# ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thiếu enzym beta-ketothiolase (BKT) là một bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh (RLCHBS). Đây là bệnh lý di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến gen *T2 (ACAT1)* nằm trên cánh dài nhiễm sắc thể số 11 (11q22.3-q23.1) mã hoá tạo ra enzym acetoacetyl CoA thiolase hay còn gọi là BKT. BKT là enzym xúc tác quá trình chuyển hóa isoleucine và xeton trong cơ thể [1],[2].

Bệnh lần đầu tiên được mô tả năm 1971 bởi Daum RS [3]. Trong 40 năm nghiên cứu, các tác giả nhận thấy đây là bệnh hiếm gặp, phát hiện trên 90 bệnh nhân trên toàn thế giới [2].

Bệnh cảnh lâm sàng đặc trưng bởi những đợt nhiễm toan xeton không có triệu chứng lâm sàng giữa các cơn. Các đợt cấp thường xảy ra khi trẻ bị ốm như nhiễm trùng, viêm ruột… hoặc ăn quá nhiều protein. Tuổi xuất hiện cơn cấp lần đầu thường từ 6-24 tháng, nhưng có thể xảy ra muộn hơn. Nếu không được điều trị kịp thời, bệnh nhân có thể tử vong hoặc có di chứng chậm phát triển tâm thần vận động. 80% bệnh nhân phát triển bình thường khi được điều trị và phòng bệnh kịp thời [1],[2],[4].

Trên thế giới đã tìm thấy khoảng 70 đột biến khác nhau, không tìm thấy đột biến phổ biến gây bệnh [5]. Nhiều nghiên cứu chưa tìm thấy mối liên quan giữa đột biến gen với mức độ nặng và tuổi xuất hiện cơn đầu tiên của bệnh [2].

Khác với các nước trên thế giới, tại Bệnh viện Nhi Trung ương, bệnh thiếu enzym BKT là bệnh lý RLCHBS thường gặp nhất (41 bệnh nhân) qua hơn 10 năm sàng lọc nguy cơ cao bệnh RLCHBS [5].

Để góp phần tiếp cận chẩn đoán, điều trị có hiệu quả cũng như tìm hiểu kiểu đột biến gen của bệnh nhân thiếu enzym BKT ở Việt Nam, chúng tôi nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị với các mục tiêu sau:

1. *Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân thiếu enzym beta-ketothiolase.*
2. *Phát hiện đột biến gen T2 gây bệnh của bệnh nhân và một số thành viên gia đình của bệnh nhân thiếu enzym beta-ketothiolase.*
3. *Nhận xét kết quả điều trị bệnh thiếu enzym beta-ketothiolase.*

# Chương 1
# TỔNG QUAN

## 1.1. Lịch sử phát hiện bệnh

Năm 1971, Daum và cộng sự đã mô tả bệnh thiếu enzym BKT lần đầu tiên như một bệnh RLCHBS của isoleucine [6].

Năm 1979, Robinson và cộng sự đã phát hiện bệnh không chỉ liên quan tới sự thiếu hụt giáng hóa isoleucine mà còn liên quan tới chuyển hóa thể xeton do thiếu enzym acetoacetyl-CoA thiolase ti thể (MAT) phụ thuộc kali còn được gọi enzym BKT [6].

Năm 1981, Miyazawa và cộng sự phát hiện 4 enzym thiolase trên động vật có vú: 3-ketoacyl-CoA thiolase ti thể, BKT, acetoacetyl-CoA thiolase bào tương, và peroxisomal 3-ketoacyl-CoA thiolase (PKT) [7].

Năm 1983, Middleton và Bartlett cũng nhận thấy BKT là chất xúc tác chuyển hóa 2-methylacetoacetyl-CoA. Nên 2-methylacetoacetyl-CoA không được giáng hóa trên các tế bào nguyên bào sợi (fibroblast) của bệnh nhân bị bệnh thiếu enzym BKT [8].

Năm 1988, Yamaguchi và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu phân tích hóa sinh miễn dịch trên các tế bào nguyên bào sợi của các bệnh nhân thiếu enzym BKT và phát hiện sự thiếu hụt quá trình tổng hợp enzym BKT [6],[9],[10].

Năm 1989 – 1990, Fukao và cộng sự tiến hành phân lập và giải trình tự cDNA mã hóa cho enzym BKT ở người và thỏ bằng phương pháp Northern-blot và phát hiện ra đặc điểm di truyền lặn dị hợp tử ở mức độ mRNA mã hóa enzym BKT [11].

Năm 1991, Masatsugu Kano cùng cộng sự đã phân lập gen ở người mã hóa cho enzym này bằng cách sử dụng cDNA người tương ứng với đầu dò và phân tích cấu trúc gen [12].

Năm 1992, xác định được vị trí của gen T2 trên NST số 11 [13].

Năm 1992, phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS) được sử dụng định lượng acid hữu cơ niệu giúp chẩn đoán bệnh [14].

Năm 1997 – 1998, bệnh đã được đưa vào chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng tại một số nước phát triển [15],[16],[17].

Năm 2013, phát triển kỹ thuật MLPA để chẩn đoán mất đoạn và lặp đoạn lớn của gen T2 [18].

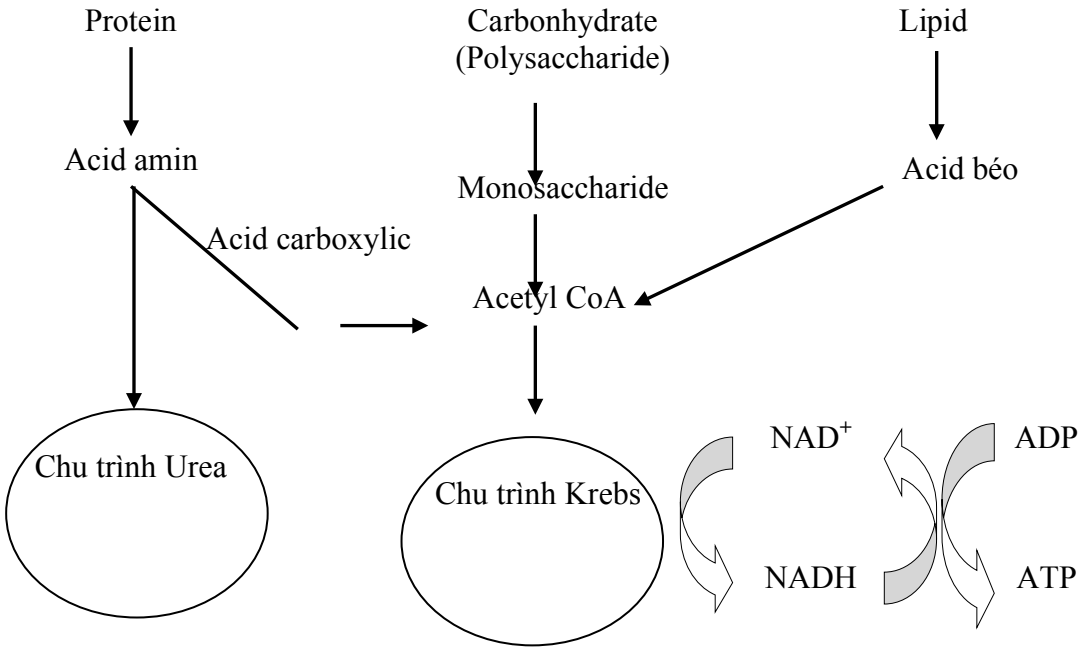
### 1.2. Phân loại RLCHBS

Rối loạn chuyển hóa bẩm sinh là một thuật ngữ do Achibald Garrod đưa ra để mô tả bệnh lý di truyền phân tử do những rối loạn về cấu trúc gen dẫn tới sự khiếm khuyết khác nhau trong quá trình chuyển hóa như thiếu các enzym, receptor, protein vận chuyển và các đồng yếu tố (Cofactor) [19],[20].

Theo các nhà hoá sinh, RLCHBS là một nhóm bệnh lý do thiếu hụt enzym trong quá trình đồng hoá và dị hoá các chất dinh dưỡng hoặc chất tạo năng lượng. Nguyên nhân là do thiếu các enzym đặc hiệu hoặc đồng yếu tố [20],[21],[22].

Cho đến nay, khoảng 1000 loại RLCHBS được phát hiện. Có nhiều cách phân loại các bệnh RLCHBS khác nhau nhưng cách phân loại theo hóa sinh bệnh học và sinh lý bệnh học có ý nghĩa thực tiễn lâm sàng và được sử dụng nhiều hiện nay [21].

### 1.2.1. Phân loại theo hóa sinh bệnh học




**Hình 1.1: Các chuyển hóa cơ bản trong cơ thể [23].**

Theo các con đường chuyển hóa cơ bản (hình 1.2), RLCHBS có thể chia thành 4 nhóm [23],[24]:

* RLCHBS Carbohydrate: rối loạn trong tổng hợp hoặc phân giải các Glycoside hay alcohol trong cơ thể. Những RLCH này bộc lộ khi trẻ ăn một số loại Carbohydrate.

* RLCHBS protein bao gồm RLCHBS acid hữu cơ, acid amin và chu trình ure [25].

+ RLCHBS acid amin là những bệnh lý thiếu hụt các enzym tham gia vào chuyển hóa các acid amin. Bệnh được đặc trưng bởi sự tăng các acid amin đặc hiệu trong máu và nước tiểu.

+ RLCHBS acid hữu cơ là nhóm bệnh do rối loạn chuyển hóa trung gian đặc trưng bởi tăng các acid carboxylic (acid hữu cơ không có nhóm amin) trong máu. Bệnh được phát hiện từ những năm 40 của thế

kỷ 20 và được chẩn đoán bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS). Hầu hết các RLCHBS quan trọng liên quan tới quá trình chuyển hoá của acid amin chuỗi nhánh [20],[25].

+ RLCHBS chu trình ure là những rối loạn trong quá trình chuyển hóa ammoniac (NH3) thành ure với biểu hiện lâm sàng là do tăng NH3 trong máu.

* RLCHBS acid béo: là nhóm bệnh thiếu hụt các enzym của quá trình β oxy hoá acid béo dẫn tới không sử dụng được nguồn năng lượng dự trữ từ acid béo của cơ thể.

* Các RLCHBS khác: ít gặp hơn như RLCHBS Lysosom (Lysosomal disorders), RLCHBS ti thể (Mitochondrial diseases), RLCHBS Peroxisome (Peroxisomal disorders), RLCHBS các steroid, lipoprotein, các chất dẫn truyền thần kinh.

### 1.2.2. Phân loại theo sinh lý bệnh học

**Bảng 1.1. Phân loại RLCHBS theo sinh lý bệnh học [26]**

| Phân loại | Thí dụ |
|---|---|
| Nhiễm độc do tích tụ chất chuyển hóa | RLCHBS acid hữu cơ<br>RLCHBS acid amin<br>RLCHBS chu trình ure |
| Thiếu hụt sản xuất năng lượng | Rối loạn chuyển hóa acid béo<br>Rối loạn chuyển hóa ti thể |
| Tích tụ các chất đa phân tử | Mucopolysacharide<br>Pompe<br>Gaucher |

Dựa trên cơ chế gây bệnh, RLCHBS được chia thành 3 nhóm: nhóm nhiễm độc do tích tụ các chất chuyển hoá gây độc, nhóm thiếu hụt năng lượng và nhóm tích tụ các chất đa phân tử.

* Nhóm nhiễm độc do tích tụ các chất chuyển hóa trung gian gây độc bao gồm các RLCHBS acid amin, acid hữu cơ, chu trình ure, các yếu tố dẫn truyền thần kinh, porphyrin niệu, kim loại....Đặc điểm của nhóm này là: các chất tích tụ là các phân tử nhỏ có khả năng tan trong nước; không gây hậu quả trên bào thai và thai nhi; trẻ đẻ ra thường bình thường và khỏe mạnh từ khi sinh cho tới khi có triệu chứng đầu tiên; thường biểu hiện cấp cứu với các cơn tái phát cấp tính; hầu hết bệnh có thể điều trị và phòng được; được chẩn đoán sớm bằng đo sắc ký các chất trong máu và nước tiểu; nhiều bệnh được phát hiện qua sàng lọc sơ sinh [27],[28].

* Nhóm thiếu hụt năng lượng là rối loạn chuyển hóa trung gian trong quá trình tạo năng lượng gồm các bệnh liên quan tới chuyển hóa năng lượng trong ti thể như RLCHBS oxy hóa chất béo và thể xeton, thiếu hụt các chuỗi hô hấp tế bào, tăng lactat máu bẩm sinh hoặc các RLCH sinh tổng hợp glucose, dự trữ glycogen, con đường pentose phosphate trong bào tương. Đặc điểm của nhóm là: các triệu chứng có thể xuất hiện ngay thời kỳ bào thai và ngay sau sinh; có thể biểu hiện từng đợt cấp thoái triển do bất cứ nguyên nhân gây ảnh hưởng dinh dưỡng và dị hóa; bệnh có thể tổn thương nhiều cơ quan và xuất hiện ở bất kỳ lứa tuổi nào; chẩn đoán xác định phải dựa vào xét nghiệm enzym và phân tử; tiên lượng bệnh nặng, ít bệnh có thể điều trị được [29].

* Nhóm tích tụ các chất đa phân tử là RLCHBS quá trình chuyển hóa ở bào quan như lysosomes, peroxisome, Golgi. Đặc điểm của nhóm này là: tiến triển biểu hiện theo thời gian tích tụ không phụ thuộc vào tình trạng calo; có

bất thường hình thể; chẩn đoán dựa vào xét nghiệm enzym và phân tử, một số bệnh đang được điều trị bằng enzym thay thế [21].

### 1.3. Bệnh thiếu enzym BKT

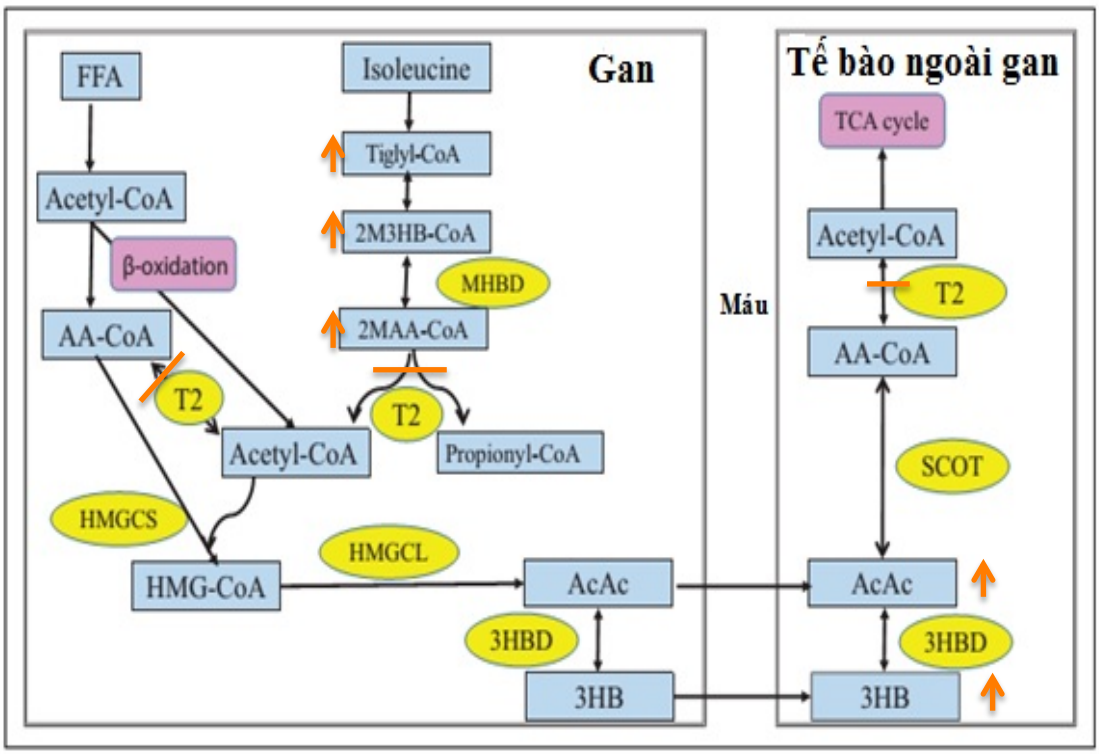
Bệnh thiếu enzym BKT là bệnh RLCHBS đặc trưng bởi các đợt nhiễm toan xeton không có triệu chứng lâm sàng giữa các cơn. Nguyên nhân là đột biến gen *T2* nằm trên cánh dài nhiễm sắc thể số 11 (11q22.3-q23.1) với đặc điểm di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường [1].

Bệnh thiếu enzym BKT được xếp vào nhóm RLCHBS acid hữu cơ và thiếu hụt năng lượng vì liên quan tới quá trình chuyển hóa của acid amin isoleucine và giáng hóa của thể xeton [1]. Vì vậy, cơ chế sinh lý bệnh là do tích tụ chất chuyển hóa gây độc như thể xeton, 2M3HB, 2MAA và gây thiếu hụt năng lượng.

Tuy nhiên, bệnh tiên lượng tốt và có khả năng điều trị, không giống các bệnh RLCHBS khác trong nhóm thiếu hụt năng lượng.

### 1.4. Cơ chế gây bệnh

Cơ chế gây bệnh thiếu enzym BKT là do gián đoạn quá trình giáng hóa isoleucine dẫn tới tăng 2-methylacetoacetate (2MAA), 2-methyl 3hydroxybutyrate (2M3HB), tigglyglycine (TIG), trong đó chất 2MAA và 2M3HB có thể gây tổn thương vỏ não [30]. Đồng thời bệnh cũng làm gián đoạn quá trình giáng hóa thể xeton (AcAc, 3HB) dẫn tới tăng quá phát xeton máu gây nhiễm toan xeton. Từ đó ảnh hưởng tới quá trình chuyển hóa nội môi gây tổn thương nhiều cơ quan có thể dẫn đến tử vong, cũng như không cung cấp được nguồn nguyên liệu của chu trình Krebs làm thiếu năng lượng cho các hoạt động của cơ thể [31],[32].




**Hình 1.2. Sơ đồ chuyển hoá của enzym BKT và cơ chế gây bệnh [2]**

*2M3HB: 2-methyl-3-hydroxybutyryl; 2MAA: 2-methylacetoacetyl; 3HB: 3-hydroxybutyrate; 3HBD: 3-hydroxybutyrate dehydrogenase; AA: acetoacetyl; AcAc: acetoacetate; CoA: coenzym A; FFA: free fatty acids; HMG-CoA: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA; HMGCL: HMG-CoA lyase; HMGCS: mitochondrial HMG-CoA synthase; MHBD: 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase; SCOT: succinyl-CoA: 3-oxoacid CoA transferase; T2: mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase; TCA: tricarboxylic acid.*

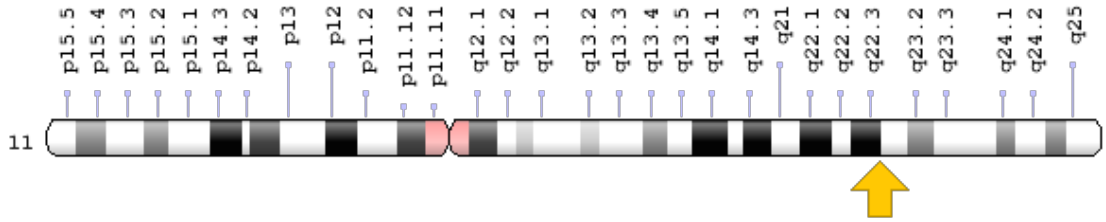
*Thiếu enzym BKT làm ứ đọng 2-methylacetoacetyl-CoA, 2-methyl-3-hydrobutyryl-CoA, tigglyl-CoA do không giáng hoá được thành Acetyl-CoA và Propionyl-CoA. Đồng thời tăng các thể xeton 3HB, AcAc do không giáng hoá thành acetoacetyl-CoA ở tế bào ngoài gan.*

### 1.5. Nguyên nhân gây bệnh

Nguyên nhân gây bệnh là do đột biến gen *T2*, mã hóa cho enzym BKT.

#### 1.5.1. Vị trí và cấu trúc gen T2

Gen *T2* nằm trên cánh dài nhiễm sắc thể (NST) số 11 tại ví trí 11q22.3 to q23.1 [13].

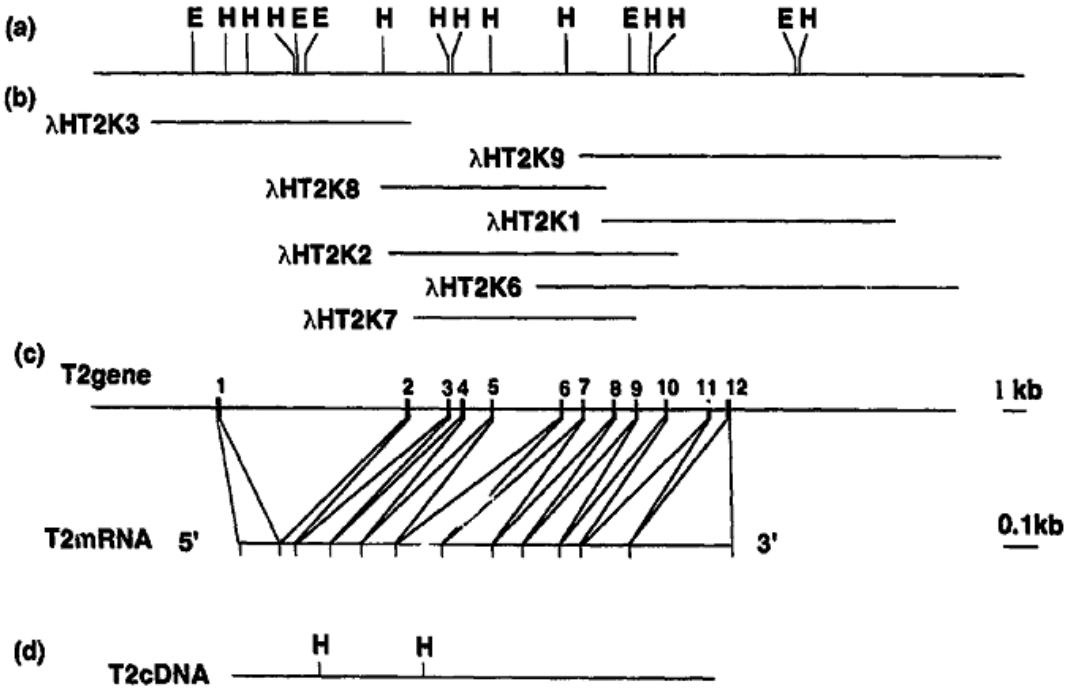



**Hình 1.3. Vị trí gen *T2 (ACAT1)* trên NST 11 [33].**

Gen *T2* gồm 12 exon và 11 intron với tổng chiều dài 27 kb. Các exon tương ứng dài 116, 48, 118, 96, 101, 144, 151, 96, 114, 65, 58 và 305 bp, trong khi các intron tương ứng dài 9; 6; 1; 8; 0,3; 1,3; 3,6; 1,0; 1,3; 0,7; 1,5; 2,4 và 0,9 kb theo chiều từ 5' đến 3'. Tất cả các điểm nối intron/exon tuân theo nguyên tắc GT/AG. Vị trí điểm nhánh được phát hiện tại hầu hết các intron. Trình tự của gen *T2* ở đầu 5’ thiếu một khung mã TATA tiêu chuẩn nhưng nhiều G +C và chứa 2 khung mã CAAT. Yếu tố phiên mã của gen *T2* bao gồm vị trí gắn giả định (putative binding site), Sp1, và trình tự giống như các vị trí gắn của các yếu tố phiên mã khác, có các đặc điểm của các gen nội chuẩn (housekeeping gen). Đoạn DNA 101-bp tại vị trí đầu có hoạt động điều khiển và đoạn DNA từ vị trí bp -888 đến -102 có thể chứa yếu tố điều khiển âm tính [6].

Các DNA bổ xung (Complementary DNAs) mã hóa tiền chất của enzym BKT đã được phân lập và tổng hợp. Các cDNA có chiều dài là 1,518 bp và mã hóa tiền chất của enzym BKT gồm 427 acid amin. Chuỗi acid amin này gồm 1 chuỗi peptide 33 acid amin đầu tiên được bảo tồn (24 acid amin

của exon 1 và 9 acid amin của exon 2) và một chuỗi 394 acid amin của enzym trưởng thành [12].



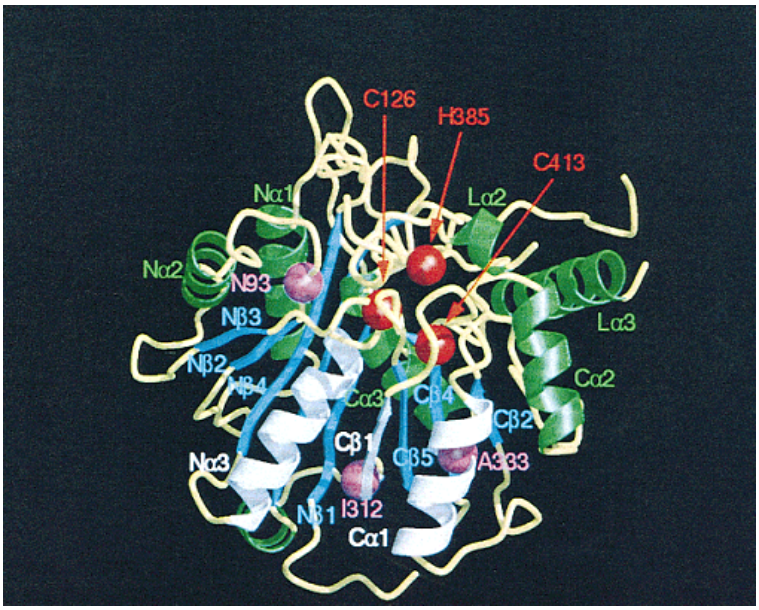

**Hình 1.4. Cấu trúc của gen *T2* ở người.**

*(a) Bản đồ giới hạn của vùng gen T2 ở người. E: EcoRI; H: HindIII. (b) Vùng được bao phủ bởi 7 clone kết hợp liên tục. (¢) Sắp xếp các exon và intron của gen T2. Các exon biểu hiện bằng khung hẹp đánh số, các intron và vùng tiếp nối là đường thẳng. (d) Cấu trúc của cDNA T2 được sử dụng làm đầu dò để sàng lọc bằng phương pháp Southern blot* [6].

### 1.5.2. Chức năng của gen *T2*

Gen *T2* mã hoá cho protein T2 (enzym BKT) được biểu hiện ở các tổ chức gan, thận, tim, tuyến thượng thận của người [34].

Enzym BKT liên quan tới quá trình giáng hóa acid amin isoleucine, tổng hợp thể xeton trong các tế bào gan và giáng hóa thể xeton trong các tế bào ngoài gan theo sơ đồ chuyển hóa hình 1.2 [1],[2].




**Hình 1.5. Cấu trúc không gian của protein T2 [6]**

Enzym BKT xúc tác chuyển acetoacetyl-CoA thành acetyl-CoA trong giáng hóa thể xeton. Tiếp theo enzym 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase ti thể xúc tác tổng hợp 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA từ acetyl-CoA và acetoacetyl-CoA. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA được enzym HMG-CoA lyase chuyển thành AcAc mà một phần chuyển thành 3HB bởi enzym 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. AcAc và 3HB theo dòng máu tới tế bào ngoài gan và vào trong tế bào nhờ chất vận chuyển qua màng monocarboxylate transporter 1 (MCT1). Tại đó, 3HB được chuyển thành AcAc dưới xúc tác của enzym 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. Và tiếp theo AcAc thành acetoacetyl-CoA dưới xúc tác của enzym SuccinylCoA:3-oxoacid CoA transferase (SCOT), rồi thành acetyl-CoA dưới xúc tác của enzym BKT. Do đó, enzym BKT đóng vai trò quan trọng trong cả tổng hợp thể xeton trong gan và giáng hóa thể xeton trong các tế bào ngoài gan. Một enzym thiolase khác, 3-ketoacyl-CoA thiolase ti thể có thể bù trừ cho sự thiếu hụt enzym BKT trong quá trình tổng hợp thể xeton nhưng ít tác động hơn

trong quá trình giáng hóa thể xeton. Đây là quá trình cần thiết cho giáng hóa thể xeton trong tình trạng dị hóa [32],[31].

Trong giáng hóa isoleucine, enzym BKT xúc tác giáng hóa 2-methylacetoacetyl-CoA thành acetyl-CoA và propionyl-CoA. Hai bước chuyển hóa phía trên, chuyển tiglyl-CoA thành 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA và chuyển 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA thành 2-methylacetoacetyl-CoA là chuyển hoá hai chiều. Bước chuyển hoá liền trên được xúc tác bởi 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase (MHBD) [32],[31].

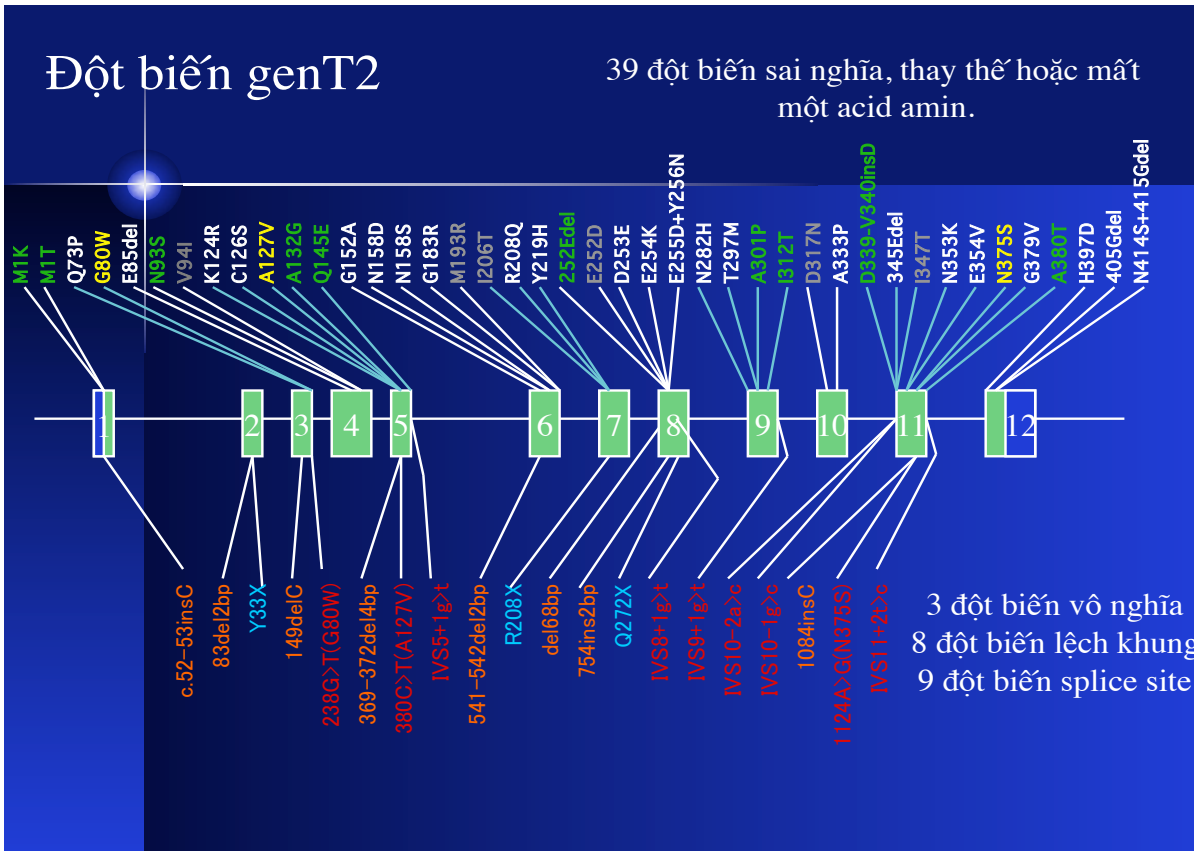
### 1.5.3. Đột biến gen *T2* gây bệnh

Theo một báo cáo của Fukao năm 2010 đã có gần 70 đột biến gen khác nhau được phát hiện (bao gồm cả những đột biến chưa được công bố trên các bài báo) [5]. Các đột biến bao gồm 39 đột biến sai nghĩa (misenses mutation), 9 đột biến trên intron tại vị trí cắt nối gen (splice site mutation), 8 đột biến dịch khung (frameshift mutation), 3 đột biến vô nghĩa (nonsense mutation) [5]. Phát hiện đột biến gây bệnh ở hầu hết các exon và intron, chưa phát hiện thấy vùng hotspot của gen gây bệnh. Như vậy, hầu hết các đột biến gen *T2* đã được công bố là đột biến điểm, thay thế và mất đoạn nhỏ. Chỉ có 2 đột biến mất đoạn lớn exon 2 – 4, exon 3 – 4 và một lặp đoạn đồng hợp tử của exon 8 – 9 [18],[35],[36]. Báo cáo này cũng nhận thấy đột biến gen trong bệnh thiếu enzym BKT là đột biến đa dạng [5].

Theo cấu trúc, đột biến gen *T2* gây bệnh thiếu enzym BKT có thể được chia ra làm 4 nhóm: 1) Nhóm đột biến sai nghĩa. 2) Nhóm đột biến vô nghĩa. 3) Nhóm đột biến dịch khung. 4) Nhóm đột biến tại vị trí cắt nối gen.

Dựa trên mức độ hoạt độ enzym, đột biến được chia thành 2 nhóm: nhóm đột biến mất chức năng là đột biến không còn hoạt độ enzym và nhóm

đột biến còn chức năng là đột biến còn hoạt độ enzym [37]. Kiểu gen của bệnh nhân đa dạng thường là dị hợp tử kép, ít gặp đồng hợp tử. Bệnh nhân có 2 alen đột biến mất chức năng là kiểu gen đột biến mất chức năng. Bệnh nhân có từ 1 – 2 alen đột biến còn chức năng là kiểu gen đột biến còn chức năng. Các nghiên cứu chưa phát hiện mối liên quan giữa kiểu gen và mức độ nặng hay tuổi xuất hiện của cơn cấp nhưng thấy có mối liên quan giữa kiểu gen và mức độ bất thường của acylcarnitine máu và acid hữu cơ niệu. Các bệnh nhân có kiểu đột biến gen mất chức năng sẽ có biến đổi đặc hiệu tăng 2M3HB, TIG, 2MAA niệu và C5:1, C5:OH máu. Còn kiểu đột biến gen còn chức năng sẽ không có biến đổi hoá sinh đặc hiệu [38], [39], [40].




