung bình là  $1,5 \pm 0,3$  năm. Thời gian theo dõi trung bình là  $1,2 \pm 0,4$  năm.

- Có hai gia đình có hai anh em ruột cùng mắc HCTHTP thuộc nhóm kháng thuốc steroid.

Khi so sánh tuổi mắc và tuổi khởi phát trung bình của hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid trong bảng 3.1 cho thấy nhóm kháng thuốc có tuổi trung bình tại thời điểm nghiên cứu và tuổi khởi phát là  $5,7 \pm 3,8$  và  $3,9 \pm 2,9$ , tương ứng ở nhóm nhạy cảm là  $5,32 \pm 3,1$  và  $4,5 \pm 2,7$ . Tuy nhóm nhạy cảm có tuổi trung bình cao hơn và tuổi mắc thấp hơn nhóm kháng thuốc tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Kết quả phân loại nhóm tuổi trong biểu đồ 3.1 cho thấy 95,75% bệnh nhân ở nhóm tuổi từ 12 tháng đến 16 tuổi, có 4 bệnh nhân (4,25%) bệnh nhân nhỏ tuổi (<12 tháng) đều nằm trong nhóm kháng steroid. Khi so sánh tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu ở các khu vực trên thế giới cho thấy tuổi trung bình của trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid hay nhạy cảm steroid không có sự giống nhau giữa các nghiên cứu tại từng khu vực khác nhau, nhưng đa số các nghiên

cứu đều nhận thấy tuổi hay gặp nhất là trẻ từ 2-9 tuổi. Thống kê tuổi mắc trung bình ở một số nghiên cứu trên thế giới được tổng hợp trong bảng 4.1 dưới đây.

**Bảng 4.1: Bảng thống kê tỷ lệ kháng thuốc steroid và tuổi khởi phát trung bình từ các nghiên cứu trong 10 năm trên từng quần thể khác nhau [22].**

Tác giả	Năm NC	Số BN	Chủng tộc	Tuổi khởi phát TB M ± SD (năm, khoảng)
Ingulli	1991	177	Da màu và Tây Ban Nha	7,3±4,6 (1,0-16,75)
		65	Người Da Trắng	7,8±4,8 (2-14,8)
Bircan	2002	138	Thổ Nhĩ Kỳ	4,9±3,56 (1-15)
Ozkaya	2004	392	Thổ Nhĩ Kỳ	4,6±3,4 (0,9-16)
Kim	2005	103	Da Trắng	4,3±3,5
		96	Mỹ Phi	8,2±5,2
Bhimma	2006	816	Da đen và Ấn Độ	4,8 (1,2-16)
Chang	2009	99	Trung Quốc	8,35±4,61 (2-18)
Mubarak	2009	538	Pakistan	9,79±4,59 (0,8-18)
Otukesh	2009	73	Iran	5,9
Copelovitec	2010	112	Campuchia	8,95
Banaszak	2002	76	Da Trắng (Hà Lan)	2,7( trung vị )
	2012	102	Da Trắng(Hà Lan)	3,3(trung vị)
Kumar	2003	290	Đông Bắc Ấn Độ	7,9±5,1
Won	2007	49	NewZealand, Âu	6,1±3,8
Bakkali	2011	231	Người Phương Bắc	5,08

NC: Nghiên cứu; BN: bệnh nhân ; TB: trung bình

Như vậy tuổi mắc HCTHTP trong nghiên cứu này của chúng tôi nằm trong khoảng trung bình so với các nghiên cứu trên thế giới, tuy nhiên trong

nghiên cứu này chúng tôi đã thống kê được 4 bệnh nhân (4,25%) có tuổi mắc trung bình thấp nhất là 4 tháng tuổi tất cả bệnh nhân nhỏ tuổi đều thuộc nhóm kháng thuốc steroid, các báo cáo trước đây cả trong nước và trên thế giới đều chưa công bố nên đây cũng là điểm mới chúng tôi phát hiện thấy khi thực hiện nghiên cứu này. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Trần Hữu Minh Quân và cs [28] khi nghiên cứu trên 67 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi đồng I cho thấy tuổi trung bình là  $6,2 \pm 3,4$  tuổi tuổi nhỏ nhất là 2 tuổi, như vậy tuổi mắc trung bình của tác giả Trần Hữu Minh Quân tuy có cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, nhưng trong nghiên cứu của tác giả Trần Hữu Minh Quân chỉ thống kê tuổi khi nghiên cứu, không công bố tuổi khởi phát của bệnh nhân do vậy chúng tôi không so sánh để đánh giá sự khác biệt. Nghiên cứu ở một số nơi trên thế giới được thống kê trong bảng 4.1. cho thấy tuổi trung bình của trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có nơi cao hơn cũng có nơi thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, nhưng y văn đều thống nhất tuổi trung bình mắc HCTHTP phần lớn là trẻ trong độ tuổi tiền học đường và học đường.

#### **4.1.2. Giới**

Kết quả tại bảng 3.2, có 100 trẻ trai (chiếm 71,4%) cao hơn trẻ gái 40 bệnh nhân (chiếm 28,6%), tỷ lệ trẻ trai/trẻ gái là 2,5/1. So sánh về giới ở hai nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm steroid và kháng thuốc steroid không có sự khác biệt về phân bố giới với  $\chi^2 = 0,003$ ;  $p > 0,05$ , nhưng cả hai nhóm đều thấy tỷ lệ trẻ trai cao hơn trẻ gái. Các nghiên cứu trong y văn đều nhận thấy tỷ lệ trẻ trai mắc HCTHTP luôn cao hơn trẻ gái. Kết quả tổng hợp tỷ lệ mắc ở trẻ trai được thống kê trong bảng 4.2. dưới đây

**Bảng 4.2: Bảng thống kê tỷ lệ trẻ trai mắc HCTHTP trong 10 năm qua các nghiên cứu trên từng quần thể khác nhau [22].**

Tác giả	Năm nghiên cứu	Số bệnh nhân	Chủng tộc	% Nam
Bircan	2002	138	Thổ Nhĩ Kỳ	61,2%
Ozkaya	2004	392	Thổ Nhĩ Kỳ	59,2%
Kim	2005	103	Da Trắng	51%
Bhimma	2006	816	Da đen và Ấn Độ	60,4%
Chang	2009	99	Trung Quốc	73,7%
Mubarak	2009	538	Pakistan	64,4%
Otukesh	2009	73	Iran	52,0%
Copelovitec	2010	112	Campuchia	63,4%
Banaszak	2002	76	Da Trắng (Hà Lan)	54,5%
	2012	102	Da Trắng (Hà Lan)	68%

Theo kết quả thống kê trong bảng 4.2 cho thấy tỷ lệ trẻ trai mắc HCTHTP luôn cao hơn trẻ gái. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Trần Hữu Minh Quân và cs trên 67 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi đồng I cho thấy ở nam (67.2%) với tỉ lệ nam: nữ là 2: 1 (45: 22 trường hợp). Như vậy kết quả phân bố về giới trong nghiên cứu của chúng tôi cũng không có điểm khác biệt nào so với y văn.

#### **4.1.3. Đặc điểm lâm sàng**

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy, tại thời điểm nghiên cứu nhóm HCTHTP kháng thuốc steroid có số bệnh nhân nhập viện trong đợt tái phát chiếm 57,4% cao hơn nhóm nhạy cảm steroid 30,4%, ngược lại nhóm nhạy cảm steroid đa số bệnh nhân nhập viện trong lần khởi phát bệnh với 69,6% bệnh nhân được ghi nhận trong đợt khởi phát của bệnh. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 9,022$ ;  $p < 0,05$ .



Chúng tôi theo dõi tiến triển của 139 bệnh nhân (01 bệnh nhân tử vong trước 12 tháng) ít nhất trong 12 tháng, để đánh giá mức độ tái phát, kết quả trong bảng 3.4 cho thấy nhóm nhạy cảm steroid chỉ có 7 bệnh nhân (15,2%) tái phát dày, ngược lại nhóm kháng thuốc steroid có 58 bệnh nhân (chiếm 62,4%) bị tái phát dày, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 27,49; p < 0,05$ . Đây là đặc điểm khác biệt rất rõ về tiến triển bệnh giữa hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid vì bệnh nhân kháng thuốc steroid do đáp ứng kém với thuốc điều trị nên luôn bị tái phát, nên phải nhập viện thường xuyên hơn. Ảnh hưởng của HCTHTP kháng thuốc steroid đến sức khỏe của trẻ được thể hiện qua số ngày nằm viện trung bình và số lần tái phát trong năm trong bảng 3.5 cũng cho thấy sự khác biệt rõ ràng về mức độ tái phát và thời gian bệnh nhân mắc HCTHTP phải nằm viện trong 1 năm, theo đó bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid có số ngày nằm viện trung bình trong 1 năm là  $24,9 \pm 23,5$  ngày và số lần tái phát là  $4,2 \pm 1,6$  đều cao hơn nhiều nhóm nhạy cảm steroid có số ngày nằm viện trung bình  $8,8 \pm 4,7$  ngày và số lần tái phát trung bình là  $1,5 \pm 0,7$ , sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Như vậy khi bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid trong 1 năm bệnh nhân phải nằm viện trung bình khoảng 4 tuần, gây ảnh hưởng nhiều đến cuộc sống, sinh hoạt và học tập của trẻ (do trẻ trong độ tuổi đi học). Ngoài ra còn là gánh nặng không nhỏ về tài chính của gia đình trẻ và xã hội khi các chi phí y tế tăng lên. Theo thống kê của tác giả Colquitt và cs (2007) khi tính toán chi phí y tế để điều trị cho 1 bệnh nhân 4 tuổi, nặng 24 kg mắc HCTHTP kháng thuốc steroid không có biến chứng ngoài thuốc steroid, chi phí khi điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch nhóm cyclosporin A là 876 bảng Anh/năm, mycophenolate mofetil là 1.274 bảng, tacrolimus là 3.447 bảng Anh/ năm. Trong khi đó một liệu trình steroid trong 8 tuần cho bệnh nhân này nếu bị HCTHTP nhạy cảm steroid chỉ mất khoảng 42,56 bảng Anh [49]. Như vậy ngoài thời gian bệnh nhân phải nằm viện kéo

đài, nhiều lần trong năm, chi phí cho thuốc điều trị cũng tăng lên rất nhiều. Trước đây tại Việt Nam chưa có nghiên cứu đầy đủ và thống kê toàn diện đề cập đến vấn đề này nên chúng tôi không có số liệu đầy đủ để so sánh.

Phân loại theo thể lâm sàng khi so sánh hai nhóm trong bảng 3.6, cho thấy nhóm nhạy cảm 100% bệnh nhân có thể lâm sàng là HCTHTP thể đơn thuần, trong khi đó nhóm kháng thuốc có 19 bệnh nhân (20,2%) thể không đơn thuần. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Các triệu chứng của không đơn thuần trong biểu đồ 3.3. cho thấy cao huyết áp của chúng tôi gặp 8,5%, thấp hơn của tác giả Roy và cs 40,63% [29]. Triệu chứng đái máu trong nghiên cứu này chúng tôi gặp 9,6%, suy thận là 15,9%. Theo kết quả của tác giả Alberto và cs (2013) [4] khi nghiên cứu trên 136 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Brazil thấy cao huyết áp gặp 15%, suy thận và đái máu gặp 18%. Trong nghiên cứu của Mortazavi và cs tại Iran trong 10 năm (1999-2010) trên 165 bệnh nhân mắc HCTHTP trong đó có 41 trẻ (24,8%) bị kháng thuốc steroid. Triệu chứng đái máu, tăng huyết áp ở nhóm kháng thuốc là 51,2% và 14,6%, cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm (17,3% và 10,5%), có 9 bệnh nhân (5,4%) kháng thuốc steroid bị suy thận giai đoạn cuối [25]. Tác giả Roy và cs nghiên cứu 32 trẻ mắc HCTH kháng steroid tại Banglades thông báo 71,88% có biểu hiện của HCTHTP không đơn thuần trong đó 40,63% cao huyết áp, đái máu gặp 22%, suy thận gặp 12,5%. Một nghiên cứu trên 15 bệnh nhân nhỏ tuổi (3 tháng -12 tháng) mắc HCTHTP tại Ấn Độ của tác giả Mutalik và cs (2017) cho thấy tỷ lệ đái máu gặp 37%, tăng huyết áp 25% và tỷ lệ bệnh nhân kháng thuốc steroid là 43% bệnh nhân [102]. Trong nghiên cứu của tác giả Ali và cs tại Irắc (2017) trên 54 bệnh nhân mắc HCTHTP được chia hai nhóm nhạy cảm steroid (27 bệnh nhân), nhóm kháng thuốc steroid (27 bệnh nhân), kết quả cho thấy tỷ lệ tăng huyết áp ở nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid gặp khá cao 59,3%, trong khi đó nhóm nhạy cảm chỉ gặp 7,4%. Đái máu ở nhóm kháng

thuốc steroid là 33,3%, nhóm nhạy cảm chỉ gặp 3,7. Tỷ lệ suy thận ở nhóm kháng thuốc steroid trong nghiên cứu trong nghiên cứu của Ali và cs là 29,6%, nhóm nhạy cảm không có bệnh nhân nào bị suy thận [103]. Nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Sáng trên 42 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thấy tỷ lệ thể lâm sàng không đơn thuần chiếm 52% [104]. Như vậy tỷ lệ suy thận, đái máu và tăng huyết áp của bệnh nhân mắc HCTHTP trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả trong một số nghiên cứu ngoài nước đã được công bố. Có thể do bệnh viện Nhi Trung ương là tuyến cao nhất nhận bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid chuyển từ tuyến dưới chuyên lên và đa số bệnh nhân chúng tôi thu thập thông tin tại thời điểm nhập viện khi tái phát nên trước đó bệnh nhân đã được dùng thuốc ức chế men chuyển (thuốc điều trị huyết áp có tác dụng làm giảm protein niệu) do vậy chúng tôi không ghi nhận được trị số huyết áp ngay từ đầu. Nghiên cứu trước đó tại Việt Nam của Trần Hữu Minh Quân và cs khi điều trị cho 67 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I cho thấy không có trường hợp nào bị suy thận, tăng huyết áp chỉ gặp có 6%, không thấy thống kê đái máu [28]. Như vậy các biểu hiện về các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHTP thể không đơn thuần trong nghiên cứu của chúng tôi khi so sánh với nghiên cứu trong nước của Trần Hữu Minh Quân tại bệnh viện Nhi Đồng I thì các triệu chứng lâm sàng của HCTHTP không đơn thuần gặp với tỷ lệ cao hơn rất nhiều, nhưng lại thấp hơn hơn một số nghiên cứu ở nước ngoài. Tuy vậy trong nghiên cứu này của chúng tôi khá tương đồng với kết quả của tác giả Alberto và cs tại Brazil [4]. Theo y văn các biểu hiện triệu chứng lâm sàng của HCTHTP nói chung và kháng thuốc nói riêng thường không hằng định và bị ảnh hưởng nhiều yếu tố khác nên không thống nhất giữa các nghiên cứu. Sự khác nhau nay có thể lý giải do sự khác nhau về thời điểm nghiên cứu, với bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid nếu nghiên cứu ở giai đoạn muộn thì tỷ lệ suy thận hoặc tăng huyết áp

sẽ cao hơn do tiến triển của bệnh cũng như ảnh hưởng từ các thuốc điều trị. Một yếu tố ảnh hưởng trực tiếp nữa là thể tổn thương mô bệnh học cũng có liên quan đến các biểu hiện này. Theo đó nếu tổn thương mô bệnh học là xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú thì hay có những biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng không đơn thuần đó cũng lý giải kết quả nghiên cứu của chúng tôi các biểu hiện của thể không đơn thuần cao hơn của tác giả Trần Hữu Minh Quân vì trong nghiên cứu của tác giả Trần Hữu Minh Quân thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú chỉ gặp 24,8%. Tuy nhiên các nghiên cứu trong y văn đều thống nhất bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có thể lâm sàng không đơn thuần cao hơn [4],[21],[29].