**Hình 1.6. Sơ đồ các loại đột biến gen *T2*.**

*(Báo cáo của Fukao tại Hội nghị các bệnh chuyển hóa di truyền Châu Á – Thái Bình Dương lần thứ 1 năm 2010 tại Fukuoka, Nhật Bản).*

### 1.5.4. Các kỹ thuật phát hiện đột biến gen *T2* gây bệnh

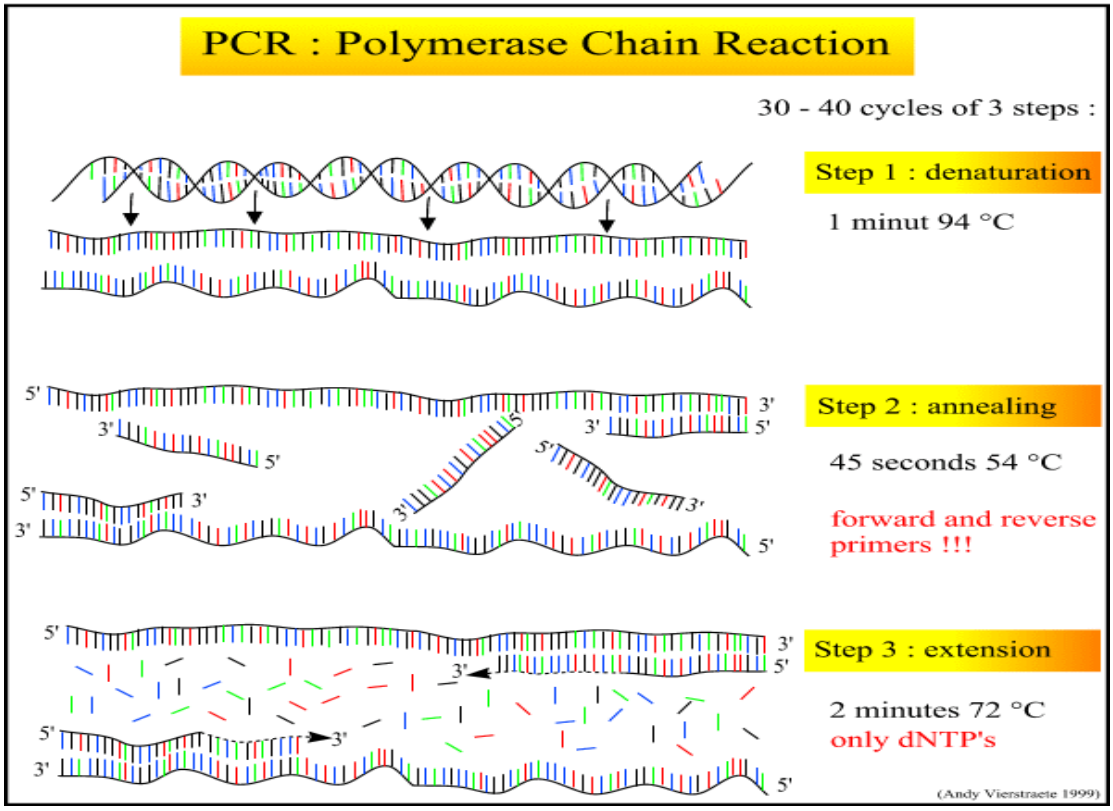
#### *1.5.4.1. Kỹ thuật khuyếch đại gen kết hợp enzym giới hạn (Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism)*

PCR là một chuỗi nhiều chu kỳ nối tiếp nhau, mỗi chu kỳ gồm có 3 giai đoạn [41]:

+ Giai đoạn biến tính: chuỗi DNA kép chuyển thành DNA đơn.

+ Giai đoạn lai: các cặp mồi bắt cặp với khuôn.

+ Giai đoạn tổng hợp DNA được tổng hợp bằng polymerase.



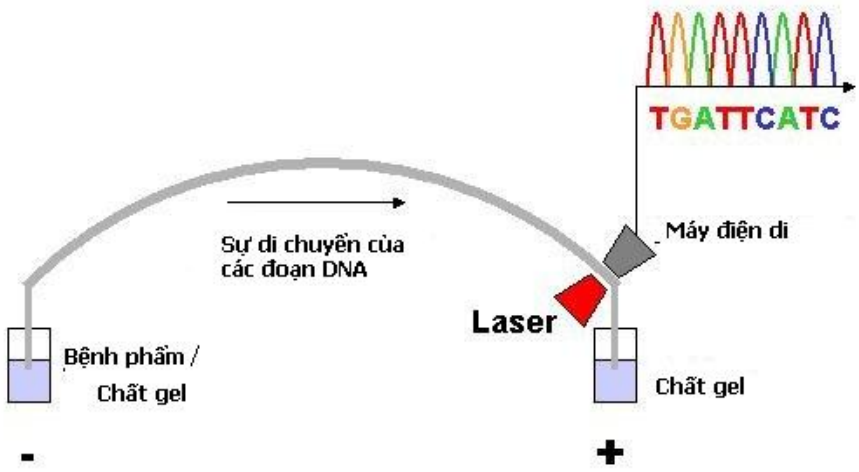

**Hình 1.7. Các bước cơ bản của phản ứng PCR [41]**

Nguyên tắc của PCR dựa vào đặc điểm của quá trình sao chép DNA. Enzym Taq polymerase (DNA Polyme chịu nhiệt) dùng các đoạn DNA mạch đơn làm khuôn để tổng hợp nên sợi DNA mới bổ trợ và cần phải có các mồi oligonucleotid để khởi đầu quá trình tổng hợp.

Để xác định đột biến gen *T2*, phương pháp PCR kết hợp với kỹ thuật enzym giới hạn (enzym cắt) cắt phân tử DNA ở những vị trí xác định, thích hợp.

### *1.5.4.2. Phương pháp giải trình tự gen*

Giải trình tự gen tức là phát hiện được thứ tự sắp xếp của 4 nucleotid A (Adenine), C (Cytosine), G (Guanine), T (Thymine) trên phân tử DNA [42].




**Hình 1.8. Trình tự nucleotid được xác định trên máy giải trình tự gen [42].**

Để thực hiện giải trình tự bằng máy tự động thì các mạch DNA đơn sản sinh trong ống phản ứng giải trình tự phải được đánh dấu huỳnh quang để các vạch điện di của các mạch đơn này phát sáng khi đi qua một chùm tia sáng laser. Bốn loại nucleotide thường được đánh dấu bằng các chất huỳnh quang khác nhau.

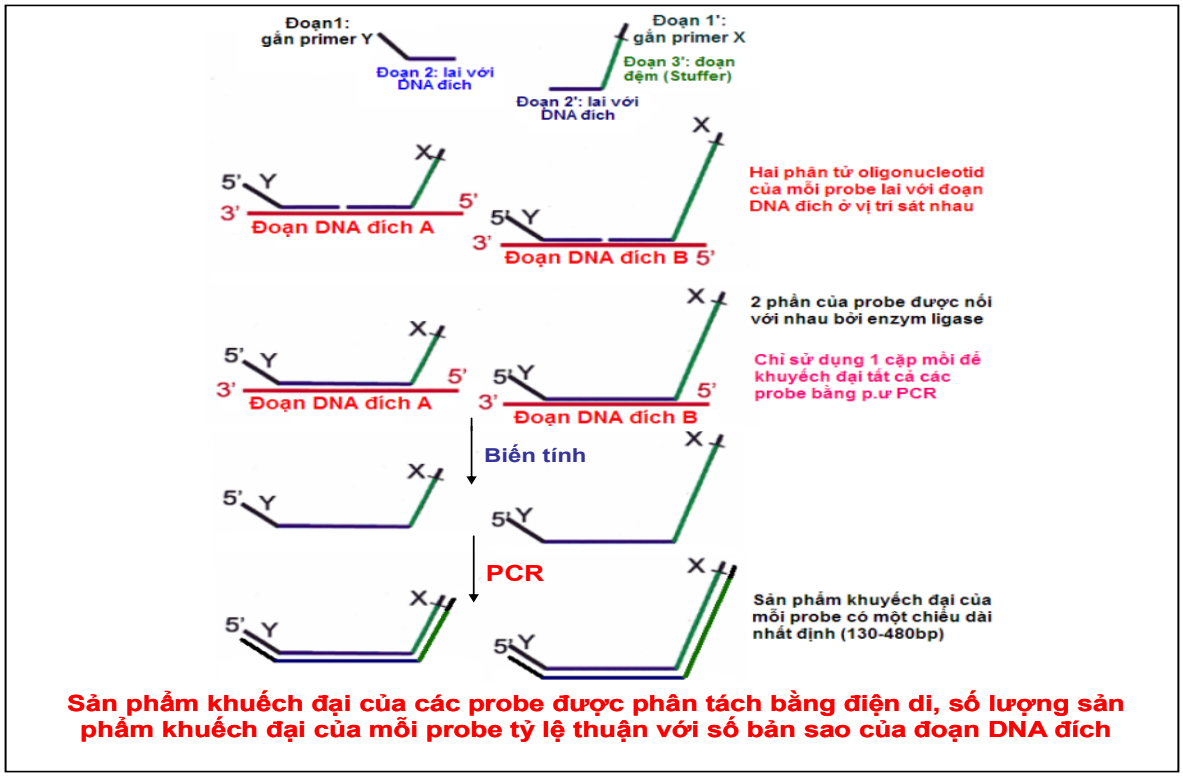
Nguyên tắc hoạt động của máy: trong suốt quá trình điện di, mỗi khi có một vạch điện di đi qua chùm tia sáng laser thì vạch điện di sẽ phát sáng lên và sự phát sáng này sẽ được con mắt cảm quang ghi nhận và lưu lại thành một

đỉnh cường độ sáng trong biểu đồ. Từ biểu đồ của đỉnh cường độ sáng này, máy sẽ so dòng của các đỉnh tương ứng với các màu để cuối cùng phân tích thành trình tự của đoạn DNA [42],[43].

Đây là phương pháp để xác định các đột biến điểm trong bệnh thiếu enzym BKT. Tuy nhiên, phương pháp này có hạn chế là có thể bỏ sót các biến thể đa hình số bản sao, mất đoạn dị hợp tử lớn hoặc nhỏ, sự lặp đoạn đồng hợp tử và dị hợp tử của toàn bộ exon.

### *1.5.4.3. Kỹ thuật tìm đột biến xóa đoạn và lặp đoạn lớn bằng MLPA*

*Nguyên tắc:* Trong phản ứng MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) việc thiết kế các probe gắn đặc hiệu với các đoạn DNA đích đóng vai trò cực kỳ quan trọng. Thông thường, mỗi probe chứa hai phân tử oligonucleotid có kích thước khác nhau [44],[45].




**Hình 1.9. Các giai đoạn của phương pháp MLPA [45].**

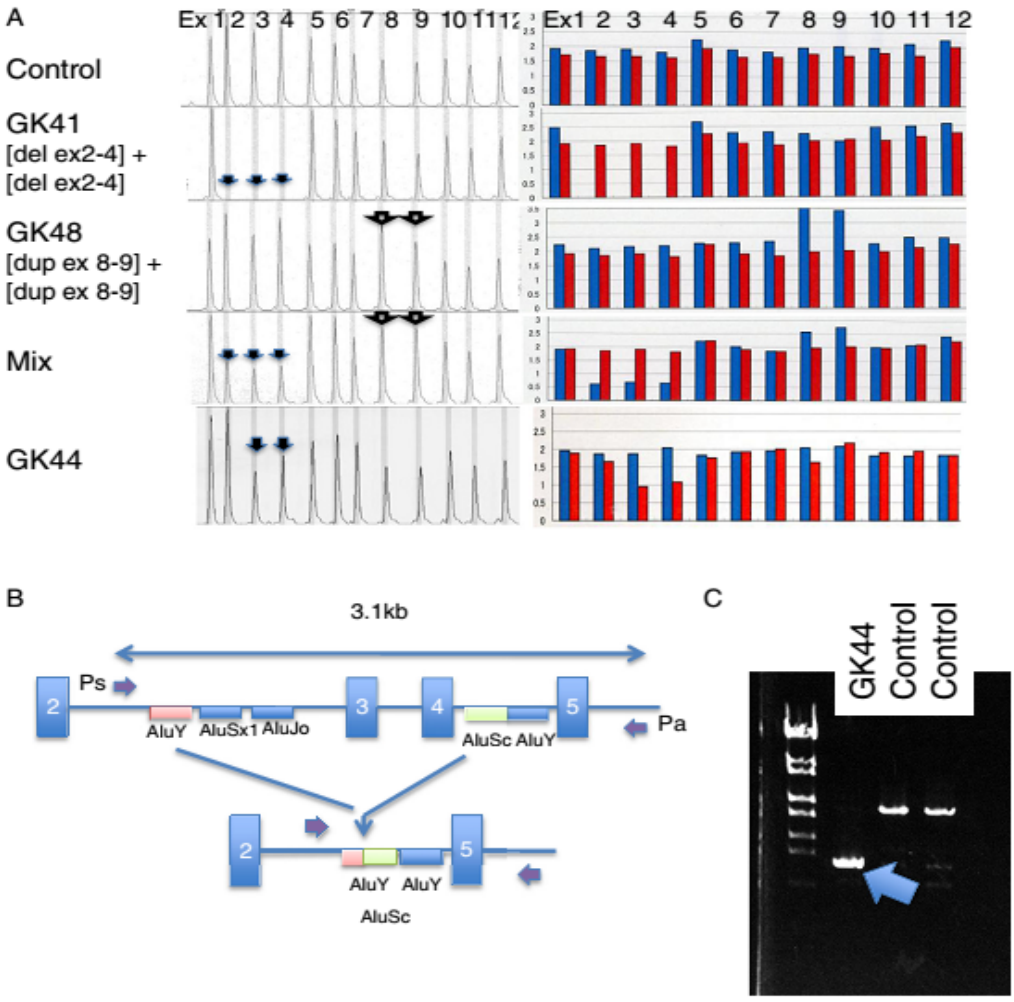
Trong mỗi phản ứng có chứa các probe nội chuẩn, khi probe nội chuẩn lên đỉnh tương ứng là điều kiện đảm bảo độ tin cậy khi nhận định kết quả. Ngoài ra trong kỹ thuật MLPA có sử dụng chứng là DNA của người bình thường, chạy song song cùng mẫu bệnh nhân để so sánh [46], [42].

Sau phản ứng PCR, mỗi probe sẽ được khuếch đại thành nhiều bản sao. Các probe khác nhau sẽ có kích thước khác nhau do độ dài đoạn đệm của chúng khác nhau. Do vậy, chúng sẽ được phân tách bằng phương pháp điện di (thường sử dụng phương pháp điện di mao quản). Số lượng sản phẩm khuếch đại của mỗi probe sẽ tỷ lệ thuận với số bản copy của đoạn DNA đích đặc hiệu với probe đó.

Các mẫu được chạy trên máy theo chương trình phân tích đoạn (Fragment analysis). Sau đó tiến hành phân tích các đỉnh với độ lớn tương ứng. Các mẫu được so sánh với mẫu đối chứng bình thường:

- ***Bệnh nhân không có đột biến cần tìm:*** Nếu tại vị trí tương ứng với kích thước của đoạn gen đó có xuất hiện các đỉnh (peak) tương ứng và tín hiệu đỉnh cao tương đương với mẫu đối chứng bình thường.
- ***Bệnh nhân có đột biến mất đoạn đồng hợp tử:*** Nếu tại vị trí tương ứng với kích thước của gen đó không xuất hiện đỉnh tương ứng.
- ***Bệnh nhân mang đột biến mất đoạn dị hợp tử:*** Nếu tại vị trí tương ứng với kích thước của gen đó, đỉnh tương ứng có xuất hiện nhưng tín hiệu đỉnh giảm xuống từ 30- 50%.

Đây là phương pháp được chỉ định trong các trường hợp nghi ngờ đột biến lặp đoạn, mất đoạn lớn dị hợp tử hoặc đồng hợp tử mà các phương pháp giải trình tự gen và PCR không phát hiện được [44].




**Hình 1.10. Phương pháp MLPA phân tích gen T2 [18].**

*(A) Cột màu xanh là của bệnh nhân và cột màu đỏ là của nhóm chứng. Mũi tên nhỏ chỉ chỗ mất đoạn, mũi tên to chỉ chỗ lặp đoạn. Mix là chỉ mẫu DNA của GK41 và GK48 với tỉ lệ microgram tương đương. B) Sơ đồ thể hiện kỹ thuật PCR của DNA hệ gen. Vị trí của cặp mồi PCR (Ps và Pa). Intron 2 và intron 4 có 3 và 2 vị trí Alu. Mũi tên chỉ vị trí kết hợp lại không cân bằng. GK44 có điểm ngắt giữa Alu-Y và Alu Sc ở introns 2 và 4 tương ứng. (C) Phân tích PCR dải rộng. Một đoạn 3.1-kb được nhân đoạn ở nhóm chứng nhưng chỉ có 1.2 kb được nhân đoạn ở bệnh nhân GK44.*

### 1.6. Chẩn đoán bệnh

Chẩn đoán bệnh dựa vào biểu hiện lâm sàng, biến đổi trong xét nghiệm chuyển hoá thường quy, xét nghiệm đặc hiệu, đo hoạt độ enzym BKT và xét nghiệm phân tử.

#### 1.6.1. Triệu chứng lâm sàng

Đặc điểm lâm sàng của bệnh là xuất hiện từng đợt cấp nhiễm toan xeton mà bệnh nhân không có triệu chứng giữa các đợt cấp.

Tuổi xuất hiện các cơn cấp thường từ 5 tháng đến 24 tháng. Hiếm gặp các cơn cấp ở giai đoạn sơ sinh. Một ca duy nhất xuất hiện cơn cấp lúc 4 ngày tuổi tại Tây Ba Nha . Bệnh thường khởi phát sau các đợt nhiễm trùng như viêm ruột, nhiễm trùng hô hấp, stress, nhịn đói kéo dài hoặc ăn quá nhiều protein. Hầu hết trẻ phát triển tâm thần vận động bình thường trước khi xuất hiện cơn cấp lần đầu. Rất hiếm gặp các triệu chứng thần kinh hay chậm phát triển tâm thần trước khi xuất hiện trước cơn cấp lần đầu [4], [47].

Biểu hiện của các cơn cấp là triệu chứng của nhiễm toan xeton như: thở nhanh kiểu Kussmall, mất nước, rối loạn ý thức: lúc đầu kích thích sau đó là li bì và hôn mê. Nếu không được điều trị thì bệnh nhân có thể tử vong. Các triệu chứng thần kinh của bệnh não chuyển hóa trong cơn cấp như co giật, rối loạn trương lực cơ, múa vờn hay rối loạn ngôn ngữ là hiếm gặp [32], [4].

Các biến chứng thần kinh có thể gặp như chậm phát triển tâm thần - vận động, tăng trương lực cơ, động kinh sau các cơn cấp. Tần suất gặp các cơn cấp của trẻ giảm dần theo tuổi, thậm chí không xuất hiện trước tuổi trưởng thành [4].

### 1.6.2. Xét nghiệm chuyển hóa thường quy

* Trong máu:

Khí máu: Toan chuyển hóa tăng khoảng trống anion, pH thường rất thấp dưới 7, HCO3 thấp (0-10 mmol/l), BE giảm nặng xuống tới – 30 mmol/l [4],[5].

Thể xeton toàn phần trong máu (Total ketone body: TKB): > 7 mmol/l [31].

Tỉ lệ thể xeton toàn phần/acid béo tự do < 0,3

Đường máu: Thay đổi đa dạng, có thể thấp, bình thường hoặc tăng [4].

Amoniac máu: có thể gặp tăng nhẹ.

Lactat máu: đa số bình thường.

Tổng phân tích máu: Thường thấy tăng bạch cầu là biểu hiện của nhiễm trùng – yếu tố gây khởi phát các cơn cấp chuyển hóa [5]

* Trong nước tiểu: Có xeton xuất hiện trong nước tiểu.

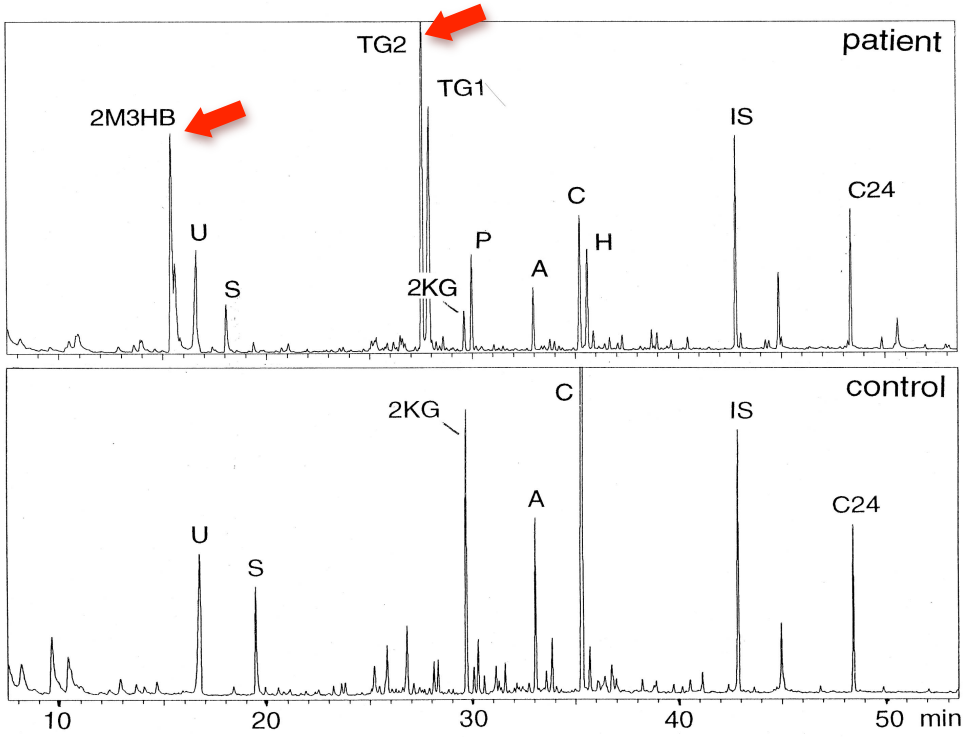
* MRI sọ não: một số trường hợp có tăng tín hiệu T2 đối xứng 2 bên bao trong và vùng tay sau [32].

### 1.6.3. Xét nghiệm sinh hóa đặc hiệu

#### *1.6.3.1. Xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu bằng kỹ thuật sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS)*

Hệ thống GC/MS là viết tắt của Gas Chromatography Mass Spectometry đánh giá, phân tích định tính và định lượng các chất hóa học [48],[14],[49],[50].

Tăng 2MAA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu là tập hợp biến đổi của bệnh thiếu enzym BKT trong các đợt cấp nhiễm toan xeton và cả ngoài cơn cấp [14],[49]. Tăng 2M3HB có giá trị nhất trong chẩn đoán bệnh thiếu BKT [1],[32].

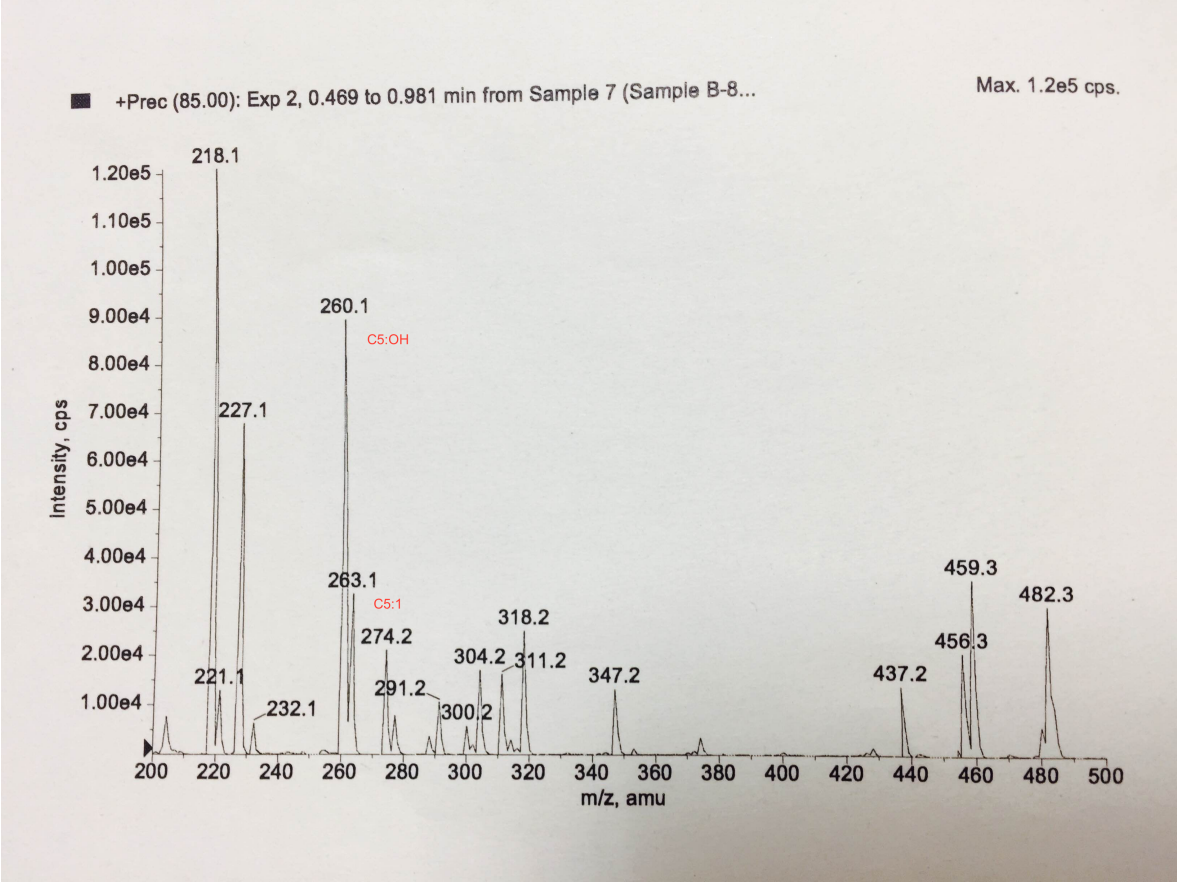



**Hình 1.11. Kết quả xét nghiệm acid hữu cơ niệu của bệnh nhân thiếu enzym BKT: với 2 đỉnh tăng tương ứng 2M3HB và TIG (mũi tên đỏ).**

### *1.6.3.2. Định lượng các acyl carnitine, acid amin bằng kỹ thuật khối phổ đôi (Tandem Mass)*

Tandem Mass là thiết bị kỹ thuật khả năng nhận ra khối (trọng lượng) của các phân tử độc lập và các phân mảnh của chúng. Đây là một công cụ hiệu quả phân tích acid amin và acylcarnitine để sàng lọc và chẩn đoán các RLCHBS [24],[51].

Tăng C5:1 (tiglylcarnitine) và C5:OH (2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine) đặc hiệu cho bệnh. Đây là 2 dấu ấn được sử dụng để chẩn đoán và sàng lọc bệnh thiếu enzym BKT trong gian đoạn sơ sinh [2].




**Hình 1.12. Kết quả Tandem Mass của bệnh nhân thiếu enzym BKT**

### 1.6.4. Đo hoạt độ enzym BKT

Có 3 phương pháp đo hoạt độ enzym BKT phát hiện enzym giảm hoặc không hoạt động.

* Đo hoạt độ enzym acetoacetyl-CoA thiolase phụ thuộc kali dựa trên cơ sở enzym này là enzym thiolase duy nhất được kích hoạt với sự hiện diện của ion kali [52].

* Phương pháp sử dụng 2-methylacetoacetyl-CoA như một cơ chất [1].

* Xét nghiệm cặp đôi để phát hiện thiếu hụt trong giáng hóa isoleucine nhánh xa tới enoyl-CoA hydratase, sử dụng tiglyl-CoA như cơ chất [53].

Dựa trên đo hoạt độ enzym và trên dấu ấn của đột biến của DNA, bệnh nhân được chia thành 2 nhóm: nhóm đột biến mất chức năng và nhóm đột biến còn chức năng [31],[32],[40].

### 1.6.5. Xét nghiệm phân tử

Phát hiện các đột biến gen *T2* gây bệnh bằng phương pháp PCR kết hợp với enzym giới hạn hoặc giải trình tự gen tự trực tiếp hoặc MLPA.

## 1.7. Chẩn đoán sớm qua sàng lọc nguy cơ cao và sàng lọc sơ sinh mở rộng

**Bảng 1.2. Các phương pháp chẩn đoán bệnh RLCHBS**

| | Sàng lọc sơ sinh mở rộng | Sàng lọc nguy cơ cao | Chẩn đoán |
|---|---|---|---|
| Đối tượng | Tất cả sơ sinh | Tiêu chuẩn chọn sàng lọc | Trẻ có biểu hiện triệu chứng |
| Kỹ thuật | Tandem Mass | Tamdem Mass GC/MS | Tamdem Mass GC/MS |
| Thời gian | Trước khi có triệu chứng | Trước khi có triệu chứng | Sau khi xuất hiện triệu chứng |

### 1.7.1. Sàng lọc sơ sinh mở rộng

Sàng lọc sơ sinh mở rộng (Expand Newborn Screening) là phương pháp sàng lọc một số bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng kỹ thuật Tandem Mass cho tất cả trẻ sơ sinh. Chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng được bắt đầu từ năm 1990 [54],[55]. Cho tới nay, hầu hết các nước phát triển trên thế giới đã có chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng này [28],[56],[57]. Số lượng loại bệnh được sàng lọc phụ thuộc tùy từng nước, tại Nhật đã có 19 bệnh được

sàng lọc và tại bang Virginia, Mỹ là 29 bệnh [58],[59]. Bệnh thiếu enzym BKT cũng được đưa vào danh sách sàng lọc RLCHBS từ năm 1997 – 1998.

Tuy nhiên, vẫn còn một số trường hợp bị bỏ sót trong chương trình sàng lọc ở một số nước [16], [60],[61].

### 1.7.2. Sàng lọc nguy cơ cao

Sàng lọc nguy cơ cao RLCHBS là phương pháp sử dụng các kỹ thuật xét nghiệm Tandem Mass, GC/MS để sàng lọc cho các đối tượng có nguy cơ cao. Các đối tượng có nguy cơ cao RLCHBS là các trẻ sinh ra trong các gia đình đã có anh chị em ruột được chẩn đoán xác định mắc RLCHBS đặc hiệu; các trẻ đã có anh chị em ruột tử vong không rõ nguyên nhân; nhiều trẻ trong gia đình tử vong với bệnh cảnh tương tự nhưng chưa xác định được nguyên nhân; các trẻ sinh ra trong các gia đình có trẻ nhũ nhi đột tử không rõ nguyên nhân; anh chị em ruột chậm phát triển tâm thần, vận động chưa xác định được nguyên nhân, sảy thai nhiều lần tự phát không rõ nguyên nhân. Đối với bệnh thiếu hụt enzym BKT thì sử dụng kỹ thuật xét nghiệm GC/MS để sàng lọc nguy cơ cao. Sàng lọc nguy cơ cao là biện pháp có hiệu quả đối với các nước đang phát triển chưa có chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng như ở Mông Cổ, Hy Lạp, Trung Quốc [51],[62],[63].

## 1.8. Chẩn đoán phân biệt

### 1.8.1. Chẩn đoán phân biệt với các bệnh có nhiễm toan chuyển hóa xeton

- Nhiễm toan xeton tiểu đường

Cần chẩn đoán phân biệt trong các trường hợp có đường huyết tăng. Trong toan xeton tiểu đường: Đường máu thường cao trên 14.1 mmol/l, chỉ

giảm khi điều trị bằng insulin và có HbA1C tăng [2],[32],[64]. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu giúp phân biệt.

• Toan chuyển hóa trong sốc nhiễm trùng

Toan chuyển hóa trong sốc nhiễm trùng là do thiếu tưới máu ngoại vi nên bệnh nhân thường có biểu hiện tình trạng sốc trên lâm sàng và tăng lactat máu [65]. Đa số các cơn cấp chuyển hóa trong bệnh thiếu enzym BKT được khởi phát do nhiễm trùng hô hấp, tiêu hóa nên cũng khó phân biệt với các trường hợp toan chuyển hóa do sốc nhiễm trùng. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu giúp phân biệt.

• Suy thượng thận cấp

Toan chuyển hoá trong suy thượng thận cấp thường nhẹ, có thêm biểu hiện sốc, hạ đường máu. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu giúp phân biệt [66].

• Các RLCHBS Carbohydrate và Glycogen như bệnh thiếu enzym Glycogen synthase [67].

Bệnh nhân có gan lách to và lactat máu tăng cao. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu giúp chẩn đoán phân biệt.

• Các bệnh RLCHBS nhóm acid hữu cơ khác như Methylmanonic acidemia, Propionic acidemia, Isovaleric acidemia, thiếu 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase (MHBD).

Các nhóm RLCHBS acid hữu cơ khác thường lâm sàng có tổn thương thần kinh trước khi bị cơn cấp và xét nghiệm có giảm bạch cầu, tiểu cầu và ammoniac máu tăng cao hơn. Xét nghiệm định lượng acid hữu cơ niệu sẽ giúp chẩn đoán phân biệt.

### 1.8.2. Chẩn đoán phân biệt với các bệnh RLCH giáng hóa thể xeton và isoleucine

• Bệnh SCOT (OMIM 245050)

Có thể biểu hiện các đợt cấp nhiễm toan xeton giống bệnh thiếu BKT nhưng bệnh có 3 đặc điểm khác [68]:

+ Bệnh thường xuất hiện ở giai đoạn sơ sinh chiếm tới 50%.