Kết quả nghiên cứu trong bảng 3.7. và biểu đồ 3.3. về tính chất kháng thuốc cho thấy tỷ lệ kháng thuốc sớm trong nghiên cứu của chúng tôi là 65,4% và kháng thuốc muộn chiếm 42,6%. Kết quả trong nghiên cứu của tác giả Alberto và cs (2013) tại Brazil trên 136 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid cho thấy tỷ lệ bệnh nhân kháng thuốc sớm chiếm đa số với 114 bệnh nhân (chiếm 83,8%) tỷ lệ kháng thuốc sớm cao hơn kết quả nghiên cứu của chúng tôi [4]. Tuy nhiên tỷ lệ kháng thuốc sớm tại Việt Nam trong nghiên cứu của tác giả Trần Hữu Minh Quân và cs tại bệnh viện Nhi Đồng I công bố năm 2013 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân kháng steroid sớm cũng chỉ gặp 58,2% (39/67 trường hợp), kết quả này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi [28]. Như vậy tỷ lệ kháng thuốc steroid sớm của bệnh nhân mắc HCTHTP tại Việt Nam nhìn chung thấp hơn nghiên cứu của nước ngoài, trong y văn cũng chưa có nghiên cứu nào lý giải hiện tượng này. Đây có thể là điểm khác biệt của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Việt Nam.

Về biểu hiện lâm sàng khi bệnh nhân đến viện, chúng tôi ghi nhận thấy 100% bệnh có biểu hiện phù. Khi so sánh mức độ phù giữa hai nhóm kháng thuốc steroid và nhạy cảm trong bảng 3.8. chúng tôi thấy đa số bệnh nhân mắc

HCTHTP kháng thuốc steroid bị nặng 56/94 (59,57%), trong khi đó nhóm nhạy cảm steroid chỉ có 6 bệnh nhân (13,04%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Phù là triệu chứng lâm sàng cơ bản và hay gặp nhất, xuất hiện trong hầu hết đợt phát bệnh đầu tiên, với các đặc điểm: phù trắng, mềm, ấn lõm, thường xuất hiện tự nhiên hay sau một bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp trên, tiến triển nhanh, thường bắt đầu từ mặt đến chân. Phù toàn thân, thường kèm theo cổ chướng tự do, đôi khi có cả dịch ở màng phổi, hạ nang (trẻ trai). Cân nặng tăng nhanh, có thể tăng lên 10 - 30% cân nặng ban đầu. Kết quả nghiên cứu về tràn dịch đa màng trong bảng 3.9 cho thấy nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có 53 bệnh nhân (chiếm 65,4%) bị tràn dịch đa màng cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm thuốc steroid chỉ có 3 bệnh nhân (chiếm 6,5%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Như vậy điều này cũng phù hợp với mức mức độ phù trong bảng 3.8 cho thấy trên 50% bệnh nhân kháng thuốc steroid bị phù nặng. Tỷ lệ triệu chứng phù trong nghiên cứu này chúng tôi gặp cao hơn nghiên cứu trước đó của tác giả Trần Hữu Minh Quân phù chỉ gặp 68,7%, đặc biệt nghiên cứu của tác giả Quân cũng chưa thấy thống kê và phân loại mức độ phù cũng như tỷ lệ tràn dịch đa màng trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Nghiên cứu năm 2011 của Dương Thị Thúy Nga trên 132 trẻ mắc HCTHTP tại khoa Thận-Lọc máu, bệnh viện Nhi Trung ương bao gồm 62 trẻ kháng thuốc steroid và 68 trẻ nhạy cảm steroid. Kết quả trong nghiên cứu của tác giả Nga cho thấy tỷ lệ cao huyết áp ở nhóm kháng thuốc steroid là 61,6%, trong khi đó nhóm nhạy cảm chỉ gặp 5,9%, đái máu ở nhóm kháng thuốc steroid gặp 38,8%, nhóm nhạy cảm chỉ gặp 2,9% [105]. Một số biểu hiện lâm sàng khác như tràn dịch đa màng trong bảng 3.9. cho thấy nhóm kháng thuốc gặp với tỷ lệ 56,4% cao hơn nhóm nhạy cảm steroid 6,5% ( $p < 0,05$ ). Các nghiên cứu về biểu hiện lâm sàng của HCTHTP trong y văn cũng thống nhất bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thường có biểu hiện

lâm sàng nặng nề hơn, phù to tràn dịch đa màng và hay bị nhiễm trùng [3],[6],[21],[28].

Biểu hiện nhiễm trùng khi bệnh nhân nhập viện trong bảng 3.10. thấy nhóm nhạy cảm steroid chỉ có 1 bệnh nhân (2,2%) có nhiễm trùng, trong khi đó nhóm kháng thuốc gặp 33% sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nhiễm trùng có thể vừa là yếu tố thuận lợi vừa là biến chứng của bệnh nhân mắc HCTHTP, trẻ bị HCTHTP dễ bị nhiễm khuẩn vì giảm miễn dịch dịch thể, giảm IgG huyết tương, giảm C3PA (yếu tố B) làm giảm khả năng thực bào, giảm miễn dịch tế bào ngoài ra trên bệnh nhân mắc HCTHTP khi điều trị bằng thuốc steroid hoặc các thuốc ức chế miễn dịch cũng sẽ làm tăng nguy cơ nhiễm trùng cho bệnh nhân [21],[21]. Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Alwadhi và cs (2008) khi quan sát 60 bệnh nhân mắc HCTH chưa được điều trị bằng steroid thấy có 57 bệnh nhân có biến chứng nhiễm trùng, trong đó nhiễm trùng hô hấp trên hay gặp nhất với 16 trường hợp, nhiễm trùng đường tiểu gặp 13 trường hợp, viêm phúc mạc 9 trường hợp, viêm phổi 8 trường hợp, nhiễm trùng dạ dày ruột cấp tính 6 trường hợp, viêm da 3 trường hợp [34]. Moorani và cs (2003) khi nghiên cứu trên 62 bệnh nhân mắc HCTH có kèm theo nhiễm trùng ở Pakistan theo thấy 58% bệnh nhân mắc nhiễm trùng trong quá trình điều trị steroid [35]. Nghiên cứu của Moorani cũng cho thấy trong số 74 nhiễm trùng được phát hiện thấy nhiễm trùng hô hấp và nhiễm trùng da gặp với tỷ lệ cao nhất (29,27% và 27,02% ), tiếp theo đó là nhiễm trùng tiêu hóa 13,51% và nhiễm trùng đường tiểu gặp 12,5%, viêm phúc mạc là 10,81%. Có 2 bệnh nhân mắc lao phổi, 3 bệnh nhân có hơn một cơ quan nhiễm trùng (viêm mô tế bào, viêm phúc mạc và viêm phổi) [35]. Khi nghiên cứu trên 60 trẻ mắc HCTH chưa được điều trị steroid của tác giả Alwadhi và cs tại Ấn Độ thấy 57 bệnh nhân (95%) có nhiễm trùng kèm theo trong đó 18 trường hợp nhiễm trùng hô hấp trên, 13 trường hợp nhiễm trùng đường tiểu, 9 trường hợp viêm phúc mạc, 8 trường hợp viêm phổi, 6 trường hợp viêm dạ dày ruột, 3 trường hợp viêm mũi

màng phổi [34]. Biến chứng nhiễm trùng ít gặp hơn ở trẻ mắc HCTHTP nhưng nguy hiểm có thể gây tử vong đó là viêm phúc mạc. Theo kết quả nghiên cứu tiến cứu trên 268 bệnh nhân mắc HCTH thấy có 24 bệnh nhân bị viêm phúc mạc. Khi cấy bệnh phẩm của bệnh nhân bị viêm phúc mạc tìm vi khuẩn thấy 12 trường hợp dương tính với phế cầu, 6 trường hợp dương tính với Escherichia coli, còn lại 4 trường hợp âm tính. Một nghiên cứu tiến cứu khác được thực hiện trên 268 bệnh nhân mắc HCTH trong 5 năm thấy có 8 trường hợp bị viêm phúc mạc, có 3 trường hợp cấy dương tính với phế cầu. Nhiễm trùng máu, viêm màng não cũng gặp nhưng tỷ lệ thấp hơn [21],[34]. Tác giả Gorenssek và cs khi nghiên cứu theo dõi dọc 214 bệnh nhân mắc HCTH trong 20 năm từ 1967 đến 1986 tại Dallas nước Mỹ thấy có 62 bệnh nhân bị viêm phúc mạc tiên phát trong đó 37 bệnh nhân cấy dương tính với phế cầu. Triệu chứng lâm sàng của viêm phúc mạc tiên phát 95% có đau bụng, 95% bệnh nhân có sốt, phản ứng thành bụng dương tính gặp 85%, 71% bệnh nhân có nôn. Hầu hết bệnh nhân có nhiễm trùng trong giai đoạn điều trị tấn công steroid [36]. Nghiên cứu của Trần Hữu Minh Quân trên 67 bệnh nhân kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I thấy có 14,9% bệnh nhân nhiễm trùng, trong đó hay gặp là nhiễm trùng hô hấp. Nghiên cứu năm 2011 của Dương Thị Thúy Nga trên 132 trẻ mắc bao gồm 62 trẻ kháng thuốc steroid và 68 trẻ nhạy cảm steroid. Kết quả trong nghiên cứu của tác giả Nga cho thấy tỷ lệ nhiễm trùng ở nhóm kháng thuốc steroid gặp 18,9% trong đó viêm phúc mạc tiên phát gặp 9,4%, nhóm nhạy cảm steroid chỉ gặp 5,8% [105]. Tỷ lệ nhiễm trùng trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Trần Hữu Minh Quân và Dương Thị Thúy Nga nhưng lại thấp hơn so với các kết quả đã công bố trên thế giới. Sở dĩ có điều này có thể do sự khác nhau về địa dư, khu vực mà chúng tôi nghiên cứu là miền Bắc, nơi có khí hậu nhiệt đới, hay có những đợt giao mùa là một yếu tố thuận lợi làm cho trẻ mắc các bệnh nhiễm trùng hô hấp, tiêu hóa, da do vậy tỷ lệ trẻ mắc nhiễm trùng cũng sẽ cao hơn so với khu vực phía Nam [28].

#### ***4.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng***

Kết quả nồng độ protein máu và albumin trung bình trong máu của hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid tại thời điểm bắt đầu nhập viện trong bảng 3.11. cho thấy nồng độ trung bình của albumin và protein trong máu bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid tương ứng là  $38,8 \pm 4,9$  g/l và  $13,3 \pm 2,2$  g/l thấp hơn bệnh nhân nhóm nhạy cảm  $43,4 \pm 5,1$  g/l và  $14,6 \pm 2,4$  g/l, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Điều này cũng phù hợp khi so sánh mức protein niệu trung bình và chỉ số protein/creatinin của bệnh nhân hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid trong bảng 3.12 chúng tôi thấy nhóm kháng thuốc có chỉ số protein niệu trung bình là  $18,9 \pm 13,9$  g/l và protein/creatinin niệu là  $2.556 \pm 1.499$  mg/mmol cao hơn thực sự nhóm nhạy cảm ( $13,1 \pm 6,1$  g/l và protein/creatinin niệu là  $1.808 \pm 866$  mg/mmol) sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nồng độ protein và albumin máu có nhiều yếu tố chi phối và cơ thể có thể bù trừ bằng việc huy động các nguồn dự trữ hoặc tăng tổng hợp ở gan để bù đắp lượng đã mất trong nước tiểu nhưng luôn tỷ lệ nghịch với hai số protein niệu và protein/creatinin niệu qua đó phản ánh mức độ tổn thương của màng lọc cầu thận. Thông qua chỉ số protein/creatinin niệu có thể đánh giá mức độ tổn thương của màng lọc cầu thận nhóm kháng thuốc steroid sẽ nặng hơn nhóm nhạy cảm. Khi kết hợp với các biểu hiện lâm sàng cho thấy bệnh nhân kháng thuốc steroid khi bị mất nhiều protein qua nước tiểu sẽ làm giảm protein và albumin trong máu gây giảm áp lực keo đây chính là cơ chế và nguyên nhân chính gây nên các biểu hiện lâm sàng là phù to, tràn dịch đa màng ở bệnh nhân kháng thuốc steroid. Theo nghiên cứu của tác giả Ali và cs tại Irắc (2017) trên 54 bệnh nhân mắc HCTHTP được chia hai nhóm nhạy cảm steroid (27 bệnh nhân), nhóm kháng thuốc steroid (27 bệnh nhân). Kết quả so sánh nồng độ các chất trong máu cho thấy albumin trung bình nhóm kháng là  $24,0 \pm 8,9$  g/l thấp hơn nhóm nhạy  $25,5 \pm 8,6$  g/l. Như vậy nồng độ albumin trung bình của bệnh nhân trong nghiên cứu này thấp hơn so với tác giả Ali, có



thể do bệnh nhân của chúng tôi đến viện muộn hơn, nên bệnh nhân mất nhiều albumin qua nước tiểu dẫn đến giảm nặng trong máu [103]. Nghiên cứu của Dương Thị Thúy Nga (2011) trên 132 trẻ mắc HCTHTP bao gồm 62 trẻ kháng thuốc steroid và 68 trẻ nhạy cảm steroid. Kết quả trong nghiên cứu của tác giả Nga cho thấy các chỉ số albumin, protein ở nhóm kháng thuốc steroid là cũng thấp hơn so với nhóm nhạy cảm steroid [105].

Kết quả nồng độ các chất điện giải đồ và calci ion trong máu bệnh nhân khi so sánh ở bảng 3.13. và 3.14 và 3.16 cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ cũng như mức thay đổi các chất điện giải và calci ion trong máu bệnh nhân khi so sánh hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid với  $p > 0,05$ . Tuy nhiên có sự khác biệt về mức thay đổi kali máu của bệnh nhân trong bảng 3.15. theo đó nhóm bệnh nhân kháng thuốc steroid đều có tỷ lệ tăng kali, hoặc hạ kali máu cao hơn nhóm nhạy cảm sự khác biệt có ý nghĩa thống với  $p < 0,05$ . Sự thay đổi các chất điện giải trong máu ở bệnh nhân mắc HCTHTP đã được y văn mô tả từ lâu theo đó bệnh nhân thường có giảm natri, giảm kali và calci máu, nhưng kali thường tăng trong trường hợp bệnh nhân bị suy thận [18],[21]. Natri có khoảng giao động lớn hơn và dễ thay đổi theo chế độ ăn uống do đó không có những biểu hiện không rõ ràng. Kali có khoảng giá trị hẹp nên chỉ thay đổi nhỏ cũng dễ có biểu hiện. Do có các nghiên cứu về mối liên quan của các chỉ số natri và kali máu ở trẻ mắc HCTHTP nên chúng tôi có đủ dữ liệu để so sánh với kết quả trong nghiên này.