+ Nhiễm xeton kéo dài thậm chí ngay sau ăn.

+ Không có tập hợp biến đổi acid hữu cơ niệu đặc hiệu.

Thiếu enzym BKT rất ít gặp ở sơ sinh (1 ca được báo cáo) và không tồn tại nhiễm xeton kéo dài. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu, đo hoạt độ enzym hoặc xét nghiệm phân tử giúp chẩn đoán phân biệt [2],[1].

• Bệnh thiếu MCT1 (OMIM 616SCOT095) [1]

Lâm sàng giống bệnh thiếu enzym BKT. Xeton niệu đa dạng trong các đợt cấp và pH máu là bình thường giữa các đợt cấp. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu, xét nghiệm phân tử giúp chẩn đoán phân biệt. 7/96 bệnh nhân có các đợt nhiễm toan xeton nặng tái phát không rõ nguyên nhân được khẳng định chẩn đoán bằng các đột biến gây bệnh, đột biến đồng hợp tử và dị hợp tử của gen *MCT1* (SLC16A1) [69].

• Bệnh thiếu MHBD (OMIM 300438) [2]

Bệnh có biểu hiện lâm sàng thoái hóa thần kinh với triệu chứng đa dạng. Trong khi, bệnh thiếu enzym BKT không có triệu chứng thoái hoá thần kinh [70].

Chẩn đoán phân biệt giữa 2 bệnh này dựa trên các đặc điểm sau:

+ Thiếu hụt MHBD là bệnh di truyền liên kết nhiễm sắc thể giới tính X nên gặp ở trẻ trai.

+ 2MAA niệu không tăng trong thiếu MHBD.

+ Hoạt độ AA-CoA thiolase phụ thuộc Kali và xét nghiệm gen *T2* bình thường trong thiếu MHBD.

**1.9. Các lưu ý trong xét nghiệm chẩn đoán**

* Đối với phân tích acid hữu cơ niệu, cần chú ý:

+ Các đặc điểm bất thường được mô tả phía trên thường điển hình trong các đợt cấp nhưng có thể không rõ trong giai đoạn ổn định, đặc biệt trong các trường hợp đột biến còn chức năng. Do đó tình trạng bỏ sót chẩn đoán thiếu enzym BKT thường gặp trong tình huống này. Kết quả của xét nghiệm sau cơn cấp khi ở tình trạng ổn định có thể không kết luận được chẩn đoán [32].

+ Trong một số trường hợp, kết quả acid hữu cơ niệu và acylcarrnitine máu không điển hình ngay trong cơn cấp nhiễm toan chuyển hóa [1].

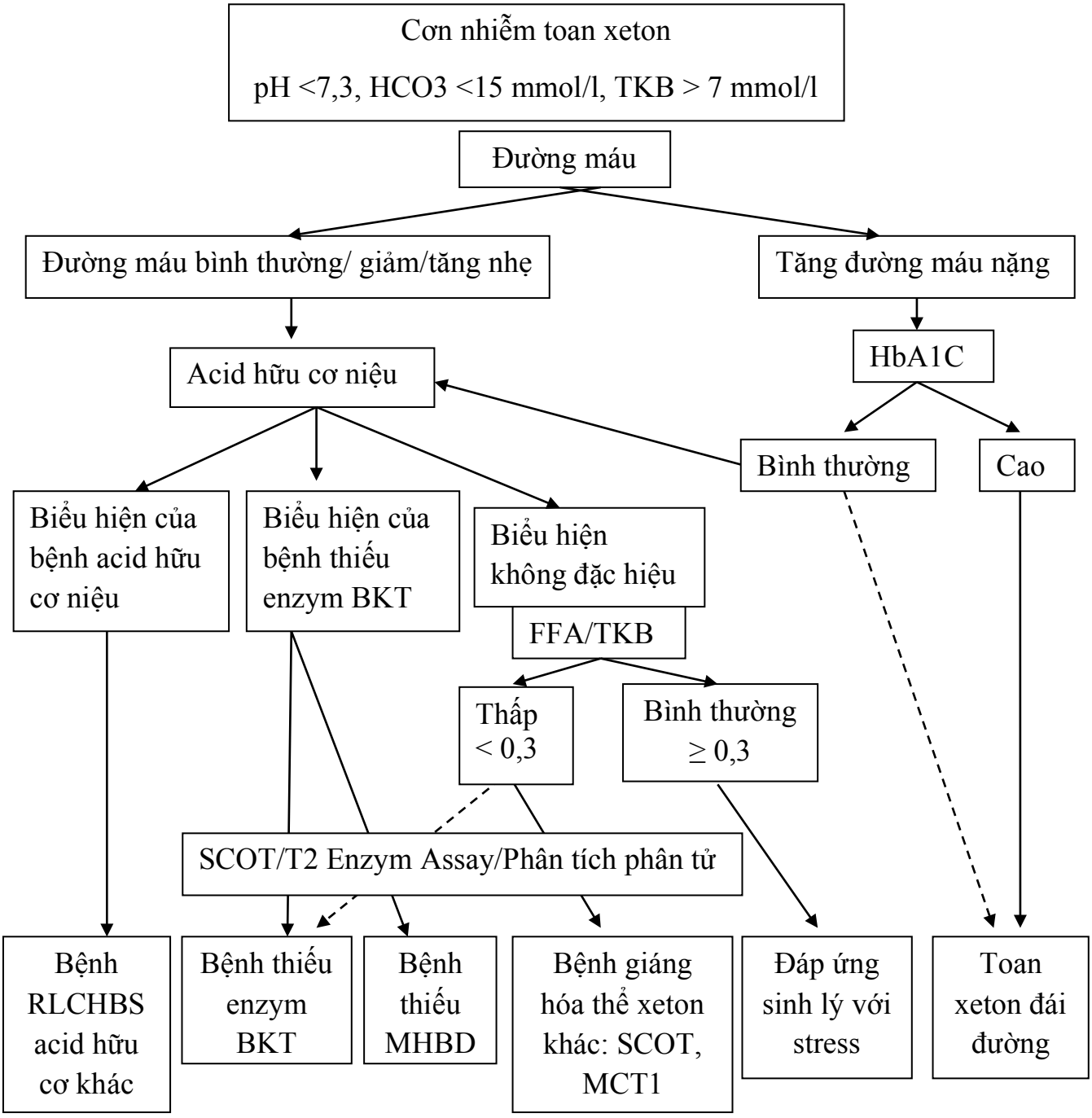
* Để khắc phục các tình trạng trên, quá trình tiến triển bệnh nên được theo dõi.

+ Khí máu, điện giải đồ, glucose, ammoniac máu, thể xeton toàn phần và acid béo tự do là những xét nghiệm khởi đầu quan trọng trong các cơn cấp. Lactat và pyruvate nên được xét nghiệm trong các cơn cấp lần đầu của các bệnh nhân chưa có chẩn đoán bệnh thiếu BKT để loại trừ bệnh nhiễm toan lactic bẩm sinh.

+ Việc thu thập mẫu máu và nước tiểu cho phân tích acid amin máu, acylcarnitine máu, acid hữu cơ niệu là cần thiết. Để đánh giá chính xác thì các mẫu này nên được lấy trước khi truyền glucose.

+ Đo hoạt độ enzym/xét nghiệm phân tử cho bệnh thiếu BKT và SCOT nên được làm trong các trường hợp kết quả acid hữu cơ niệu không điển hình.

+ Định lượng thể xeton toàn phần có giá trị trong chẩn đoán bệnh thiếu enzym BKT và các bệnh rối loạn thể xeton khác. Thể xeton toàn phần nên được làm khi đói, lúc stress, cùng các xét nghiệm sinh hóa khác đặc biệt là glucose máu và acid béo tự do. Tỉ lệ FFA/TKB là cần thiết để chẩn đoán phân biệt; dưới 0,3 (khi đói) gặp trong thiếu enzym BKT và rối loạn giáng hóa thể xeton khác, để phân biệt với các tình trạng nhiễm xeton sinh lý khác do đói. Trong trường hợp hạ đường máu, tăng thể xeton toàn phần giúp phân biệt với hạ đường huyết tăng xeton [2].




**Hình 1.13. Sơ đồ chẩn đoán cho thiếu enzym BKT [2]**

*(FFA/TKB: free fatty acids/total ketone body; MCT1: monocarboxylate transporter 1; MHBD: 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase; SCOT: succinyl-CoA:3-oxoacid CoA transferase; T2: mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase).*

Tỉ lệ FFA/TKB (acid béo tự do/thể xeton toàn phần) cắt ngang 0,3 không phải là giá trị tuyệt đối. Nhịn đói quá lâu có thể làm giảm tỉ lệ FFA/TKB và truyền glucose làm giảm FFA nhanh hơn TKB, do đó cũng làm giảm tỉ lệ này. Các dòng kẻ đứt đoạn chỉ tình huống hiếm gặp nhưng là vẫn có thể gặp.

## 1.10. Điều trị

### 1.10.1. Nguyên tắc điều trị bệnh thiếu BKT

#### *1.10.1.1. Hạn chế cung cấp cơ chất:*

Hạn chế protein trong đó có isoleucine để hạn chế các chất chuyển hóa trung gian 2MAA, 2M3HB, TIG trước chỗ tắc và cũng như hạn chế lipid để giảm sản xuất các thể xeton.

#### *1.10.1.2. Tăng cường hoạt động của enzym:*

Hiện chưa có biện pháp điều trị đặc hiệu như ghép gan, thay thế enzym, gen trị liệu được đề cập vì các phương pháp điều trị như truyền Glucose, bù toan, cung cấp L. Carnitine và chế độ ăn đã đem lại kết quả điều trị rất tốt (trên 80% phát triển bình thường sau cơn cấp) [4].

#### *1.10.1.3. Tăng đào thải chất chuyển hóa độc:*

Tăng đào thải xeton bằng truyền Glucose liều cao với mục đích giảm sản xuất thể xeton.

Tăng đào thải 2MAA, 2M3HB, TIG thừa bằng sử dụng L. Carnitine vì L. Carnitine giúp vận chuyển các chất trên vào ti thể để vào chu trình Krebs.

Bù Bicarbornat khi toan chuyển hóa có pH < 7,1. Lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục khi toan chuyển hóa nặng và khó điều chỉnh.

Tăng đào thải amoniac máu khi có amoniac máu cao.

#### *1.10.1.4. Cung cấp các chất chuyển hóa thiếu:*

Truyền Glucose để cung cấp năng lượng thiếu hụt. Vì đây là bệnh liên quan tới giáng hóa thể xeton nên dẫn tới thiếu năng lượng trong giai đoạn nhịn đói kéo dài hoặc tăng nhu cầu năng lượng.

### 1.10.2. Các phương pháp điều trị trong cơn cấp mất bù chuyển hóa

Đặc điểm bệnh là xuất hiện từng đợt cấp tính mất bù được kích hoạt bởi các nhiễm trùng hô hấp, tiêu hóa và các sang chấn nên điều trị bệnh cần được tiến hành càng sớm càng tốt nhằm mục đích lập lại cân bằng chuyển hóa trong cơ thể [71].

Cũng giống như các tình trạng cấp cứu khác, việc cấp cứu theo thứ tự là: thiết lập đường thở thông thoáng, đảm bảo thông khí, đảm bảo tuần hoàn, sau đó mới điều trị triệu chứng và nguyên nhân.

#### *1.10.2.1. Truyền Glucose*

Truyền Glucose là biện pháp đầu tiên cần thiết không những giúp giảm sản xuất thể xeton gây toan chuyển hóa gây độc cho tế bào mà còn giúp cung cấp năng lượng bị thiếu cho các tế bào [72].

Liều truyền Glucose là 10mg/kg/phút. Nếu Glucose máu cao > 11 mmol/l cần kết hợp truyền insulin đường tĩnh mạch (0,03 – 0,1 UI/kg/giờ) và theo dõi đường huyết 1 giờ/lần để điều chỉnh [71].

Truyền Glucose đến khi không còn tình trạng nhiễm xeton.

### *1.10.2.2. Bù toan chuyển hóa*

Bù toan chuyển hóa khi pH < 7,1. Lượng Bicarbonat nên chỉ được bù bằng ½ lượng thiếu tính theo BE theo công thức sau:

Bù theo công thức: X(mEq) = 0,3 x P x BE

X: lượng Natribicarbonate cần bù. P: Cân nặng bệnh nhân. BE: lượng kiềm dư

Lúc đầu tiên có thể truyền 1 mmol/kg trong 30 phút, lượng còn lại bù chậm liên tục trong các giờ sau [2]. Dịch để bù toan là Bicarbonat 4,2% (2ml=1mEq) pha loãng với glucose 5%, tốc độ bù 0,35-0,5mEq/kg/giờ, có thể tới 1-2mEq/kg/giờ. Chú ý nếu bù toan quá nhanh có thể gây tình trạng phù não. Đối với các trường hợp toan chuyển hóa nặng và khó điều chỉnh, cần đặt vấn đề lọc máu [26],[29],[71]. Khí máu nên được theo dõi 3 tiếng/lần.

### *1.10.2.3. Thuốc hạ amoniac máu*

Thuốc thải độc amoniac trong điều trị tăng amoniac máu là Sodium phenylacetate và sodium benzoate (Ammonul). Chỉ định khi amoniac máu tăng cao >200 μmol/l với liều 250mg/kg/24 giờ truyền tĩnh mạch liên tục.

Khi amoniac máu > 300 μmol/l, lọc máu cần được chuẩn bị.

Khi amoniac trên 500 μmol/l, phương pháp lọc máu được chỉ định khẩn cấp. Xu hướng hiện nay là sử dụng phương pháp lọc máu liên tục để đào thải chất độc [73].

### *1.10.2.4.* **Cung cấp L.Carnitine**

L. Carnitine là chất vận chuyển các Acyl-CoA vào ti thể giúp tăng cường chuyển hóa tạo năng lượng.

Liều dùng: 100 – 200 mg/kg/ngày truyền tĩnh mạch [29],[72].

### *1.10.2.5. Lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên lục*

Phương thức siêu lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục (Continuous Veno – venous Hemofiltration – CVVH). Phương thức này chỉ sử dụng cơ chế siêu lọc – đối lưu, máu chạy qua quả lọc với dịch thay thế được đưa vào phía trước hoặc sau quả lọc, không dùng dịch thẩm tách. CVVH là phương thức lọc máu liên tục rất có hiệu quả trong mục đích lọc bỏ các chất hòa tan và được *chỉ định cho các bệnh nhân có mất cân bằng điện giải hoặc rối loạn kiềm toan nặng hay ure máu tăng cao có hoặc không có quá tải dịch* [74].

Nguyên lý cơ bản của CVVH là: Máu của bệnh nhân được lấy ra từ tĩnh mạch lớn (thường là tĩnh mạch cảnh trong, tĩnh mạch dưới đòn hoặc bẹn) qua một nòng của ống thông tĩnh mạch *(catheter)* cỡ lớn (11.5 – 13.5 French), rồi được dẫn trong một hệ thống gọi là tuần hoàn ngoài cơ thể bao gồm dây dẫn và quả lọc *(filter)*, được lọc bỏ các phân tử "độc chất" bằng màng bán thấm (*semi-permeable membrane*), sau đó được đưa trả lại cho bệnh nhân qua nòng khác của ống thông đó (ống thông hai nòng - *Dual-lumen*).

Chỉ định lọc máu liên tục với các bệnh nhân thiếu enzym BKT khi có nhiễm toan chuyển hóa nặng, khó điều chỉnh với tốc độ máu 3-7 ml/kg/phút, tốc độ dịch thay thế bằng 12 lần tốc độ máu, tốc độ dịch rút tùy thuộc tình trạng bệnh nhân, lượng dịch vào cũng như tình trạng quá tải dịch trước đó [75],[76].

### *1.12.2.6. Điều trị triệu chứng*

- Hỗ trợ hô hấp khi bệnh nhân có tăng thông khí (thở nhanh do nhiễm toan), thở máy với chế độ giữ CO2.

- Bù nước, điện giải đồ: Bệnh nhân thường có tình trạng mất nước do thở nhanh nhiễm toan và do bệnh lý nguyên phát. Bù nước tính theo nhu cầu và tình trạng mất nước, chú ý các tình trạng rối loạn điện giải đồ như hạ Natri máu, hạ Kali máu.

Để phòng phù não, nồng độ natri máu cần duy trì từ 140- 145 mmol/l.

Khi Natri máu < 125mmol/l, điều trị hạ Natri theo công thức:

$X(mEq)=0,6xPx(140-[NA^+])$

X: lượng Natri cần bù

P: cân nặng của bệnh nhân

$[Na^+]$: nồng độ Natri máu bệnh nhân.

Bù ½ lượng Natri cần bù trong 4 giờ đầu, ½ còn lại duy trì tiếp trong 20 giờ. Tốc độ bù chỉ nên để 5 mEq/kg/giờ. Điện giải đồ cần được kiểm tra sau 3 giờ.

Khi hạ kali: Tình trạng hạ kali hay gặp trong nhiễm toan chuyển hóa do bù bicarbonate. Khi kali máu < 2,5mmol/l, nên bù kali đường tĩnh mạch với nồng độ kali từ 40-80 mmol/l, tốc độ 0,3-0,5mmol/kg/giờ trong 4 giờ. Chú ý không được bù Kali tốc độ nhanh. Khi Kali máu <3,5mmol/l, có thể bù kali đường uống hoặc truyền tĩnh mạch với nồng độ Kali ≤ 40mmol/l, tốc độ <0,3mmol/kg/giờ [29], [71],[72].

Điều trị các bệnh lý kèm theo là rất cần thiết vì đây chính là nguyên nhân gây khởi phát cơn cấp. Các nguyên nhân đó thường là nhiễm trùng đường hô hấp hoặc tiêu hóa.

Hạ sốt: Sốt sẽ làm tăng chuyển hóa trong cơ thể vì vậy đảm bảo thân nhiệt bình thường cho bệnh nhân chuyển hóa là rất quan trọng.

#### *1.10.2.7. Chế độ ăn trong giai đoạn cấp*

Theo sơ đồ chuyển hóa, quá trình giáng hóa thể xeton từ lipid dự trữ xảy ra khi cơ thể không được cung cấp đầy đủ năng lượng. Đặc biệt khi cơ thể có các stress như nhiễm trùng, sốt…, nhu cầu năng lượng của cơ thể tăng lên gấp

1,5 đến 2 lần. Vì vậy dinh dưỡng chế độ ăn trong giai đoạn cấp rất quan trọng để giúp giảm sản xuất thể xeton nội sinh.

Nhu cầu năng lượng: Trẻ nhỏ là 120 – 150 kcalo/kg/ngày.

Trẻ lớn là 80 – 120 kcalo/kg/ngày.

Người lớn là 40 – 50 kcalo/kg/ngày.

Ngay khi vào viện cố gắng cho trẻ ăn nếu có thể bằng sữa không có protein hoặc sữa không có isoleucine/valine/leucine kèm bổ xung leucine và valine [72].

Thiết lập đường truyền trung tâm trong trường hợp trẻ không ăn được để truyền dung dịch nuôi dưỡng glucose ưu trương [29],[72].

Khi không còn tình trạng nhiễm xeton, cho trẻ ăn lại với lượng protein bằng ½ so với lúc bình thường (trình bày phần sau) trong ngày đầu tiên.

### 1.10.3. Điều trị lâu dài.

#### *1.10.3.1. Chế độ ăn*

Bệnh thiếu hụt enzym BKT liên quan tới cả chuyển hóa isoleucine và giáng hóa thể xeton nên chế độ ăn vừa hạn chế nhẹ protein vừa không quá nhiều lipid.

Lượng protein và isoleucine bệnh nhân thiếu enzym BKT tuân theo bảng sau [72]. Tuy nhiên, mỗi bệnh nhân có sự dung nạp khác nhau nên việc theo dõi phát triển thể chất, acid amin máu, carnitine máu và acid hữu cơ niệu định kỳ 6 tháng là cần thiết để điều chỉnh chế độ ăn cho phù hợp là vừa giúp trẻ phát triển thể chất bình thường, vừa hạn chế được các đợt cấp xảy ra.

**Bảng 1.3. Lượng protein và isoleucine hàng ngày theo lứa tuổi của bệnh nhân thiếu enzym BKT [72].**

| Tuổi | Protein toàn phần (g/kg/ngày) | Isoleucine |
|---|---|---|
| 0 – 3 tháng | 1,5 – 2,5 | 90 – 150 (mg/kg/ngày) |
| 3 – 6 tháng | 1,2 – 2,0 | 75 – 125 |
| 6 – 9 tháng | 1,0 – 1,6 | 65 – 115 |
| 9 – 12 tháng | 0,8 – 1,5 | 50 – 100 |
| 1 – 4 tuổi | 0,8 – 1,5 | 600 – 920 mg/ngày |
| 4 – 7 tuổi | 0,8 – 1,5 | 750 – 1250 |
| 7 – 11 tuổi | 0,6 – 1,4 | 850 – 1400 |
| 11 – 15 tuổi | 0,5 – 1,3 | 900 – 1600 |
| 15 – 19 tuổi | 0,5 – 1,0 | 1000 – 1900 |
| > 19 tuổi | 0,3 – 0,8 | 1100 – 1900 |

#### *1.10.3.2. Cung cấp L.Carnitine*

L. Carnitine hàng ngày cung cấp là 50 – 100 mg/kg/ngày đặc biệt là đối với những bệnh nhân có nồng độ Carnitine máu thấp.

#### *1.10.3.3.* Tư vấn cách phòng tránh cơn cấp tái phát

Các bệnh nhân thiếu BKT sẽ không có biểu hiện lâm sàng và biến đổi trong xét nghiệm sinh hóa thông thường trong giai đoạn ổn định cho tới khi xuất hiện các đợt cấp. Tỉ lệ có các cơn tái phát là khoảng 50%. Bởi vậy việc

phòng tránh các cơn cấp, cũng như phát hiện kịp thời các dấu hiệu nguy cơ của cơn cấp là quan trọng để giảm các biến chứng cơn cấp [2],[72].

Để phòng tránh các cơn cấp các bệnh nhân cần được thực hiện các điều sau:

- Không được để đói quá lâu (quá 3 tiếng).
- Tuân thủ chế độ ăn và thuốc hàng ngày.
- Điều trị kịp thời các bệnh lý thông thường.
- Tiêm chủng đầy đủ
- Khi bệnh nhân bị mệt và ốm, phải đảm bảo cung cấp dinh dưỡng đủ nhu cầu calo bằng chế độ ăn tăng Carbohydrate. Trong trường hợp không ăn được hoặc ăn ít, sử dụng Glucose bổ sung thêm đường uống. Đồng thời, bệnh nhân nên đến cơ sở y tế để kiểm tra xeton niệu và khí máu để phát hiện kịp thời các biểu hiện sớm của các cơn cấp mất bù.
- Khi bệnh nhân bị ốm, mệt mà có xeton niệu, bệnh nhân cần được nhập viện để truyền Glucose với tốc độ 5ml/kg/giờ ngay kèm theo chế độ ăn giàu Carbohydrate và nằm viện theo dõi tình trạng nhiễm toan xeton.

### 1.11. Tư vấn di truyền

Bệnh thiếu enzym BKT là bệnh lý di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường nên có những đặc điểm sau [77]:

+ Bệnh có tính chất ngắt quãng qua các thế hệ

+ Khả năng mắc bệnh ở nam và nữ như nhau.

+ Khả năng di truyền cho các thế hệ sau:

Nếu bố, mẹ là người mang gen thì khả năng 25% số con bình thường, 25% số con có biểu hiện bệnh và 50% số con là người mang gen giống bố mẹ.

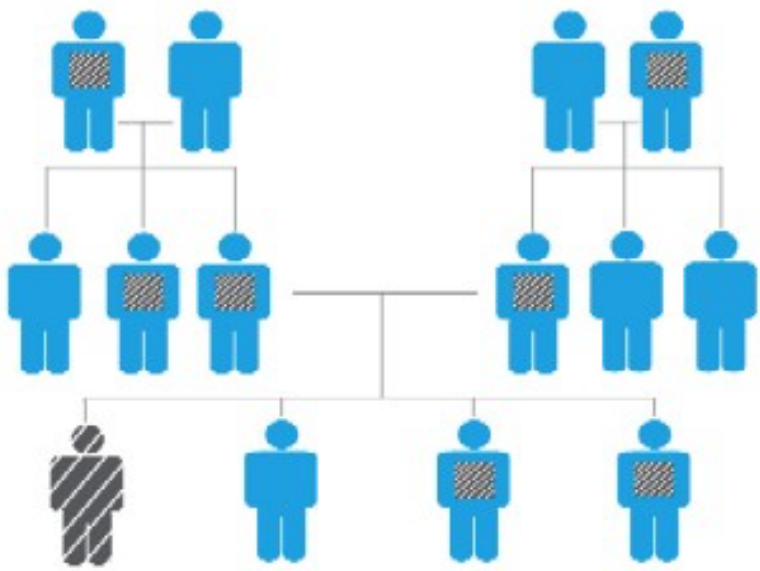
Nếu chỉ có bố hoặc mẹ là người mang gen thì thế hệ sau không có con bị biểu hiện bệnh, 50% số con là người mang gen, 50% số con hoàn toàn bình thường.

Là bệnh di truyền nên phải điều trị và theo dõi suốt đời.

Tuy là bệnh lý di truyền nhưng không đặt ra vấn đề chẩn đoán trước sinh với bệnh vì:

+ Bệnh có khả năng điều trị được và kết quả điều trị tốt không có di chứng thần kinh nếu xử trí kịp thời cơn cấp mất bù.

+ Bệnh thường xuất hiện từ 6 – 12 tháng, không xuất hiện ngay sau sinh.




**Hình 1.14. Khả năng di truyền cho thế hệ sau của bệnh thiếu enzym BKT [2] .**

Tư vấn di truyền cho gia đình về bệnh. Sàng lọc người mang gen bệnh để tư vấn tiền hôn nhân [2].

### 1.12. Tiên lượng

Bệnh có tiên lượng tốt. Hầu hết các bệnh nhân phát triển bình thường sau các đợt cấp (80%) và 10% có biến chứng thần kinh sau các đợt cấp [4]. Tuy nhiên có một số bệnh nhân có tổn thương thần kinh trước cơn cấp lần đầu tiên [1]. Có khoảng 50% bệnh nhân có các cơn cấp tái phát xuất hiện trước 6 tuổi [4].

### 1.13. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Đây là nhóm bệnh hiếm, cho tới nay chỉ có trên 100 bệnh nhân được phát hiện trên 30 nước khác nhau [2]. Cho nên hầu hết các nghiên cứu xuất bản là báo cáo ca bệnh lẻ tẻ [40], [60], [61], [78], [36], [79], [35], [80], [81], [37], [82], [83], [84], [85], [38], [86], [87], [39], [47], [78], [88], [44], [89], [90], [91].

Duy nhất có 1 nghiên cứu đa trung tâm về đặc điểm kiểu hình và kết quả điều trị của 26 bệnh nhân của Fukao.T năm 2001 là có số bệnh nhân nhiều nhất trong các nghiên cứu [4].

Xét nghiệm chẩn đoán phân tử hầu hết là được thực hiện tại Học viện Gifu, Nhật Bản. Phương pháp xét nghiệm phân tử chủ yếu là PCR rồi giải trình tự gen trực tiếp. Phương pháp MLPA mới được thiết kế và sử dụng từ năm 2013 [44]. Các đột biến gen tìm thấy đa đạng và đa số là dị hợp tử, không tìm thấy đột biến phổ biến nào [5].

Về điều trị, hầu hết các bệnh nhân được truyền Glucose liều cao, bù toan, L.Carnitine, chế độ ăn và điều trị triệu chứng. Có một số bệnh nhân được thẩm phân phúc mạc và lọc máu [40],[90]. Vì đây là một bệnh hiếm nên việc điều trị chủ yếu dựa vào các khuyến cáo của hiệp hội bệnh lý rối loạn chuyển hoá quốc tế.

Trong khi đó, tại Việt Nam, từ năm 2005 đến 06/2016 đã phát hiện được 41 bệnh nhân thiếu enzym BKT và qua một nghiên cứu kiểu gen của 8 bệnh nhân đã phát hiện ra đột biến phổ biến là R208X [5]. Chính vì vậy nghiên cứu về kiểu hình, kiểu gen, cũng như kết quả điều trị lâu dài của 41 bệnh nhân là rất cần thiết đặc biệt là tất cả bệnh nhân này được theo dõi tại cùng một trung tâm.

# Chương 2
# ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

## 2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Tất cả bệnh nhân được chẩn đoán RLCHBS thiếu enzym BKT tại Bệnh Viện Nhi Trung Ương qua chương trình hợp tác Việt Nam – Nhật Bản về sàng lọc nguy cơ cao rối loạn chuyển hoá bẩm sinh acid hữu cơ, acid amin và acid béo.

***Tiêu chuẩn chọn mẫu:*** Tất cả bệnh nhân được chẩn đoán xác định bệnh bằng xét nghiệm định lượng acid hữu cơ niệu thấy tăng 2MAA, 2M3HB, TIG và/hoặc có đột biến gen *T2* gây bệnh.

***Tiêu chuẩn loại trừ:*** không đưa vào nghiên cứu những mẫu bệnh án không có đầy đủ thông tin.

## 2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Nhi Trung ương và hợp tác với Học viện Shimane và Học viện Gifu, Nhật Bản.

Thời gian thực hiện nghiên cứu từ tháng 1 năm 2005 đến tháng 6 năm 2016.

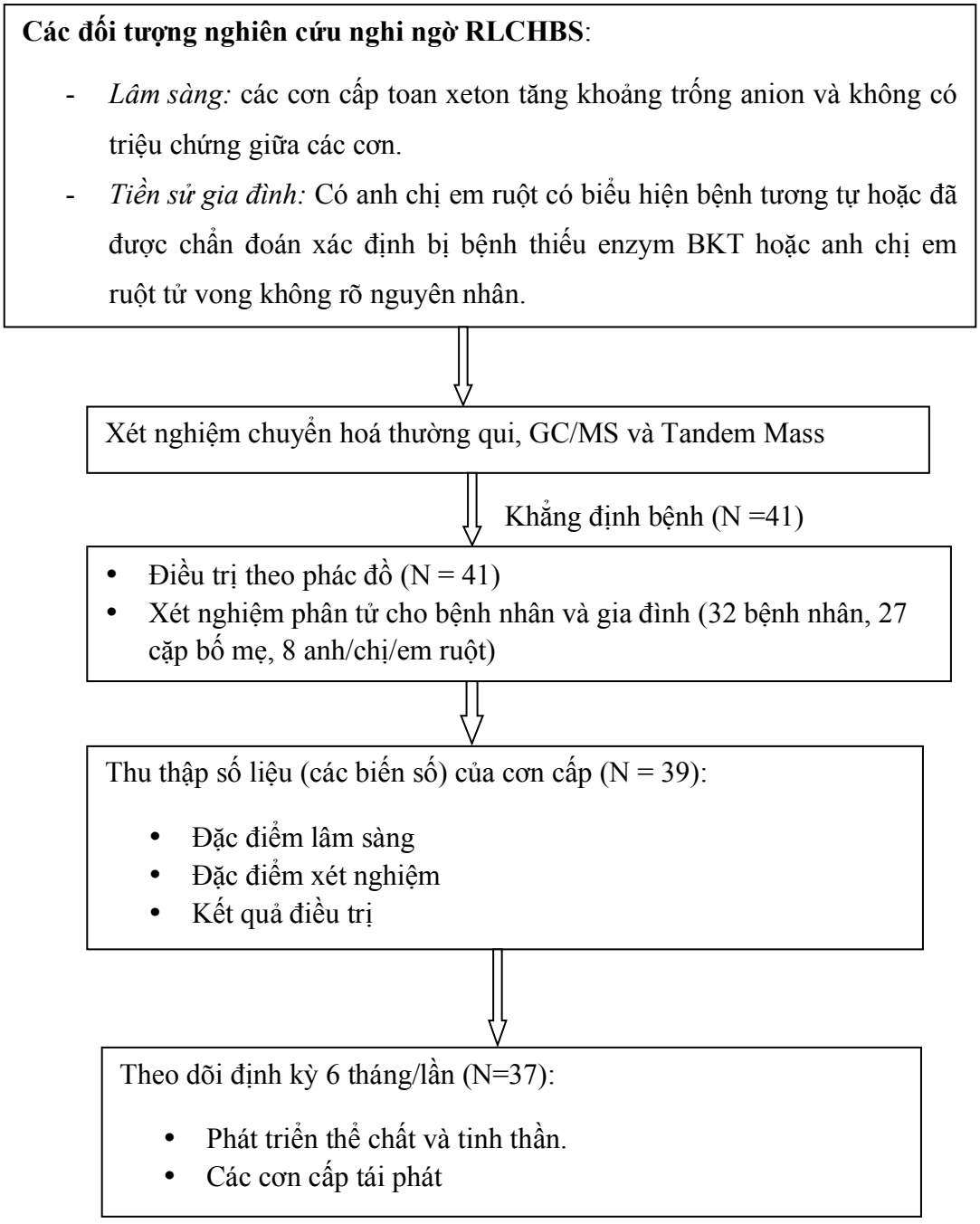
## 2.3. Phương pháp nghiên cứu

### 2.3.1. Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu mô tả hồi cứu và tiến cứu đối với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng, kiểu đột biến gen của bệnh nhân thiếu enzym BKT. Nghiên cứu phân tích hồi cứu và tiến cứu có can thiệp đánh giá trước sau điều trị.

**2.3.2**. **Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu**:

- Cỡ mẫu toàn bộ, 41 bệnh nhân được chẩn đoán RLCHBS thiếu enzym BKT tại Bệnh Viện Nhi Trung ương từ 1/2005- 1/2016. Phương pháp chọn mẫu theo sơ đồ nghiên cứu




**Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu**

**2.4. Các biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu**:

Bệnh án nghiên cứu: Tất cả những bệnh nhân đủ tiêu chuẩn được lựa chọn vào nghiên cứu, đều có chung một mẫu bệnh án thống nhất để nghiên cứu bệnh án.

Bệnh nhân được khám lâm sàng tỉ mỉ, toàn diện, được làm xét nghiệm, được điều trị và chăm sóc theo phác đồ điều trị. Sau khi ra viện, tất cả các bệnh nhân được thăm khám định kỳ 6 tháng đến 1 năm để đánh giá phát triển thể chất và tâm thần vận động, các đợt cấp tái phát. Trong mỗi lần khám theo dõi, các bệnh nhân đều được đo các chỉ tiêu về nhân trắc như đo cân nặng, chiều cao và làm test Denver, khám và điều trị theo các chuyên khoa tùy từng trường hợp.

Phỏng vấn các bố mẹ, hoặc người nhà chăm sóc trẻ về tiền sử, bệnh sử, chế độ ăn của trẻ.

**2.4.1. Chọn các đối tượng có nguy cơ cao RLCHBS thiếu enzym BKT**

Các đối tượng có nghi ngờ bị RLCHBS thiếu enzym BKT với tiêu chuẩn:

- *Lâm sàng:*
  - Biểu hiện lâm sàng của các cơn cấp toan xeton tăng khoảng trống anion và không có triệu chứng giữa các cơn.
  - Trẻ phát triển tâm thần vận động bình thường trước cơn cấp lần đầu.
- *Tiền sử gia đình:*
  - Tiền sử sản khoa bình thường
  - Có anh chị em ruột có biểu hiện bệnh tương tự hoặc đã được chẩn đoán xác định bị bệnh thiếu enzym BKT.
  - Có anh chị em ruột tử vong không rõ nguyên nhân.

### 2.4.2. Các đặc điểm lâm sàng

- Tuổi xuất hiện bệnh.
- Tuổi chẩn đoán.
- Phát triển tâm thần vận động trước khi được chẩn đoán.
- Tiền sử gia đình, phả hệ: vẽ phả hệ theo qui ước quốc tế.
- Toàn trạng: cân nặng, chiều cao, đánh giá phát triển thể chất theo biểu đồ tăng trưởng của WHO– 2007 (http://www.who.int/childgrowth/en/).
- Đánh giá tri giác theo AVPU [92].

A: Tỉnh, mở mắt tự nhiên.

V: Đáp ứng với lời nói.

P: Đáp ứng với đau.

U: Không đáp ứng.

- Đánh giá mức độ mất nước ABC theo chương trình CDD của WHO (http://apps.who.int/iris/handle/10665/61015).

**Bảng 2.1. Bảng phân độ mất nước theo CDD của WHO**

| Dấu hiệu | Mất nước A | Mất nước B | Mất nước C |
|---|---|---|---|
| Toàn trạng* | Bình thường | Kích thích, vật vã | Li bì, mệt lả, hôn mê |
| Mắt | Bình thường | Trũng | Rất trũng, khô |
| Nước mắt | Có | Không | Không |
| Miệng, lưỡi | Ướt | Khô | Rất khô |
| Khát* | Không, uống bình thường | Khát, uống háo hức | Uống kém, không uống được |
| Nếp véo da* | Mất nhanh | Mất chậm < 2” | Rất chậm > 2” |
| Chẩn đoán | Không mất nước | Có 2 dấu hiệu trở lên, ít nhất 1 dấu hiệu *: Mất nước nhẹ, trung bình | Có 2 dấu hiệu trở lên, ít nhất 1 dấu hiệu *: Mất nước nặng |
| Dấu hiệu | Mất nước A | Mất nước B | Mất nước C |

▪ Đo nhiệt độ

▪ Đánh giá tình trạng khó thở: thở nhanh, dấu hiệu rút lõm lồng ngực, tím tái, ngừng thở [93].

▪ Đánh giá tình trạng suy tuần hoàn ngoại biên: mạch nhanh, huyết áp tụt, dấu hiệu refill > 2".

▪ Đánh giá các dấu hiệu thần kinh: tăng/giảm trương lực cơ, cơ lực, phản xạ gân xương [92].

▪ Đánh giá phát triển tâm thần – vận động: test Dever II dựa vào chỉ số DQ đánh giá sự phát triển về ngôn ngữ và vận động [92].

▪ Đánh giá các tình trạng khác: gan, lách, da, niêm mạc, nhiễm trùng ..

### 2.4.3. Các đặc điểm cận lâm sàng:

- **Xét nghiệm thường quy:**

+ Khí máu: có nhiễm toan chuyển hóa nếu pH< 7,35 và HCO3- < 24mmol/l. pH 7,2-7,3: nhiễm toan chuyển hóa nhẹ, pH 7,0-7,2: nhiễm toan chuyển hóa vừa, pH <7,0: nhiễm toan chuyển hóa nặng [94],[24],[73].

+ Điện giải đồ: Na giảm (< 130 mmol/l); Kali giảm (< 3,0 mmol/l); Kali tăng (> 5,5mmol/l); Canxi giảm (Canxi toàn phần < 2 mmol/l) [94].

+ Khoảng trống anion (AG) tăng nếu > 16 mEq/l [29].

+ Amoniac máu tăng: sơ sinh: >200µmol/l

Ngoài giai đoạn sơ sinh: > 100 µmol/l [24],[29].

+ Acid Lactic máu: Tăng nếu > 2,7 mmol/l [24],[95].

+ Thiếu máu: thiếu máu nhẹ Hb 90-120 mg/dl; vừa Hb 80 – 90 mg/dl; nặng Hb< 80mg/dl [96].

+ Giảm bạch cầu: bạch cầu < 4000/ml. Tăng bạch cầu: bạch cầu > 9000/ml [96].

+ Giảm tiểu cầu: TC < 100.000/ml: giảm nhẹ, TC <20.000/ml: giảm nặng [96].

+ Đường huyết: giảm nếu < 2,7 mmol/l [6], hoặc tăng nếu đường máu lúc đói > 7 mmol/l hoặc đường huyết ngẫu nhiên ≥ 11,1 mmol/l [94].

- **Xét nghiệm đặc hiệu:**

+ Kết quả định lượng acyl-carnitine máu qua Tandem Mass: Biến đổi đặc hiệu của bệnh thiếu enzym BKT là tăng C5:1, C5:OH.

+ Kết quả phân tích acid hữu cơ niệu qua GC/MS: Biến đổi đặc hiệu của bệnh thiếu enzym BKT là tăng 2MAA, 2M3HB, TIG.

+ Kết quả phân tích gen *T2* của bệnh nhân và gia đình bệnh nhân thiếu enzym betaketothiolase: Phát hiện các đột biến gây bệnh trên gen *T2*.

### 2.4.4. Các phương pháp điều trị và đánh giá kết quả điều trị:

Ngay sau khi được chẩn đoán sơ bộ, bệnh nhân được điều trị theo một phác đồ thống nhất dựa trên khuyến cáo quốc tế (Fukao – 2004) [71],[1]:

- Điều trị cấp cứu (mục 1.10.2):
    - Đảm bảo các chức năng sống: đảm bảo hô hấp, tuần hoàn.
    - Nhịn ăn trong giai đoạn cấp cứu.
    - Truyền glucose 10 – 15% tốc độ 10 mg/kg/phút.
    - L – Carnitine 100 mg/kg/ngày.
    - Chống nhiễm toan chuyển hóa: khi pH < 7,1 bằng Bicarbonate liều 0,35 – 0,5 mEq/kg/giờ, có thể tới 1 – 2 mEq/kg/giờ.
    - Chống rối loạn điện giải.
    - Chống nhiễm trùng.
    - Điều trị các triệu chứng khác.

- Điều trị đặc hiệu kéo dài (mục 1.10.3):
    - L-Carnitine 50 – 100mg/kg/ngày.
    - Chế độ ăn giảm Protein theo lứa tuổi, giàu carbohydrat nhưng vẫn đảm bảo nhu cầu năng lượng và phát triển cho trẻ.
    - Tư vấn phòng bệnh.
- Tư vấn di truyền (mục 1.11) [77].
- Đánh giá kết quả điều trị:
    - Kết quả điều trị đợt cấp: sống có di chứng, không di chứng, tử vong, nguyên nhân tử vong, di chứng, thời gian hết toan xeton.
    - Tuổi bị tử vong, tuổi phát hiện di chứng.
    - Tốc độ tăng trưởng: chiều cao, cân nặng theo WHO – 2007 (http://www.who.int/childgrowth/en/).
    - Phát triển t thần vận động được đánh giá theo test Denver II.
    - Số lần tái phát đợt cấp.

- Đánh giá yếu tố tiên lượng và mối liên quan kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân.

- Các yếu tố tiên lượng:
    - Tuổi xuất hiện bệnh.
    - Tuổi chẩn đoán.
    - Phát triển tâm thần vận động trước khi được chẩn đoán.
    - Tình trạng lúc vào viện: tình trạng shock, pH, amoniac máu, thời gian của cơn cấp, tình trạng nhiễm trùng.
    - Số lần tái phát.
    - Kiểu đột biến gen.
- Mối liên quan kiểu gen với kiểu hình:
    - Tuổi xuất hiện cơn cấp.

- Mức độ nặng của cơn cấp (tình trạng ý thức, co giật, suy hô hấp, shock, pH, amoniac máu, lactat máu).
- Kết quả điều trị.
- Số lần tái phát.
- Biến đổi acid hữu cơ niệu và acylcarnitin máu.

**2.4.5. Các phương pháp xét nghiệm và thu thập số liệu**

- Đánh giá lâm sàng cơn cấp bởi các bác sĩ hồi sức và bác sĩ khoa Nội tiết – Chuyển hoá – Di truyền.

- Đánh giá test Denver bởi các chuyên gia tâm lý tại khoa Tâm bệnh, Bệnh viện Nhi Trung ương.

- Đo chiều cao, cân nặng bởi các điều dưỡng khoa Nội tiết – Chuyển hoá – Di truyền.

- Xét nghiệm thường qui được làm bằng máy hoá sinh tự động tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

- Xét nghiệm sinh hoá đặc hiệu phân tích acid hữu cơ niệu bằng kỹ thuật GC/MS và acylcarnitine máu bằnd kỹ thuật Tandem Mass được làm tại Học viện Shimane, Nhật Bản và Bệnh viện Nhi Trung ương.

- Xét nghiệm phân tích phân tử được làm tại Học viện Gifu, Nhật Bản.

***2.4.5.1. Xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu bằng kỹ thuật GC/MS***

41 bệnh nhân được xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu, trong đó 33 mẫu bệnh phẩm là giấy thấm nước tiểu và 8 mẫu bệnh phẩm là nước tiểu tươi.

**Cách lấy bệnh phẩm**: 5 ml nước tiểu tươi hoặc giấy thấm nước tiểu. Lấy nước tiểu bệnh nhân thấm ướt đều hai mẫu giấy 2,5x2cm sau để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng 4 giờ [97], [98].

**Nguyên lý hoạt động**: GC/MS là viết tắt của Gas Chromatography Mass Spectometry, là kỹ thuật kết hợp của sắc ký khí (Gas Chromatography-

GC) và khối phổ (Mass Spectrometry-MS). Nguyên lý kỹ thuật phân tích acid hữu cơ niệu: Chiết tách các acid hữu cơ bằng ethyl acetate và diethyleter/ tạo dẫn xuất oxime-trimethylsilyl/ phân tích bằng GC/MS [48],[14],[49],[99].

Trong bệnh thiếu hụt enzym BKT, có 3 chất chuyển hoá bị ứ đọng trong quá trình giáng hoá acid amin leucine là 2MAA, 2M3HB, TIG. Ngoài ra còn thấy tăng các thể xeton acetoacetate, 3-hydroxybutyrate.

**Các bước thực hiện**:

***Chuẩn bị hoá chất:***

Hydroxylamine hydrochloride, margaric acid (MGA), hỗn hợp hydrocarbon (C10–C26), tetracosane (C24) và *N*,*O*-bis (trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA), trimethylchlorosilane (TMCS) [98],[100].

***Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm:***

Thể tích nước tiểu chứa 0,2 mg creatinin hoặc tối đa 1 ml được dùng để chiết tách. Hai chất nội chuẩn được sử dụng là MGA và C24: 20 µg của mỗi chất được cho vào mẫu nước tiểu, thêm nước cất vào để tạo thể tích cuối cùng 2 ml. Quá trình oxime hoá các 2-ketoacid và các acid hữu cơ thông thường được thực hiện trước khi tách chiết. Để oxime hoá các 2-ketoacid, thêm 1 ml hydroxylamine hydrochloride 5% sau khi điều chỉnh pH về 12-14 bằng NaOH 2N, để ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Sau khi acid hoá về pH 1,0 bằng 0,2 ml của HCl 6N và thêm 1 g NaCl, acid hữu cơ niệu sẽ được chiết tách 2 lần bằng 6 ml ethylacetate và 1 lần bằng 6 ml diethylether. Sau li tâm, các lớp hữu cơ được kết hợp và loại nước bằng 5g sodium sulfat khan. Lớp dịch nổi phía trên được lấy ra và thổi khô bằng khí nitơ ở $60^0$C. Các acid hữu cơ chiết tách được tạo dẫn xuất bằng thêm 100 µl của hỗn hợp BSTFA và TMCS (tỷ lệ thể tích10:1) để trong lò 80ºC trong 30 phút.

Bệnh phẩm là giấy thấm nước tiểu: 1 tờ giấy thấm nước tiểu tương đương 0,4 ml nước tiểu tươi. Để tách chất chuyển hoá từ giấy thấm, giấy thấm khô được gấp lại trong xilanh 2,5 ml. Xi lanh được để vào ống xét nghiệm 10ml. Thêm 1,2 ml nước cất vào mỗi ống, đợi 5 phút. Sau đó li tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút. Cho dịch thu được cho vào ống Eppendorff 1,5 ml, xử lý mẫu như trên để phân tích. Phần còn lại để định lượng creatinine.

**Tiến trình GC/MS**

Hệ thống GC/MS mao quản, Shimadzu model QP 5000. Cột mao quản là DB-5 phủ silica (dài 30 m x 0.25 mm đường kích trong) với độ dày film 1 μm của 5% phenylmethylsilicone. Phổ khối được hình thành do sự ion hoá bằng tác động điện tử (standard electron impact ionization) được quét từ mảnh ion có số khối từ 50 *m*/*z* tới 600 *m*/*z* tại tốc độ 0,4 s/vòng.

Qui trình nhiệt độ bắt đầu tại $100^0$C trong 4 phút và rồi tăng nhiệt độ $4^o$ C/phút cho tới $290^0$ C thì giữ trong 10 phút. Nhiệt độ của cổng bơm và đường vận chuyển là $280^0$ C. Tố độ dòng khí heli là 1,5 ml/phút và tố độ tối đa 40,2 m/s. Một μl của dịch tạo dẫn xuất cuối cùng được bơm vào GC/MS để phân tích bằng phương pháp chia dòng.

***Phân tích kết quả***

Phân tích kết quả acid hữu cơ niệu trên hệ thống phân tích dữ liệu tự động. Việc xác định các hợp chất dựa trên 3 thông số. 1) Hai mảnh ion đích được rửa giải cùng lúc trên sắc đồ, một mảnh định lượng (Q-ion) và một mảnh để khẳng định (C-ion). Việc lựa chọn này giúp tối ưu hoá việc phân biệt các hợp chất được rửa giải gần nhau. 2) Tỷ số của cường độ các đỉnh của các mảnh ion này (Tỷ số C/Q) được dùng để giúp nhận dạng chính xác hơn. 3) Thời gian lưu được tính từ giá trị MU (methylene unit).

### *2.4.5.2. Định lượng acylcarnitine bằng kỹ thuật Tandem Mass.*

39 bệnh nhân được định lượng acylcarnitine máu bằng giấy thấm máu.

Mỗi bệnh nhân được lấy một giọt máu vào giấy thấm Guthrie, đảm bảo kín hết vòng tròn giấy thấm, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Ghi đầy đủ tên tuổi bệnh nhân và các dấu hiệu lâm sàng và xét nghiệm vào các mẫu giấy in sẵn [101],[102].

***Nguyên lý hoạt động***

Tandem Mass là thiết bị kỹ thuật có có độ nhạy cao, có khả năng sàng lọc số lượng lớn mẫu bệnh phẩm trong khoảng thời gian ngắn. Về bản chất, khối phổ là một thiết bị có khả năng nhận ra khối lượng của các phân tử độc lập và các phân mảnh của chúng. Kết quả của sự phát hiện này được hiển thị trên biểu đồ dưới dạng phổ khối. Trong phổ khối, các vị trí chạy theo trục hoành (x) biểu diễn số khối (m/z), trong khi đó chiều cao của cột sóng theo trục tung (y) đại diện cho số lượng của các ion. Thiết bị khối phổ đơn nếu sử dụng mà không có sự tinh sạch hay sắc kí thì sẽ không hoàn toàn chọn lọc đặc hiệu và dữ liệu có thể không đọc được do bị lẫn bởi các hợp chất có cùng nguyên khối sinh ra do các ion nguyên vẹn hoặc ion mảnh. Thiết bị phổ khối đôi MS/MS cung cấp một giải pháp cho vấn đề chọn lọc phân tích mà không cần sử dụng sắc kí. MS/MS là một công cụ hiệu quả giúp phân tích acid amin và acylcarnitine để sàng lọc và chẩn đoán các RLCHBS.

***Hoá chất và dụng cụ:***

Hệ thống TandemMasss gồm: Máy phổ khối Model TSQ7000 (ThermoQuest, Tokyo, Japan), hệ thống sắc khí Model LC10 và bơm tự động Model SIL-10ADVP (Shimadzu, Kyoto, Japan). Máy tạo khí Nitơ.

Các acylcarnitine đánh dấu đồng vị hoá học ổn định (stable isotope-labelled acylcarnitines), Citrulline-3,3,4,-$^{2}H_3$ được tổng hợp từ acrylonitrile-2,3,3-$^{2}H_3$ do phòng xét nghiệm tự tổng hợp Acrylonitrile-2,3,3-$^{2}H_3$và các hợp chất nội chuẩn khác được mua từ CDN Isotopes (Miamisburg, OH, Mỹ) hoặc từ Cambridge Isotope Labs. (Andover, MA, Mỹ)[102]. Butanolic HCl (10%), acetonitrile cho HPLC, methanol, và nước cất của Nacalai Tesque, Nhật.

***Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm***

Các mẫu bệnh phẩm máu khô được bấm tự động bằng dụng cụ bấm tự động (WallacAutoPuncher™; PerkinElmer, Waltham, MA) thành các mảnh tròn có đường kính 3,2 mm. Cho 3 mảnh tròn đường kính 3,2 mm vào ống Amicon Ultra 0,5 (10K) cùng với 100µl nước cất để trong máy ủ tại nhiệt độ 37$^{0}$C trong 2 tiếng và lắc đều. Sau đó li tâm với tốc độ 12.500 vòng/phút trong 15 phút. Lấy phần dung dịch đã được chiết tách được chuyển sang ống mới.

Cho 110µl dung dịchmethanol có chứa các chất chuẩn isotope: 2 nmol of glycine-$^{2}H_2$, 1,5 nmol của alanine-$^{2}H_3$, valine và leucine-$^{2}H_{10}$, 0,5 nmol của methionine-$^{2}H_3$, phenylalanine-$^{2}H_5$ và arginine-$^{13}C_6$, 0,8 nmol của tyrosine-$^{2}H_2$, 0,2 nmol of citrulline-$^{2}H_3$, 3 nmol của glutamine-$^{2}H_5$, 100 pmol của carnitine-$^{2}H_3$, 100/3 pmol của acetylcarnitine-$^{2}H_3$, 50/3 pmol của propionylcarnitine-$^{2}H_3$ và glutarylcarnitine-$^{2}H_9$, 10 pmol of butyrylcarnitine-$^{2}H_3$, 20/3 pmol của octanoylcarnitine-$^{2}H_3$ và palmitoylcarnitine-$^{2}H_9$.

***Tiến trình Tandem Mass***

Hệ thống phân tích MS\MS sử dụng là máy đo phổ khối triple-stage Model TSQ7000 (Thermo- Quest, Tokyo, Japan) với hệ thống HLPC Model LC10 và bơm tự động Model SIL-10ADVP (Shimadzu, Kyoto, Japan) [102]. Dùng bơm tự động đưa mẫu đã được tạo dẫn xuất (13 µl) vào với tốc độ dòng 20µl/s của 50% acetonitrile trong nước ở từng khoảng thời gian 1,9 phút.

Hình ảnh phân giải của cả hai khối phổ được điều chỉnh tự động. Dữ liệu được thu thập trong các kênh tiếp nhận trong 1,2 phút cho mỗi mẫu. Máy ghi lại các hình ảnh phân tích acid amin và acylcarnitine.

***Phân tích kết quả***

Các đỉnh cho các hợp chất sẽ được phân tích tự động bằng phần mềm Analyst 1.5.1 (AB SCIEX, Foster City, CA) và tỉ lệ đỉnh của mẫu và của chuẩn sẽ được vẽ đồ thị.

Đối với bệnh thiếu enzym BKT thấy tăng C5:1 và C5:OH

***2.4.5.3. Phân tích đột biến gen T2***

32 bệnh nhân từ 27 gia đình được làm phân tích gen *T2*. 27 cặp bố mẹ và 8 anh chị em ruột của bệnh nhân không có biểu hiện lâm sàng của cơn cấp, không có biến đổi bất thường acid hữu cơ niệu được phân tích gen.

Bệnh phẩm là 2 ml máu ngoại vi trong ống chống đông EDTA để làm chiết tách DNA với QIAamp DNA blood mini kits (Đức) tại Việt nam. Các mẫu DNA được gửi sang Học viện Gifu - Nhật bản làm phân tích gen T2 (ACAT1).

***DNA được tách chiết với QIAamp DNA blood mini kit:***

- Lấy 20µl Protease vào ống eppedorf 1,5ml vô trùng.
- Nhỏ 200µl máu ngoại vi vào ống, lắc đều.
- Thêm 200µl dung dịch AL, sau đó vortex 15 giây.
- Ủ mẫu ở nhiệt độ $56^0$C trong 10 phút
- Nhỏ 200µl cồn tuyệt đối vào và vortex 15 giây
- Chuyển toàn bộ dịch trong ống sang cột lọc, sau đó ly tâm với vận tốc 8000 vòng/ phút trong 1 phút. Đổ dịch nổi ở phía dưới ống lọc.

- Chuyển cột lọc sang ống sạch, thêm 500µl dung dịch AW1, sau đó ly tâm với vận tốc 8000 vòng/ phút trong 1 phút. Đổ dịch nổi phía dưới ống lọc.
- Chuyển cột lọc sang ống sạch, thêm 500µl dung dịch AW2, sau đó ly tâm với vận tốc 13000 vòng/ phút trong 5 phút. Đổ dịch nổi phía dưới ống lọc.
- Chuyển cột lọc sang ống eppendorf 1,5ml vô trùng. Nhỏ 200µl dung dịch AE vào cột lọc. Ủ ở nhiệt độ phòng 5 phút.
- Ly tâm với tốc độ 8000 vòng/ phút trong 1 phút để thu sản phẩm DNA tổng số.
- Định lượng hàm lượng DNA tổng số trên máy Nano Drop.

***Các kỹ thuật phân tích gen T2 trên bệnh nhân Việt Nam:***

Phân tích gen được thực hiện tại Học viện Gifu, Nhật Bản. 5 bệnh nhân đầu tiên được làm phân tích gen bằng kỹ thuật giải trình tự gen trực tiếp. Các bệnh nhân tiếp theo được phân tích gen bằng kỹ thuật enzym giới hạn tìm đột biến p.R208X trước tiên, tiếp theo là kỹ thuật giải trình tự gen trực tiếp và MLPA nếu không tìm thấy đột biến.

- Kỹ thuật enzym cắt giới hạn để tìm p.R208X trên gen T2[5]**:**

R208X (CACG thay bằng CATG) tạo ra 1 vị trí cắt mới của Nla III.

Một đoạn (264bp) gồm exon 7 và các intron xung quanh nó được khuyếch đại với các cặp mồi sau:

In6s (in intron 6, -79~ -60)5’-CACTATAAGTTAGGCAAAGT-3’

In7as (in intron 7, +39~+20) 5’-GAAAAGTCTATTCATCCTT-3’

Sau phản ứng khuyếch đại, dung dịch được ủ với Nla III, rồi được đưa vào gel polyacrylamide 5%.

- Kỹ thuật giải trình tự gen (sequencing) trực tiếp trên g.DNA được thực hiện trên tất cả các exon và các intron xung quanh exon (khoảng 100bp) [5], [85].

**Bảng 2.2. Trình tự mồi sử dụng cho phân tích gen *T2***

| Exon | Sense primer | Antisense primer | Product size (bp) |
|---|---|---|---|
| 1 | 5´-agtctacgcctgtggagc-3´ | 5´-tagatctgagtgctgtggggacga-3´ | 147 |
| 2 | 5´-atgatcataaggatgcaggaagaaa-3´ | 5´-cgtctagagggaatgttgttttg-3´ | 401 |
| 3, 4 | 5´-ggaagcttctgtcctcaaacct-3´ | 5´-ggatggtctccatctcttgacctc-3´ | 884 |
| 3 (2nd) | 5´-gggtaaaataccctataattt-3´ | 5´-ttacatacatagttaatgc-3´ | 245 |
| 4 (2nd) | 5´-gtgtaatgtcacctacctt-3´ | 5´-gctgggattacaggcatga-3´ | 262 |
| 5 | 5´-catgctctattaagttctgcag-3´ | 5´-atggatccagacactcttgagca-3´ | 319 |
| 6 | 5´-acttcctgtattcactgt-3´ | 5´-tcaacatttatagagcccatc-3´ | 391 |
| 7 | 5´-atgatctgcctgccttggc-3´ | 5´-aaagtaatactcagggatctta-3´ | 535 |
| 7 (2nd) | 5´-cactataagttaggcaaagt-3´ | 5´-tgaaaagtctattcatcctt-3´ | 269 |
| 8 | 5´-attctagatgagtgtttacttgg-3´ | 5´-acatgagcctgatatactg-3´ | 438 |
| 9 | 5´-tgcagttagctgtgtacatg-3´ | 5´-atgatcatgccaccatgctcagcta-3´ | 441 |
| 10 | 5´-ttgatctaaacttggcttgtgata-3´ | 5´-aagatcaaccttggtataagcaaac-3´ | 216 |
| 11 | 5´-gagacagagcaagactgttg-3´ | 5´-gccttatgaaagatgggtagg-3´ | 457 |
| 12 | 5´-ttgatcagcaagtagtagtggcta-3´ | 5´-tgacccacagtagtcacac-3´ | 316 |

Sau khuyếch đại gen bằng các mồi xuôi và ngược, giải trình tự gen trực tiếp và tự động trên máy giải trình tự gen ABI 3130XL

- Kỹ thuật MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) đối với từng exon được thực hiện với bệnh nhân không tìm thấy đột biến bằng hai phương pháp trên [18].

  Các mẫu được chạy trên máy theo chương trình phân tích đoạn (Fragment analysis). Sau đó tiến hành phân tích các đỉnh với độ lớn tương ứng. Các mẫu được so sánh với mẫu đối chứng bình thường.

**Bảng 2.3. Các probe MLPA cho phân tích gen *T2***

| Exon | ligated probes (base) | probes | | |
|---|---|---|---|---|
| | | name | length | sequence |
| 1 | 104 | EX1L | 50 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGA50[5020]TTGGGGAGGAGGCCGCTAGTCTACGCCTGTG |
| | | EX1R | 54 | [5051]GAGCCGATACTCAGCCCTCTGCGACCATGGCTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 2 | 108 | EX2L | 52 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGA[15366]TATATTACAGGAAATAAGATATGTGGAACGGAG |
| | | EX2R | 56 | [15400]TTATGTATCAAAACCCACTTTGAAGGTAAGTAATCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 3 | 112 | EX3L | 54 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATCAA[17345]TTTCCTTGCTGCCAGCCACTAAGCTTGGTTC |
| | | EX3R | 58 | [17376]CATTGCAATTCAGGGAGCCATTGAAAAGGCAAAAGTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 4 | 116 | EX4L | 56 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATAGGCC[17717]GCATACATGGGTAATGTTCTACAAGGAGGTG |
| | | EX4R | 60 | [17748]AAGGACAAGCTCCTACAAGGCAGGCAGTATTAGCGAGTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 5 | 120 | EX5L | 58 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATCGGCGTT[18650]GTTTGTGCTTCAGGAATGAAAGCCATCATGA |
| | | EX5R | 62 | [18681]TGGCCTCTCAAAGTCTTATGTGTGGACATCATTCCGGAATCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 6 | 124 | EX6L | 60 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATGTGAATGG[22423]GACAGAGGATCAACACCATATGGTGGGGTAAA |
| | | EX6R | 64 | [22454]GCTTGAAGATTTGATTGTAAAAGACGGGCTACGGATGCTAATCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 7 | 128 | EX7L | 62 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATCAGCGCAACAC[23530]ATCAGGGCAGCTGTGCTGAGAATACAGCAAA |
| | | EX7R | 66 | [23561]GAAGCTGAATATTGCACGAAATGAACAGGACCCTTATCTGGTTTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 8 | 132 | EX8L | 64 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGA[25069]TTTTAGGTCAACCAGATGTAGTGGTGAAAGAAGATGAAGAATATA |
| | | EX8R | 68 | [25112]AACGTGTTGATTTTAGCAAAGTTCCAAAGCTGAAGACAGTTTTCCTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 9 | 136 | EX9L | 66 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATCTGGACCCGTGATGG[25926]TGCCAGTACACTGAATGATGGAGCAGCTGCT |
| | | EX9R | 70 | [25957]CTGGTTCTCATGACGGCAGATGCAGCGAAGACATTCTCTGGTTTTCGTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 10 | 140 | EX10L | 68 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATCATCCGGTGAAGAGATT[27457]TGCTGACGCTGCTGTAGAACCTATTGATTTT |
| | | EX10R | 72 | [27488]CCAATTGCTCCTGTATATGCTGCATCTATGGGAGCCACCTGACAGTGTGTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 11 | 144 | EX11L | 70 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATGTGGGAGGCGAAAATTGG[29777]CCCCCAAAAAGTGAATATCAATGGAGGAGCTG |
| | | EX11R | 74 | [29808]TTTCTCTGGGACATCCAATTGGGTAGGTAAAGAACGTCCGGATGCTGAAGTTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |
| 12 | 148 | EX12L | 72 | GGGTTCCCTAAGGGTTGGATGCCACGACGATGAACAGACGC[30785]GCAAGGAGAATACGGTCTTGCCAGTATTTGC |
| | | EX12R | 76 | [30816]AATGGAGGAGGAGGTGCTTCTGCCATGCTAATGCTGCGTGTGGATGAGGCCATTCTAGATTGGATCTTGCTGGCAC |

## 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

### 2.5.1. Làm sạch số liệu:

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

### 2.5.2. Cách mã hóa:

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

### 2.5.3. Xử lý số liệu:

Các số liệu thu thập được của nghiên cứu được xử lý theo thuật toán thống kê y học trên máy vi tính bằng chương trình phần mềm SPSS 16.0 để tính toán các thông số thực nghiệm: Trung bình, độ lệch chuẩn, đối với các biến số định lượng. Đối với các biến số định tính, được trình bày theo tần

suất, tỷ lệ phần trăm (%). Số liệu được trình bày bằng bảng và biểu đồ minh họa. Test kiểm định sử dụng: Chi-square test ($\chi^2$) (được hiệu chỉnh Fisher's exact test khi thích hợp) để so sánh các tỷ lệ. t-test để so sánh hai trung bình. Paired test để so sánh trung bình trước và sau. ANOVA test để so sánh trên hai trung bình. Các phép kiểm định, so sánh có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

**2.6. Đạo đức trong nghiên cứu:**

- Các xét nghiệm máu, nước tiểu và chẩn đoán hình ảnh là cần thiết để chẩn đoán bệnh và điều trị, an toàn cho bệnh nhân.
- Phác đồ điều trị dựa trên khuyến cáo quốc tế hiện nay nhằm cứu chữa cho bệnh nhân. Nếu không được điều trị bệnh nhân có nguy cơ bị tử vong trong đợt cấp hoặc di chứng nặng nề.
- Bố mẹ bệnh nhân được giải thích về bệnh và đồng ý tham gia nghiên cứu.

# Chương 3
# KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu, chúng tôi có 41 bệnh nhân từ 34 gia đình khác nhau trong hơn 10 năm.

## 3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

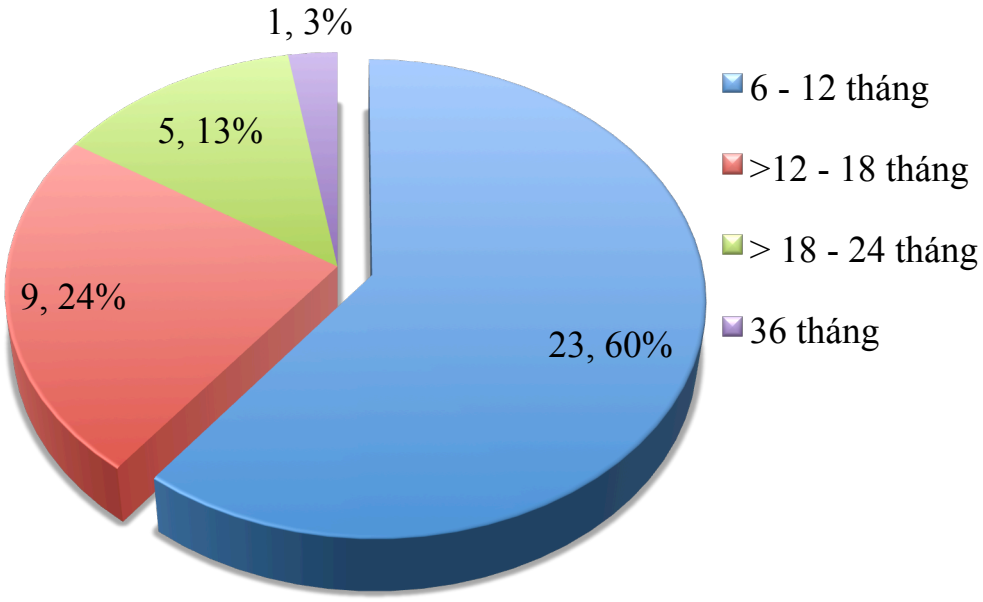
### 3.1 1. Đặc điểm chung

**Bảng 3.1. Đặc điểm về tuổi, giới, huyết thống và tiền sử gia đình**

| **Đặc điểm chung** | |
|---|---|
| Tuổi chẩn đoán<br>(N=41) | 16,3 ± 12,4 tháng<br>(3 ngày – 60 tháng) |
| Tuổi xuất hiện cơn cấp lần đầu<br>(N=39) | 13,8 ± 7,1 tháng<br>(6 – 36 tháng) |
| Giới<br>(N=41) | Nam: 23 (56%)<br>Nữ: 18 (44%) |
| Cha mẹ cùng huyết thống (N=34) | 0 |
| Tiền sử gia đình bất thường*<br>(N=34) | 9 (26%)<br>7 cặp anh chị em ruột trong nghiên cứu |
| Tiền sử phát triển tâm thần vận động bình thường (N=41) | 41 (100%) |

* Tiền sử gia đình có con bị bệnh tương tự hoặc tử vong không rõ nguyên nhân/trong bệnh cảnh tương tự (nôn, khó thở, hôn mê) (Phụ lục 2)

***Nhận xét:*** Tất cả bệnh nhân sinh ra từ các bố mẹ không cùng huyết thống và có tiền sử phát triển bình thường. Tỉ lệ mắc bệnh nam/nữ là 23/18 với tuổi xuất hiện cơn đầu tiên trung bình là 13 tháng tuổi.