Kết quả trong bảng 3.17. khi so sánh nồng độ ure, creatinin và cholesterol máu trung bình tại thời điểm nhập viện giữa của nhóm kháng thuốc steroid tương ứng là  $6,6 \pm 5,8$  mmol/l,  $68,9 \pm 106,8$   $\mu$ mol/l và  $11,7 \pm 3,9$  mmol/l kết quả nồng độ trung bình các chất ure và creatinin trong máu của bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid cao hơn một cách thực sự nhóm nhạy cảm steroid (ure:  $4,6 \pm 2,2$  mmol/l; creatinin:  $42,5 \pm 14,5$   $\mu$ mol/l và cholesteorol:  $10,7 \pm$

2,5 mmol/l) với  $p < 0,05$ . Kết quả trong bảng 3.18. khi so sánh về phân loại tổn thương thận cấp theo RIFLE (RIFLE: Risk (nguy cơ), Injury (thương tổn), Failure (suy thận), Loss (mất chức năng), End Stage Kidney Disease (bệnh thận giai đoạn cuối) cho thấy khi nhập viện (thời điểm bắt đầu nghiên cứu) nhóm kháng thuốc steroid có 14 bệnh nhân (14,89%) có tổn thương thận cấp từ mức F (suy giảm) trở lên trong đó 2 bệnh nhân (ở mức suy thận giai đoạn cuối), trong khi đó nhóm nhạy cảm chỉ có 02 bệnh nhân (4,3%) có tổn thương ở mức suy giảm, không bệnh nhân nào ở mức nặng suy thận và suy thận giai đoạn cuối, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Trong bảng 3.22 và bảng 3.25 khi so sánh các giai đoạn suy thận tại thời điểm kết thúc nghiên cứu cho thấy nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đã có 15 bệnh nhân (16,0%) tiến triển đến bệnh thận giai đoạn cuối, trong khi đó bệnh nhân nhóm nhạy cảm không có bệnh nhân bị suy thận giai đoạn cuối, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Phân tích nguy cơ của kháng thuốc đối với suy thận giai đoạn cuối trong bảng 3.27. cho thấy chỉ số tỷ suất chênh OR ở bệnh nhân kháng thuốc steroid làm tăng nguy tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối lên 1,54 lần (95%CI; 1,36-175). Điều này cũng phù hợp với kết quả ở bảng 3.17 trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid có nồng độ ure và creatinin máu cao hơn. Ảnh hưởng của kháng thuốc đến chức năng thận ở trẻ mắc HCTHTP đã được chứng minh trong nhiều báo cáo đã được công bố trên thế giới. Theo Rheault và CS (2014) khi theo dõi bệnh nhân mắc HCTH nhập viện tại nước Mỹ trong 3 năm từ 2006-2009 thấy tỷ lệ tổn thương thận cấp tăng lên 158%, trong khi đó tỷ lệ biến chứng nhiễm trùng và tắc mạch giảm 50% [39],[40]. Năm 2015, tác giả Rheault và cs khi nghiên cứu trên 615 trẻ mắc HCTHTP phải nhập viện tại 17 trung tâm Nhi khoa của miền Nam nước Mỹ cũng thông báo kết quả thấy 50,9% trẻ có tổn thương thận cấp. Mức độ tổn thương thận cấp theo phân loại RIFLE [(RIFLE: Risk (nguy cơ), Injury (thương

tổn), Failure (suy thận), Loss (mất chức năng), End Stage Kidney Disease (bệnh thận giai đoạn cuối) thấy 27.3% ở giai đoạn nguy cơ, 17.2% ở giai đoạn thương tổn và 6.3% ở giai đoạn suy giảm [40]. Nghiên cứu của tác giả Yaseen và cs tại Pakistan trong 2 năm 2014-2015 trên 119 trẻ mắc HCTHTP nhập viện cho thấy 61 (51.3%) trẻ ở giai đoạn nguy cơ, 43 (36.1%) trẻ ở giai đoạn thương tổn và 15 trẻ (12.6%) ở giai đoạn suy giảm đa số những bệnh nhân này mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và mô bệnh học thể xơ hóa cục bộ cầu thận từng phần và khu trú [41]. Theo Becherucci thống kê thấy 10,4% trẻ em mắc bệnh thận mạn ở các nước Âu Mỹ do HCTHTP kháng thuốc steroid và là nguyên nhân hàng đầu trong các bệnh về cầu thận gây suy thận giai đoạn cuối [81]. Theo Niaudet 50% trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối phải lọc máu [21]. Thống kê năm 2013 của tác giả Alberto và cs tại Brazil trên 136 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid theo dõi sau 10 năm điều trị có 42% bệnh nhân và sau 25 năm 72% bệnh nhân tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối [4]. Theo Nguyễn Thị Quỳnh Hương và cs nghiên cứu năm 2009 trên 152 trẻ mắc bệnh thận mạn tính tại bệnh Nhi Trung ương, thấy nguyên nhân do các bệnh cầu thận chiếm 66,4% trong đó đa số trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid [5]. Như vậy trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid khi sống đến tuổi trưởng thành đa số bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối, điều này ảnh hưởng không nhỏ đến cuộc sống của bệnh nhân cũng trở thành vấn đề sức khỏe y tế, kinh tế cho xã hội vì những bệnh nhân này sẽ phải lọc máu hoặc ghép thận.

Kết quả nghiên cứu về số lượng các tế bào máu (hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu) trong máu ngoại vi và thay đổi công thức máu trong bảng 3.19. và 3.20. cho thấy bệnh nhân nhạy cảm và kháng thuốc steroid không có sự khác biệt về số lượng các tế bào máu trung bình giữa hai nhóm với  $p > 0,05$ . Sự thay đổi các tế bào máu trong máu ngoại vi của bệnh nhân mắc HCTHTP y văn thường ít

đề cập đến vì nó rất thay đổi và có sự ảnh hưởng của nhiều yếu tố.

Kết quả thống kê về thể tổn thương trên mô bệnh học của bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid trong bảng 3.21. và biểu đồ 3.4 cho thấy trong tổng số 34 bệnh nhân được sinh thiết thận có 24 bệnh nhân (70,6%) biểu hiện thể tổn thương xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú, thể bệnh tổn thương tối thiểu chỉ gặp 9 bệnh nhân (24,6%), 1 bệnh nhân (3%) tổn thương thể xơ hóa lan tỏa. Theo Niaudet, tổn thương trên mô bệnh học bệnh nhân mắc HCTHTP thể nhạy cảm steroid chủ yếu thể bệnh tổn thương tối thiểu chiếm 90%, chỉ 7% -10% thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú còn lại các thể khác. Ngược lại, bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tổn thương thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú (FSGS: Focal and segmental glomerulosclerosis), chỉ khoảng 10% gặp thể bệnh tổn thương tối thiểu (MCD: minimal change disease). Theo kết quả nghiên cứu của ISKDC trên 521 bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm với steroid, đa số bệnh nhân có tổn thương thể MCD (76,4%), viêm cầu thận tăng sinh màng gặp 7,5 %, FSGS chỉ gặp 6,9%, ba thể tổn thương mô bệnh học này chiếm trên 90%, còn lại các thể khác. Tuy nhiên với bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thì mô bệnh học có sự thay đổi thể bệnh tổn thương tối thiểu chỉ gặp 20%, thể xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú gặp 70-80% [19],[21],[30]. Banh và cs (2016) nghiên cứu trên 711 trẻ mắc HCTHTP tại 3 vùng lãnh thổ là châu Âu, Nam Á, Đông Nam Á, có 133 trẻ được sinh thiết thận cho thấy thể MCD gặp 62,4%, FSGS gặp 31%, còn lại là không phân loại được [1]. Alberto và cs (2013) nghiên cứu trên 136 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Brazil thấy thể FSGS gặp 64%, MCD chỉ gặp 30% [4]. Roy và cs (2014) nghiên cứu trên 32 bệnh nhân kháng thuốc steroid ở Banglades thấy bệnh nhân có thể mô bệnh học là tăng sinh gian mạch chiếm tỷ lệ cao nhất 40,2%, thể bệnh tổn thương tối thiểu và xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú chỉ gặp 18,7% và 12,5% thể tổn thương khác [29]. Nghiên

cứu khác trên 29 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được sinh thiết thận tại Thổ Nhĩ Kỳ của tác giả Renda và cs (2016) thấy thể FSGS chiếm 62%, MCD chỉ gặp 6,8%, thể tăng sinh gian mạch gặp 27% không gặp thể viêm cầu thận tăng sinh màng [32]. Tác giả Al-salaita và cs (2016) báo cáo kết quả sinh thiết cho 100 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Jordan kết quả cho thấy có sự khác nhau về tỷ lệ các thể mô bệnh học với từng nhóm tuổi khác nhau. Nhóm bệnh nhân dưới 2 tuổi, thể tổn thương tối thiểu chiếm ưu thế tuyệt đối (81%), trong khi ở nhóm trên 10 tuổi thể MCD chỉ chiếm 12%. Ngược lại, thể FSGS tăng dần theo tuổi 12,5% ở nhóm dưới 2 tuổi, tăng lên 48% ở nhóm trên 10 tuổi [33]. Tại Việt Nam, kết quả sinh thiết trên 67 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I của Trần Hữu Minh Quân và cs (2014) thấy thể FGSS chỉ gặp 24,8%, trong khi đó bệnh tổn thương tối thiểu 64,2%, tổn thương khác 7,4% [28]. Tuy nhiên, khác với kết quả của tác giả Trần Hữu Minh Quân. Sự khác nhau về tổn thương mô bệnh học bệnh học ở bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm và kháng thuốc steroid được tổng hợp trong bảng 4.3. dưới đây.

**Bảng 4.3: Phân loại thể mô bệnh học trên bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm và kháng thuốc steroid tổng hợp từ các nghiên cứu**

Thể mô bệnh học	Nhạy cảm steroid		Kháng thuốc steroid			
	ISKDC [30] (n=512)	White [18] (n=145)	Alberto [4] (n=136)	Renda [32] (n=29)	T.H.M.Quân [28] (n=67)	Nghiên cứu này (n=34)
<b>Tỷ lệ MCD</b>	76,4%	76,5%	30%	6,8%	64,2%	26,4%
<b>Tỷ lệ FSGS</b>	6,9%	8,3%	64%	62%	24,8%	70,6%
<b>Thể khác</b>	16,7%	15,2%	6,0%	31,2%	7,4%	3%

Như vậy tổn thương mô bệnh học rất khác nhau theo từng nghiên cứu, tuy nhiên các nhà lâm sàng thận học đều thống nhất bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid biểu hiện tổn thương FSGS trên mô bệnh học luôn chiếm ưu thế, đôi khi giai đoạn đầu biểu hiện MCD nhưng sinh thiết lần 2, hoặc 3 bệnh nhân lại biểu hiện FSGS [4], trong nghiên cứu này chúng tôi cũng đã gặp 3 trẻ kết quả sinh thiết lần 1 lần tổn thương thể MCD, nhưng kết quả sinh thiết lần 2 chuyển thành FSGS. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt nhiều về tỷ lệ MCD và FSGS trong nghiên cứu này so với nghiên cứu của Trần Hữu Minh Quân nghiên cứu tại bệnh viện Nhi Đồng I [28]. Sở dĩ có sự khác biệt về kết quả sinh thiết thận trong nghiên cứu này với tác giả Trần Hữu Minh Quân có thể do nghiên cứu của tác giả Trần Hữu Minh Quân chỉ thông báo kết quả sinh thiết lần đầu, hơn nữa thời điểm từ khi phát bệnh đến khi sinh thiết cũng có sự ảnh hưởng đến kết quả mô bệnh học do thời gian đầu là thể MCD nhưng khi bệnh tiến triển có thể chuyển thành FSGS. Qua thống kê một các hệ thống các nghiên cứu trong y văn chúng tôi thấy kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp và khá tương đồng với các nghiên cứu trên thế giới.

Trong nghiên cứu này chúng tôi thống kê thấy thời gian từ khi khởi phát

đến thời điểm nghiên cứu trung bình là  $1,5 \pm 0,3$  năm. Bệnh nhân được theo dõi trong thời gian trung bình là  $1,2 \pm 0,4$  năm và thời gian gian mắc bệnh trung bình của bệnh nhân từ khi khởi phát đến thời điểm kết thúc nghiên cứu là  $2,5 \pm 0,2$  năm. Kết quả về tỷ lệ tử vong trong bảng 3.24 cho thấy nhóm kháng thuốc steroid có 9 bệnh nhân (chiếm 9,6%) tử vong cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm với  $p < 0,05$ . Khi so sánh tỷ suất chênh OR (Odds Ratio) trong bảng 3.26. tỷ lệ tử vong nhóm kháng thuốc steroid 9,6% trong khi đó nhóm nhạy cảm không có bệnh nhân nào tử vong, kháng thuốc steroid làm tăng nguy tử vong lên 1,54 lần (95%CI; 1,36-175). Kết quả nghiên cứu trong bảng 3.25 về mối liên quan giữa đáp ứng thuốc steroid và suy thận giai đoạn cuối chúng tôi thấy bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có tỷ lệ tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối là 16% cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm steroid (không có bệnh nhân nào) với  $p < 0,05$ . Kết quả phân tích tỷ suất chênh giữa đáp ứng thuốc steroid và suy thận giai đoạn cuối trong bảng 3.27 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối nhóm kháng thuốc steroid 16% trong khi đó nhóm nhạy cảm không có bệnh nhân kháng thuốc steroid làm tăng nguy tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối lên 1,54 lần (95%CI; 1,36-175). Như vậy bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid sẽ vừa làm tăng nguy cơ tử vong và nguy cơ suy thận giai đoạn cuối tại. Đây là ảnh hưởng rất lớn đến sức khỏe của trẻ cũng như gia đình trẻ. Khi tìm hiểu kỹ hơn về tình trạng tử vong của trẻ chúng tôi thấy trong số 9 bệnh nhân tử vong thì tất cả đều đã tiến triển thành suy thận giai đoạn cuối, có 3 bệnh nhân tử vong tại viện do nhiễm trùng, còn lại 6 bệnh nhân tử vong tại nhà khi bệnh nhân từ chối lọc máu hoặc không đưa đến bệnh viện cấp cứu kịp thời do các biến chứng của suy thận giai đoạn cuối gây ra. Trong số bệnh nhân tử vong tại nhà một số do gia đình trẻ không tiếp tục điều trị vì điều kiện kinh tế, một số gia đình chuyển sang cho trẻ uống thuốc nam. Có thể đây là một trong những nguyên nhân làm cho số trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid bị tử vong trong nghiên cứu của chúng tôi khá cao. Ảnh hưởng của kháng thuốc steroid lên chức năng thận ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc

steroid đã được y văn mô tả từ lâu. Theo Niaudet 50% trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối phải lọc máu [3]. Tác giả Becherucci thống kê thấy 10,4% trẻ em mắc bệnh thận mạn ở các nước Âu Mỹ do HCTHTP kháng thuốc steroid và là nguyên nhân hàng đầu trong các bệnh về cầu thận gây suy thận giai đoạn cuối [42]. Trong nghiên cứu năm 2013 của tác giả Alberto và cs tại Brazil trên 136 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid được theo dõi sau 10 năm điều trị có 42% bệnh nhân và sau 25 năm 72% bệnh nhân tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối [4]. Tác giả Özlü và cs khi theo dõi trong thời gian 5 năm trên 372 trẻ mắc HCTHTP tại Thổ Nhĩ Kỳ thấy có 73 bệnh nhân (19,6%) kháng thuốc steroid, trong số trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid chỉ 46,6% bệnh nhân đạt được sự thuyên giảm hoàn toàn, 15% trẻ tiến triển đến bệnh thận giai đoạn cuối [106]. Nghiên cứu của tác giả Ali và cs khi nghiên cứu 430 trẻ mắc HCTHTP tại Sudan thấy có 130 bệnh nhân (chiếm 28%) kháng thuốc steroid. Khi theo dõi bệnh nhân kháng thuốc steroid trong thời gian  $3,64 \pm 2,84$  năm, tác giả thấy chỉ có 26,8% bệnh nhân đạt được thuyên giảm hoàn toàn, 21,5% tiến triển đến suy thận mạn và tỷ lệ tử vong chỉ gặp 1,6% [107]. Tại Việt Nam, Nguyễn Thị Quỳnh Hương và cs nghiên cứu năm 2009 trên 152 trẻ mắc bệnh thận mạn tính tại bệnh Nhi Trung ương, thấy nguyên nhân do các bệnh cầu thận chiếm 66,4% trong đó đa số những bệnh nhân này mắc HCTHTP kháng thuốc steroid [5]. Trần Hữu Minh Quân và cs khi nghiên cứu cắt ngang 67 bệnh nhân kháng thuốc steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I không thấy có bệnh nhân nào bị suy thận, kết quả theo dõi trong 12 tháng không thấy thông báo có bệnh nhân tử vong [28]. Như vậy kết quả về tỷ lệ tử vong và suy thận mạn giai đoạn cuối trong nghiên cứu này của chúng tôi đều cao hơn so với các nghiên cứu trong và ngoài nước. Khi phân tích liên quan của kháng thuốc steroid với suy thận giai đoạn cuối và tử vong chúng tôi thấy chỉ số tỷ lệ tử vong và suy thận giai đoạn cuối ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid đều cao hơn thực sự trẻ nhạy cảm với thuốc steroid, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .



#### 4.2. Kết quả giải trình tự gen *NPHS2*

Chúng tôi đã xác định được 51 trẻ (chiếm 36,4%) mang đột biến trên 4 exon của gen *NPHS2*, có 1 trường hợp nhóm kháng thuốc steroid mang đột biến trên exon 3. Nhóm nhạy cảm thuốc steroid chỉ có 7 trường hợp (chiếm 13,7%) xuất hiện đột biến, nhóm kháng thuốc steroid có 45 trường hợp (chiếm 86,3%). Trong 52 đột biến xác định được, có 45 đột biến đồng nghĩa, 7 đột biến sai nghĩa. Đột biến đồng nghĩa xác định được chủ yếu tại exon 2 của gen *NPHS2* với 37/52 (chiếm 71,2%) và chỉ xuất hiện ở nhóm trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid. Có 51 đột biến dạng dị hợp, 1 đột biến dạng đồng hợp 288C>T (S96S). Theo kết quả phân bố các đột biến được thể hiện trong bảng 3.28, biểu đồ 3.5 và 3.6 cho thấy đa số đột biến đồng nghĩa xuất hiện ở exon 2 của gen *NPHS2* có 37/51 trường hợp (chiếm 72,5%) và chỉ có ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Các đột biến của gen *NPHS2* được tác giả Boute và cs lần đầu tiên thông báo vào năm 2000 khi nghiên cứu 14 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Pháp. Trong đó đã phát hiện thấy 10 bệnh nhân mang đột biến gen *NPHS2* bao gồm 3 đột biến dịch khung (thêm G tại vị trí 104 trên exon1, mất G tại vị trí 419 trên exon 3, mất A tại vị trí 855 trên exon 7); 6 đột biến sai nghĩa (59 C>T, 274 G>T trên exon 1, 413 G>A exon 3, 479 A>G trên exon 4, 583 G>A trên exon 5, 871 C>T trên exon 7) và 1 đột biến vô nghĩa (412 C>T trên exon 3). Đặc biệt tất cả những bệnh nhân này cũng kháng với thuốc ức chế miễn dịch khác [67]. Tác giả Hinkes và cs đã phân tích 4 gen *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* và *LAMB2* trên 89 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid từ 80 gia đình ở châu Âu đã phát hiện thấy 53/80 gia đình (66.3%) có xuất hiện đột biến gen, trong đó gen *NPHS2* có tỷ lệ phát hiện ra đột biến cao nhất chiếm 37,5%, gen *NPHS1* gặp 22.5%, gen *WT1* gặp 3,8%, *LAMB2* chỉ gặp 2,2% [68]. Trong nghiên cứu khác trên 430 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid từ 404 gia đình ở một số nước châu Âu, tác giả Hinkes và cs đã phát hiện thấy 18.1% các gia

đình có sự xuất hiện đột biến R138Q của gen *NPHS2*, đây là đột biến có tỷ lệ phát hiện thấy cao nhất, chiếm 69.9% các đột biến phát hiện được của gen *NPHS2* ở trẻ khởi phát HCTHTP trước 6 tuổi. Tỷ lệ phát hiện thấy các đột biến gen *NPHS2* là 39,1% ở trẻ mắc HCTHBS, 35,3% ở trẻ nhỏ tuổi [11]. Carini và cs (2001) công bố kết quả nghiên cứu ở Italy trên 44 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid thấy 9 bệnh nhân mang đột biến gồm 7 đột biến dịch khung (6 trường hợp 419delG trên exon 3, 1 trường hợp 467/8insT trên exon 2), 7 đột biến sai nghĩa R138Q (413G>A), 2 đột biến sai nghĩa V180M (538G>A), 1 vô nghĩa R138X (412C>T), 2 đột biến sai nghĩa trên exon 8 (c.951T>C, c.1038A>G) là hai đột biến mới [69]. Yaacov và cs (2002) nghiên cứu 27 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid ở Israel thấy đột biến gen *NPHS2* chỉ xuất hiện trên trẻ em là người Israel gốc Ả-rập với tỷ lệ 55% trong khi đó trẻ gốc Do Thái thì hoàn toàn không thấy thay đổi di truyền của gen này [70]. Kết quả của tác giả Ruf và cs (2004) tại Mỹ, khi giải trình tự gen *NPHS2* trên 190 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid từ 165 gia đình khác nhau làm nhóm bệnh, 124 trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid từ 120 gia đình làm nhóm chứng. Nghiên cứu của Ruf và cs cho thấy: đột biến gen *NPHS2* chỉ xảy ra trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid (nhóm bệnh), nhóm nhạy cảm (nhóm chứng) không phát hiện thấy đột biến trên gen này. Tỷ lệ phát hiện thấy đột biến là 26%, đặc biệt những bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid mà có đột biến gen sau khi ghép thận tỷ lệ tái phát chỉ có 8%, trong khi đó nhóm bệnh nhân không có đột biến gen tỷ lệ tái phát sau ghép thận là 35% [9]. Werber và cs (2004), khi thực hiện nghiên cứu trên 338 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid ở châu Âu và Bắc Phi quan sát thấy tỷ lệ đột biến thể R138Q của gen *NPHS2* là 32%. Nếu bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử sẽ có biểu hiện protein niệu sớm ngay trong năm đầu đời [51]. Nhìn chung, các nghiên cứu xác định đột biến gen *NPHS2* trên trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid thấy đột

biến tại vị trí R138Q trong các nghiên cứu đã công bố khá hay gặp. Tuy nhiên trong nghiên cứu này chúng tôi lại không gặp các thể đột biến R138Q trên exon 3 hay R229Q trên exon 5 của gen *NPHS2*, có thể đây là điều khác biệt về kiểu gen của trẻ bị HCTHTP kháng steroid tại Việt Nam.

Tại châu Á, nhiều nghiên cứu cũng thông báo phát hiện thấy đột biến gen *NPHS2* trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid, tuy nhiên ở từng khu vực lãnh thổ thì có tỷ lệ đột biến khác nhau. Basiratnia và cs (2013) giải trình tự gen *NPHS2* trên 99 trẻ em mắc HCTHTP bao gồm 44 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid (nhóm bệnh), 50 bệnh nhân nhạy cảm steroid làm nhóm chứng tại Iran. Kết quả nghiên cứu của Basiratnia cho thấy tỷ lệ đột biến ở nhóm bệnh là 31% trong đó bệnh nhân có tiền sử gia đình tỷ lệ là 57%, bệnh nhân ngẫu nhiên là 26%, 4% bệnh nhân nhóm chứng cũng có thay đổi di truyền trong gen *NPHS2* [73]. Tại Ấn Độ, Dhandapani và cs (2017) nghiên cứu trên 200 trẻ mắc HCTHTP (100 bệnh nhân kháng thuốc steroid, 100 bệnh nhân nhạy cảm) và 100 trẻ khỏe mạnh bình thường. Kết quả nghiên cứu này đã phát hiện thấy 18% bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid có đột biến gen *NPHS2*, trong khi đó nhóm nhạy cảm và nhóm trẻ khỏe mạnh hoàn toàn không thấy có sự thay đổi nào trên gen này [74]. Behnam và cs (2016) phân tích hệ thống các nghiên cứu tại Iran từ 1970 đến 2015 thấy tỷ lệ đột biến gen *NPHS2* gặp 43% trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc có tính chất gia đình và 10,5% bệnh nhân kháng thuốc không có tính chất gia đình. Bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến gen thường không đáp ứng với các thuốc ức chế miễn dịch [75]. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu của Maruyama và cs tại Nhật Bản không phát hiện đột biến gen *NPHS2* đối với trẻ em tại Nhật Bản mắc HCTH kháng steroid ngay cả các trường hợp đã được chẩn đoán giải phẫu bệnh là FSGS [76]. Rachmadi và cs (2016) nghiên cứu 28 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid tại Indonesia, khi giải trình tự 3 exon 1, exon 3 và exon 8 của gen *NPHS2*

thấy 7 bệnh nhân xuất hiện đột biến chủ yếu trên exon 2 (6 bệnh nhân) [77]. Tại Trung Quốc tác giả Wang và cs (2017) khi giải trình tự 5 gen (*NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1*, *WT1* và *TRPC6*) trên 38 bệnh nhân và giải trình tự thể hệ mới 17 gen trên 33 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại miền Trung của Trung Quốc chỉ thấy 1 bệnh nhân mang đột biến gen *NPHS2* trong tổng số 19 bệnh nhân (31,7%) phát thấy các đột biến gen [78]. Nghiên cứu khác của tác giả Wang và cs (2017) nghiên cứu 110 trẻ mắc HCTH kháng thuốc steroid cũng ở Trung Quốc thấy đột biến gen *NPHS2* chỉ gặp 2 bệnh nhân (3,3%) [79]. Azocar và cs (2016) cũng phát hiện thấy 7/34 (21%) bệnh nhi mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến trên gen *NPHS2* tại Chile, trong khi đó 233 người khỏe mạnh thì không phát hiện thấy đột biến nào trên gen này [80]. Như vậy các nghiên cứu trước đây về tần số đột biến gen *NPHS2* từ các quần thể bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại những khu vực lãnh thổ khác nhau cho thấy chủng tộc đóng một vai quan trọng đến kết quả phát hiện thấy những thay đổi di truyền của gen *NPHS2*. Đến nay, vẫn chưa có dữ liệu đầy đủ về tần xuất phát hiện cũng như vị trí các đột biến của gen *NPHS2* nhưng các nghiên cứu đều chứng minh được rằng những đột biến trên gen *NPHS2* đã phát hiện ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid ít nhiều đều có mức độ ảnh hưởng khác nhau đến tiến triển cũng như kết quả điều trị. Các kết quả nghiên cứu trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid trên quần thể trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại châu Âu đã công bố cho thấy đột biến thể R138Q (413G>A) tại exon 3 của gen *NPHS2* được cho là có tỷ lệ phát hiện thấy đột biến cao hơn các exon khác của gen *NPHS2* [6],[67]. Năm 2004, Ruf và cs đã tìm thấy gần 50% số các đột biến mất nucleotied ở exon3 của gen *NPHS2* trên tổng số 43 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến trên gen này [9]. Bouchireb và cs (2014) thống kê trong thời gian từ 1999 đến 2013 tại các phòng xét nghiệm gen học toàn cầu và dữ liệu trên database thấy

gen *NPHS2* đã có 101 đột biến đã được báo cáo bao gồm: 53 đột biến sai nghĩa, 17 đột biến đồng nghĩa, 26 mất đoạn, 11 chuyển đoạn nhỏ, 16 dịch khung, 2 thêm cặp và 1 đột biến stop codon. Ngoài ra vẫn còn 43 điểm thay đổi di truyền của gen này vẫn chưa xếp loại [81]. Tuy nhiên, chủng tộc có ảnh đến tỷ lệ phát hiện các thể đột của gen *NPHS2*, đột biến R138Q (413G>A) tại exon 3 của gen *NPHS2* có tỷ lệ phát hiện khá cao trong các nghiên cứu trên trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại một số nước châu Âu như Ý, Pháp, Đức và Hy Lạp nhưng lại hiếm gặp hơn ở Trung Quốc và Nhật Bản [9],[68],[67],[69],[76],[108].

Chúng tôi đã xác định được 37/51 trường hợp mang đột biến đồng nghĩa 288C>T (S96S) tại exon 2 của của gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Đây là nghiên cứu di truyền đầu tiên tại Việt Nam nhưng lại cho tỷ lệ khá cao so với các nghiên cứu trước đó trên các quần thể khác nhau trên thế giới. Theo nghiên cứu của Caridi (2001) được thực hiện trên 44 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đã được chẩn đoán mô bệnh học thể FSGS tại Italia cũng phát hiện thấy có đột biến 288C>T (S96S) nhưng tần xuất không cao [69]. Megremis và cs cũng phân tích 14 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và 100 người bình thường khỏe mạnh làm nhóm chứng tại Hy Lạp đã phát hiện thấy 3 bệnh nhân (21%) có mang đột biến gen *NPHS2* trong đó 1 bệnh nhân có mang đột biến 288C>T (S96S) [69],[85]. Năm 2002, theo nghiên cứu của Karle và cs trên 78 bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid ở châu Âu thấy một số đột biến gen *NPHS2*, trong đó ở exon 2 chỉ gặp đột biến 288C>T (S96S) thể đồng hợp [8]. Trong nghiên cứu của Yu năm 2005 trên 23 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Trung Quốc cũng chỉ gặp 1 trường hợp đột biến 288C>T (S96S) dạng đồng hợp. Junli và cs nghiên cứu trên hơn 97 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Singapore cũng phát hiện thấy có 7 dị hợp và 1 đồng hợp thể 288C>T (S96S) [84]. Dai và cs phân tích trên 70 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid muộn và 70 trẻ khỏe mạnh cùng độ tuổi, cùng

chủng tộc làm nhóm chứng tại Trung Quốc phát hiện thấy chỉ có 3 trẻ xuất hiện đột biến trong đó có 1 trường hợp mang đột biến thể 288C>T (S96S), không phát hiện thấy đột biến 288C>T (S96S) trên nhóm chứng [87]. Nghiên cứu của Rachmadi năm 2015 trên 52 bệnh nhi mắc HCTH ở Indonesia, có 28 bệnh nhân được phân tích đột biến trên 3 exon 1, exon 2 và exon 8 đã phát hiện thấy có 4/28 trường hợp (14%) thể dị hợp mang đột biến 288C>T (S96S). Tại Việt Nam, đây là nghiên cứu di truyền đầu tiên nhằm xác định các đột biến gen *NPHS2* ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid được thực hiện. Do vậy kết quả bước đầu sẽ cung cấp các dữ liệu di truyền của gen *NPHS2* ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Điều này hết sức có ý nghĩa về mặt di truyền để tiếp tục thúc đẩy các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực sinh học phân tử trong giai đoạn tiếp theo.