***Biểu đồ 3.1. Tần suất xuất hiện cơn cấp lần đầu theo lứa tuổi***

***Nhận xét***: Lứa tuổi xuất hiện cơn cấp lần đầu chủ yếu là trước 24 tháng tuổi (97,5%), trong đó lứa tuổi 6 – 12 tháng tuổi chiếm 60%.

### 3.1.2. Đặc điểm về địa dư và dân tộc

**Bảng 3.2. Phân bố địa dư của bệnh nhân**

| TT | Tỉnh | Số bệnh nhân | % |
|---|---|---|---|
| 1 | **Hà Nội** | 9 | 22 |
| 2 | **Hải Dương** | 4 | 9,8 |
| 3 | **Bắc Ninh** | 4 | 9,8 |
| 4 | Thanh Hóa | 3 | 7,3 |
| 5 | Hà Nam | 3 | 7,3 |
| 6 | Tp Hồ Chí Minh | 3 | 7,3 |
| 7 | Hưng Yên | 2 | 4,9 |
| 8 | Hải Phòng | 2 | 4,9 |
| 9 | Nghệ An | 2 | 4,9 |
| 10 | Đà Nẵng | 2 | 4,9 |
| 11 | Quảng Bình | 2 | 4,9 |
| 12 | Vĩnh Phúc | 1 | 2,4 |
| 13 | Phú Thọ | 1 | 2,4 |
| 14 | Quảng Ninh | 1 | 2,4 |
| 15 | Nam Định | 1 | 2,4 |
| 16 | Lào Cai | 1 | 2,4 |
| | Tổng số | 41 | 100 |

***Nhận xét***: Hầu hết bệnh nhân tập trung ở khu vực Miền Bắc và Bắc Trung Bộ, đặc biệt là gần Hà Nội (70%), chỉ có 3 bệnh nhân khu vực Miền Nam, 2 bệnh nhân ở khu vực Đà Nẵng. Tất cả 41 bệnh nhân mắc bệnh đều là dân tộc Kinh.

**Bảng 3.3. Phân bố nhóm bệnh RLCHBS qua chương trình sàng lọc nguy cơ cao 2005 - 2016**

| TT | **Nhóm bệnh RLCHBS** | **N** | **%** |
|---|---|---|---|
| **RLCHBS acid hữu cơ** | | **142** | **50,0** |
| 1. | **Bệnh thiếu enzym BKT** | **41** | **14,4** |
| 2. | Propionic academia (PA) | 24 | 8,5 |
| 3. | 5-oxoprolinuria | 21 | 7,4 |
| 4. | Glutaric aciduria type II (GA II) | 16 | 5,6 |
| 5. | Methymalonic academia (MMA) | 15 | 5,3 |
| 6. | Tăng lactic máu bẩm sinh | 5 | 1,8 |
| 7. | Glutaric aciduria type I (GA I) | 5 | 1,8 |
| 8. | Isovaleric academia | 5 | 1,8 |
| 9. | 3-methylglutaconic aciduria | 4 | 1,4 |
| 10. | Thiếu Multiple carboxylase (MCD) | 2 | 0,7 |
| 11. | Thiếu 3-methylcrotonylCoA carboxylase | 2 | 0,7 |
| 12. | 3-hydroxyl isobutyric aciduria | 2 | 0,7 |
| **RLCHBS chu trình ure** | | **42** | **14,8** |
| 13. | OTC | 16 | 5,6 |
| 14. | Citrullinemia type 2 | 14 | 4,9 |
| 15. | Citrullinemia type 1 | 9 | 3,2 |
| 16. | Khác | 2 | 0,7 |
| 17. | Argininosuccinic aciduria | 1 | 0,4 |
| **RLCHBS acid amin** | | **53** | **18,7** |
| 18. | **Maple syrup urine disease (MSUD)** | **45** | 15,8 |
| 19. | Phenylketonuria (PKU) | 7 | 2,5 |
| 20. | Tyrosinemia type 1 | 1 | 0,4 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **RLCHBS acid béo** | | **47** | **16,5** |
| 21. | Thiếu Carnitine tiên phát | 17 | 6,0 |
| 22. | Thiếu Very long chain acyl CoA dehydrogenase (VLCAD) | 10 | 3,5 |
| 23. | Carnitinepalmitoyl tranferase 2 (CPT 2) | 10 | 3,5 |
| 24. | Thiếu Short chain acyl CoA dehydrogenase (SCAD) | 4 | 1,4 |
| 25. | Thiếu Median chain acyl CoA dehydrogenase (MCAD) | 3 | 1,0 |
| 26. | Thiếu Long chain acyl CoA dehydrogenase (LCAD) | 2 | 0,7 |
| 27. | Carnitinepalmitoyl transferase 1 (CPT 1) | 1 | 0,4 |
| | Tổng số | **284** | **100** |

***Nhận xét:*** Qua sàng lọc 2886 đối tượng có nguy cơ cao RLCHBS tại Bệnh viện Nhi Trung ương, chúng tôi phát hiện 284 bệnh nhân gồm 27 loại bệnh RLCHBS khác nhau. Bệnh thiếu enzym BKT hay gặp nhất trong nhóm RLCHBS acid hữu cơ chiếm 14,4%.

### 3.1.3. Đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù

**Bảng 3.4. Thời điểm được chẩn đoán bệnh**

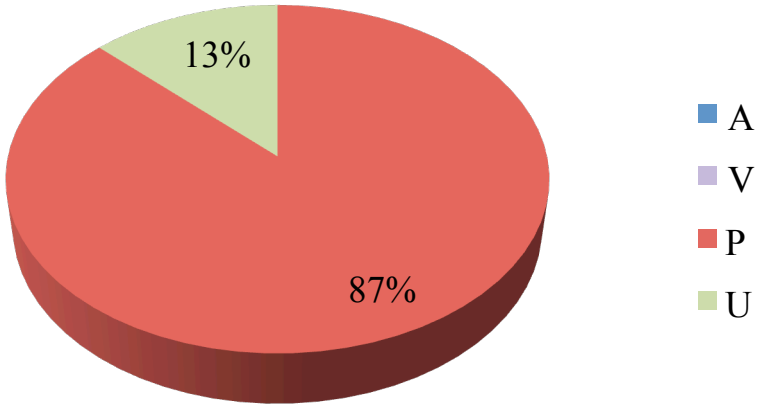
| Thời điểm được chẩn đoán | N | % |
|---|---|---|
| Trong cơn cấp lần đầu | 32 | 78,1 |
| Trong cơn cấp tái phát | 6 | 14,6 |
| Khi chưa có triệu chứng | 3 | 7,3 |

***Nhận xét:*** 38 bệnh nhân được chẩn đoán khi đã có triệu chứng. 3 bệnh nhân được chẩn đoán chi chưa có triệu chứng qua sàng lọc 21 anh/chị/em ruột của bệnh nhân bằng kỹ thuật GC/MS.

**Bảng 3.5. Triệu chứng lâm sàng của cơn cấp lần đầu**

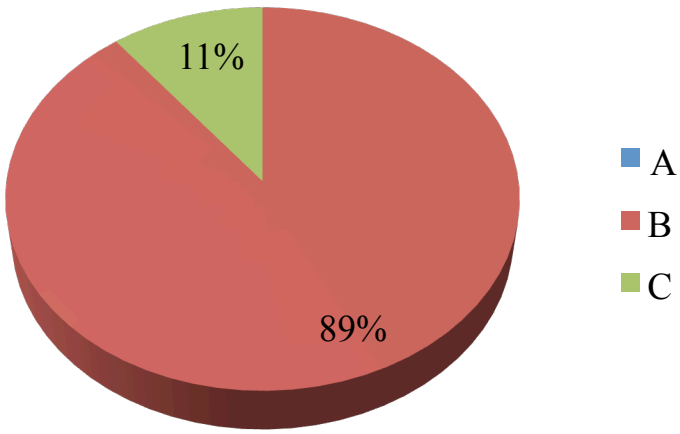
| Triệu chứng lâm sàng | N | % |
|---|---|---|
| Thở nhanh | 39/39 | 100 |
| Li bì/Hôn mê | 39/39 | 100 |
| Mất nước | 38/39 | 97,4 |
| Sốt | 36/39 | 92,3 |
| Nôn | 35/39 | 89,7 |
| Ỉa chảy | 20/39 | 51,3 |
| Ho/Sổ mũi | 15/39 | 38,5 |
| Co giật | 6/39 | 15,4 |
| Shock | 6/39 | 15,4 |
| Viêm phổi | 5/39 | 12,8 |

***Nhận xét***: 39/41 bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng của cơn cấp. Hầu hết các bệnh nhân có dấu hiệu nhiễm trùng đường hô hấp (38,5%) hoặc đường tiêu hoá (51,3%), sau đấy xuất hiện các biểu hiện khó thở và rối loạn ý thức (100%).




***Biểu đồ 3.2. Mức độ hôn mê theo thang đánh giá AVPU***

***Nhận xét***: 87% bệnh nhân có mức độ hôn mê đáp ứng với đau, 13% còn lại là hôn mê sâu không đáp ứng.




***Biểu đồ 3.3. Mức độ mất nước***

***Nhận xét***: 89% bệnh nhân có mức độ mất nước B, 11% mất nước ở mức độ C mà có nguy cơ shock.

**Bảng 3.6. Biểu hiện xét nghiệm chuyển hóa thường quy trong cơn cấp**

| **Biểu hiện xét nghiệm** | **N** | **%** |
|---|---|---|
| Toan chuyển hóa | 39/39 | 100 |
| Xeton niệu | 36/36 | 100 |
| Tăng glucose máu | 11/39 | 28,2 |
| Hạ glucose máu | 3/39 | 7,7 |
| Tăng amoniac máu | 7/31 | 22,5 |
| Tăng bạch cầu | 30/31 | 96,7 |
| Rối loạn điện giải đồ hạ kali máu | 4/35 | 11,5 |
| Tổn thương phổi trên phim XQ | 5/37 | 13,5 |
| Tổn thương não trên phim CT Scanner/MRI | 4/28 | 14,2 |

***Nhận xét:*** Tất cả bệnh nhân có tình trạng nhiễm toan xeton, 28,2% có tăng đường huyết, 96,7% bệnh nhân có tăng bạch cầu.

**Bảng 3.7. Tình trạng nhiễm toan chuyển hóa**

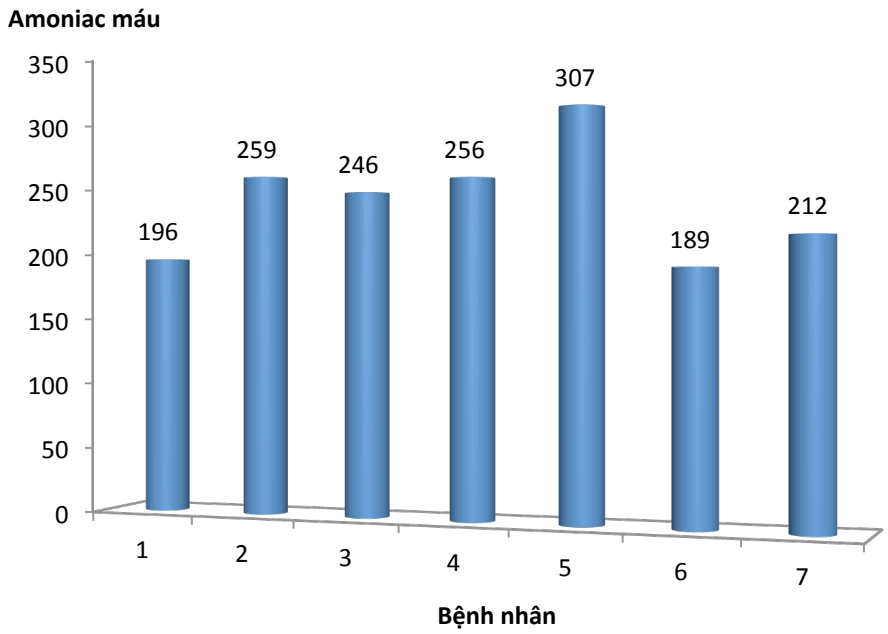
| **Tình trạng nhiễm toan** | **N** | **Giá trị trung bình (Min – Max)** |
|---|---|---|
| pH | 39 | 7,07 ± 0,11 (6,84 – 7,26) |
| $HCO3^-$ (mmol/l) | 39 | 3,3 ± 1,9 (0 – 10,7) |
| BE (mmol/l) | 39 | - 25,1 ± 3,8 (- 30 – - 17) |
| Khoảng trống anion | 39 | 26,7 ± 1,9 (20 – 30) |

***Nhận xét:*** Tình trạng nhiễm toan nặng với pH trung bình là 7,07. Đặc điểm của nhiễm toan là tăng khoảng trống anion.

**Bảng 3.8. Tình trạng đường máu**

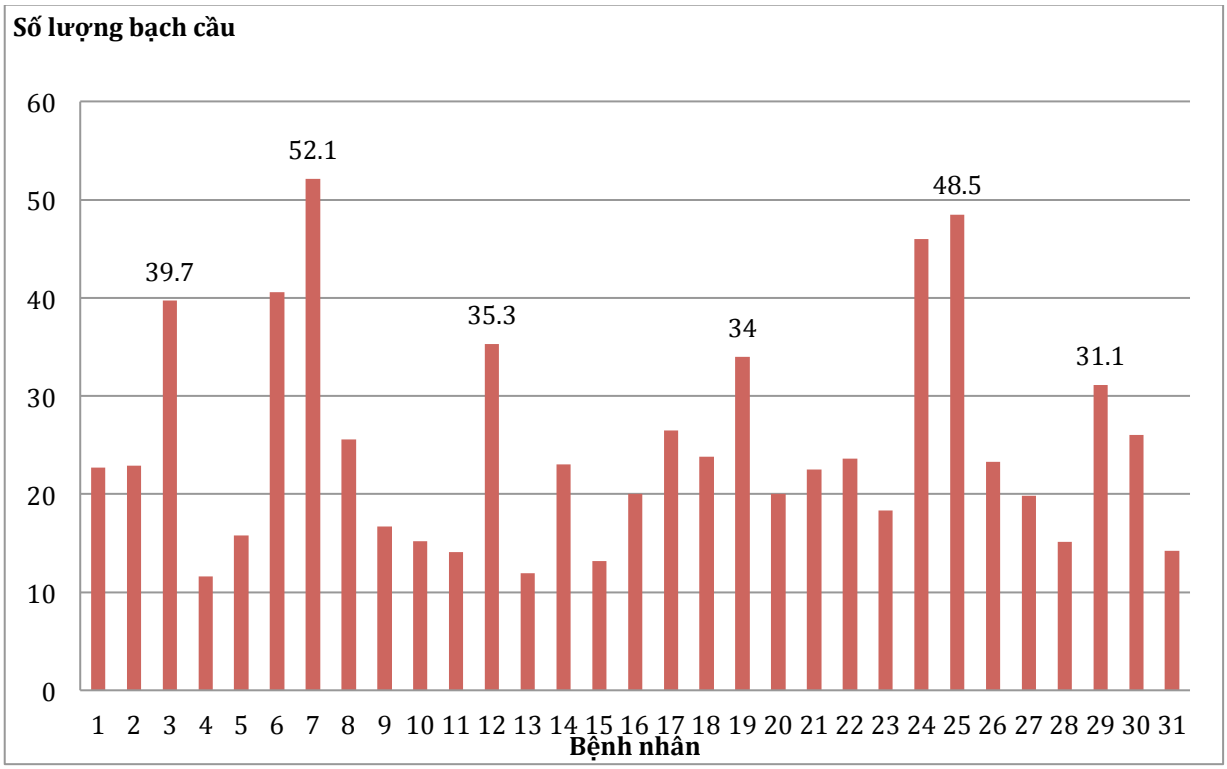
| Đường máu (mmol/l) | N | Giá trị trung bình |
|---|---|---|
| Đường máu hạ <2,7 | 3 | 2,1 ± 0,4<br>1,7 – 2,6 |
| Đường máu tăng ≥ 11,1 | 11 | 17,8 ± 3,5<br>13,5 – 23,3 |
| Đường máu 2,8 – 11 | 25 | 6,1 ± 1,9<br>3,9 – 10,3 |

***Nhận xét:*** Mức độ tăng đường máu trung bình là 17,8 và hạ đường máu trung bình là 2,1 mmol/l.




***Biểu đồ 3.4. Mức độ tăng amoniac máu (µg/dl)***

***Nhận xét:*** Mức độ tăng amoniac máu nhẹ với mức tăng cao nhất là 300 Mg/dl. Là mức độ tăng chưa có chỉ định thuốc hạ amoniac máu.

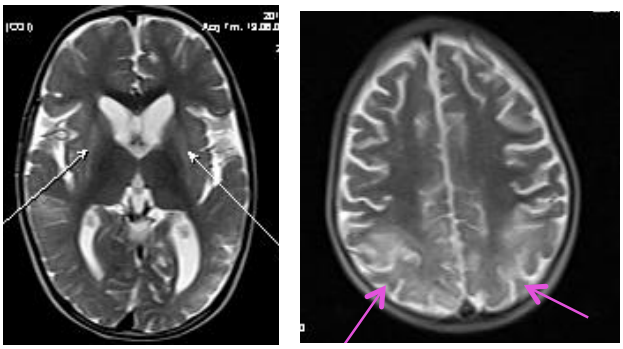



***Biểu đồ 3.5. Mức độ tăng bạch cầu (G/l)***

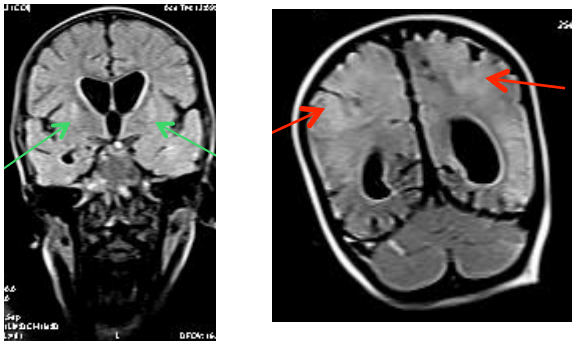
***Nhận xét:*** Mức độ tăng bạch cầu của 31 bệnh nhân cao nhiều từ 11 – 52 G/l, trong đó có 21 bệnh nhân (68%) bệnh nhân có bạch cầu ≥ 20 G/l và 5 bệnh nhân (16%) có bạch cầu ≥ 40 G/l.

T1W

T2W



FLAIR



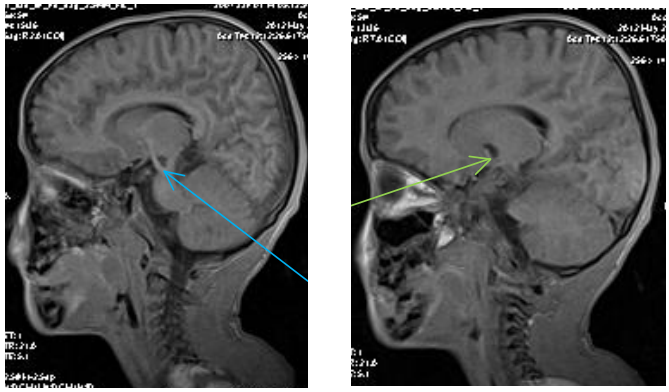
**Hình 3.1. Hình ảnh tổn thương não của bệnh nhân 19.**

***Nhận xét:*** Tổn thương đối xứng của nhân đuôi và nhân bèo: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên trắng), tăng tín hiệu trên FLAIR (mũi tên xanh lá cây). Tổn thương vỏ não đối xứng vùng đỉnh chẩm: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên hồng) và FLAIR (mũi tên đỏ), giảm tín hiệu trên TW1 (mũi tên cam). Teo não và giãn hệ thống não thất: T2W, T1W, FLAIR.

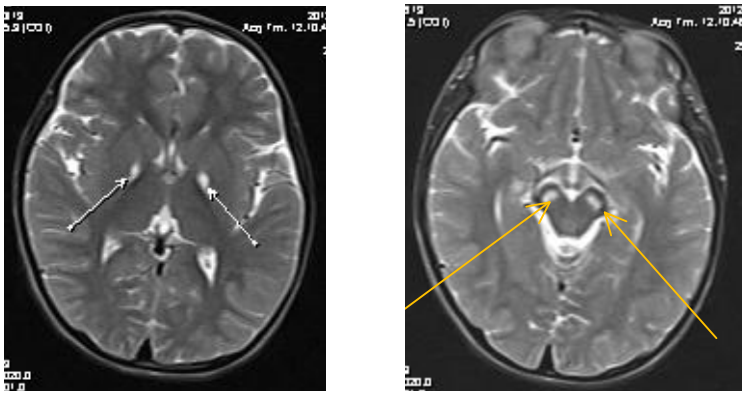
**Hình 3.2. Ảnh bệnh nhân 19**

***Nhận xét:*** Trên lâm sàng, bệnh nhân có di chứng thần kinh sau cơn cấp lần đầu phù hợp với tổn thương trên phim MRI sọ não như chậm tâm thần – vận động, tăng trương lực cơ và các cơn xoắn vặn.

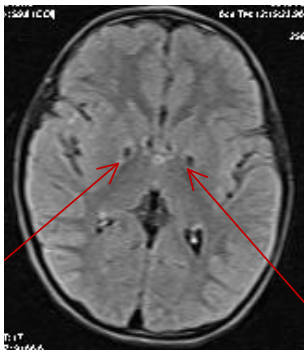
T1W



T2W



FLAIR



**Hình 3.3. Hình ảnh MRI não của bệnh nhân 21.**

***Nhận xét:*** Tổn thương đối xứng nhân bèo nhạt: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên trắng), giảm tín hiệu trên FLAIR (mũi tên đỏ), giảm tín hiệu trên TW1 (mũi tên xanh dương). Tổn thương liềm đen cuống não: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên cam), giảm tín hiệu trên T1W (mũi tên xanh lá cây).

**Hình 3.4. Ảnh bệnh nhân 21**

***Nhận xét:*** Bệnh nhân có tổn thương thần kinh trên lâm sàng tương xứng với tổn thương trên phim MRI sọ não. Bệnh nhân tăng trương lực cơ, co gấp tay chân, không thể duỗi thẳng, chậm phát triển tâm thần nhẹ.

### 3.1.4. Đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu

**Bảng 3.9. Kết quả xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu và định lượng acylcarnitine máu**

| Kết quả xét nghiệm | | Bệnh phẩm là giấy thấm máu (N=39) và nước tiểu (N=33) | Bệnh phẩm là nước tiểu tươi (N=8) |
|---|---|---|---|
| GC/MS | Tăng 2MAA | Không đo được | 7/8 |
| | Tăng 2M3HB | 33/33 (100%) | 7/8 |
| | Tăng TIG | 33/33 (100%) | 7/8 |
| Tandem Mass | Tăng C5:1 | 38/39 (97,4%) | |
| | Tăng C5:OH | 38/39 (97,4%) | |

***Nhận xét**:* 97,5% bệnh nhân tăng 2M3HB, TIG niệu và tăng C5:1, C5:OH máu. 7/8 bệnh nhân tăng 2MAA trong mẫu nước tiểu tươi. Bệnh nhân số 38 không có bất thường về acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu.

**Bảng 3.10. Mức độ tăng 2MMA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu**

| Kết quả xét nghiệm | | Mức độ tăng | Giá trị bình thường |
|---|---|---|---|
| 2MAA (mol /mol Creatinine) N = 7 | Cơn cấp N = 6 | 392,67 ± 347,51 (6 – 1091) | Không có trong nước tiểu |
| | Ổn định N = 1 | 1 | |
| 2M3HB (mol /mol Creatinine) N = 40 | Cơn cấp N = 34 | 550,78 ± 320,55 (156 – 1738) | Không có trong nước tiểu |
| | Ổn định N = 6 | 284,16 ± 147,39 (55 – 508) | |
| Test kiểm định Anova | | P < 0,05 | |
| TIG (mol /mol Creatinine) N = 40 | Cơn cấp N = 34 | 231,39 ± 130,98 (40 – 580) | Không có trong nước tiểu |
| | Ổn định N = 6 | 183,18 ±142,91 (9 – 405) | |
| Test kiểm định Anova | | P < 0,05 | |

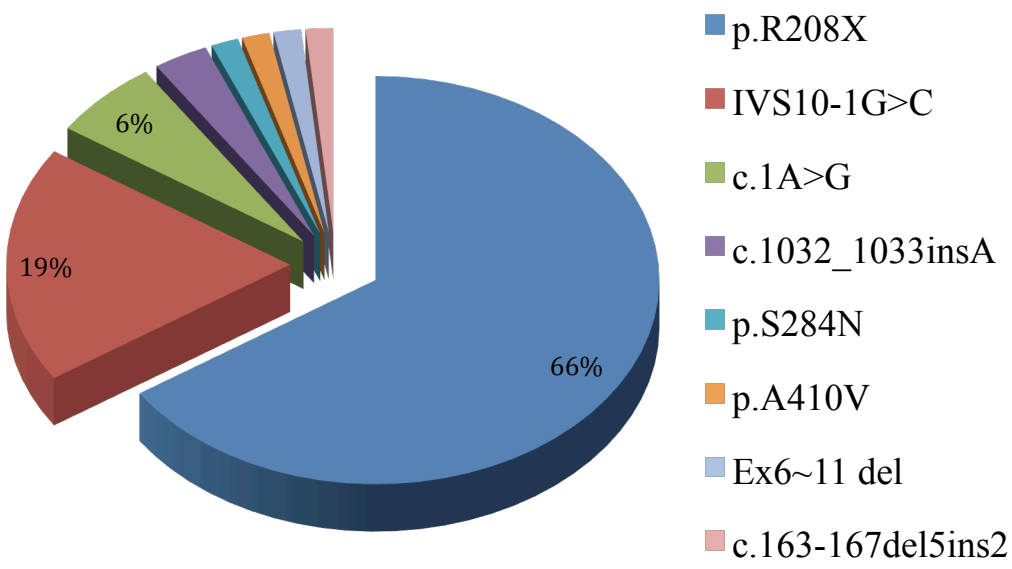
***Nhận xét:*** Mức độ tăng của chất 2M3HB là cao nhất (550,78 mol /mol Creatinine), tiếp theo là 2MAA (392,67 mol /mol Creatinine) và cuối cùng là TIG (231,39 mol /mol Creatinine). Mức độ tăng của 2MAA, 2M3HB, TIG trong giai đoạn cấp cao hơn hẳn trong giai đoạn ổn định. Bệnh nhân số 37 có mức tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu thấp nhất.

**Bảng 3.11. Mức độ tăng C5:1, C5:OH trong máu**

| **Kết quả xét nghiệm** | | **Mức độ tăng** | **Giá trị bình thường** |
|---|---|---|---|
| C5:1 (µmol/l) N = 38 | Cơn cấp N = 32 | 0,59 (0,08 - 15,56) | 0 – 0,04 |
| | Ổn định N = 6 | 0,93 (0,05 - 1,36) | |
| Test kiểm định T student | | p > 0,05 | |
| C5:OH (µmol/l) N = 38 | Cơn cấp N = 32 | 1,45 (0,8 – 13,8) | 0 – 0,48 |
| | Ổn định N = 6 | 1,2 (0,53 – 2,53) | |
| Test kiểm định T student | | p > 0,05 | |

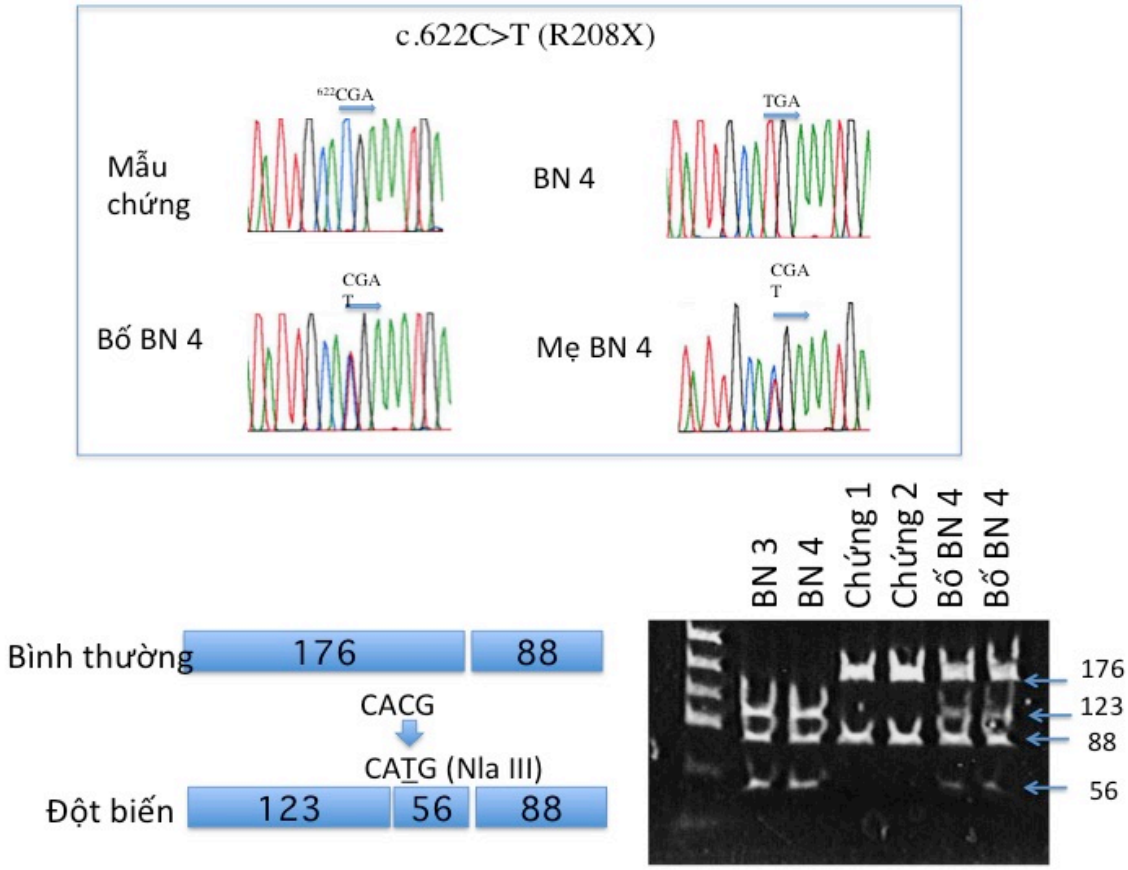
***Nhận xét:*** Mức độ tăng C5:OH và C5:1 trong giai đoạn cấp và giai đoạn ổn định không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p = 0,05. Bệnh nhân 37 có mức tăng C5:1, C5:OH thấp nhất.

### 3.2. Kết quả phân tích phân tử




***Biểu đồ 3.6. Tỉ lệ các đột biến gen T2 gây bệnh.***

***Nhận xét:*** 32 bệnh nhân từ 27 gia đình khác nhau được phân tích phân tử và 100% có đột biến gen gây bệnh. (Phụ lục 3). Phát hiện được 8 loại đột biến alen gây bệnh. Đột biến p.R208X phổ biến nhất chiếm 66%, tiếp theo là IVS10-1g>c với tỉ lệ 19%. Sàng lọc 8 anh chị em ruột của 3 gia đình bệnh nhân 2, 4, 5, 15 phát hiện 2 chị ruột của bệnh nhân số 2 và anh trai bệnh nhân số 15 là người mang gen bệnh p.R208X và p.A410V. 27 cặp bố mẹ đều là người mang gen bệnh (Phụ lục 3).




**Hình 3.5. Hình ảnh đột biến p.R208X của bệnh nhân số 3 và 4**

Hình trên là hình ảnh giải trình tự gen trực tiếp của exon 7. Bệnh nhân số 4 có đột biến đồng hợp tử c.622C>T (p.R208X) và bố mẹ là người mang đột biến. Hai hình dưới là hình ảnh phương pháp enzym giới hạn bởi Nla III để phát hiện p.R208X. PCR các đoạn được xử lý với Nla III và điện di trên polyacrylamide gel 5%. Các mẫu từ bệnh nhân số 3, bệnh nhân số 4 là đột biến đồng hợp tử và bố mẹ của bệnh nhân 4 là dị hợp tử [80].