#### **4.3. Mối tương quan giữa kiểu hình và kiểu gen của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

Kết quả trong bảng 3.17 khi so sánh sự liên quan giữa phân bố giới của hai nhóm bệnh nhân có xuất hiện đột biến và không có đột biến cho thấy không có sự khác biệt giữa kiểu gen và phân bố giới với  $\chi^2 = 0,28$ ;  $p > 0,05$ . Do tính chất di truyền của gen *NPHS2* là di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đó yếu tố giới thường độc lập với những thay đổi di truyền. Các nghiên cứu trên thế giới cũng không tìm thấy sự khác biệt về giới liên quan đến đột biến của gen *NPHS2*.

Chúng tôi phân chia bệnh nhân thành hai nhóm tuổi theo KDIGO, là nhóm trẻ nhỏ (<12 tháng) và nhóm trẻ em chung (từ 12 tháng đến 14 tuổi), có 4 bệnh nhân thuộc nhóm trẻ nhỏ. Kết quả trong bảng 3.18 khi so sánh liên quan tuổi của hai nhóm tuổi này chúng tôi thấy bệnh nhân có xuất hiện đột biến và không có đột biến thấy không có sự khác biệt về phân bố nhóm tuổi giữa hai nhóm với  $p > 0,05$ . Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Satin và cs trên 110 trẻ mắc HCTHTP tại Tây Ban Nha có độ tuổi từ sơ sinh đến 16 tuổi. Khi giả trình tự 8

gen là *NPHS1*, *NPHS2*, *TRPC6*, *CD2AP*, *PLCE1*, *INF2*, *WT1* (exons 8 và 9), và *ACTN4* (exons 1 đến 10), kết quả cho thấy 100% trẻ mắc HCTH bẩm sinh (0-3 tháng) phát hiện thấy đột biến gen, 57% trẻ nhỏ (3 tháng -12 tháng) có mang các đột biến gen, trong khi đó ở nhóm trẻ lớn hơn tỷ lệ phát hiện thấy các đột biến chỉ khoảng 20%. Hinkes và cs khi giả trình tự 4 gen *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, và *LAMB2* trên 89 trẻ từ 80 gia đình mắc HCTHTP tại châu Âu có độ tuổi từ 0-12 tháng. Kết quả cho thấy 84,6% trẻ mắc HCTH bẩm sinh (từ 0 đến 3 tháng) phát hiện thấy đột biến gen, 44,1% trẻ từ 4 đến 12 tháng phát hiện thấy đột biến gen, trong đó gen *NPHS2* chiếm 37,5%. Những bệnh nhân có mang đột biến gen đều không đáp ứng khi được điều trị steroid [11],[68]. Các nghiên cứu trên thế giới đều thấy trẻ nhỏ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có nguy cơ xuất hiện các đột biến hoặc đột biến cao hơn, tuy nhiên trong nghiên cứu này chúng tôi không tìm thấy có mối liên quan giữa tuổi mắc và đột biến, có thể do chúng tôi chỉ làm 1 gen *NPHS2* hoặc số bệnh nhân nhỏ tuổi còn ít (4 bệnh nhân) nên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả so sánh về mức độ phù giữa nhóm có đột biến và không có đột biến ở bảng 3.19 cho thấy 52,9% đối tượng nghiên cứu nếu mang đột biến bị phù mức độ nặng cao hơn nhóm không mang đột biến (39,3%), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 2,61$ ;  $p > 0,05$ . So sánh mức độ tái phát trong bảng 3.38 cho thấy mặc dù tỷ lệ bệnh nhân bị tái phát dày ở nhóm mang đột biến là 56,0% cao hơn nhóm không mang đột biến (41,6%), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 2,672$ ;  $p > 0,05$ . Các nghiên cứu trên thế giới ít đề cập đến sự khác biệt về triệu chứng lâm sàng ở những bệnh nhân có mang đột biến gen *NPHS2* nên chúng tôi không có đủ thông tin để so sánh với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Kết quả ở bảng 3.20 liên quan giữa đột biến và đáp ứng với thuốc steroid ở trẻ mắc HCTHTP cho thấy nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc

steroid có tỷ lệ phát hiện đột biến là 46,8% cao hơn nhiều nhóm bệnh nhân nhạy cảm thuốc steroid (chỉ có 15,25%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 13,3$ ;  $p < 0,05$ ). Khi so sánh tỷ suất chênh (OR) bệnh nhân mang đột biến làm tăng nguy cơ kháng thuốc steroid. Trong nghiên cứu này tỷ lệ kháng thuốc steroid ở nhóm bệnh nhân xuất hiện đột biến là 46,8% trong khi đó nhóm nhạy cảm chỉ là 15,2% ( $p < 0.001$ ). Bệnh nhân xuất hiện đột biến làm tăng nguy cơ kháng thuốc lên 4,903 lần (95%CI; 1,92-12,069) (bảng 3.21, 3.22). Các nghiên cứu về phát hiện đột biến hoặc đột biến gen *NPHS2* đã công bố trên thế giới cho thấy các thay đổi di truyền này chủ yếu xuất hiện ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Dù các nghiên cứu trước đây đã thực hiện giải trình tự trên cả trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid và người khỏe mạnh nhưng tần suất phát hiện thấy các đột biến của gen *NPHS2* trên trẻ bị HCTHTP nhạy cảm thuốc steroid là rất thấp hoặc không có. Như trong nghiên cứu của Basiratnia và cs (2013) khi giải trình tự gen *NPHS2* trên 99 trẻ em mắc HCTHTP bao gồm 49 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid (nhóm bệnh), 50 bệnh nhân nhạy cảm steroid làm nhóm chứng tại Iran. Kết quả nghiên cứu của Basiratnia cho thấy tỷ lệ đột biến ở nhóm bệnh là 31% trong đó bệnh nhân có tiền sử gia đình tỷ lệ là 57%, bệnh nhân ngẫu nhiên là 26%, 4% bệnh nhân nhóm chứng cũng có thay đổi di truyền trong gen *NPHS2* [73]. Tại Ấn Độ, Dhandapani và cs (2017) nghiên cứu trên 200 trẻ mắc HCTHTP (100 bệnh nhân kháng thuốc steroid, 100 bệnh nhân nhạy cảm) và 100 trẻ khỏe mạnh bình thường. Kết quả nghiên cứu này chỉ phát hiện thấy 18% bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến gen *NPHS2*, trong khi đó nhóm nhạy cảm và nhóm trẻ khỏe mạnh hoàn toàn không thấy có sự thay đổi nào trên gen này [74]. Như vậy so với các nghiên cứu trên thế giới, nghiên cứu này của chúng tôi phát hiện thấy các đột biến trên trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid tại Việt Nam là khá cao, tuy nhiên nhóm bệnh nhân kháng thuốc steroid có tỷ lệ xuất hiện đột



biên cao hơn hẳn nhóm nhạy cảm và nguy cơ tăng gần 5 lần so với bệnh nhân nhạy cảm steroid. Bảng 3.23 cho thấy mối liên quan về tỷ lệ nhiễm trùng giữa hai nhóm bệnh nhân mắc HCTHTP có mang đột biến và không mang đột biến không có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 1,95$ ;  $p > 0,05$ . Nghiên cứu đã công bố trên thế giới cũng cho thấy bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến gen *NPHS2* ít có sự khác biệt rõ ràng về các biểu hiện lâm sàng [74],[77],[84].

Kết quả sinh hóa máu khi trẻ nhập viện có sự khác biệt rất rõ theo kết quả trong bảng 4.24, ở bệnh nhân có mang đột biến có nồng độ ure, creatinin máu cao hơn bệnh nhân không mang đột biến, trong khi đó protein máu và albumin máu lại thấp hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nghiên cứu của tác giả Thomas và cs (2017) khi nghiên cứu 10 bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid tại Ai Cập cho thấy nồng độ protein và albumin trong máu bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến gen thấp hơn bệnh nhân không mang đột biến, trong khi đó, ure, creatinin máu nhóm kháng thuốc có đột biến gen cũng cao hơn nhóm không mang đột biến [109]. Kết quả so sánh protein niệu trung bình và chỉ số protein /creatinin niệu trung bình tại thời điểm nhập viện trong bảng 3.44 cho thấy nhóm bệnh nhân mang đột biến có protein niệu trung bình và chỉ số protein/creatinin niệu trung bình cao hơn bệnh nhân không mang đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Bảng 3.25 cho thấy không có sự khác biệt về kết quả điện giải đồ và calci trung bình giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không mang đột biến với  $p > 0,05$ . So sánh kết quả công thức máu giữa hai nhóm kiểu gen trong bảng 3.26. không có sự khác biệt rõ ràng về số lượng tế bào và huyết sắc tố trung bình giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không mang đột biến với  $p > 0,05$ . Thành phần các chất điện giải và các tế bào máu ngoại vi do nhiều yếu tố chi phối và nhìn chung những thay đổi di truyền ít có ảnh hưởng đến các chỉ

số này. Bảng 3.27 cho thấy kết quả mô bệnh học và kiểu gen cũng không có sự khác biệt về kết quả mô bệnh học giữa hai nhóm bệnh nhân có mang đột biến và không mang đột biến với  $p > 0,05$ . Kết quả này của chúng tôi cũng không có sự khác biệt với các nghiên cứu đã được công bố trên thế giới. Khi so sánh các giai đoạn của suy thận tại thời điểm kết thúc trong bảng 3.28 nghiên cứu này cho thấy bệnh nhân có đột biến có tỷ lệ suy thận giai đoạn 4 và 5 cao hơn bệnh nhân không mang đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Với MLCT khi so sánh thay đổi mức lọc cầu thận và kiểu gen khi kết thúc nghiên cứu tại bảng 3.29 cho biết bệnh nhân có đột biến có tỷ lệ tử vong và suy thận giai đoạn cuối cao hơn bệnh nhân không mang đột biến, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Kết quả điều trị trong bảng 3.30 cho thấy kết thúc nghiên cứu, nhóm có đột biến gen có tỷ lệ tử vong và suy thận giai đoạn cuối cao hơn nhóm không có đột biến gen với  $p < 0,05$ . Bảng 3.31 phân tích tỷ suất chênh OR suy thận giai đoạn cuối và kiểu gen thấy tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối ở nhóm có mang đột biến là 26,6% trong khi đó nhóm không mang đột biến chỉ gặp 4,5%, đột biến gen *NHPS2* sẽ làm tăng nguy cơ suy thận giai đoạn cuối lên 5,85 lần (95%CI; 1,76-19,49). Theo các nghiên cứu trong y văn đã công bố một trong những ảnh hưởng lớn nhất của đột biến gen *NHPS2* đến bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đó là có tỷ lệ tiến triển thành bệnh thận mạn hoặc suy thận giai đoạn cuối cao hơn. Những bệnh nhân nếu xuất hiện các đột biến trên gen *NPHS2* còn kháng với hầu hết các thuốc ức chế miễn dịch khác và sẽ tiến triển nhanh thành bệnh thận giai đoạn cuối. Do đó, ở một số quốc gia phân tích đột biến gen trên bệnh nhân bị HCTHTP giúp tiên lượng và quyết định liệu pháp điều trị bệnh và tư vấn di truyền cho bệnh nhân và gia đình [6],[110]. Tại Việt Nam đây là lần đầu tiên nghiên cứu phân tích về di truyền trên bệnh nhân mắc HCTHTP được thực hiện, đặc biệt thông qua nghiên cứu bệnh chứng để làm sáng tỏ vai trò của di truyền trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng

thuốc steroid. Trên cơ sở đó các nhà lâm sàng thận nhi có được đầy đủ các thông tin về khả năng đáp ứng với điều trị cũng như tiến triển của bệnh để tư vấn di truyền và tiên lượng điều trị cho bệnh nhân. Kết quả đạt được trong nghiên cứu này cũng là cơ sở dữ liệu thông tin di truyền đóng góp cho ngân hàng gen.

Liên quan giữa tỷ lệ tử vong với kiểu gen và tỷ suất chênh OR trong bảng 3.32 cho biết trẻ có mang đột biến có tỷ lệ tử vong là 15,7% cao hơn nhóm không mang đột biến (1,1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Đột biến làm tăng nguy tử vong lên 16,37 lần (95%CI; 1,98-135,12).

Khi đánh giá liên quan giữa lâm sàng và vị trí các đột biến gen trong bảng 3.33 cho thấy không có sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng tràn dịch đa màng và vị trí đột biến của các exon gen *NPHS2* ở trẻ bị HCTHTP với  $p > 0,05$ . Kết quả trong bảng 3.34 cho thấy trẻ bị đột biến gen có tỷ lệ không thuyên giảm và tử vong cao hơn hẳn trẻ không bị đột biến, đặt biệt đột biến đồng nghĩa trên exon 2 288C>T (S96S) chỉ có 51% trẻ đạt được thuyên giảm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Chúng tôi thấy đột biến 288C>T (S96S) trên exon 2 của gen *NPHS2* xuất hiện ở 37/51 trường hợp và chỉ có ở nhóm kháng thuốc steroid. Các đột biến khác có tần xuất thấp, và không có sự khác biệt về tỷ lệ giữa hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc nên chúng tôi đã tập trung làm rõ hơn những ảnh hưởng của đột biến 288C>T (S96S). Đột biến này tạo ra 3 kiểu gen, kiểu gen đồng hợp kiểu dại (CC), kiểu dị hợp tử (CT) và kiểu đồng hợp tử đột biến (TT). Có rất ít các phát hiện đột biến 288C>T (S96S) trên những quần thể bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid trong các nghiên cứu đã được công bố trên thế giới. Tuy nhiên khi thực hiện nghiên cứu này trên trẻ mắc HCTHTP là chủng tộc người Việt Nam chúng tôi đã phát hiện được đột biến 288C>T (S96S) lại xuất hiện với tần suất cao, đây là điểm khác biệt khá thú vị và rất có ý nghĩa lâm sàng làm cơ sở để có chiến lược điều trị cũng như tiên lượng cho bệnh nhân có mang đột biến trên quần thể trẻ mắc HCTHTP kháng

thuốc steroid trên chủng tộc người Việt Nam . Những phát hiện mới về di truyền trong nghiên cứu này cũng có đóng góp rất hữu ích cho cơ sở dữ liệu di truyền người tại Việt Nam nói riêng và toàn thế giới nói chung, bổ sung thêm cơ sở dữ liệu cũng như các thông tin di truyền một cách đầy đủ hơn cho ngân hàng gen ở người trên toàn thế giới.

Theo kết quả trong bảng 3.35, có 23 trường hợp (62,2%) mang đột biến 288C>T (S96S) có biểu hiện phù mức độ nặng trên lâm sàng, tỷ lệ này cao hơn hẳn nhóm không mang đột biến 288C>T (S96S), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 8,266$ ;  $p > 0,05$ . Bảng 3.36 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân mắc HCTHTP mang đột biến 288C>T (S96S) bị nhiễm trùng cao hơn nhóm không mang, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $\chi^2 = 8,9$ ;  $p < 0,05$ . Nhóm mang đột biến 288C>T (S96S) có tỷ lệ nhiễm trùng 40,5%, trong khi đó nhóm không có đột biến là 16,5%, đột biến 288C>T (S96S) làm tăng nguy cơ nhiễm trùng lên 3,45 lần (95%CI: 1,51-7,79). Biểu hiện lâm sàng đột biến 288C>T (S96S) có biểu hiện chủ yếu là phù mức độ nặng, tỷ lệ nhiễm trùng cao hơn. Kết quả giải phẫu bệnh trong bảng 3.37 cho thấy hầu hết bệnh nhân (92,3%) mắc HCTHTP mang đột biến 288C>T (S96S) có thể mô bệnh học là FSGS, cao hơn nhóm không mang đột biến 288C>T (S96S), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ , do số lượng bệnh nhân được sinh thiết còn hạn chế nên kết quả so sánh còn chưa cho thấy sự khác biệt rõ ràng.

Theo kết quả trong bảng 3.38 tỷ lệ bệnh nhân mắc HCTHTP có mang đột biến 288C>T (S96S) tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối cao hơn hẳn nhóm không mang đột biến với  $\chi^2 = 13,9$ ;  $p < 0,05$ . Phân tích tỷ suất chênh OR chúng tôi thấy nhóm mang đột biến 288C>T (S96S) có tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối là 27,0%, trong khi đó nhóm không có đột biến chỉ có 4,9%, đột biến 288C>T (S96S) làm tăng nguy cơ tiến triển đến suy thận giai đoạn cuối là 7,26 (95%CI: 2,29-23,04). Theo kết quả trong bảng 3.39, bệnh nhân mắc HCTHTP có mang

đột biến 288C>T (S96S) có tỷ lệ tử vong là 21,6%, cao hơn nhóm không mang đột biến (1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nhóm mang đột biến 288C>T (S96S) có tỷ lệ tử vong là 21,6%, trong khi đó nhóm không có đột biến chỉ có 1%, đột biến 288C>T (S96S) làm tăng nguy cơ tử vong lên 28,14 lần (95%CI: 2,29-23,04).

Trong số 52 đột biến xác định được chỉ có 1 đột biến dạng đồng hợp và 51 đột biến dạng dị hợp nên chúng tôi không đánh giá mối tương quan về dạng đột biến. Có 45 trẻ mang đột biến thể đồng nghĩa và 6 trẻ mang đột biến thể sai nghĩa. Kết quả trong bảng 3.40 cho thấy hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid không có sự khác biệt về thể đột biến đồng nghĩa và sai nghĩa với  $p > 0,05$ . Khi đánh giá ảnh hưởng của kiểu đột biến trên chức năng thận khi kết thúc nghiên cứu trong bảng 3.41 cho thấy trẻ mang đột biến đồng nghĩa hoặc sai nghĩa không có sự khác biệt về tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối tại thời điểm kết thúc nghiên cứu với  $p > 0,05$ .

Về kết quả tử vong kho kết thúc nghiên cứu trong bảng 3.42 cho thấy trẻ bị HCTHTP nếu mang đột biến đồng nghĩa hoặc sai nghĩa không cũng không có sự khác biệt về tỷ lệ tử vong khi kết thúc nghiên cứu với  $p > 0,05$ .

## KẾT LUẬN

Bằng phương pháp nghiên cứu mô tả hàng loạt ca bệnh và áp dụng kỹ thuật PCR-giải trình tự 6 exon (ex1-ex6) của gen *NPHS2* trên 94 trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid và 46 trẻ nhạy cảm steroid chúng tôi rút ra một số kết luận:

### **1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid**

Trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có thời gian nằm viện kéo dài, tái phát nhiều lần trong năm.

Trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có thể lâm sàng không đơn thuần cao hơn. Tổn thương trên mô bệnh học thể kháng thuốc steroid có thể mô bệnh học chủ yếu là xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú. Tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối và tử vong ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid cao hơn thực sự trẻ mắc HCTHTP nhạy cảm steroid.

### **2. Kết quả xác định các đột biến trên 6 exon (exon1-exon6) của gen *NPHS2***

Lần đầu tiên đã xác định được 52 đột biến ở 51 trẻ mắc HCTHTP, với 45 đột biến đồng nghĩa, 7 đột biến sai nghĩa, các đột biến xuất hiện chủ yếu ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.

Trong số các đột biến xác định được trên trẻ mắc HCTHTP tại Việt Nam, đột biến 288C>T (S96S) tại exon 2 của gen *NPHS2* chiếm đa số và chỉ có ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid. Các đột biến khác xuất hiện trên exon 1, exon 3 và exon 4 có tần xuất thấp, không có sự khác biệt về tỷ lệ giữa hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid. Không có sự khác biệt về suy thận giai đoạn cuối và tử vong giữa hai kiểu đột biến đồng nghĩa và sai nghĩa.

### 3. Tương quan kiểu gen-kiểu hình

Bệnh nhân mắc HCTHTP nếu mang đột biến gen *NPHS2* sẽ làm tăng nguy cơ kháng thuốc gấp 4,903 lần (95%CI; 1,92-12,069). Đột biến gen *NPHS2* cũng làm tăng nguy tử vong ở bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid lên 16,37 lần (95%CI; 1,98-135,12).

Ngoài ra đột biến gen *NPHS2* còn làm tăng nguy cơ suy thận giai đoạn cuối lên 5,85 lần (95%CI; 1,76-19,49). Đột biến 288C>T (S96S) có ảnh hưởng lớn đến tiến triển và đáp ứng điều trị. Theo đó nếu trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có mang đột biến 288C>T (S96S) sẽ làm tăng tỷ lệ tiến triển thành suy thận mạn giai đoạn cuối lên 7,26 lần (95%CI: 2,29-23,04), tăng tỷ lệ tử vong lên 28,14 lần (95%CI: 2,29-23,04). Không có sự khác biệt về tỷ lệ suy thận giai đoạn cuối và tử vong giữa hai kiểu đột biến đồng nghĩa và sai nghĩa.

## **KIẾN NGHỊ VÀ HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO**

Cần có chỉ định sàng lọc các đột biến trên gen *NPHS2* cho bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid đặc biệt đột biến 288C>T (S96S) .

Cần có chiến lược theo dõi lâu dài cho bệnh nhân các mang đột biến của gen *NPHS2*, nhằm đánh giá hết được những ảnh hưởng của đột biến lên tiến triển cũng như đáp ứng điều trị của bệnh nhân.



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

1. Tạp chí: *Hindawi Case Reports in Genetics*, Volume 2017, 1-7; Title: “Three Novel Mutations in the NPHS1 Gene in Vietnamese Patients with Congenital Nephrotic Syndrome”.
2. Tạp chí: *Y học Việt Nam*, tập 1(460), năm 2017; trang 133-138, tên bài: “Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và những thay đổi di truyền trên 02 đột biến đơn của exon 2 (rs3738423) và exon 3 (rs74315342) của gen NPHS2 ở trẻ mắc hội chứng thận hư tiên phát kháng thuốc steroid”.
3. Tạp chí: Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Y Dược; Tập 33, Số 1; năm 2017, trang 60-64; Tên bài: “Kết quả bước đầu phân tích đột biến thái đơn gen NPHS2 ở bệnh nhi mắc hội chứng thận hư tiên phát”.
4. Tạp chí: *Y học Việt Nam*, tập 2(459), năm 2017; Tên bài: trang 119-123, tên bài: “Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và những thay đổi di truyền trên gen NPHS1 ở trẻ mắc hội chứng thận hư bẩm sinh”.
5. Tạp chí: *Y học Thực hành*, bộ Y tế, số 6 (1049), năm 2017; trang 8-10; Tên bài: “Đánh giá thái độ thực hành đúng của cha mẹ về chăm sóc trẻ mắc hội chứng thận hư”.
6. Tạp chí: *Y học Thực hành*, bộ Y tế, số 6 (1049), năm 2017; trang 52-54; Tên bài: “Đánh giá kiến thức của cha mẹ về chăm sóc trẻ hội chứng thận hư tại bệnh viện Nhi Trung ương”.
7. Tạp chí: Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Y Dược, Tập 32, Số 1, năm 2016, trang: 41-47, tên bài: “Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị hội chứng thận hư kháng thuốc steroid tại khoa Thận-Lọc máu, Bệnh viện Nhi Trung ương”.
8. Tạp chí: *Y học Thực hành*, Bộ Y tế, số 1010 tập 5, (2016), trang: 34-37, tên bài: “Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng hội chứng thận hư kháng thuốc steroid ở trẻ em”.
9. Tạp chí: *Y học Thực hành*, Bộ Y tế, số 1016, tập 7, (2016), trang: 67-70, tên bài: “Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng hội chứng thận hư tiên phát tại khoa Thận-Lọc máu, Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2015”.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Banh T.H., Hussain-Shamsy N., Patel V. et al (2016). Ethnic Differences in Incidence and Outcomes of Childhood Nephrotic Syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 11(10), 1760-1767.
2. Lê Nam Trà, Nguyễn Ngọc Sáng (2013). Hội chứng thận hư kháng thuốc steroid. *Sách giáo khoa Nhi khoa*. Nhà xuất bản Y học, 1150-1160.
3. Niaudet P. (2014). Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome in children. *www.uptodate.com*, 01-15.
4. Alberto Z., Oliveira A.L., Montalvão J.A., et al (2013). Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome in children follow-up and risk factors for end-stage renal disease. *Jornal Brasileiro De Nefrologia*, (35), 1-10.
5. Nguyen Thi Quynh Huong, Tran Dinh Long, François Bouissou et al (2009). Chronic kidney disease in children: The National Paediatric Hospital experience in Hanoi, Vietnam. *Nephrology*, 14, 722-727.
6. Olivia B., Kálmán T., Eduardo M. et al (2016). Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children: Genetic Aspects. *Pediatric Nephrology*, Seventh Edition, Vol 1, chapter 27, part V, 806-826.
7. Serajpour N., Karimi B., Hooman N. et al (2018). Molecular genetic analysis of Steroid Resistant Nephrotic Syndrome: Detection of a novel mutation. *BioRxiv*, 10 (1101), 1-16.
8. Karle S.M., Uetz B., Ronner V. et al (2002). Novel mutations in NPHS2 detected in both familial and sporadic steroid-resistant nephrotic syndromes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(2), 388-393.
9. Ruf R.G., Lichtenberger A., Karle S.M. et al (2004). Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid

treatment of nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(3), 722–732.

10. Sadowski C.E., Lovric S., Ashraf S. et al (2015). A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(6), 1279-1289.
11. Hinkes B.G., Mucha B., Vlangos C.N. et al (2007). Nephrotic syndrome in the first year of life: two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes (NPHS1, NPHS2, WT1, and LAMB2). *Pediatrics*, 119(4), 907-919.
12. Jameeca A.K., Sherif M. El-Desoky, Mamdooh Gari et al (2013). Steroid-resistant nephrotic syndrome: impact of genetic testing. *Ann Saudi Med*, 33(6), 533-538.
13. Satin S., Bullich G., Tazon-Vega B. et al (2011). Clinical utility of genetic testing in children and adult with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6, 1139-1148.
14. Rheault M.N. and Gbadegesin R.A. (2016). The Genetics of Nephrotic Syndrome. *Journal of Pediatric Genetics*, 5(1), 15-24.
15. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis (2012). Steroid-sensitive nephrotic syndrome in children. *Kidney International Supplements* 2, chapter 3, 163–171.
16. Stewart Cameron J. (1985). Five hundred years of the nephrotic syndrome: 1484-1984. *The Ulster Medical Journal*, 54, 5-19.
17. Boyer O., Baudouin V., Bérard E. et al (2017). Idiopathic nephrotic syndrome. *Archives de Pédiatrie*. 24(12), 1338-1343.
18. Kevin D. Mcryde, David B. Kershaw and William E. Smoyer (2001). Pediatric Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Current Problems in Pediatrics*, 31(9), 280-307.
19. Niaudet P. and Boyer O. (2016). Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children: Clinical Aspects. *Pediatric Nephrology*, Seventh Edition, Vol

- 1, chapter 28, part V, 840-869.
20. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis (2012). Steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Kidney International Supplements 2*, chapter 4, 172–176.
  21. Niaudet P. (2016). Complications of nephrotic syndrome in children. *uptodate.com*, 1-5.
  22. Hussain N., Anastasia Zello J., Vasilevka-Ristovska J. et al (2013). The rationale and design of Insight into Nephrotic Syndrome: Investigating Genes, Health and Therapeutics (INSIGHT): a prospective cohort study of childhood nephrotic syndrome. *BMC nephrology*, 1-11.
  23. Banaszak B. and Banaszak P. (2012). The increasing incidence of initial steroid-resistant in childhood nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 27(6), 927-932.
  24. Phạm Văn Đэм, Nguyễn Thị Quỳnh Hương, Nguyễn Thu Hương và cộng sự (2015). Một số yếu tố dịch tễ lâm sàng Hội chứng thận hư tại Khoa Thận và Lọc máu, Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2015. *Tạp chí Y học Thực hành*, 624, 45-53.
  25. Mortazavi F. and Khiavi Y.S. (2017). Steroid response pattern and outcome of pediatric idiopathic nephrotic syndrome: a single-center experience in northwest Iran. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 7, 167–171.
  26. Wygledowska G., Grygalewicz J. and Matuszewska E. (2001). Natural coagulation inhibitors; antithrombin III, protein C, protein S in children with hypercoagulation due to nephrotic syndrome. *Problemy Medycyny Wieku Rozwojowego*, 5(4), 377-388.
  27. Citak A., Emre S., Sâirin A. et al (2000). Hemostatic problems and thromboembolic complications in nephrotic children. *Pediatric*

*Nephrology*, 14(2), 138-142.

28. Trần Hữu Minh Quân, Huỳnh Thoại Loan, Nguyễn Đức Quang và cộng sự (2014). Đặc điểm hội chứng thận hư kháng steroid tại bệnh viện Nhi Đồng I. *Hội nghị Nhi Khoa năm 2014 tại bệnh viện Nhi đồng I*, 2-6.
29. Roy R., Mamun A., Haque S.S. et al (2014). Steroid resistant nephrotic syndrome in children: Clinical presentation, renal histology, complications, treatment and outcome at Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University, Dhaka, Bangladesh. *International Organization of Scientific Research Journal of Pharmacy*, 4 (11), 01-07.
30. International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC) (1979). Nephrotic syndrome in children: Prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney International*, 13, 159-165.
31. Nourbakhsh N. and Robert H. Mak (2017). Steroid-resistant nephrotic syndrome: past and current perspectives. *Pediatric health, medicine and Therapeutics*, 8, 29-37.
32. Renda R., Aydoğ O., Bülbül M. et al (2016). Children with Steroid-resistant Nephrotic Syndrome Single-Center Study. *International Journal of Pediatrics*, 4 (1), 1233-1242.
33. Al-salaita G., Almardini R., Al-kaisi N. et al (2016). Steroid Resistant Nephrotic Syndrome in Pediatric Patients: Histopathological Patterns at King Hussein Medical Center. *Journal Of The Royal Medical Services*, 23(1), 28-33.
34. Alwadhhi R.K., Mathew J.L. and Rath B. (2008). Clinical profile of children with nephrotic syndrome not on glucocorticoid therapy, but presenting with infection. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 20, 1-28.
35. Moorani K.N., Khan K.M. and Ramzan A. (2003). Infections in children with nephrotic syndrome. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan* , 13(6), 337-339.