**Bảng 3.12. Kiểu gen của bệnh nhân**

| TT | Kiểu gen của bệnh nhân | N | % |
|---|---|---|---|
| 1. | **p.R208X/p.R208 X** | **16** | **50,0** |
| 2. | **p.R208X/IVS10 -1g>c** | **5** | **15,6** |
| 3. | IVS10 -1g>c /IVS10 -1g>c | 3 | 9,4 |
| 4. | p.R208X/c.1032-1033 insA | 2 | 6,3 |
| 5. | c.1A>G/c.1A>G | 2 | 6,3 |
| 6. | p.R208X/p.A410V | 1 | 3,1 |
| 7. | p.R208X/p.S284N | 1 | 3,1 |
| 8. | IVS10 -1g>c/exon6-10 del | 1 | 3,1 |
| 9. | c.163-167del5ins2/p.R208X | 1 | 3,1 |
| 10. | Tổng số | 32 | 100 |

***Nhận xét:*** Các bệnh nhân có 9 kiểu đột biến gen khác nhau. Tỉ lệ bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp tử p.R208X cao nhất (50%), tiếp theo dị hợp tử kép p.R208X/IVS10-1g>c (15%), đồng hợp tử IVS10-1g>c (9,4%).

## Bảng 3.13. Mối liên quan kiểu gen kiểu hình

| Kiểu gen | Cơn cấp | | Tuổi xuất hiện (tháng) | Tổn thương não | | Co giật | | Tăng Amoniac máu | | Cơn tái phát | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Có | Không | | Có | Không | Có | Không | Có | Không | Có | Không |
| *p.R208X/ p.R208 X* | 16 | 0 | 11 ± 4 | 2 | 14 | 3 | 15 | 1 | 15 | 7 | 9 |
| *p.R208X/ IVS10 -1g>c* | 5 | 0 | 16 ± 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 1 | 4 | 3 | 2 |
| *IVS10 -1g>c /IVS10 -1g>c* | 3 | 0 | 15 ± 6 | 0 | 3 | 1 | 2 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| *c.1A>G/ c.1A>G* | 2 | 0 | 14 ± 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| *p.R208X/ p.A410V* | 1 | 0 | 7 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *p.R208X/ p.S284N* | 1 | 0 | 20 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *p.R208X/ c.1032-1033 insA* | 1 | 1 | 16 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| *IVS10-1g>c /exon6-10 del* | 1 | 0 | 9 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *c.163-167del5ins2 /p.R208X* | 1 | 0 | 34 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |

***Nhận xét:*** Nhận thấy kiểu gen không liên quan đến việc xuất hiện các đợt cấp, tuổi xuất hiện cũng như tổn thương não và tăng amoniac máu.

**Bảng 3.14. Kiểu gen và kiểu hình của 5 cặp anh chị em ruột**

| Kiểu gen | Cơn cấp | Tuổi xuất hiện (tháng) | Tổn thương não | Co giật | Amoniac máu | Cơn tái phát |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *p.R208X/ p.R208X* | | | | | | |
| Bệnh nhân 8 | Có | 12 | Không | Không | Không | Có 1 cơn lúc 36 tháng |
| Bệnh nhân 20 | Có | 6 | Không | Không | Không | Không |
| *p.R208X/ p.R208X* | | | | | | |
| Bệnh nhân 17 | Có | 17 | Không | Không | Không | Có 1 cơn 22 tháng |
| Bệnh nhân 33 | Có | 33 | Không | Không | Không | Không |
| *p.R208X/ p.R208X* | | | | | | |
| Bệnh nhân 19 | Có | 14 | Có | Có | Không | Không |
| Bệnh nhân 21 | Có | 10 | Có | Có | Không | Không |
| *p.R208X/ c.1032-1033 insA* | | | | | | |
| Bệnh nhân 24 | Có | 16 | Không | Không | Không | Không |
| Bệnh nhân 27 | Không có cơn cấp đến 3 tuổi | | | | | |
| *c.1A>G/c.1A>G* | | | | | | |
| Bệnh nhân 37 | Có | 18 | Không | Không | Không | Không |
| Bệnh nhân 38 | Có | 10 | Không | Không | Không | Có 1 cơn lúc 18 tháng |

***Nhận xét:*** Trong 7 cặp anh chị em bị mắc bệnh có 5 cặp anh chị em được phân tích gen. Tuy cùng kiểu gen và là anh chị em ruột nhưng kiểu hình khác nhau ở 1 cặp bệnh nhân 24 & 27.

### 3.3. Phương pháp và kết quả điều trị

#### 3.3.1. Các phương pháp điều trị trong cơn cấp và điều trị lâu dài

**Bảng 3.15. Phương pháp điều trị**

| **Phương pháp điều trị trong cơn cấp (N=39)** | **N** | **%** |
|---|---|---|
| • Truyền Glucose | 39 | 100 |
| • Kháng sinh | 38 | 97,4 |
| • Bù toan bằng Bicarbonat | 37 | 94,9 |
| • L. Carnitine | 33 | 84,6 |
| • Thở máy | 16 | 41,0 |
| • Insulin | 5 | 12,8 |
| • Thuốc vận mạch | 5 | 12,8 |
| • Lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục | 4 | 10,3 |
| • Điều trị rối loạn điện giải đồ | 4 | 10,3 |
| **Phương pháp điều trị lâu dài (N=37)** | N | % |
| • Chế độ ăn | 37 | 100 |
| • L. Carnitine | 37 | 100 |

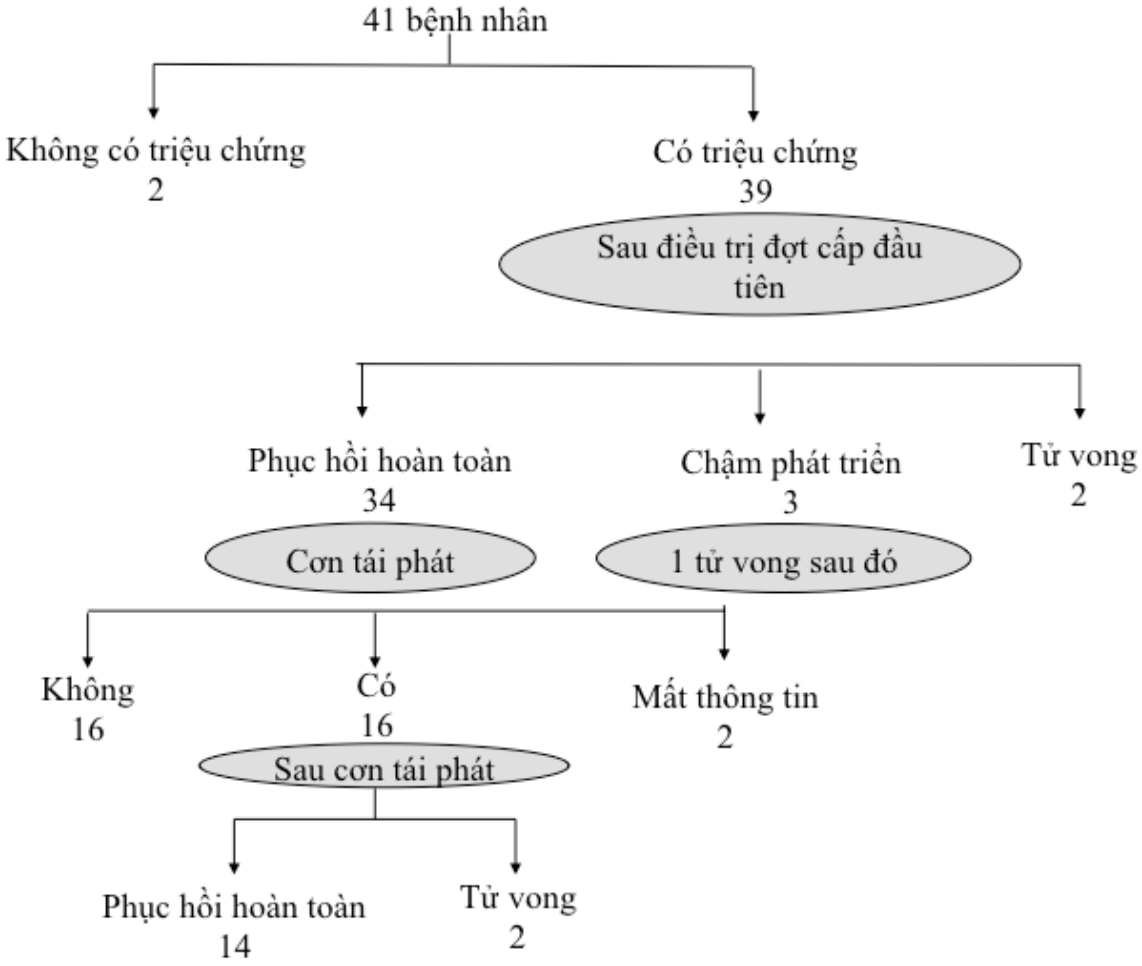
***Nhận xét:*** 100% bệnh nhân được truyền Glucose và 94,9% bệnh nhân được bù toan bằng Nabicarbonat, 41% bệnh nhân phải thở máy trong cơn cấp. 100% bệnh nhân thực hiện chế độ ăn và dùng L. Carnitine trong điều trị lâu dài.

**Bảng 3.16. Diễn biến điều trị của cơn cấp**

| Diễn biến của cơn cấp | N | Thời gian |
|---|---|---|
| Thời gian nhiễm toan chuyển hóa | 39 | 1,6 ± 0,6 ngày<br>0,5 – 4 ngày |
| Thời gian thở máy | 16 | 2,4 ± 0,5 ngày<br>2 – 3 ngày |
| Thời gian lọc máu | 4 | 2,3 ± 1 ngày<br>1 – 3 ngày |
| Thời gian dùng thuốc vận mạch | 5 | 1,6 ± 0,5 ngày<br>1 – 2 ngày |
| Nhiễm toan cải thiện sau 3 – 6 tiếng | 35/39 (90%) | |

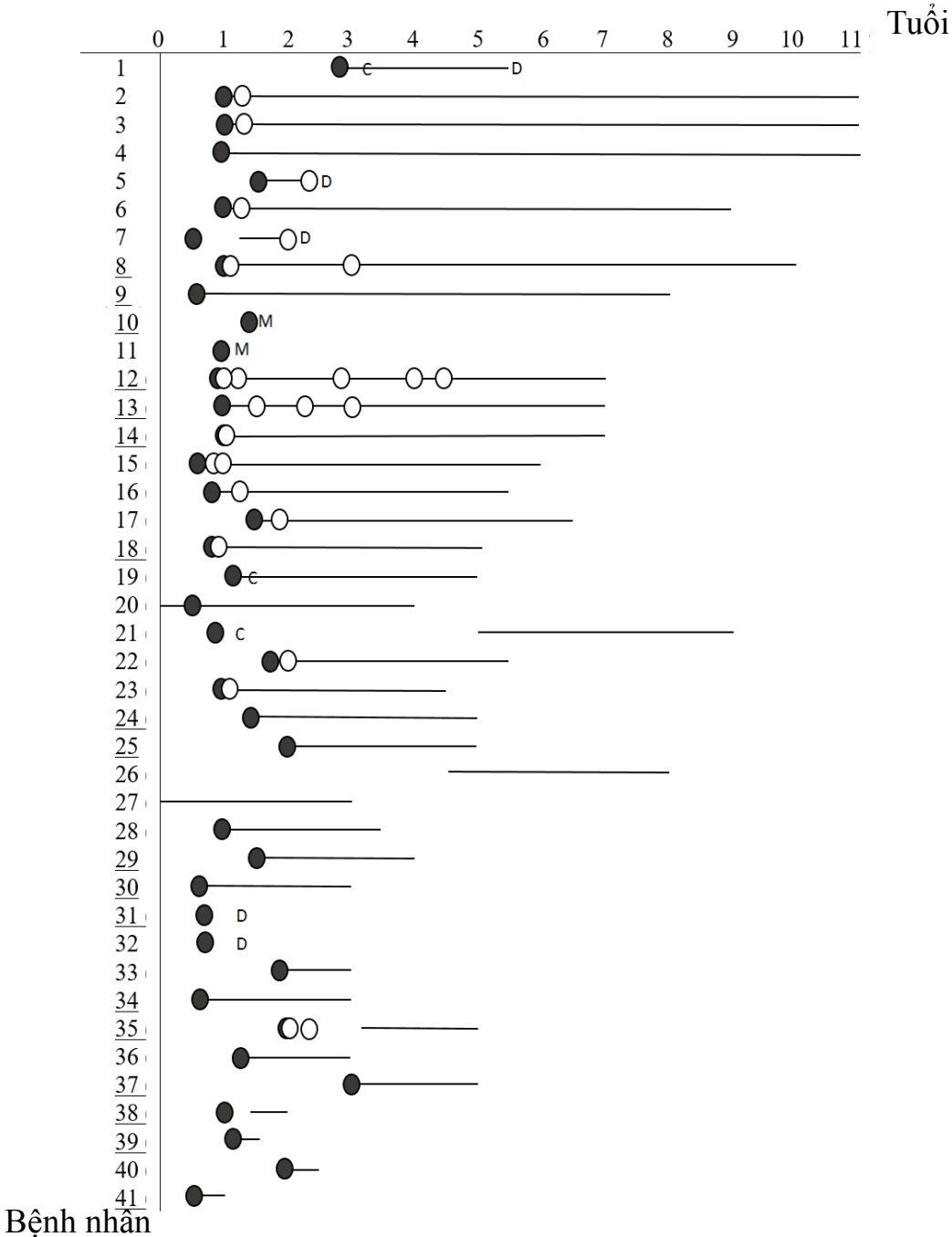
***Nhận xét:*** Trong quá trình điều trị, 4 bệnh nhân không cải thiện tình trạng nhiễm toan sau 3- 6 tiếng và đã được tiến hành lọc máu. Thời gian lọc máu của bệnh nhân từ 1 – 3 ngày.

### 3.3.2. Kết quả điều trị




**Hình 3.6. Sơ đồ kết quả điều trị**

***Nhận xét:*** Hai bệnh nhân chưa có cơn cấp đến 3 và 8 tuổi. 34 bệnh nhân phục hồi hoàn toàn sau cơn cấp lần đầu chiếm 83%. 5 bệnh nhân tử vong chiếm 12,2 %. 3 bệnh nhân di chứng chậm phát triển tâm thần vận động chiếm 7,3%.




**Hình 3.7. Diễn biến bệnh của 41 bệnh nhân**

***Nhận xét:*** hình tròn đen: cơn cấp lần đầu, hình tròn trắng là cơn cấp tái phát, M: mất thông tin, D: tử vong, C: biến chứng chậm phát triển tâm thần vận động, dòng kẻ đen: thời gian theo dõi. Thời gian theo dõi điều trị trung

bình là 4,1 ± 2,7 năm (0,5 – 10 năm). Tuổi bệnh nhân hiện tại trung bình là 5,6 ± 2,7 (1 – 11 tuổi).

**Bảng 3.17. Tần suất và tuổi tái phát của bệnh nhân**

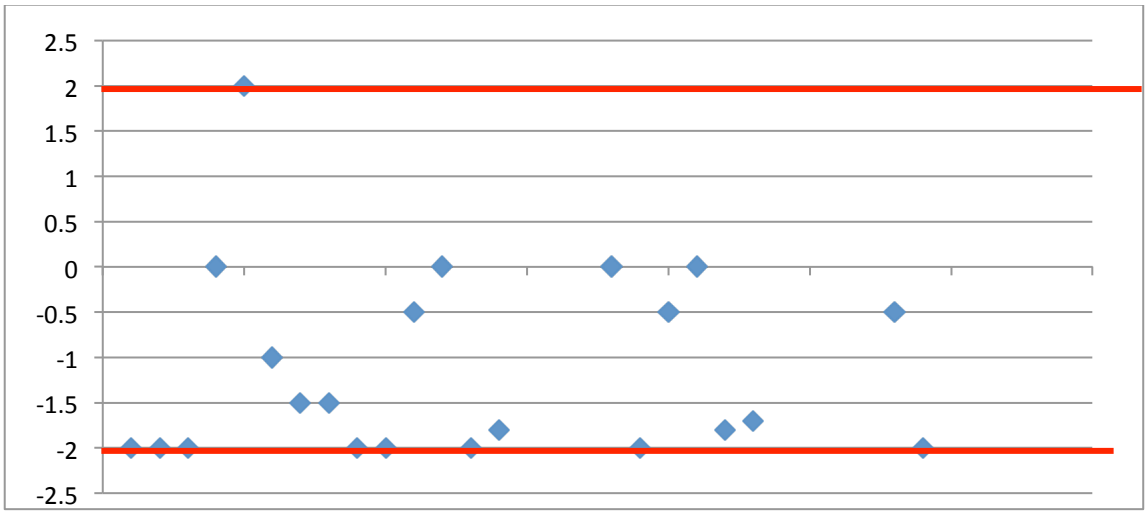
| **Số lần tái phát** | **N** | **%** | **Tuổi tái phát** |
|---|---|---|---|
| 1 cơn | 11 | 68,8 | 9 – 53 tháng<br>22 ± 11,8 tháng |
| 2 cơn | 3 | 18,7 | |
| .> 3 cơn | 2 | 12,5 | |

***Nhận xét:*** 16 bệnh nhân có cơn cấp tái phát ở độ tuổi từ 9 – 53 tháng với tuổi trung bình là 22 tháng. Chỉ có 2 bệnh nhân tái phát trên 3 cơn.

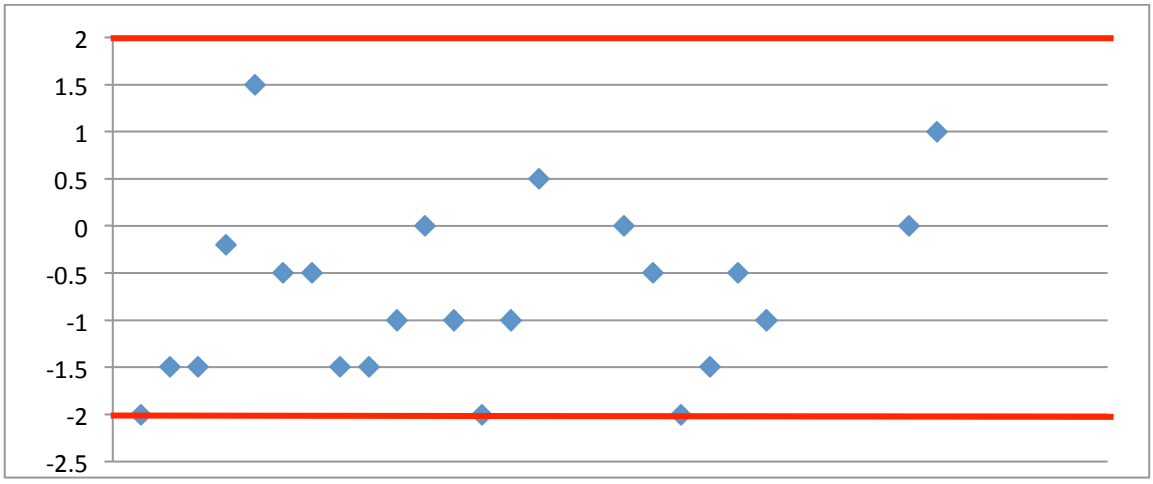
**Bảng 3.18. Phát triển chiều cao, cân nặng theo biểu đồ tăng trưởng của WHO 2007**

| Phát triển chiều cao, cân nặng | | N | % |
|---|---|---|---|
| Chiều cao | < - 2SD | 0 | 0 |
| | - 2SD – 0SD | 31 | 91,2 |
| | > 0SD – 2SD | 3 | 9,8 |
| Cân nặng | > 2SD | 0 | 0 |
| | - 2SD – 0SD | 28 | 82,4 |
| | > 0 - 2SD | 6 | 17,6 |

***Nhận xét***: Tất cả bệnh nhân đều phát triển chiều cao, cân nặng trong khoảng từ -2SD đến 2SD theo biểu đồ tăng trưởng của WHO 2007. Tuy nhiên đến 91,2% bệnh nhân có chiều cao ở khoảng từ -2SD đến 0SD.




***Biểu đồ 3.7. Biểu đồ chiều cao của bệnh nhân theo Z-score của WHO 2007***




***Biểu đồ 3.8. Biểu đồ cân nặng của bệnh nhân theo Z-score của WHO 2007***

**Bảng 3.19. Phát triển tinh thần vận động theo test Denver II**

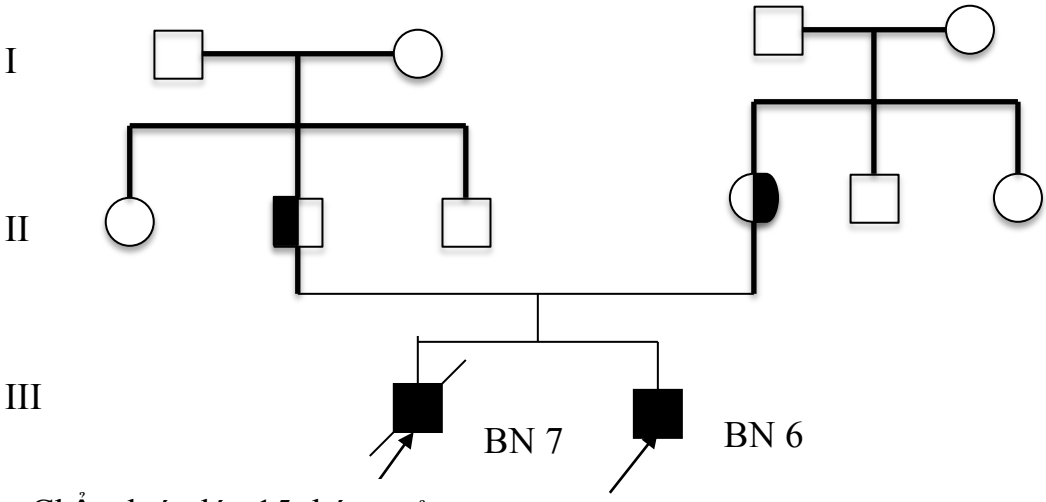
| Test Denver | N | % |
|---|---|---|
| DQ/IQ ≥ 80 | 32 | 91,4 |
| DQ/IQ 61 – 79 | 0 | 0 |
| DQ/IQ≤ 60 | 3 | 8,6 |

***Nhận xét:*** Chỉ có 3 bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động với DQ < 60 (55, 50, 50).

**Bảng 3.20. Yếu tố tiên lượng nặng**

| Yếu tố tiên lượng | Test X bình phương | | P |
|---|---|---|---|
| | Giá trị | Df | |
| Giới | 3,486 | 1 | 0,062 |
| Co giật | 11,482 | 1 | **0,001** |
| Shock | 8,048 | 1 | **0,008** |
| Thở máy | 7,042 | 1 | **0,013** |
| Cơn cấp tái phát | 1,005 | 4 | 0,909 |
| | Test T student | | P |
| | T | Df | |
| Tuổi xuất hiện | -0,083 | 37 | 0,934 |
| Thời gian cơn cấp trước nhập viện | -0,454 | 37 | 0,653 |
| pH | 0,297 | 35 | 0,768 |
| $HCO_3$ | -1,757 | 35 | 0,088 |
| Glucose máu | 0,435 | 35 | 0,666 |
| Amoniac máu | -2,216 | 29 | **0,035** |

***Nhận xét:*** Co giật, shock, thở máy và tăng amoniac máu là các yếu tố có liên quan tới kết quả điều trị với p là 0,001; 0,008; 0,013; 0,035 tương ứng.




Chẩn đoán lúc 15 tháng, tử vong lúc 27 tháng trong cơn cấp tái phát

11 tháng

Gia đình cặp bệnh nhân 6,7

Bệnh nhân lúc nhập viện lần đầu 11 tháng tuổi

Bệnh nhân sau 1 tuần điều trị

Bệnh nhân lúc 6 tuổi

**Hình 3.8. Ảnh bệnh nhân số 6**

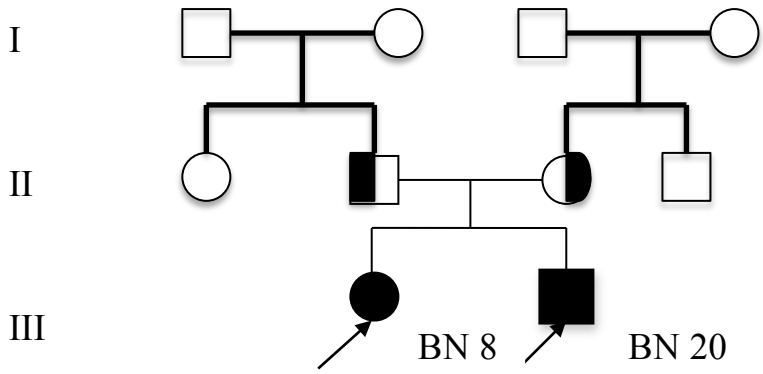
***Nhận xét:*** Bệnh nhân vào viện trong tình trạng nhiễm toan nặng pH: 6,89. Sau 24 tiếng điều trị, bệnh nhân thoát toan. Tiền sử anh trai tử vong lúc 27 tháng trong đợt cấp chuyển hoá lần 2.

Bệnh nhân lọc máu

Bệnh nhân sau lọc máu

**Hình 3.9. Ảnh bệnh nhân số 39**

***Nhận xét:*** Bệnh nhân 14 tháng tuổi vào viện trong tình trạng toan nặng pH: 6,8 và tình trạng nhiễm toan không cải thiện sau 6 tiếng điều trị truyền Glucose và bù toan bằng Bicarbonate. Bệnh nhân được chỉ định lọc máu liên tục tĩnh mạch – tĩnh mạch. Sau 24 tiếng lọc máu, tình trạng nhiễm toan cải thiện, bệnh nhân tỉnh.




12 tháng có cơn cấp lần 1, 36 tháng được chẩn đoán khi có cơn cấp lần 2

Chẩn đoán lúc 3 ngày, đến 6 tháng xuất hiện cơn cấp lần 1

Gia đình cặp bệnh nhân 8, 20

**Hình 3.10. Ảnh bệnh nhân số 8, 20.**

***Nhận xét:*** Chị gái có 2 đợt cấp chuyển hoá và được chẩn đoán bệnh ở đợt cấp lần 2. Người em trai được chẩn đoán qua sàng lọc bằng xét nghiệm acid hữu cơ niệu lúc 3 ngày. Được tư vấn điều trị chế độ ăn và L.Carnitine và chỉ xuất hiện 1 cơn cấp thoáng qua khi 6 tháng tuổi.

# Chương 4
# BÀN LUẬN

## 4.1. Về đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

### 4.1.1. Về đặc điểm chung

Trong 41 bệnh nhân nghiên cứu từ 34 gia đình khác nhau, chúng tôi nhận thấy 34 cặp bố mẹ của bệnh nhân là không cùng huyết thống. Kết quả phản ánh tỉ lệ mắc bệnh thiếu enzym BKTcủa Việt Nam không bị ảnh hưởng bởi hôn nhân cận huyết thống. Vì đây là nhóm bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường nên hôn nhân cận huyết thống làm tăng khả năng mắc bệnh của thế hệ sau. Trong các nghiên cứu trên thế giới đã phát hiện các bệnh nhân từ các gia đình có hôn nhân cận huyết thống có nguồn gốc từ các nước có tập tục hôn nhân cận huyết thống như Iran [90], Ấn Độ [91], [103].

Tuổi xuất hiện cơn cấp đầu tiên của bệnh nhân là từ 6 – 36 tháng tuổi với tuổi trung bình là 13,8 tháng. Độ tuổi hay xuất hiện cơn cấp đầu tiên là từ 6 – 12 tháng (60%), tiếp theo từ trên 12 tháng đến 24 tháng chiếm 37%, 1 bệnh nhân có tuổi xuất hiện là 36 tháng (biểu đồ 3.1). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Fukao và cộng sự trên 26 bệnh nhân: tuổi trung bình của cơn cấp lần đầu là 15 tháng và tuổi xuất hiện cơn cấp sớm nhất là lúc 3 ngày và muộn nhất là 48 tháng [4]. Cho đến nay chỉ có 1 trường hợp duy nhất xuất hiện cơn cấp đầu tiên lúc 3 ngày tuổi là bệnh nhân Tây Ban Nha. Tuổi xuất hiện cơn cấp đầu tiên phù hợp với cơ chế bệnh sinh và sinh lý chuyển hoá của cơ thể. Thứ nhất, giai đoạn sau 6 tháng tuổi là giai đoạn kháng thể của mẹ truyền sang cho con bắt đầu giảm sút dẫn tới trẻ rất dễ bị nhiễm khuẩn. Và đây là nguyên nhân chính gây khởi phát cơn cấp. Do khi nhiễm khuẩn nhu cầu năng lượng tăng lên 150% đến 200% so với nhu cầu

bình thường [104]. Trong khi đó, năng lượng cung cấp từ ăn uống lại giảm sút do trẻ biếng ăn và nôn trớ. Và khi đó cơ thể sẽ sử dụng năng lượng dự trữ từ lipid và kết quả là một lượng lớn xeton được sản xuất ra nhưng không được giáng hoá dẫn tới tình trạng nhiễm toan xeton [32]. Thứ hai, trẻ lớn ít bị các cơn cấp vì nhu cầu năng lượng so với cân nặng là ít hơn so với trẻ nhỏ. Thứ ba, sự phân bố lớp mỡ, lớp cơ của cơ thể cũng là một trong những nguyên nhân giúp cho trẻ lớn ít xảy ra cơn cấp hơn. Ở trẻ còn bú mẹ thì sự phân bố lớp mỡ dưới da nhiều, năng lượng dự trữ chủ yếu từ lớp mỡ dự trữ trong khi đối với trẻ lớn thì lớp mỡ dưới da ít thay vào đó là lớp cơ nên năng lượng dự trữ được lấy từ protein dự trữ. Thứ tư, trẻ 0 – 6 tháng tuổi có tần suất các bữa ăn nhiều, khoảng cách các bữa ăn ngắn nên ít xuất hiện các cơn nhiễm toan xeton cấp [2].

Tất cả bệnh nhân có tiền sử phát triển tâm thần vận động bình thường trước khi xuất hiện cơn cấp lần đầu. Đây là đặc điểm lâm sàng rất quan trọng để phân biệt với các RLCHBS acid hữu cơ khác như bệnh tăng methylmalonic máu, bệnh tăng propionic máu, và bệnh HSD10 thuộc nhóm RLCH giáng hoá thể xeton. Vì các bệnh nhân của nhóm bệnh này thường có chậm phát triển tâm thần vận động [2]. Tuy nhiên, một số ít trường hợp có biểu hiện triệu chứng thần kinh trước khi xuất hiện đợt cấp. Như bệnh nhân Canada xuất hiện các triệu chứng giảm trương lực cơ lúc 4 tháng tuổi, múa vờn lúc 10 tháng, chậm vận động (3,5 tuổi mới biết đi), chậm ngôn ngữ (2 tuổi nói từ đơn, 5 tuổi nói được câu đơn), đến 5 tuổi mới xuất hiện cơn cấp lần đầu [47].

Tỉ lệ gia đình có tiền sử có anh chị em ruột của bệnh nhân bị bệnh tương tự hoặc tử vong không rõ nguyên nhân/trong bệnh cảnh tương tự là 9/34 (26%). Trong đó có 7 cặp bệnh nhân là anh chị em ruột được chẩn đoán

và điều trị tại Bệnh viện Nhi trung ương (phụ lục 2). Trong phả hệ của hai gia đình bệnh nhân số 3 và 4 có tiền sử chị và anh ruột tử vong trong bệnh cảnh tương tự như một cơn cấp: sốt, nôn, thở nhanh, li bì rồi hôn mê. Chị ruột của bệnh nhân số 3 được chẩn đoán là viêm phổi nặng/sốc và tử vong lúc 3 tháng tuổi tại Bệnh viện Nhi trung ương. Anh ruột của bệnh nhân số 4 được chẩn đoán là viêm não và tử vong lúc 11 tháng tuổi.

Tất cả anh chị em ruột của các bệnh nhân đều được sàng lọc bệnh thiếu enzym BKT bằng xét nghiệm định lượng acid hữu niệu để tránh bỏ sót các trường hợp chưa có triệu chứng cơn cấp. Chúng tôi phát hiện được 3 bệnh nhân chưa có triệu chứng. Đó là bệnh nhân số 20, bệnh nhân số 26, bệnh nhân số 27. Bệnh nhân số 20 được chẩn đoán sàng lọc lúc 3 ngày tuổi là em trai bệnh nhân số 8. Bệnh nhân số 26 được sàng lọc chẩn đoán lúc 55 tháng tuổi là anh trai bệnh nhân số 23. Bệnh nhân số 27 được sàng lọc chẩn đoán lúc 25 ngày tuổi là em trai bệnh nhân số 24. Cho tới nay chỉ có em trai bệnh nhân số 8 là bệnh nhân số 20 đã xuất hiện cơn cấp lần đầu lúc 6 tháng tuổi. Còn anh ruột của bệnh nhân số 23 (bệnh nhân số 26) và em trai ruột của bệnh nhân số 24 (bệnh nhân số 27) là chưa có cơn cấp lần đầu tới 8 và 3 tuổi.

Các nghiên cứu trên thế giới cũng gặp nhiều cặp anh chị em ruột đều bị mắc bệnh. Trong nghiên cứu của Thummler, người chị ruột được chẩn đoán lúc 2 tuổi nhưng người em trai không được xét nghiệm sàng lọc cho đến khi xuất hiện cơn cấp lần đầu lúc 6 tuổi [88]. Trong nghiên cứu của Sarafoglou, người chị ruột được chẩn đoán lúc 5 tuổi trong đợt cấp đầu tiên và người em trai 11 tháng được làm xét nghiệm sàng lọc khẳng định bị bệnh khi chưa có cơn cấp [60]. Trong nghiên cứu của Kose, người em trai được chẩn đoán bệnh lúc 8 tháng tuổi trong đợt cấp lần đầu, người chị gái 6 tuổi được sàng lọc khẳng định bị bệnh lúc 6 tuổi khi chưa có cơn cấp [105].

Như vậy, việc hỏi tiền sử gia đình cũng rất quan trọng trong nhóm bệnh di truyền vì giúp các bác sĩ lâm sàng có định hướng chẩn đoán và làm các xét nghiệm cũng như xử trí ban đầu phù hợp.

Là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường nên tỉ lệ mắc bệnh ở nam và nữ là tương đương nhau (nam/nữ: 23/18), giống như nghiên cứu của Fukao năm 2001 [4].