36. Gorenssek M.J., Lebel M.H. and Nelson J.D. (1988). Peritonitis in children with nephrotic syndrome. *Pediatrics*, 81(6), 849-856
37. Lilova M.I., Velkovski I.G. and Topalov I.B. (2000). Thromboembolic complications in children with nephrotic syndrome in Bulgaria (1974-1996). *Pediatric Nephrology*, 15(1), 74-78.
38. Suri .D , Ahluwalia .J, Saxena A.K. et al (2014). Thromboembolic complications in childhood nephrotic syndrome: a clinical profile. *Clinical and Experimental Nephrology*, 18(5), 803-813.
39. Rheault M.N., Wei C.C., Hains D.S. et al (2014). Increasing frequency of acute kidney injury amongst children hospitalized with nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 29(1), 139-1347.
40. Rheault M.N., Zhang L., Selewski D.T. et al (2015). AKI in Children Hospitalized with Nephrotic Syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(12), 2110-2118.
41. Yaseen A., Tresa V., Lanewala A.A. et al (2017). Acute kidney injury in idiopathic nephrotic syndrome of childhood is a major risk factor for the development of chronic kidney disease. *Renal Failure*, 39(1), 323-327.
42. Becherucci F., Roperto M.R., Materassi M. et al (2016). Chronic kidney disease in children. *Clinical Kidney Journal*, 9 (4), 583–591.
43. Wang S.J., Tsau Y.K., Lu F.L., Chen C.H. (2000). Hypovolemia and hypovolemic shock in children with nephrotic syndrome. *Acta Paediatrica Taiwanica*, 41(4), 179-183.
44. Tsau Y.K., Chen C.H., Tsai W.S. et al (1991). Complications of nephrotic syndrome in children. *Journal of the Formosan Medical Association*, 90(6), 555-559.
45. Afroz S., Khan A.H. and Roy D.K. (2011). Thyroid function in children with nephrotic syndrome. *Mymensingh Medical Journal*, 20(3), 407-411.
46. Sharma S., Dabla P.K. and Kumar M. (2015). Evaluation of Thyroid

Hormone Status in Children with Steroid Resistant Nephrotic Syndrome: A North India Study. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, 15(4), 321-324.

47. Hacıhamdioğlu D.Ö., Kalman S. and Gök F. (2015). Long-term results of children diagnosed with idiopathic nephrotic syndrome; single center experience. *Turkish Archives of Pediatrics*, 50(1), 37-44.
48. Hjorten R., Anwar Z. and Reidy K.J. (2016). Long-term Outcomes of Childhood Onset Nephrotic Syndrome. *Frontiers in Pediatrics*, 4(53), 1-6.
49. Colquitt J.L., Kirby J., Green C. et al (2007). The clinical effectiveness and cost-effectiveness of treatments for children with idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Health Technology Assessment*, 11, 1-114.
50. Hoseini R., Sabzian K., Otukesh H. et al (2018). Efficacy and Safety of Rituximab in Children with Steroid- and Cyclosporine-resistant and Steroid- and Cyclosporine-dependent Nephrotic Syndrome. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 12(1), 27-32.
51. Weber S., Gribouval O., Esquivel E.L. et al (2004). NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney International*, 66(2), 571–579.
52. Tae-Sun Ha (2017). Genetics of hereditary nephrotic syndrome: a clinical review. *Korean J Pediatr*, 60(3), 55-63.
53. Kari J.A., Sherif M. El-Desoky, Mamdooh Gari et al (2013). Steroid-resistant nephrotic syndrome: impact of genetic testing. *Annals of Saudi Medicine*, 33(6), 533-538.
54. Trautmann A., Bodria M., Ozaltin F. et al (2015). Spectrum of steroid-

resistant and congenital nephritic syndrome in children: The PodoNet Registry Cohort. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10, 592-600.

55. Niaudet P. (2004). Denys-drash syndrome. *Orphanet encyclopedia*, 1-3.
56. Cho H.Y., Lee J.H., Choi H.J. et al (2008). WT1 and NPHS2 mutations in Korean children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 23, 63-70.
57. Lipska B.S., Ranchin B., Iatropoulos P. et al (2014). Genotype-phenotype associations in WT1 glomerulopathy. *International Society of nephrology*, 85(5), 1169-1178.
58. Siji A., Pardeshi V.C., Ravindran S. et al (2017). Screening of WT1 mutations in exon 8 and 9 in children with steroid resistant nephrotic syndrome from a single centre and establishment of a rapid screening assay using high-resolution melting analysis in a clinical setting. *BMC Medical Genetics*, 18(1), 1-10.
59. Patrick Niaudet (2001). Congenital nephrotic syndrome, Finnish type. *Orphanet encyclopedia*, 1-4.
60. Wu L.Q., Hu J.J., Xue J.J. et al (2011). Two novel *NPHS1* mutations in a Chinese family with congenital nephrotic syndrome. *Genetics and molecular research*, 10 (4), 2517-2522.
61. Lee B.H., Ahn Y.H., Choi H.J. et al (2009). Two Korean Infants with Genetically Confirmed Congenital Nephrotic Syndrome of Finnish Type. *Journal of Korean Medical Science*, 24 (1), 210-214.
62. Lovric S., Ashraf S., Tan W et al (2016). Genetic testing in steroid-resistant nephrotic syndrome: when and how?. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 31(11), 1802–1813.
63. The Human Gene Database, truy cập ngày, 20/05/2017 tại trang web:



<https://www.ensembl.org>.

64. Serrano-Perez M.C., Tilley F.C., Nevo F. et al (2018). Endoplasmic reticulum-retained podocin mutants are massively degraded by the proteasome. *The Journal of Biological Chemistry*, doi: 10.1074, 1-22.
65. Schwarz K., Simons M., Reiser J. et al (2011). Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *The Journal of Clinical Investigation*, 108(11), 1621–1629.
66. Gigante M., Matteo Piemontese, Loreto Gesualdo et al (2011). Molecular and genetic basic of inherited nephrotic syndrome. *International Journal of Nephrology*, 2011, 1-15.
67. Boute N., Gribouval O., Roselli S. et al (2000). NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid resistant nephritic syndrome. *Nature genetics*, 2(4), 349-354.
68. Hinkes B., Vlangos C., Heeringa S. et al (2008). Specific Podocin Mutations Correlate with Age of Onset in Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(2), 365–371.
69. Caridi G., Bertelli R., Carrea A. et al (2001). Prevalence, genetics, and clinical features of patients carrying podocin mutations in steroid-resistant nonfamilial focal segmental glomerulosclerosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(12), 2742-2746.
70. Yaacov F., Rinat C., Megged O. et al (2002). Mutations in NPHS2 encoding podocin are a prevalent cause of steroid-resistant nephrotic syndrome among Israeli-Arab children. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(2), 400-405.
71. Berdeli A., Mir S., Yavascan O. et al (2007). NPHS2 (podocin) mutations in Turkish children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 22(12), 2031-2040.
72. Büscher A.K., Beck B.B., Melk A. et al (2016). Rapid Response to Cyclosporin A and Favorable Renal Outcome in Nongenetic Versus

Genetic Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 11(2), 245-253.

73. Basiratnia M., Yavarian M. and Torabinezhad M. et al (2013). "NPHS2 gene in steroid-resistant nephrotic syndrome: Prevalence, clinical course, and mutational spectrum in South-West Iranian", *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 7, 357-362.
74. Dhandapani M.C., Venkatesan V., Rengaswamy N.B. et al (2017). Report of novel genetic variation in NPHS2 gene associated with idiopathic nephrotic syndrome in South Indian children. *Clinical and Experimental Nephrology*, 21(1), 127-133.
75. Behnam B., Vali F. and Hooman N. (2016). Genetic Study of Nephrotic Syndrome in Iranian Children-Systematic Review. *Journal of Pediatric Nephrology*, 4 (2), 51-55.
76. Maruyama K., Iijima K., Ikeda K. et al (2003). NPHS2 mutations in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatric Nephrology*, 5 (18), 412–416.
77. Rachmadi B., Melani A., Monnens. (2015). NPHS2 gene mutation and polymorphisms in Indonesian children with steroid – resistant nephrotic syndrome. *Open Journal of Pediatrics*, 5, 27-33.
78. Wang Y., Dang X., He Q. et al (2017). Mutation spectrum of genes associated with steroid-resistant nephrotic syndrome in Chinese children. *Gene*, 119(17), 30320-30327.
79. Wang F., Zhang Y., Mao J. et al (2017). Spectrum of mutations in Chinese children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 18 (1), 516-520.
80. Azocar M., Vega A., Farfán M. et al (2016). NPHS2 Mutation analysis study in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Revista*

*chilena de pediatria*, 87(1), 31-33.

81. Bouchireb K., Boyer O., Gribouval O., et al. (2014). NPHS2 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome: a mutation update and the associated phenotypic spectrum. *Human Mutation*, 35(2), 178-186.
82. Guaragna M.S., Lutaif A.C.G.B., Maciel-Guerra A.T. et al (2017). NPHS2 Mutations: A Closer Look to Latin American Countries. *BioMed Research International*, 1-6.
83. Yu Z., Ding J., Huang J. et al (2005). Mutations in NPHS2 in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Chinese children. *Nephrol Dial Transplant*, 20, 902–908.
84. Jun Li Ng (Huang Junli) (2012). Genetics Of Nephrotic Syndrome In Singapore Paediatrics Patients. Nus A Thesis Submitted For The Degree Of Masters Of Science Department Of Paediatrics National University Of Singapor. <<http://scholarbank.nus.edu.sg/handle/10635/36245>> Truy cập ngày 25 tháng 10 năm 2017.
85. Megremis S., Mitsioni A., Mitsioni A.G. et al (2009). Nucleotide variations in the NPHS2 gene in Greek children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 13(2), 249-256.
86. Yu Z., Ding J., Huang J. et al (2005). Mutations in NPHS2 in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Chinese children. *Nephrol Dial Transplant*, 20(5), 902-908.
87. Dai Y., Yang H., Gao P. et al. NPHS2 variation in Chinese southern infants with late steroid-resistant nephrotic syndrome. *Renal Failure*, 36(9), 1395–1398.
88. Koziell A., Grech V., Hussain S. et al (2002). Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Human*

*Molecular Genetics*, 11, 379-388.

89. Huber T.B., Simons M., Hartleben B. et al (2003). Molecular basis of the functional podocin-nephrin complex: mutations in the NPHS2 gene disrupt nephrin targeting to lipid raft microdomains. *Human Molecular Genetics*, 12(24), 3397-33405.
90. Tạ Thành Văn (2010). PCR và một số kỹ thuật y sinh học phân tử. *Nhà xuất bản Y học*, Hà Nội.
91. Hồ Huỳnh Thùy Dương (2003). Sinh học phân tử. *Nhà xuất bản Giáo dục*, Hà Nội, 190-197, 200-204.
92. Jeremy W.Dale, Malcolm von Schantz and Nicholas Plant (2002). From genes to genomes: Concepts and Applications of DNA technology. *John Wiley and Sons, LTD*, London, third edition, 143-159, 161-173, 192-206.
93. Joseph T. Flynn, David C. Kaelber, Carissa M. Baker-Smith et al (2017). Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics*, 140(3), e20171904.
94. Fogazzi G.B. and Ponticelli C. (1996). Microscopic Hematuria Diagnosis and Management. *Nephron*, 72, 125–134.
95. Fine A. (2002). Defining and Diagnosing Hematuria. *The Canadian Journal of CME*, 1, 143-147.
96. WHO: World Health Organization (2011), "Hemoglobin concentrations for the diagnosis of anemia and assessment of severity", *VMNIS (Vitamin and Mineral Nutrition Information System)*, 1, 1-3.
97. Lê Nam Trà và cộng sự (2003), Các giá trị sinh học người Việt Nam trong thập niên 19 thế kỷ XX. *Nhà xuất Y học*, Hà Nội.
98. Schwartz George J., Alvaro Muñoz, Schneider Michael F. et al (2009). New Equations to Estimate GFR in Children with CKD. *Journal of the*

*American Society of Nephrology*, 20(3), 629–637.

99. KDIGO (2013). Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements* 2, chapter 3, 3(1), 1-5.
100. Trần Đình Long (2012), Cách lấy nước tiểu, *Bệnh học thận tiết niệu sinh dục và lọc máu trẻ em. Nhà xuất bản Y học*, Hà Nội, 25-28.
101. Hoàng Anh Vũ (2013). Giới thiệu đột biến gen, *Bài giảng sau đại học*, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, 1-59.
102. Mutalik P., Pradhan S.K., Panigrahi S. et al (2014). Histological Profile and Outcome of Infantile Nephrotic Syndrome. *International Organization of Scientific Research Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 13 (7), 36-40.
103. Ali S.H., Mohammed R.K., Saheb H.A. et al (2017). R229Q Polymorphism of NPHS2 Gene in Group of Iraqi Children with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *International Journal of Nephrology*, 1-5.
104. Nguyễn Ngọc Sáng (1999). *Đánh giá hiệu quả điều trị bằng methylprednison và những thay đổi miễn dịch trước và sau điều trị hội chứng thận hư tiên phát ở trẻ em*”, Luận án tiến sĩ y học, trường Đại học Y Hà Nội.
105. Dương Thị Thúy Nga (2011). *Nhận xét kết quả điều trị hội chứng thận hư tiên phát kháng corticosteroid tại khoa Thận-Tiết niệu bệnh viện Nhi Trung Ương*, Luận văn thạc sĩ y học, trường Đại học Y Hà Nội.
106. Özlü S.G., Demircin G., Tökmeci N. et al (2015). Long-term prognosis of idiopathic nephrotic syndrome in children. *Renal Failure*, 37(4), 672-677.
107. Ali E.M.A., Makki H.F.K., Abdelraheem M.B. et al (2017). Childhood

idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome at a Single Center in Khartoum. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation*, 28(4), 851-859.

108. Warejko J.K., Tan W., Daga A. et al (2018). Whole Exome Sequencing of Patients with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 13(1), 53-62.
109. Thomas M.M., Abdel-Hamid M.S., Mahfouz N.N. et al (2018). Genetic mutation in Egyptian children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Journal of the Formosan Medical Association*, 117, 48-53.
110. Michelle N. Rheault and Rasheed A. Gbadegesin (2016). The Genetics of Nephrotic Syndrome. *Journal of Pediatric Genetics*, 5,15-24.

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

BỘ Y TẾ

=====

**PHẠM VĂN ĐÊM**

**NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐẶC ĐIỂM  
LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ ĐỘT BIẾN GEN  
NPHS2 Ở TRẺ MẮC HỘI CHỨNG THẬN HƯ  
TIÊN PHÁT KHÁNG THUỐC STEROID**

Chuyên ngành : Nhi khoa  
Mã số : 62720135

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS NGUYỄN THỊ QUỲNH HƯƠNG
2. PGS.TS ĐINH ĐOÀN LONG

**HÀ NỘI – 2018**

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, trước hết tôi xin bày tỏ lòng kính trọng, sự biết ơn sâu sắc tới Phó giáo sư, Tiến sỹ Nguyễn Thị Quỳnh Hương và Phó giáo sư, Tiến sỹ Đinh Đoàn Long, những người thầy đã tận tụy dạy dỗ, chỉ bảo và hết lòng hướng dẫn giúp đỡ, động viên tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đối với Đảng uỷ, Ban Chủ nhiệm, cán bộ, giảng viên, các phòng, ban, bộ môn Khoa Y Dược, ĐHQGHN và đặc biệt Nhóm nghiên cứu của Đề tài cấp Đại học Quốc gia Hà Nội mã số QG.16.23 tại Khoa Y Dược đã đóng góp ý kiến, tạo điều kiện vô giá và hỗ trợ to lớn cho tôi trong quá trình thực hiện luận án.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết Đảng uỷ, Ban Giám hiệu Trường Đại học Y Hà Nội, các Thầy, các Cô của Bộ môn Nhi, các Thầy, Cô và các cán bộ, nhân viên Phòng quản lý Đào tạo Sau Đại học, Trường đại học Y Hà Nội đã dành mọi sự thuận lợi, giúp đỡ tận tình và dành cho tôi sự động viên quý giá trong quá trình học tập và nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đối với Đảng uỷ, Ban Giám đốc, phòng Kế hoạch Tổng hợp, các Thầy, Cô, các cán bộ, nhân viên khoa Thận – Lọc máu, Khoa Sinh hóa, Huyết học và các phòng, ban của Bệnh viện Nhi Trung ương đã nhiệt tình tạo mọi điều kiện thuận lợi và giúp đỡ tôi hết lòng trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đối với các Giáo sư, Phó giáo sư, Tiến sỹ, các Thầy, các Cô là thành viên Hội đồng bảo vệ luận án cấp Bộ môn, cấp Trường các nhà khoa học tham gia phản biện độc lập và đã cho tôi những ý kiến góp ý và chỉ bảo quý báu để tôi hoàn thiện luận án.

Xin trân trọng cảm ơn sự hợp tác của tất cả các bệnh nhi và các gia đình bệnh nhi, những người đã đóng góp phần lớn nhất cho sự thành công của luận án.

Cuối cùng, con xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới gia đình bao gồm cha mẹ, những người đã có công sinh thành và dưỡng dục con, vợ và các con vì những hy sinh và đã động viên tôi, các anh chị em và bạn bè đồng nghiệp cũng đã chia sẻ, giúp đỡ, động viên và giành cho tôi rất nhiều tình cảm trong quá trình làm việc, học tập và nghiên cứu.

Hà Nội, ngày 22 tháng 09 năm 2018

**Phạm Văn Đэм**



## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Phạm Văn Đэм, nghiên cứu sinh khóa 33 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nhi, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của: PGS.TS. Nguyễn Thị Quỳnh Hương và PGS.TS. Đinh Đoàn Long.
  2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
  3. Các số liệu và thông tin 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 22 tháng 09 năm 2018*

**Phạm Văn Đэм**

## DANH MỤC VIẾT TẮT

<b>Từ viết tắt</b>	<b>Nghĩa Tiếng việt</b>	<b>Nghĩa Tiếng anh</b>
bp	Cặp bazơ	Base pair
CS	Cộng sự	
ddNTP		DideoxyNucleotit triphosphat
DMS	Xơ hóa gian mạch lan tỏa	Diffuse mesangial sclerosis
DNA		DeoxyriboNucleotit acid
dNTP		DeoxyNucleotit triphosphat
DPM	Tăng sinh màng lan tỏa	Diffuse proliferative Membranous
FSGS	Xơ cứng cầu thận từng phần và khu trú	Focal &segmental glomerulosclerosis
HCTHBS	Hội chứng thận hư bẩm sinh	
HCTHTP	Hội chứng thận hư tiên phát	
HCTH	Hội chứng thận hư	
ISKDC	Tổ chức quốc tế nghiên cứu bệnh thận trẻ em	International Study of Kidney Disease in Children
Kb		Kilo base pair
KDIGO	Cải thiện kết cục điều trị bệnh thận toàn cầu	Kidney Disease Improving Global Outcomes
MCD	Bệnh tổn thương tối thiểu	Minimal Change Deasease
MGN		Membranous Glomerular Nephropathy
MPGN	Bệnh cầu thận tăng sinh màng	Membranoproliferative Glomerular Nephropathy
MLCT	Mức lọc cầu thận	
PCR	Phản ứng khuếch đại chuỗi	Polymerase Chain Reaction

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN .....</b>	<b>3</b>
1.1. Lịch sử nghiên cứu hội chứng thận hư.....	3
1.1.1. Định nghĩa hội chứng thận hư.....	3
1.1.2. Lịch sử nghiên cứu về hội chứng thận hư trên thế giới.....	3
1.2. Tổng quan HCTHTP kháng thuốc steroid.....	5
1.3. Một số phân loại và định nghĩa liên quan đến HCTHTP .....	8
1.4. Đặc điểm lâm sàng cận lâm sàng của HCTHTP kháng thuốc steroid .	10
1.4.1. Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHP kháng thuốc steroid.....	10
1.4.2. Biến chứng và tiến triển của HCTHTP kháng thuốc steroid.....	15
1.5. Tổng quan các nghiên cứu di truyền trên bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	20
1.5.1. Nghiên cứu về di truyền phân tử trên HCTHTP kháng thuốc steroid	20
1.5.2. Một số hội chứng liên quan đến đột biến gen kết hợp HCTHTP kháng thuốc steroid.....	25
1.5.3. Nghiên cứu đột biến gen NPHS2 ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid.....	31
1.5.4. Một số thể đột biến gen NPHS2 đã phát hiện ở trẻ bị HCTHTP kháng thuốc steroid và kỹ thuật phát hiện đột biến gen.....	39
1.6. Tình hình nghiên cứu trong nước về HCTHTP kháng thuốc steroid ..	43
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>46</b>
2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm nghiên cứu.....	46
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân.....	46

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	46
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	47
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu .....	48
2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu.....	48
2.2.3. Các chỉ số, biên số nghiên cứu.....	48
2.3. Công cụ thu thập thông tin và xử lý kết quả.....	57
2.4. Đạo đức trong nghiên cứu.....	58
2.5. Các loại sai số và cách khắc phục .....	59
2.5.1. Sai số mắc phải .....	59
2.5.2. Cách khắc phục sai số .....	60
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....</b>	<b>61</b>
3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.....	61
3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu .....	61
3.1.2. Đặc điểm lâm sàng.....	63
3.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng .....	67
3.2. Kết quả giải trình tự 6 exon gen NPHS2.....	70
3.2.1. Kết quả giải trình tự tìm đột biến gen NPHS2.....	70
3.2.2. Minh họa kiểu hình và kiểu gen ở một số bệnh nhân .....	73
3.3. Liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen.....	79
3.3.1. Liên quan đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu và đột biến gen NPHS2.....	79
3.3.2. Tương quan đặc điểm cận lâm sàng và kiểu gen .....	82
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>93</b>
4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của HCTHTP kháng thuốc steroid	93
4.1.1. Tuổi .....	93
4.1.2. Giới .....	95

4.1.3. Đặc điểm lâm sàng.....	96
4.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng .....	104
4.2. Kết quả giải trình tự gen NPHS2 .....	113
4.3. Mối tương quan giữa kiểu hình và kiểu gen của bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	118
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>126</b>
<b>KIẾN NGHỊ VÀ HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO .....</b>	<b>128</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ NỘI DUNG CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1:	Tỷ lệ HCTHTP kháng thuốc steroid theo các nghiên cứu trên từng quần thể khác nhau .....	7
Bảng 1.2:	Tỷ lệ các thể mô bệnh học trên bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm và kháng thuốc steroid tổng hợp từ các nghiên cứu .....	14
Bảng 2.1:	Phân loại mức độ thiếu máu .....	50
Bảng 2.2:	Mỗi từ exon 1 đến exon 6 .....	55
Bảng 3.1:	So sánh tuổi trung bình và tuổi khởi phát bệnh của đối tượng nghiên cứu khi bắt đầu nghiên cứu .....	61
Bảng 3.2:	Phân bố về giới của của đối tượng nghiên cứu.....	62
Bảng 3.3:	Liên quan tính chất phát bệnh tại thời điểm nghiên cứu của đối tượng nghiên cứu khi bắt đầu nghiên cứu .....	63
Bảng 3.4:	Liên quan mức độ tái phát của đối tượng nghiên cứu.....	63
Bảng 3.5:	So sánh số ngày nằm viện trung bình và số lần nhập của đối tượng nghiên cứu trong thời gian 12 tháng .....	64
Bảng 3.6:	Liên quan thể lâm sàng của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu.....	64
Bảng 3.7:	Liên quan mức độ phù của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện.....	65
Bảng 3.8:	Liên quan tràn dịch đa màng của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện .....	66
Bảng 3.9:	Liên quan số bệnh nhân bị nhiễm trùng khi tái phát bệnh của đối tượng nghiên cứu .....	66
Bảng 3.10:	So sánh chỉ số sinh hóa máu và nước tiểu trung bình của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện.....	67

Bảng 3.11:	Liên quan thay đổi mức lọc cầu thận của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện.....	68
Bảng 3.12:	So sánh kết quả xét nghiệm huyết học của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm nhập viện.....	68
Bảng 3.13:	Liên quan thay giai đoạn suy thận mạn của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm kết thúc nghiên cứu.....	69
Bảng 3.14:	Liên quan tỷ lệ tử vong của đối tượng nghiên cứu khi kết thúc nghiên cứu.....	70
Bảng 3.15:	Tần số và tỷ lệ thể đột biến đã xác định được trên gen NPHS2.	72
Bảng 3.16:	Phân bố tần số và tỷ lệ đột biến của 52 đột biến gen NPHS2 ở hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid .....	72
Bảng 3.17:	Liên quan về giới giữa nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 trên đối tượng nghiên cứu .....	79
Bảng 3.18:	Liên quan về tuổi giữa hai nhóm bệnh nhân có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 .....	79
Bảng 3.19:	Liên quan mức độ phù giữa hai nhóm có đột biến và không có đột biến gen NPHS2 .....	80
Bảng 3.20:	Liên quan mức độ tái phát và đột biến gen NPHS2 của đối tượng nghiên cứu.....	80
Bảng 3.21:	Liên quan giữa đáp ứng thuốc và đột biến gen NPHS2 của đối tượng nghiên cứu.....	81
Bảng 3.22:	Nguy cơ kháng thuốc steroid ở trẻ mang đột biến gen NPHS2 ..	81
Bảng 3.23:	Liên quan giữa đột biến gen và nhiễm trùng trên đối tượng nghiên cứu.....	82
Bảng 3.24:	So sánh một số chỉ số hóa sinh máu và nước tiểu trung bình khi nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2.....	82

Bảng 3.25:	So sánh kết quả điện giải đồ và calci máu tại thời điểm nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2 .....	83
Bảng 3.26:	So sánh kết quả số lượng tế bào máu tại thời điểm nhập viện giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2 .....	83
Bảng 3.27:	Liên quan giữa thể mô bệnh học và đột biến gen NPHS2 ...	84
Bảng 3.28:	Liên quan giai đoạn suy thận và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu .....	84
Bảng 3.29:	So sánh sự thay đổi mức lọc cầu thận tại các thời điểm giữa nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến gen NPHS2 .	85
Bảng 3.30:	Liên quan kết quả điều trị và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu .....	85
Bảng 3.31:	Nguy cơ suy thận giai đoạn cuối ở bệnh nhân mang đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu.....	86
Bảng 3.32:	Nguy cơ tử vong và đột biến gen NPHS2 khi kết thúc nghiên cứu	86
Bảng 3.33:	Liên quan giữa vị trí đột biến tại các exon và tràn dịch đa màng ..	87
Bảng 3.34:	Liên quan giữa vị trí đột biến tại các exon và kết quả điều trị khi kết thúc nghiên cứu .....	87
Bảng 3.35:	Liên quan giữa đột biến 288C>T và biểu hiện mức độ phù ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.....	88
Bảng 3.36:	Liên quan và nguy cơ nhiễm trùng ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T .....	89
Bảng 3.37:	Liên quan giữa đột biến gen 288C>T mô bệnh học.....	89
Bảng 3.38:	Liên quan và nguy cơ suy thận giai đoạn cuối ở trẻ mắc có đột biến 288C>T khi kết thúc nghiên cứu.....	90
Bảng 3.39:	Liên quan và nguy cơ tử vong ở trẻ mắc HCTTH kháng thuốc steroid có đột biến 288C>T khi kết thúc nghiên cứu.....	90



Bảng 3.40:	Liên quan giữa kháng thuốc steroid và thể đột biến .....	91
Bảng 3.41:	Liên quan giữa suy thận giai đoạn cuối và thể đột biến khi kết thúc nghiên cứu .....	91
Bảng 3.42:	Liên quan giữa tử vong và thể đột biến khi kết thúc nghiên cứu .	92
Bảng 4.1:	Bảng thống kê tỷ lệ kháng thuốc steroid và tuổi khởi phát trung bình từ các nghiên cứu trong 10 năm trên từng quần thể khác nhau.....	94
Bảng 4.2:	Bảng thống kê tỷ lệ trẻ trai mắc HCTHTP trong 10 năm qua các nghiên cứu trên từng quần thể khác nhau .....	96

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi ở trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid.....	62
Biểu đồ 3.2:	Tính chất kháng thuốc của bệnh nhân nhóm kháng thuốc steroid.....	65
Biểu đồ 3.3:	Phân bố bệnh nhân theo thể mô bệnh học của nhóm kháng thuốc steroid .....	69
Biểu đồ 3.4:	hân bố số đột biến trên 6 exon của gen NPHS2.....	71
Biểu đồ 3.5:	Phân bố đột biến trên từng exon của gen NPHS2 ở hai nhóm nhạy cảm và kháng thuốc steroid.....	71

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Bản đồ phân bố các đột biến các gen trên bệnh nhân mắc HCTH kháng thuốc steroid có tính chất gia đình .....	28
Hình 1.2: Sơ đồ minh họa vị trí gen và các exon trên gen NPHS2 .....	31
Hình 1.3: Vị trí các protein trên podocyte của màng lọc cầu thận .....	32
Hình 1.4: Thống kê các đột biến gen NPHS2 đã ghi nhận trong y văn .....	37
Hình 1.5: Giải trình tự theo phương pháp Sanger .....	43
Hình 3.1: Kiểu hình trẻ mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	73
Hình 3.2: Hình ảnh kiểu đại và đột biến 288C>T (S96S) đồng hợp trên đối tượng nghiên cứu .....	73
Hình 3.3: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	74
Hình 3.4: Hình ảnh kiểu đại và dị hợp tử chứa đột biến 288C>T .....	74
Hình 3.5: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	75
Hình 3.6: Hình ảnh kiểu đại và dị hợp tử chứa đột biến 385G>T (Q128H) .....	75
Hình 3.7: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP kháng thuốc steroid .....	76
Hình 3.8: Hình ảnh kiểu gen bình thường và đột biến 507 C>T dị hợp .....	76
Hình 3.9: Hình ảnh kiểu gen bình thường và đột biến 452G>A trên bệnh nhân mang 2 đột biến tại exon 4. ....	77
Hình 3.10: Kiểu hình bệnh nhân mắc HCTHTP nhạy cảm steroid .....	78
Hình 3.11: Hình ảnh đột biến 102 G>A .....	78