### 4.1.2. Về đặc điểm về địa lý và dân tộc

Bệnh được phát hiện trên 16 tỉnh thành trên toàn quốc nhưng tới 14/16 (88%) là các tỉnh thành ở miền Bắc và Bắc Trung Bộ với số bệnh nhân là 36 bệnh nhân chiếm 88% (hình 3.1). Đặc biệt là bệnh nhân tập trung ở khu vực miền Bắc là 29 bệnh nhân chiếm 70%. Kết quả này là do Bệnh viện Nhi Trung ương là cơ sở y tế đầu tiên của Việt Nam nghiên cứu cũng như có hệ thống chẩn đoán và điều trị bệnh trên toàn quốc.

Tại Bệnh viện Nhi Trung ương, nhóm bệnh RLCHBS đã được nghiên cứu từ năm 2005 qua hợp tác quốc tế với Học viện Shimane, Nhật Bản. Cùng vào năm đó, nhóm nghiên cứu RLCHBS gồm các bác sĩ ở khoa Nội tiết – Chuyển hoá – Di truyền, khoa Sơ sinh, khoa Điều trị tích cực, khoa Thần kinh, khoa Phục hồi chức năng đã được ra đời theo quyết định của Bệnh viện Nhi Trung ương. Trong suốt trên 10 năm vừa qua, với nhiều lớp tập huấn về bệnh RLCHBS, chương trình sàng lọc nguy cơ cao đã phát hiện gần 300 bệnh nhân RLCHBS với 27 bệnh khác nhau trong đó bệnh thiếu enzym BKT là một trong những bệnh hay gặp nhất 41/284 (chiếm 14,5%).

Tỉ lệ này cao hơn hẳn so với tỉ lệ mắc bệnh thiếu enzym BKT là 8/1135 (0,7%) qua 10 năm sàng lọc 18303 đối tượng nguy cơ cao tại Trung Quốc [106],[107].

Trong 8 năm đầu tiên của nghiên cứu, không có bệnh nhân thiếu enzym BKT từ các tỉnh miền Trung và miền Nam được chẩn đoán. Năm 2014 - 2015, sau 3 lớp tập huấn RLCHBS tại Bệnh viện Nhi đồng I, Bệnh viện Nhi đồng II, Bệnh viện Sản nhi Đà Nẵng, 2 bệnh nhân của Đà Nẵng và 3 bệnh nhân của thành phố Hồ Chí Minh được chẩn đoán thiếu enzym BKT thông qua hội chẩn chẩn đoán và điều trị với nhóm nhiên cứu RLCHBS của Bệnh viện Nhi Trung ương. Qua phân tích trên nhận thấy số lượng bệnh nhân mắc bệnh có thể là còn cao hơn nữa vì số bệnh nhân để sót chẩn đoán không phải là ít. Vì không có sàng lọc sơ sinh mở rộng trên toàn quốc nên không tính được tỉ lệ mắc nhưng qua số lượng trẻ em sinh ra trong 10 năm trong 16 tỉnh thành, chúng tôi có thể ước lượng tỉ lệ mắc khoảng 1/190.000. Tỉ lệ này cao hơn tỉ lệ sàng lọc sơ sinh tại North Carolina là 1/313.000 [15] và tại Minesota là 1/232.000 [60].

Trên 40 năm kể từ khi bệnh nhân đầu tiên được mô tả thì mới có trên 100 bệnh nhân được chẩn đoán trên 30 nước khác nhau. Trong khi đó chỉ trong 10 năm nghiên cứu, số lượng bệnh nhân của Việt Nam chiếm đến gần 40% số lượng bệnh nhân trên toàn thế giới. Đặc biệt là 34 gia đình nghiên cứu không có quan hệ họ hàng, bố mẹ không cận huyết thống, phân bố trên 16 tỉnh thành khác nhau và đều là dân tộc Kinh nên không giải thích được nguyên nhân số lượng bệnh nhân bị bệnh cao. Để tìm hiểu xem Việt Nam có phải là nơi xuất xứ của bệnh này, chúng tôi đã có 1 nghiên cứu về nguồn gốc gen gây bệnh của Việt Nam so với nhóm bệnh nhân Hà Lan có cùng kiểu gen đột biến. Kết quả là nguồn gốc gen gây bệnh của 2 nhóm là khác nhau [5]. Tại sao Việt Nam có số lượng bệnh nhân lớn thế vẫn là một câu hỏi.

### 4.1.3. Về đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù

39/41 bệnh nhân chiếm 95% có cơn cấp chuyển hoá mất bù. Chỉ có 2 bệnh nhân được chẩn đoán qua sàng lọc nguy cơ cao (anh chị em ruột bị mắc bệnh) chưa xuất hiện cơn cấp mất bù đến 3 và 8 tuổi (bệnh nhân 26, 27). Hầu hết bệnh nhân được chẩn đoán ngay trong đợt cấp đầu tiên (32/39 bệnh nhân chiếm 78,1%). Nhận thấy việc tiếp cận chẩn đoán RLCHBS của các bác sĩ khoa cấp cứu là khá tốt.

Sáu bệnh nhân chiếm 14,6% được chẩn đoán khi có các đợt cấp tái phát lần 2 hoặc lần 3. Như vậy, bệnh có thể bị bỏ sót chẩn đoán ngay cơn cấp đầu tiên nếu như các bác sĩ không có kiến thức về nhóm bệnh RLCHBS và bệnh nhân vô tình được thoát khỏi cơn cấp mất bù do được truyền glucose và bù toan. Đến khi bệnh nhân xuất hiện lại các triệu chứng giống cơn cấp lần đầu, bệnh nhân mới được lưu tâm tới chẩn đoán với bệnh RLCHBS. Ví dụ điển hình là bệnh nhân số 25 nhập viện lần đầu tại khoa hô hấp Bệnh viện Nhi trung ương. Bệnh nhân được chẩn đoán là Viêm phổi – Suy hô hấp và điều trị trong 5 ngày. Trong quá trình điều trị lần đầu, bệnh nhân có nhiễm toan chuyển hoá nhưng không được quan tâm về chẩn đoán RLCHBS vì cho là triệu chứng của suy hô hấp – nhiễm trùng. Bệnh nhân ổn định sau 5 ngày điều trị, chỉ định ra viện buổi sáng thì chiều nhập lại viện trong tình trạng thở nhanh, li bì, toan chuyển hoá. Và trong lần thứ hai nhập viện, bệnh nhân mới được phát hiện và chẩn đoán RLCHBS.

Ba bệnh nhân được chẩn đoán qua sàng lọc phân tích acid hữu cơ niệu cho 21 anh/chị/em ruột của bệnh nhân không có triệu chứng lâm sàng. 2 bệnh nhân được chẩn đoán ngay trong thời kỳ sơ sinh (3 và 25 ngày tuổi). Như vậy, việc chẩn đoán bệnh bằng định lượng acid hữu cơ niệu cho các anh/chị/em ruột của bệnh nhân là cần thiết để xác định chẩn đoán và có kế hoạch điều trị

phù hợp đem lại kết quả tốt. Việc chẩn đoán sớm được ngay trong giai đoạn sơ sinh và khi chưa có triệu chứng lâm sàng là hai trong nhiều tiêu chí quan trọng để đưa nhóm bệnh này vào chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng.

Triệu chứng lâm sàng của cơn cấp thường khởi đầu là các triệu chứng của các bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp (15/39 bệnh nhân), các bệnh nhiễm khuẩn đường tiêu hoá (20/3 bệnh nhân), nhiễm trùng khác là (2/39 bệnh nhân). Có duy nhất bệnh nhân 18 không có nhiễm trùng mà chỉ có ăn nhiều đạm (bột lươn) lúc 9 tháng tuổi. Sau nhiễm trùng 2-3 ngày bệnh nhân xuất hiện các triệu chứng của thở nhanh (100%), mất nước (100%), rồi li bì và hôn mê (100%). Một số bệnh nhân có co giật (15%), tình trạng sốc lúc vào viện (15%). Chính vì vậy mà khi bệnh nhân vào viện thường được chẩn đoán sơ bộ là viêm phổi nặng hoặc tiêu chảy cấp mất nước nặng hoặc viêm não - màng não hoặc sốc – nhiễm trùng huyết. Tình trạng ý thức của bệnh nhân khi vào viện thường hôn mê ở mức độ P/AVPU (87%) và chỉ có 13% là ở mức độ U/AVPU. Mức độ mất nước thường gặp là mất nước B (89%), chỉ có 11% ở mức độ nặng mất nước C.

Với tình trạng nặng lúc vào viện như trên nên các bệnh nhân đều được nhập viện tại khoa cấp cứu lưu hoặc hồi sức tích cực. Tại đây, tất cả các bệnh nhân trong tình trạng nặng như trên đều được làm các xét nghiệm sinh hoá và huyết học thường quy như: công thức máu, ure, creatine, điện giải đồ, đường, men gan, protid, albumin, amoniac, lactat, khí máu, tổng phân tích nước tiểu. Biểu hiện nổi bật của các xét nghiệm thường quy là 100% bệnh nhân có toan chuyển hoá nặng với pH từ 6,84 đến 7,26 và pH trung bình là 7,07. Đặc điểm của toan chuyển hoá của nhóm bệnh nhân này là toan chuyển hoá tăng khoảng trống anion từ 20 – 30 (trung bình là 26). Kết quả khí máu trong nghiên cứu của chúng tôi giống với kết quả nghiên cứu của tác giả Fukao: pH

từ 6,76 – 7,3 [4]. Đây là đặc điểm để phân biệt với toan chuyển hoá trong bệnh lý ống thận, trong tiêu chảy cấp là khoảng trống anion không tăng [95]. Mặc dù tình trạng nhiễm toan chuyển hoá nặng nhưng lactat tăng nhẹ hoặc không tăng và hầu hết là không có biểu hiện sốc (33/39). Đặc điểm này giúp phân biệt với tình trạng nhiễm toan chuyển hoá trong sốc đặc biệt là sốc nhiễm trùng. Nhiễm toan chuyển hoá trong sốc nhiễm trùng là do suy tuần hoàn ngoại biên đã tới chuyển hoá hiếm khí làm tăng lactat máu và toan chuyển hoá [95].

100% bệnh nhân có xeton niệu. 28% bệnh nhân có tăng glucose máu với mức độ 13,5 – 23,3 mmol/l. Đối với tình trạng tăng glucose máu, bệnh nhân sẽ được xét nghiệm HbA1C và theo dõi diễn biến của đường huyết với điều trị insulin để phân biệt với toan xeton tiểu đường [2]. Tất cả 11 bệnh nhân tăng glucose huyết này không có tăng HbA1C, đồng thời đường huyết giảm nhanh về bình thường mặc dù không điều trị insulin hoặc chỉ điều trị insulin từ 3 – 8 tiếng. Các bệnh nhân này không cần điều trị tiếp insulin để duy trì đường máu bình thường thậm chí trong cả trường hợp đang truyền đường.

Tỉ lệ bệnh nhân tăng glucose máu và mức độ tăng glucose máu trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nhiều so với các nghiên cứu khác trên thế giới. Trong nghiên cứu đa trung tâm trên 26 bệnh nhân năm 2001, tác giả Fukao đã không có bệnh nhân biểu hiện tăng glucose máu mà chỉ có 4 bệnh nhân hạ glucose máu. Các báo cáo xuất bản trên thế giới chỉ có 6 ca bệnh nhân tăng glucose máu với mức tăng gluose máu cao nhất là 14 mmol/l [108],[109]. Glucose máu của 6 bệnh nhân này giảm nhanh sau bù dịch, chưa cần đến điều trị insulin. Tình trạng tăng glucose máu của bệnh nhân trong các

đợt cấp mất bù chuyển hoá có thể giải thích là do sự đáp ứng của cơ thể với stress làm tăng tiết các hormon cortisol, catecholamine.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 3 bệnh nhân có hạ glucose máu ở mức độ nhẹ 1,7 – 2,3 mmol/l. Tất cả 3 bệnh nhân này không có gan lách to và tăng lactat máu nhẹ. Đây là đặc điểm để phân biệt với rối loạn chuyển hoá dự trữ glycogen cũng có toan chuyển hoá và xeton niệu, hạ glucose máu nhưng có gan lách to và latat máu tăng cao [2]. Tỉ lệ bệnh nhân hạ glucose máu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của tác giả Fukao năm 2001có 4 bệnh nhân hạ glucose máu. Tuy nhiên bệnh nhân trong nghiên cứu của họ có mức độ hạ glucose máu thấp hơn là 0,7 mmol/l [4].

Trong nghiên cứu, chúng tôi có 7 bệnh nhân có tăng amoniac máu ở mức độ từ 189 đến 307 µg/dl và chưa cần phải sử dụng thuốc hạ amoniac máu. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Fukao là không có bệnh nhân tăng amoniac máu trên 100 µmol/l (167 µg/dl) [4].

Hầu hết các bệnh nhân có tăng bạch cầu rất cao (68% tăng bạch cầu trên 20 G/l, 16% tăng bạch cầu trên 40 G/l) phản ánh tình trạng nhiễm trùng nặng của các đợt cấp của các bệnh nhân. Đây chính là nguyên nhân gây khởi phát cơn cấp chuyển hoá mất bù.

Có 4 bệnh nhân rối loạn điện giải đồ hạ kali máu trong nghiên cứu. Tuy là hiếm gặp nhưng cần kiểm soát trong quá trình điều trị vì đây có thể là nguyên nhân gây tử vong. Tình trạng hạ kali máu trong quá trình điều trị có thể giải thích do quá trình điều trị nhiễm toan bằng bicarbonat, pH máu tăng lên dẫn tới kali từ máu đi vào trong tế bào [95].

Do các bệnh nhân đều có biểu hiện hôn mê (100%) và co giật (16%) nên 28 bệnh nhân đã được chụp CT Scanner và MRI sọ não. Nhưng chỉ có 4

bệnh nhân có biểu hiện tổn thương thần kinh trên phim CT và MRI. Trong đó, bệnh nhân số 1 và số 33 có tổn thương giảm tỉ trọng chất trắng đối xứng vùng đồi thị 2 bên trên phim CT não. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân số 1 sau cơn cấp là giảm trương lực cơ, chậm phát triển tâm thần. Bệnh nhân số 33 tử vong ngay trong đợt cấp. Bệnh nhân số 19 có tổn thương đối xứng vùng nhân đuôi, nhân bèo thẫm 2 bên: tăng tín hiệu trên T2W, giảm tín hiệu trên T1W; tổn thương và teo não vùng đỉnh chẩm đối xứng 2 bên trên phim MRI não. Triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân số 19 là rối loạn trương lực cơ, chậm phát triển tâm thần vận động sau cơn cấp. Bệnh nhân số 21 có tổn thương đối xứng nhân bèo nhạt 2 bên và vùng liềm đen cuống não 2 bên: tăng tín hiệu trên T2W, giảm tín hiệu trên T1W. Triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân số 21 là tăng trương lực cơ kiểu gấp cứng, chậm phát triển tâm thần nhẹ. 2/4 bệnh nhân này (bệnh nhân số 1 và 33) có tình trạng sốc, bệnh nhân số19 có tăng áp phổi nặng và thông liên thất. 4/4 bệnh nhân có co giật trong cơn cấp.

Trên thế giới, tổn thương não trên phim CT hay MRI não của bệnh nhân thiếu enzym BKT hiếm gặp [2]. Có một số báo cáo tổn thương trên CT và MRI sọ não của các bệnh nhân khác trên thế giới. Trong một nghiên cứu về hình ảnh tổn thương não của 107 bệnh nhân RLCHBS, MRI sọ não của 3 bệnh nhân thiếu BKT có biểu hiện hình ảnh tổn thương [110]. Đó là hình ảnh tổn thương nhân bèo thẫm đối xứng 2 bên: tăng tín hiệu trên T2W giống hình ảnh tổn thương của bệnh nhân số 19. Nhưng bệnh nhân số 19 còn tổn thương thêm nhân đuôi và teo não vùng đỉnh chẩm. Một bệnh nhân nam 11 tháng người Ấn độ có biểu hiện co giật, hôn mê và đường máu giảm 1,7 mmol/l trong cơn cấp đã có biểu hiện tổn thương não trên phim CT não. Đó là giảm tỉ trọng vùng nhân nền đối xứng 2 bên, canxi hoá đối xứng 2 bên vùng nhân bèo kèm theo giảm tỉ trong vùng xung quanh [91]. Một bệnh nhân nữ có tiền sử 2 cơn cấp lúc 4 tuổi và 5 tuổi, biểu hiện lâm sàng tư thế bất thường, tăng trương

lực cơ, không nói được. Bệnh nhân biểu hiện tổn thương trên phim MRI sọ não vùng nhân bèo nhạt 2 bên đối xứng giống với hình ảnh tổn thương của bệnh nhân số 21 [111]. Một bệnh nhân nam có biểu hiện yếu cơ, múa vờn lúc 10 tháng, chậm vận động, có cơn toan chuyển hoá thoáng qua lúc 5 tuổi. Bệnh nhân đã bị bỏ sót chẩn đoán tới năm 17 tuổi. Biểu hiện trên phim MRI sọ não là tổn thương teo nhân bèo thẫm, tăng tín hiệu T2W nhân bèo thẫm và nhân đuôi 2 bên giống bệnh nhân số 19 [47]. Như vậy, nhận thấy tổn thương não trên phim MRI chủ yếu là tổn thương vùng nhân bèo, nhân đuôi, chưa thấy có báo cáo trên thế giới về tổn thương teo não như bệnh nhân số 19 và tổn thương liềm đen cuống não như bệnh nhân số 20. Bệnh nhân số 19 và 21 là hai anh em ruột có cùng kiểu gen nhưng hình ảnh tổn thương não lại khác nhau nên khả năng tổn thương não liên quan đến kiểu gen và hoạt độ enzym là không thể giải thích được. Sự khác biệt giữa hai anh em có thể do bệnh nhân 19 có tim bẩm sinh thông liên thất và trong đợt cấp lần đầu có triệu chứng của tăng áp phổi nặng làm thiếu oxy nặng dẫn tới tổn thương teo vỏ não vùng đỉnh chẩm. Trong một số nghiên cứu trên thế giới về tìm hiểu mối liên quan giữa tổn thương não và các yếu tố khác như sốc/tăng áp phổi, pH, co giật, hạ glucose máu nhận thấy: Sốc/tăng áp phổi và co giật là có liên quan đến tổn thương não với $p < 0,05$ [110],[111]. Như vậy thiếu máu não và thiếu oxy trong cơn cấp có thể liên quan tới tổn thương não. Ngoài yếu tố thiếu oxy và tưới máu thì yếu tố gây độc trực tiếp não bởi các chất chuyển hoá trung gian gây độc não cũng được đề cập đến [110]. Trong bệnh này, các chất chuyển hoá trung gian ứ đọng là sản phẩm giáng hoá của isoleucine là 2MAA, 2M3HB, TIG. Một nghiên cứu thử nghiệm trên chuột thấy 2MAA, 2M3HB là hai chất có khả năng gây tổn thương não nhất [30]. Tổn thương nhân bèo, nhân đuôi và các nhân nền đối xứng còn được gặp nhiều trong các bệnh RLCHBS khác như tăng methylmalonic máu, tăng propionic máu, tăng

lactat bẩm sinh… nên đây không phải là tổn thương đặc hiệu của bệnh này [110]. Di chứng lâm sàng thần kinh của bệnh nhân trên thế giới cũng đa dạng từ tăng trương lực cơ, múa vờn, gấp cứng, chậm phát triển tâm thần– vận động, nói khó.

Tóm lại, hầu hết bệnh nhân (39/41) có cơn cấp chuyển hoá mất bù. Đặc điểm nổi bật của cơn cấp chuyển hoá mất bù là nhiễm toan chuyển hoá nặng pH < 7,1 (pH trung bình là 7,07), tăng khoảng trống anion (trung bình là 26), có xeton niệu, xuất hiện sau nhiễm trùng tiêu hoá và hô hấp (38/39), hiếm gặp triệu chứng thần kinh co giật (16%).

Khi bệnh nhân có những đặc điểm trên thì xét nghiệm chuyển hoá đặc hiệu như phân tích acid hữu cơ niệu và phân tích acylcarnitine máu nên được chỉ định.

### 4.1.4. Về đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu

Xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu của bệnh RLCHBS thiếu enzym BKT là phân tích acid hữu cơ niệu và phân tích acyl-carnitine máu. Trong đó, phân tích acid hữu cơ niệu có giá trị đặc hiệu hơn trong chẩn đoán bệnh thiếu enzym BKT và phân tích acylcarnitine máu có giá trị trong sàng lọc sơ sinh. Ba dấu ấn trong nước tiểu đặc hiệu cho bệnh thiếu enzym BKT là 2MAA, 2M3HB, TIG. Hai dấu ấn điển hình cho bệnh thiếu enzym BKT trong máu là C5:1 và C5:OH.

Bởi vì 2MAA là chất không ổn định trên giấy thấm và giáng hoá tự nhiên thành 2-butanon sau 1 tuần ở nhiệt độ phòng nên 2MAA sẽ không phát hiện được trên các mẫu bệnh phẩm giấy thấm nước tiểu [97],[98]. 33/33 bệnh nhân được phân tích acid hữu cơ niệu trên bệnh phẩm giấy thấm nước tiểu tại Học viện Shimane, Nhật Bản đều có tăng 2M3HB và TIG. Trong khi đó, 7/8

bệnh nhân được phân tích acid hữu cơ niệu từ bệnh phẩm nước tiểu tươi tại Bệnh viện Nhi Trung ương có tăng cả 3 chất chuyển hoá trung gian 2MAA, 2M3HB, TIG. Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi có 40/41 (97%) bệnh nhân, trong đó có 6 bệnh nhân được làm xét nghiệm ngoài cơn cấp chuyển hoá đều biểu hiện tăng 2M3HB và TIG trong nước tiểu. 7/8 (87,5%) bệnh nhân, trong đó có 1 bệnh nhân ngoài cơn cấp đều biểu hiện tăng 2MAA trong nước tiểu tươi.

Chúng tôi nhận thấy mức độ tăng của 2MAA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu của bệnh nhân trong giai đoạn cấp tăng rõ rệt hơn trong giai đoạn ổn định ngoài cơn cấp (Bảng 3.10). Điều này có thể giải thích như sau: Trong giai đoạn cấp, bệnh nhân tăng nhu cầu chuyển hoá tới 150% - 200% dẫn tới sử dụng năng lượng dự trữ từ glycogen, protein từ cơ, lipid từ các mô mỡ. Từ đó làm tăng các chất chuyển hoá trung gian 2MAA, 2M3HB, TIG một cách rõ rệt. Trong 3 chất chuyển hoá trên thì 2M3HB có mức độ tăng cao nhất là 550,78 ± 320,55 mol/mol creatinine. Điều này có thể giải thích được là khi 2-methylacetoacetyl-CoA tăng sẽ được chuyển hoá ngược thành 2-methyl-3-hydrobutyryl-CoA, sau đó 2-methyl-3-hydrobutyryl -CoA tăng sẽ chuyển hoá ngược thành tiglyl-CoA.

38/39 bệnh nhân được định lượng acylcarnitine máu bằng phương pháp Tandem Mass đều có tăng C5:1 (tiglylcarnitine) và C5:OH (2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine) trong đó có 6 bệnh nhân được làm xét nghiệm ngoài giai đoạn cấp. Mức độ tăng trung bình của C5:1, C5:OH trong đợt cấp và ngoài đợt cấp không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

*Duy nhất bệnh nhân số 38 có kết quả phân tích acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu bình thường cả trong cơn cấp và trong tình trạng ổn định.* Trong khi chị ruột là bệnh nhân số 37 lại có tăng nhẹ 2M3HB, 2MAA và TIG

bình thường trong nước tiểu. Bệnh nhân số 37 có tăng C5:1, C5:OH ở mức độ thấp 0,05 và 0,8 mol/l trong giai đoạn ổn định không triệu chứng. Tình huống này cũng đã gặp ở cặp bệnh nhân Nhật Bản. Bệnh nhân nam 20 tháng tuổi có cơn toan xeton cấp (pH: 7,23) được chẩn đoán bằng đo hoạt độ enzym BKT phát hiện giảm hoạt độ. Xét nghiệm acid hữu cơ niệu của bệnh nhân này thấy tăng nhẹ 2M3HB, 2MAA, không tăng TIG trong cơn cấp. Trong tình trạng ổn định ngoài cơn cấp, phân tích acid hữu cơ niệu của bệnh nhân thấy chỉ có tăng 2M3HB. Anh trai bệnh nhân là 6 tuổi 9 tháng không có triệu chứng cơn cấp trên lâm sàng được chẩn đoán xác định bệnh bằng xét nghiệm đo hoạt độ enzym thấy có hoạt độ enzym giảm. Xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu có tăng nhẹ 2M3HB [112].

Tỉ lệ biến đổi của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Fukao năm 2001: tất cả 26 bệnh nhân tăng 2M3HB, tăng 2MAA. Nhưng tỉ lệ bệnh nhân tăng TIG trong nghiên cứu của chúng tôi là 97% cao hơn trong nghiên cứu của tác giả Fukao là 61% [4]. Sự khác biệt về tỉ lệ biến đổi hoá sinh đặc hiệu giữa nghiên cứu của chúng tôi liên quan đến loại đột biến mất chức năng hay còn chức năng của gen *T2* (Chúng tôi sẽ phân tích rõ trong phần đột biến gen gây bệnh ở phía sau).

Như vậy, tỉ lệ biến đổi đặc hiệu cho bệnh thiếu enzym BKT trong xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu trong nghiên cứu của chúng tôi là rất cao 97%. Sáu bệnh nhân được định lượng acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu trong lúc bình thường vẫn có tăng rõ rệt 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu. Kết quả này ủng hộ việc đưa bệnh thiếu hụt enzym BKT vào sàng lọc sơ sinh vì tỉ lệ phát hiện được bệnh khi chưa có triệu chứng cao.

Định lượng acylcarnitine máu bằng phương pháp Tandem Mass cho kết quả nhanh (4 phút/1 mẫu) trong khi phương pháp GC/MS có thể phân tích được các thành phần và số lượng acid hữu cơ một cách chính xác. Chính vì vậy, xét nghiệm định lượng acylcarnitine máu bằng phương pháp Tandem Mass được đưa vào ứng dụng để sàng lọc sơ sinh và xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu bằng phương pháp GC/MS được đưa vào để khẳng định chẩn đoán và sàng lọc nguy cơ cao bệnh thiếu enzym BKT.

Như vậy, C5:1 và C5:OH là 2 dấu ấn đang được sử dụng trong sàng lọc sơ sinh mở rộng để sàng lọc bệnh thiếu enzym BKT và dấu ấn C5:OH có giá trị đặc hiệu hơn. Mức độ tăng của C5:1, C5:OH của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi dao động rất lớn (C5:1: 0,05 – 15,56 µmol/l; C5:OH: 0,53 – 13,8 µmol/l). Một bệnh nhân số 38 duy nhất có kết quả bình thường trong giai đoạn ổn định không có cơn cấp. Kết quả C5:1 của bệnh nhân 38 là 0,03 µmol/l, trong khi giá trị cutoff là 0,04 µmol/l. Kết quả C5:OH của bệnh nhân 38 là 0,47 µmol/l, trong khi giá trị cutoff là 0,48 µmol/l [39]. Nếu có sàng lọc sơ sinh thì bệnh nhân này cũng sẽ bị bỏ sót và tỉ lệ bỏ sót của bệnh sẽ là 1/41 (2,5%). Như vậy, vẫn có khả năng bị bỏ sót bệnh thiếu enzym BKT qua sàng lọc sơ sinh.

Trên thế giới cũng có các trường hợp bỏ sót chẩn đoán đặc biệt là các ca bệnh có đột biến nhẹ như 2 trường hợp (2/4) ở Bắc Carolina từ 1997 đến 2005, 2 trường hợp (2/5) tại Minnesota từ 01/2001 đến 11/2010, 3 trường hợp (3/7) tại New South Wales (Úc) từ 04/1998 đến 03/2002 [16].

Qua các phân tích trên thấy sàng lọc sơ sinh RLCHBS không thể loại trừ hoàn toàn được bệnh này. Đối với các bệnh nhân dương tính trong chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng thì cần được làm xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu để khẳng định chẩn đoán.

Xét nghiệm GC/MS là xét nghiệm đặc hiệu để chẩn đoán bệnh. Tuy nhiên, nếu xét nghiệm này không điển hình của bệnh thiếu ezyme BKT hoặc bình thường cũng không thể loại trừ hoàn toàn. Vì vậy, trong trường hợp thấy lâm sàng và xét nghiệm cơ bản điển hình của RLCHBS giáng hoá thể xeton thì xét nghiệm đo hoạt độ enzym hoặc phân tử được đề nghị làm để khẳng định chẩn đoán.

Biến đổi đặc hiệu trong xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu và định lượng acylcarnitine máu trong bệnh thiếu enzym BKT phụ thuộc ít vào thời điểm làm xét nghiệm trong giai đoạn cấp hay giai đoạn ổn định mà phụ thuộc vào loại đột biến (chúng tôi sẽ phân tích tại phần đột biến gen gây bệnh).

**4.2. Về kết quả phân tích phân tử**

32 bệnh nhân từ 27 gia đình khác nhau được phân tích gen *T2* và 100% được phát hiện thấy đột biến gây bệnh (phụ lục 3). Tỉ lệ tìm thấy đột biến của bệnh nhân trên thế giới cũng là 100% [2]. Phát hiện được 8 loại đột biến alen khác nhau p.R208X, IVS10-1g>c, c.1A>G, c.1032_1033insA, p.A410V, p.S284N, xoá đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA với các tỉ lệ tương ứng là 66%, 19%, 6%, 3%, 1,5%, 1,5%, 1,5%, 1,5%.

Đột biến p.R208X, p.A410V và c.1A>G là ba đột biến cũ đã được phát hiện và báo cáo. 5 đột biến còn lại là đột biến mới chưa thấy được công bố trên các báo cáo về gen T2 tại cơ sở dữ liệu 1000 genomes của "MutationTaster" (http://www.mutationtaster.org) và tại GeneCards (http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACAT1).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, phân bố loại đột biến như sau: 3 đột biến điểm c.1A>G, p.A410V, p.S284N gây đột biến sai nghĩa (missen mutation) chiếm 37,5%; 1 đột biến điểm p.R208X gây đột biến vô nghĩa

(nonsense mutation) chiếm 12,5%; 1 đột biến điểm IVS10-1g>c gây đột biến vị trí nối (splice site mutation) làm xoá đoạn exon 11 chiếm 12,5%; 1 đột biến chèn 1 nucleotide c.1032_1033insA gây đột biến dịch khung chiếm 12,5%; 1 đột biến xoá đoạn lớn exons 6 – 11 chiếm 12,5%; 1 đột biến vừa mất nucleotide vừa chèn nucleotide c.163_167 delinsAA gây mất 2 acid amin Phenylanine, Leucine và chèn 1 acid amin Lysine chiếm 12,5%. Phân bố kiểu đột biến này gần giống với kết quả của tác giả Fukao năm 2010 là 39 đột biến sai nghĩa (missense mutation) và đột biến thay thế nucleotide, 9 đột biến trên intron tại vị trí cắt nối gen (splice site mutation), 8 đột biến dịch khung dịch mã (frameshift mutation), 3 đột biến vô nghĩa (nonsense mutation), 2 đột biến xoá đoạn lớn (deletion), 1 đột biến lặp đoạn lớn (duplication) [5]. Như vậy, chủ yếu đột biến tìm thấy trong nghiên cứu của chúng tôi là đột biến điểm chiếm tới 62,5%, tương tự với tổng kết trên thế giới là đột biến điểm chiếm 85,5% [5]. Tuy nhiên có sự khác biệt rất lớn giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu khác là phát hiện thấy đột biến phổ biến p.R208X (66%) và IVS10-1g>c (19%) ở bệnh nhân Việt Nam. Trên thế giới, các đột biến được phát hiện trên thế giới là các đột biến đa dạng và đơn lẻ với gần 70 bệnh nhân được phân tích gen *T2* thì phát hiện gần 70 đột biến khác nhau [5]. Các đột biến được phát hiện trên thế giới phân bố đều trên tất cả 12 exon và 11 intron của gen *T2*, không có vùng hotspot của gen gây bệnh. Chính vì vậy để phát hiện đột biến gen *T2*, phương pháp thường được ưu tiên sử dụng là giải trình tự gen, tiếp theo là MLPA để tìm các đột biến xoá đoạn và lặp đoạn lớn. Nhưng đối với các bệnh nhân Việt Nam thì đã có một sự thay đổi trong thứ tự kỹ thuật tìm đột biến gen so với thế giới: kỹ thuật enzym giới hạn tìm đột biến p.R208X được thực hiện đầu tiên sau mới đến giải trình tự gen và MLPA.

Tám bệnh nhân Việt Nam đầu tiên được làm xét nghiệm phân tử năm 2009 tại Học viện Gifu, Nhật Bản nơi hầu hết các đột biến gen *T2* của bệnh nhân thiếu enzym BKT trên toàn thế giới được thực hiện. Và kết quả thật bất ngờ khi phát hiện thấy đột biến phổ biến p.R208X ở người Việt Nam. Trong nghiên cứu này, sau khi giải trình tự gen của 5 bệnh nhân đầu tiên, tác giả đã phát hiện thấy 8/10 alen đột biến là đột biến p.R208X. Từ đó, tác giả đã có giả thiết rằng đây có thể là đột biến phổ biến của người Việt Nam và dùng kỹ thuật enzym giới hạn để phát hiện đột biến phổ biến p.R208X [5]. Cũng trong nghiên cứu này, để tìm hiểu Việt Nam có phải là nguồn gốc của đột biến p.R208X trên thế giới không, xét nghiệm 2 polymorphisms của gen *T2* đã được thực hiện trên bệnh nhân Việt Nam và bệnh nhân Hà Lan có cùng đột biến R208X. Một polymorphism là c.13G/C trên exon 1, có thể được phát hiện bằng sự tồn tại hay không của vị trí Msp I [89]. Còn thứ hai là IVS9+84C>T, mà có thể được phát hiện bằng sự tồn tại hoặc không của vị trí Taq I [113]. Và kết quả là alen đột biến p.R208X của người Việt Nam có haplotype MT khác với của người Hà Lan là mT. Như vậy nguồn gốc đột biến gen R208X của bệnh nhân Việt Nam và Hà Lan khác nhau.

Chính vì đột biến p.R208X là phổ biến đối với các bệnh nhân Việt Nam nên kỹ thuật enzym giới hạn để tìm ra đột biến p.R208X được chỉ định đầu tiên với mục đích giảm chi phí và thời gian. Nếu không tìm thấy đột biến này thì mới tiếp đến kỹ thuật giải trình tự gen và kỹ thuật MLPA. Bằng cách tiếp cận chẩn đoán phân tử như trên, 28 bệnh nhân Việt Nam tiếp sau đã được chẩn đoán phân tử và phát hiện đột biến p.R208X (c.622C>T) vẫn là đột biến phổ biến chiếm tới 66% (44 alen) các alen đột biến, trong đó 16 bệnh nhân là đột biến đồng hợp tử và 8 đột biến dị hợp tử. Đột biến p.R208X là đột biến vô nghĩa (missense mutation) tại vị trí 208 acid amin Arginine được thay thế bằng mã kết thúc và đây là đột biến mất chức năng không còn hoạt động của

enzym. Đột biến p.R208X đã được tìm thấy ở bệnh nhân Hà Lan [5], Trung Quốc [80].

Ngoài Việt Nam, trong nghiên cứu 2016 gần đây nhất đã phát hiện thêm được một đột biến gây bệnh phổ biến p.M193R (c.578T>G) ở người Ấn Độ với tỉ lệ là 45%. Như vậy trên 30 nước có bệnh nhân thiếu hụt enzym BKT, chỉ có Việt Nam và Ấn Độ phát hiện được đột biến phổ biến.

Tiếp theo đột biến IVS10-1g>c là đột biến phổ biến thứ 2 chiếm tới 19% trong đó có 3 bệnh nhân đột biến đồng hợp tử, 6 bệnh nhân đột biến dị hợp tử. Đây là đột biến vị trí nối (splice site mutation) ở intron 10 tại đầu 3' nucleotide G thay thế C dẫn tới xoá đoạn exon 11. Đây là đột biến mất chức năng không còn hoạt động của enzym. Đột biến này là đột biến mới.

Đột biến đồng hợp tử c.1A>G được phát hiện ở hai chị em ruột, bệnh nhân số 37, 38. Đây là đột biến thay thế nucleotide A bằng G ngay ở mã khởi đầu. Đột biến này đã được công bố và là đột biến còn chức năng với hoạt độ enzym còn 11% [114].

Đột biến dị hợp tử 163-167del5ins2 được phát hiện ở bệnh nhân số 1 gây xoá 2 acid amin Phenylalanine tại vị trí 55 và Leucine ở vị trí 56, chèn thêm acid amin Lysine tại đó. Đây là đột biến mới và mất chức năng.

Đột biến dị hợp p.A410V được phát hiện ở bệnh nhân số 15 là đột biến sai nghĩa acid amin Valine thay thế acid amin Alanine. Đây là đột biến cũ đã được phát hiện ở bệnh nhân Irasel và là đột biến mất chức năng.

Đột biến dị hợp tử xoá đoạn lớn exon 6~11 được phát hiện trên bệnh nhân số 18. Đột biến này là đột biến mới. Đột biến xoá đoạn và lặp đoạn lớn hiếm gặp trong nhóm bệnh này, mới chỉ phát hiện ra 3 đột biến xoá đoạn lớn

intron 1 – 4, đột biến lặp đoạn exons 8 và 9, đột biến xoá đoạn exon 3 – 4 [18], [36],[115].

Đột biến dị hợp tử p.S284N được phát hiện ở bệnh nhân số 22 là đột biến điểm gây thay thế acid amin Asparagine bởi Serine tại vị trí 284. Đây là đột biến mới và mất chức năng.

Đột biến dị hợp tử c.1032_1033insA được phát hiện ở cặp anh em bệnh nhân số 24, 27 là đột biến chèn thêm nucleotide A. Đây cũng là đột biến mới và mất chức năng.

Với 8 loại đột biến alen tìm thấy, 32 bệnh nhân từ 27 gia đình được phân bố thành 9 kiểu gen: đồng hợp tử p.R208X, đồng hợp tử IVS10 -1g>c, đồng hợp tử c.1A>G, dị hợp tử kép p.R208X/ IVS10 -1g>c, p.R208X/p.A410V, p.R208X/p.S284N, IVS10 -1g>c/exon6-10 del, c.163-167del5ins2/p.R208X, c.163-167del5ins2/p.R208X. Tỉ lệ phân bố các kiểu gen là đồng hợp tử p.R208X (50%), đồng hợp tử IVS10 -1g>c (9%), đồng hợp tử c.1A>G (6%), dị hợp tử kép p.R208X/ IVS10 -1g>c (16%), dị hợp tử kép p.R208X/p.A410V (3%), dị hợp tử kép p.R208X/p.S284N (3%), dị hợp tử kép IVS10 -1g>c/exon6-10 del (3%), dị hợp tử kép c.163-167del5ins2/p.R208X (3%), dị hợp tử kép R208X/C1032-1033 insA (6%). Nếu phân loại đột biến theo chức năng thì 8/9 kiểu gen trong nghiên cứu của chúng tôi là đột biến mất chức năng. Chỉ có kiểu gen đồng hợp tử c.1A>G là đột biến còn chức năng. Tỉ lệ bệnh nhân bị đột biến mất chức năng trong nghiên cứu của chúng tôi là 93,8% (30/32) cao hơn nhiều so với tỉ lệ 20% (1/5) trong nghiên cứu của Nhật năm 2003 [39] và tỉ lệ 77 % (6/26) trong nghiên cứu đa trung tâm năm 2001 [4]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu năm 2016 ở Ấn Độ với tỉ lệ đột biến mất chức năng là 90% (9/10) [103].

Chúng tôi nhận thấy có mối liên quan giữa loại đột biến và biến đổi đặc hiệu của acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu trong nghiên cứu trong bệnh thiếu enzym BKT. Ba mươi bệnh nhân đột biến mất chức năng có biến đổi đặc hiệu trong nước tiểu và acylcarnitine máu cho bệnh thiếu enzym BKT: 2MAA (6 – 1091 mol /mol Creatinine), 2M3HB (132 – 1738 mol /mol Creatinine), TIG (40 – 580 mol /mol Creatinine ), C5:1 (0,08 – 15,56 µmol/l), C5:OH (0,8 – 13,8 µmol/l). Trong khi, 2 bệnh nhân số 37, 38 có đột biến còn chức năng thì biến đổi acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu nhẹ, không rõ rệt cho bệnh. Một nghiên cứu của tác giả Fukao đã chứng minh rõ điều này khi so sánh 2 nhóm đột biến. Nhóm I (đột biến mất chức năng) có biến đổi đặc hiệu tăng cả 3 chất 2MAA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu, tăng cả C5:1, C5:OH trong máu trong cả giai đoạn ổn định và giai đoạn cấp. Nhóm II (đột biến còn chức năng) có thay đổi hoá sinh không rõ rệt: TIG không tăng hoặc dạng vết trong nước tiểu, 2M3HB tăng nhẹ, C5:1 trong giới hạn bình thường, C5:OH xung quanh giá trị bình thường [39]. Trong một nghiên cứu khác cũng của tác giả Fukao trên 3 bệnh nhân người Nhật Bản có cùng đột biến còn chức năng c.431A>C (p.H144P), không có tăng C5:1, C5:OH trong máu ngay cả trong cơn cấp và chỉ có tăng nhẹ của 2M3HB trong cơn cấp. [40]. Tương tự trong một nghiên cứu đa trung tâm, 6/7 bệnh nhân không có tăng TIG trong nước tiểu là có đột biến mất chức năng [4]. Như vậy, các bệnh nhân có kiểu đột biến gen mất chức năng (null mutation) thì kết quả xét nghiệm có tăng rõ rệt 2MAA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu và C5:1, C5:OH trong máu, thậm chí là trong giai đoạn ổn định. Trong khi các bệnh nhân có kiểu đột biến gen còn chức năng (mild mutation) thì kết quả xét nghiệm có thể chỉ có tăng 2M3HB [112]. Khi thấy tăng lượng lớn TIG trong nước tiểu thì khả năng nhiều đây là đột biến mất chức năng [39].

Chúng tôi cũng chưa tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gen và tuổi xuất hiện cơn cấp, tần suất xuất hiện cơn cấp, tổn thương não cũng như triệu chứng co giật, tăng amoniac máu với p > 0,05. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu đa trung tâm năm 2001 trên 26 bệnh nhân cũng không tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gen, tần suất xuất hiện cơn cấp và mức độ nặng của cơn cấp [4]. Phân tích kiểu hình của 5 cặp anh chị em (Bảng 3.14) cũng không tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình. Độ tuổi xuất hiện cơn cấp của anh chị em trong cùng một gia đình cũng khác nhau như cặp bệnh nhân số 6, 7 là 11 tháng và 15 tháng tuổi; cặp bệnh nhân số 8, 20 là 12 tháng và 6 tháng tuổi; cặp bệnh nhân số 17, 33 là 17 tháng và 22 tháng tuổi; cặp bệnh nhân số 37, 38 là 18 tháng và 10 tháng tuổi. Chỉ có cặp bệnh nhân số 21 và 22 có cùng tuổi xuất hiện cơn cấp là 10 tháng tuổi. Cặp bệnh nhân số 24, 27 có kiểu hình khác nhau: bệnh nhân số 23 có cơn cấp lúc 16 tháng, bệnh nhân số 27 chưa có cơn cấp tới tận 3 tuổi. Tần suất xuất hiện cơn cấp tái phát cũng khác nhau trong 3 cặp bệnh nhân số 8 và 20, cặp bệnh nhân số 17 và 33, cặp bệnh nhân số 37 và 38. Bệnh nhân số 8 có cơn cấp lúc 36 tháng, bệnh nhân số 20 chưa có cơn cấp tới 5 tuổi. Bệnh nhân số 17 có cơn cấp lúc 22 tháng, bệnh nhân số 33 chưa có cơn cấp tái phát tới 3 tuổi. Bệnh nhân số 38 có cơn cấp tái phát lúc 18 tháng tuổi, bệnh nhân số 37 chưa có cơn cấp tái phát tới 5 tuổi. Các nghiên cứu khác trên thế giới cũng đã thấy nhiều cặp anh em nhưng có kiểu hình khác nhau [88],[105]. Trong nghiên cứu của tác giả Köse, hai chị em có cùng kiểu gen và sự biến đổi đặc hiệu trong xét nghiệm acid hữu cơ niệu nhưng cậu em lại có cơn cấp nhiễm toan xeton lúc 7 tháng tuổi và có biến chứng thần kinh trong khi người chị chưa có cơn cấp tới tuổi hiện tại là 7 tuổi [105].

Sàng lọc bệnh bằng xét nghiệm phân tử cho 8 anh chị em ruột của bệnh nhân số 2, 4, 5, 15, chúng tôi phát hiện được 3 đối tượng là người mang alen

đột biến gây bệnh. Đó là 2 chị ruột của bệnh nhân số 2 mang alen đột biến p.R208X và anh ruột của bệnh nhân số 15 mang alen đột biến p.A410V. Việc sàng lọc người mang gen trong bệnh thiếu enzym BKT có giá trị cho tư vấn di truyền cũng như quản lý nguồn gen gây bệnh.

### 4.3. Về phương pháp và kết quả điều trị

#### 4.3.1. Về các phương pháp điều trị trong cơn cấp và điều trị lâu dài

Điều trị bệnh thiếu enzym BKT bao gồm điều trị cơn cấp và điều trị lâu dài. Ba mươi chín bệnh nhân đã được điều trị cơn cấp chuyển hoá. Các phương pháp được điều trị trong cơn cấp của bệnh nhân là truyền glucose, bù toan bằng Bicarbonat, cung cấp L.Carnitine, kháng sinh, thở máy, thuốc vận mạch, lọc máu liên tục, insulin, cần bằng điện giải đồ với tỉ lệ tương ứng là 100%, 95%, 85%, 97%, 41%, 13%, 10%, 13%, 10%.

Tất cả các bệnh nhân trong cơn cấp đều được điều trị truyền Glucose tốc độ cao 8 – 10 mg/kg/phút. Mặc dù, hầu hết các bệnh nhân trong cơn cấp lần đầu chưa có ngay chẩn đoán xác định là bệnh thiếu hụt enzym BKT nhưng đều được chẩn đoán sơ bộ là RLCHBS acid hữu cơ niệu hướng tới bệnh thiếu enzym BKT dựa trên lâm sàng và xét nghiệm chuyển hoá thường qui. Chính vì vậy mà các bệnh nhân đã được truyền Glucose tốc độ cao theo hướng dẫn xử trí cấp cứu RLCHBS [29],[71]. Truyền Glucose tốc độ cao là biện pháp điều trị quan trọng nhất trong bệnh thiếu enzym BKT vì ức chế quá trình giáng hoá thể xeton từ lipid dự trữ, giải quyết khâu quan trọng nhất trong cơ chế bệnh sinh của cơn nhiễm toan xeton cấp [31]. Trong các báo cáo ca bệnh đơn lẻ và nghiên cứu đa trung tâm 26 bệnh nhân thấy hầu hết các bệnh nhân đều được truyền Glucose. Thậm chí, bệnh nhân Ấn Độ còn được truyền glucose với tốc độ 12 -15 mg/kg/phút [91]. Tuy nhiên trong một số trường hợp bị bỏ sót chẩn đoán bệnh thiếu enzym BKT trong cơn cấp lần đầu

tiên hoặc một số trường hợp có tăng Glucose máu nhưng mức độ tăng không cao (12 – 14,5 mmol/l), các bệnh nhân này chỉ được điều trị bù dịch với nồng độ glucose thấp và bù toan theo các biểu hiện lâm sàng [4],[116]. Các bệnh nhân của chúng tôi được ngừng truyền Glucose khi bệnh nhân hết nhiễm toan với thời gian trung bình là 37 tiếng.

Điều trị insulin máu được chỉ định ở 5 bệnh nhân có glucose máu trên 15 mmol/l được điều trị insulin. Mặc dù trong nghiên cứu của chúng tôi có tới 11 bệnh nhân tăng glucose máu (13,5 – 23,3 mmol/l). Nên khi chúng tôi tiếp cận chẩn đoán ban đầu, toan xeton đái đường được đặt lên hàng đầu và xử trí trong những giờ đầu tiên theo phác đồ nhiễm toan xeton đái đường. Tuy nhiên trong quá trình theo dõi điều trị, chúng tôi thấy glucose máu của bệnh nhân hạ rất nhanh về bình thường trong vòng 2 – 8 tiếng mặc dù đã ngừng truyền insulin và vẫn đang truyền glucose. Đây là đặc điểm giúp chúng tôi định hướng chẩn đoán và hướng xử trí trong các giờ đầu tiên khi đang chờ các xét nghiệm acid hữu cơ niệu và HbA1C. Tình trạng tăng glucose máu cũng gặp trên thế giới nhưng hiếm gặp: có 4 ca bệnh được báo cáo với mức tăng đường máu < 14,5 mmol/l. Bệnh nhân thứ nhất là nữ 9 tháng tuổi có biểu hiện nhiễm toan xeton (pH: 7,19), tăng glucose máu lúc vào viện 14,5 mmol/l đã được điều trị trong những giờ đầu bằng bù dịch, bicarbonate và kháng sinh. Glucose máu giảm nhanh và xeton niệu âm tính sau 12 giờ, khí máu bình thường sau 24 giờ [116]. Bệnh nhân thứ hai là nam 8 tháng tuổi vào viện vì viêm đường hô hấp trên và nhiễm toan xeton, glucose máu tăng 12,5 mmol/l. Bệnh nhân được điều trị theo chẩn đoán sơ bộ nhiễm toan xeton đái đường, glucose hạ nhanh nhưng tình trạng nhiễm toan không cải thiện và tăng amoniac máu 207 μmol/l [109]. Bệnh nhân thứ 3 là bệnh nhân nam người Pháp 4 tuổi có nhiễm toan xeton (pH: 7,03), tăng glucose máu (12.7 mmol/1) điều trị như toan xeton đái đường trong những giờ đầu nhập viện nhưng sau

đó thấy glucose máu về bình thường nhanh, hết toan [117]. Bệnh nhân thứ tư là nữ người Tây Ban Nha 14 tháng tuổi có toan chuyển hoá pH 6,89 và glucose máu lúc vào là 8,2 mmol/l sau tăng lên 14,1 mmol/l. Bệnh nhân được điều trị insulin, glucose máu giảm nhanh về bình thường sau 5 tiếng. Sau đó, bệnh nhân tiếp tục được truyền glucose [109]. Hai bệnh nhân nam Argentina có nhiều đợt toan chuyển hoá và tăng glucose máu từ 7 đến 15 tháng tuổi nhưng glucose máu hạ nhanh về bình thường sau truyền bù dịch chưa cần điều trị insulin [118].

Phương pháp điều trị bù toan bằng Bicarbonat được thực hiện trên 37/39 bệnh nhân. Ba mươi bảy bệnh nhân này khi nhập viện có pH <7,1. Còn 2 bệnh nhân không được điều trị bù toan bằng Bicarbonat đều có pH >7,2. Đây là phương pháp được thực hiện trước phương pháp điều trị truyền glucose vì triệu chứng nổi bật của bệnh nhân khi nhập viện là nhiễm toan chuyển hoá. Tương tự các nghiên cứu khác trên thế giới, tất cả các bệnh nhân trong cơn cấp đều được bù Bicarbonat khi pH < 7,1 với liều khởi đầu 1 mmol/kg/ 30 phút để tránh tình trạng phù não [2],[4],[71]. Thời gian khí máu về bình thường trong nghiên cứu của chúng tôi là 37,4 giờ. Kết quả này phù hợp với nhiều báo cáo khác trên thế giới: trong các nghiên cứu của tác giả Riudo và Fukao bệnh nhân thoát toan sau 36 tiếng và 24 tiếng [79],[109].

Điều trị L.Carnitine cho 33 bệnh nhân trong cơn cấp. Theo các khuyến cáo về điều trị bệnh thiếu hụt enzym BKT, L.Carnitin được sử dụng vì L.Carnitine sẽ giúp vận chuyển các acyl-CoA (các chất chuyển hoá trung gian có thể gây độc) vào trong ti thể [2],[29],[1]. Nhiều bệnh nhân trong các nghiên cứu khác cũng được điều trị L.Carnitin trong cơn cấp [4],[116], [79].

Hầu hết các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi nhập viện trong tình trạng nặng cần các phương pháp điều trị hỗ trợ tích cực: thở máy (16 bệnh nhân), thuốc vận mạch (5 bệnh nhân), lọc máu (4 bệnh nhân).

Thời gian thở máy của bệnh nhân trong nghiên cứu trung bình là 2,4 ngày và tỉ lệ thuận với thời gian nhiễm toan. Vì nhiễm toan thuyên giảm thì các triệu chứng thần kinh và hô hấp sẽ được cải thiện nhanh chóng. Các bệnh nhân trên thế giới chủ yếu đều được điều trị hỗ trợ thở máy với thời gian thở máy ngắn 2- 4 ngày [4],[91],[116],[119]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của tác giả Riudo có một bệnh nhân phải thở máy 1 tháng do viêm phổi tái phát [109].

Năm bệnh nhân có tình trạng sốc cần sử dụng thuốc vận mạch với thời gian sử dụng trung bình 1,6 ngày. Nguyên nhân sốc của 5 bệnh nhân này do giảm thể tích và nhiễm trùng nặng. Hai trong 5 bệnh nhân tử vong do nhiễm trùng nặng.

Bốn bệnh nhân có tình trạng nhiễm toan chuyển hoá không cải thiện sau 3 – 6 tiếng nên chúng tôi đã quyết định lọc máu. Thời gian lọc máu trung bình là 2,3 ngày. Phương pháp lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục rất có hiệu quả trong mục đích lọc bỏ các chất hòa tan và các chất có trọng lượng phân tử lớn. Ưu điểm chủ yếu của phương pháp này là có thể lọc bỏ một lượng lớn các chất hòa tan trong khi vẫn dễ dàng duy trì cân bằng đẳng dịch hay thậm chí cân bằng dương. Chính vì vậy đối với các bệnh nhân RLCHBS, chúng tôi ưu tiên chọn phương pháp này để lọc máu. Tương tự, trên thế giới có 4 bệnh nhân được thẩm phân phúc mạc và 1 bệnh nhân được lọc máu liên tục. Phương pháp thẩm phân phúc mạc đã được áp dụng lần đầu tiên cho 1 bệnh nhân nữ lúc 9 tháng tuổi vào năm 1985 vì nhiễm toan chuyển hóa không cải thiện bằng điều trị Bicarbonat [40]. Hai bệnh nhân nam người Tunisia

cũng điều trị thẩm phân phúc mạc vì toan chuyển hoá không cải thiện bằng điều trị Bicarbonat [119]. Tiếp theo là bệnh nhân nam 8 tháng tuổi người Tây Ban Nha được thẩm phân phúc mạc [109]. Bệnh nhân lọc máu liên tục là bệnh nhân Ấn Độ 11 tháng tuổi đã không đáp ứng với điều trị nhiễm toan với Bicarbonat. Thời gian lọc máu của bệnh nhân là 2 ngày [91].

Ba mươi tám bệnh nhân (97%) cần điều trị kháng sinh vì yếu tố khởi phát cơn cấp RLCHBS đều là nhiễm trùng hô hấp hoặc tiêu hoá. Điều trị nhiễm trùng là rất quan trọng vì sẽ làm ngừng quá trình giáng hoá thể xeton từ lipid do nhu cầu năng lượng.

Bốn bệnh nhân có rối loạn điện giải đồ hạ kali máu. Điều trị rối loạn điện giải và mất nước cũng quan trọng trong cơn cấp chuyển hoá vì bệnh nhân có thể tử vong do các nguyên nhân này.

Tất cả bệnh nhân còn sống sau cơn cấp điều được điều trị lâu dài với chế độ ăn hạn chế protein, L.Carnitine, tư vấn phòng cơn cấp.

### 4.3.2. Về kết quả điều trị

Kết quả điều trị của 41 bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi theo hình 3.6.

Tỉ lệ cứu sống sau cơn cấp lần đầu là 83%. Hai bệnh nhân chưa xuất hiện cơn cấp chuyển hoá đến 3 và 8 tuổi. Thời gian theo dõi trung bình là 4,1 năm (0,5 – 10 năm). Tuổi hiện tại trung bình là 5,6 tuổi (1-11 tuổi).

Tỉ lệ tử vong trong quá trình điều trị là 12,2%. Bốn bệnh nhân tử vong trong các đợt cấp: 2 bệnh nhân tử vong trong cơn cấp lần đầu, 2 bệnh nhân tử vong trong đợt cấp tái phát. Nguyên nhân tử vong của 4 bệnh nhân này đều là tình trạng sốc nhiễm trùng nặng không hồi phục mặc dù 2/4 bệnh nhân được

lọc máu tĩnh mạch liên tục. Bệnh nhân còn lại tử vong tại nhà do di chứng của chậm phát triển tâm thần vận động.

Tỉ lệ di chứng chậm phát triển tâm thần vận động là 7,3%. Ba bệnh nhân này trước đợt cấp lần đầu có phát triển tâm thần vận động bình thường. Như đã mô tả ở phần tổn thương não trong cơn cấp ở phía trên, di chứng tâm thần vận động của 3 bệnh nhân do tổn thương não trong đợt cấp. Mức độ chậm phát triển tâm thần vận động của 3 bệnh nhân ở mức độ nhẹ với DQ là 55, 50 và 60. Bệnh nhân số 1 có DQ là 50 đã tử vong lúc 5,5 tuổi. Hai bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động là cặp anh em ruột bệnh nhân số 19, 21. Bệnh nhân số 19 hiện tại 5 tuổi có thể đi lại được, nói được các câu dài. Bệnh nhân số 21 hiện tại 9 tuổi với triệu chứng tăng trương lực cơ toàn thân là chính, không đi lại được.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu đa trung tâm trên 26 bệnh nhân của tác giả Fukao năm 2001: 23/26 bệnh nhân (88%) phát triển bình thường sau cơn cấp, 1/26 bệnh nhân tử vong (4%), 2/26 bệnh nhân (8%) di chứng chậm phát triển tâm thần vận động [4]. Tuy nhiên, tỉ lệ di chứng của bệnh nhân trong nghiên cứu chúng tôi thấp hơn so với nhóm bệnh nhân Ấn Độ là 30% (3/10 bệnh nhân) [103]. Sự khác biệt về tỉ lệ di chứng tâm thần kinh giữa các nghiên cứu là do tổn thương não trong giai đoạn cơn cấp chuyển hoá liên quan đến mức độ thiếu oxy tổ chức và sự ứ đọng các chất chuyển hoá trung gian gây độc mà chúng tôi đã phân tích ở phần tổn thương não. Kết quả điều trị của các nghiên cứu khác cũng rất tốt. Như trong nghiên cứu của Thummler, hai chị em ruột 16 và 8 tuổi được chẩn đoán lúc 2 tuổi và 6 tuổi phát triển tâm thần vận động bình thường [88]. Trong nghiên cứu của Sarafoglou, 3 bệnh nhân 5 tuổi, 11 tháng và 2 tuổi đều phát triển tâm thần vận động bình thường [60].

Tỉ lệ bệnh nhân có cơn cấp tái phát trong quá trình theo dõi điều trị là 48% (16/34 bệnh nhân). Trong đó 69% bệnh nhân có 1 cơn cấp tái phát (11 bệnh nhân), 19% bệnh nhân có 2 đợt cấp tái phát (3 bệnh nhân), 12% bệnh nhân có từ 3 đến 5 cơn cấp tái phát (2 bệnh nhân). Tất cả các đợt cấp tái phát của bệnh nhân đều liên quan tới nhiễm trùng hô hấp và tiêu hoá. Độ tuổi xuất hiện cơn cấp tái phát từ 9 đến 53 tháng tuổi với tuổi trung bình là 22 tháng và tần suất tái phát cơn sẽ giảm theo độ tuổi.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của tác giả Fukao: 11/23 bệnh nhân (48%). Tuy nhiên tỉ lệ các cơn cấp trong nghiên cứu của tác giả Fukao cao hơn nghiên cứu của chúng tôi: 27% (3/11 bệnh nhân) có từ 4 đến 11 cơn cấp tái phát, 45% (5/11 bệnh nhân) có 2 cơn cấp tái phát, 27% (3/11 bệnh nhân) có 1 cơn cấp tái phát. Tuổi xuất hiện cơn cấp tái phát trong nghiên cứu của tác giả Fukao cũng cao hơn trong nghiên cứu của chúng tôi: 15 cơn cấp tái phát xuất hiện sau 5 tuổi và tuổi tái phát cơn cấp muộn nhất lúc 10 tuổi. Hầu hết các bệnh nhân có nhiều cơn cấp tái phát trong nghiên cứu của tác giả Fukao là trước năm 1990, trước khi cấu trúc gen được phát hiện và cơ chế bệnh sinh của bệnh được hiểu rõ. Đây có lẽ là nguyên nhân gây ra sự khác khau về tần suất xuất hiện cơn cấp giữa nghiên cứu của chúng tôi và tác giả Fukao. Do cơn cấp tái phát phụ thuộc vào khả năng phòng các cơn cấp bằng chế độ ăn, điều trị L.Carnitin và nhận biết các nguy cơ tái phát cơn cấp.

Tần suất tái phát cơn cấp trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu khác khi bệnh nhân đều được điều trị chế độ ăn và L.Carnitin [91],[116],[79],[61].

Nghiên cứu của chúng tôi về phát triển thể chất của 34 bệnh nhân là nghiên cứu có số lượng lớn đầu tiên trên thế giới. Phát triển thể chất của 34 bệnh nhân về chiều cao và cân nặng của bệnh nhân đều nằm trong giới hạn

cho phép từ - 2 SD đến 2 SD theo biểu đồ tăng trưởng của WHO năm 2007. Tuy nhiên, có tới 91,2 % bệnh nhân có chiều cao ở vùng giới hạn từ – 2 SD đến 0 SD (biểu đồ 3.8) và 82,3% bệnh nhân có cân nặng ở vùng giới hạn từ - 2 SD đến 0 SD (biểu đồ 3.9). Trên thế giới chưa có thống kê về phát triển thể chất chiều cao, cân nặng của nhóm bệnh này nhưng trên báo cáo các ca bệnh thấy bệnh nhân có phát triển thể chất bình thường nhưng cũng ở giới hạn thấp của bình thường [117]. Việc phát triển thể chất ở giới hạn thấp của bệnh nhân có thể liên quan đến chế độ ăn hạn chế protein và lipid của bệnh nhân. Vì vậy, việc giám sát chế độ ăn cũng như thay đổi cho phù hợp với thể trạng và lứa tuổi bệnh nhân là quan trọng để bệnh nhân đạt được phát triển như trẻ bình thường.

Qua phân tích các yếu tố tiên lượng nặng, chúng tôi nhận thấy co giật, sốc, thở máy và tăng amoniac máu là các yếu tố tiên lượng nặng trong các đợt cấp với p tương ứng là 0,001; 0,008; 0,013; 0,035.

Trong 6 bệnh nhân co giật trong đợt cấp có: 4 bệnh nhân có tổn thương não trên phim CT/MRI, 3 bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động và 1 bệnh nhân tử vong ngay trong đợt cấp.

Trong 6 bệnh nhân sốc trong đợt cấp có 4 bệnh nhân phải dùng thuốc vận mạch, 3 bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động, 4 bệnh nhân có tổn thương trên phim CT/MRI và 2 bệnh nhân tử vong trong cơn cấp.

Trong 16 bệnh nhân thở máy có: 3 bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động, 2 bệnh nhân tử vong, 4 bệnh nhân có tổn thương não.

Trong 7 bệnh nhân tăng ammoniac có: 4 bệnh nhân có tổn thương não trên phim CT/MRI, 3 bệnh nhân chậm phát triển tâm thần vận động, 2 bệnh nhân tử vong.

Các nghiên cứu theo dõi lâu dài trên thế giới thấy có 2 bệnh nhân nữ mang thai và sinh con khoẻ mạnh. Bệnh nhân nữ 32 tuổi mắc bệnh thiếu hụt enzym BKT mang thai đã được lên kế hoạch điều trị ngay khi mang thai. Bệnh nhân ổn định đến khi thai 40 tuần tuổi phải mổ lấy thai vì tim thai nhanh. Kết quả mổ an toàn, mẹ và con đều khoẻ mạnh [120]. Bệnh nhân thứ hai là bệnh nhân nữ người Nhật có 3 đợt cấp lúc 9 tháng, 3 tuổi và 25 tuổi. Bệnh nhân đã có hai lần mang thai và sinh con khoẻ mạnh [40].

# KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 41 bệnh nhân thiếu enzym BKT trong hơn10 năm tại Bệnh viện Nhi Trung ương, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

**1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh thiếu enzym BKT**

- Bệnh thường gặp nhiều nhất trong các RLCHBS tại Việt Nam chiếm 14,4% và trên thế giới chiếm 40% tổng số ca bệnh thiếu enzym BKT.

- 3 bệnh nhân được chẩn đoán khi chưa có triệu chứng qua sàng lọc bằng xét nghiệm acid hữu cơ niệu.

- 95% bệnh nhân có cơn cấp chuyển hoá với đặc điểm là: 97,5% tuổi xuất hiện 6 – 24 tháng và trung bình là 13,8 tháng; 100% biểu hiện lâm sàng của nhiễm toan nặng như thở nhanh, li bì/hôn mê với pH < 7,1, khoảng trống anion tăng trung bình là 26 và có xeton niệu; 97,5% yếu tố khởi phát là nhiễm trùng tiêu hoá và hô hấp.

- Đặc điểm của xét nghiệm chuyển hoá đặc hiệu là 97,5% có tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và tăng C5:1, C5:OH máu

**2. Kết quả phân tích phân tử**

- 32/41 bệnh nhân được xét nghiệm đều tìm thấy đột biến gen *T2*. Phát hiện 8 alen đột biến khác nhau p.R208X, IVS10-1g>c, c.1A>G, c.1032_1033insA, p.A410V, p.S284N, xoá đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA.

- Phát hiện đột biến phổ biến gây bệnh p.R208X chiếm 66% và IVS10-1g>c chiếm 19%.

- Phát hiện 5 đột biến mới: IVS10-1g>c, c.1032_1033insA, p.S284N, xoá đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA.

- 8/9 kiểu gen là đột biến mất chức năng có biến đổi tăng rõ rệt 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu.

- Chưa thấy mối liên quan giữa kiểu gen và biểu hiện lâm sàng, mức độ nặng, cũng như tuổi xuất hiện cơn cấp.

**3. Kết quả điều trị**

- Kết quả điều trị tốt: 83% phục hồi hoàn toàn sau cơn cấp, 7% di chứng chậm tâm thần vận động nhẹ, 12% tử vong. 100% phát triển chiều cao và cân nặng nằm trong giới hạn bình thường theo biểu đồ tăng trưởng của WHO 2007.

- 47% bệnh nhân có cơn cấp tái phát ở độ tuổi dưới 53 tháng.

- Co giật, sốc, thở máy và tăng amoniac là các yếu tố tiên lượng nặng với p tương ứng là 0,001; 0,008; 0,013; 0,035.

# KIẾN NGHỊ

1. Đưa bệnh thiếu enzym BKT vào chương trình sàng lọc nguy cơ cao RLCHBS và chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng nhằm phát hiện và điều trị sớm trước khi có triệu chứng của cơn cấp để giảm tỉ lệ tử vong và di chứng.
2. Mở các lớp tập huấn tiếp cận chẩn đoán và xử trí cấp cứu tại các tuyến dưới để giảm bỏ sót chẩn đoán cũng như xử trí các bệnh nhân thiếu enzym BKT tại tuyến dưới giảm việc đi lại cho gia đình bệnh nhân.

# CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI

1. Nguyễn Ngọc Khánh và cộng sự. (2015). Phát triển thể chất và tinh thần của bệnh nhân thiếu beta-ketothiolase tại bệnh viện nhi trung ương trong 10 năm. *Tạp chí nhi khoa*, 8 (2), 54-57.
2. Nguyễn Ngọc Khánh và cộng sự. (2015). Bệnh thiếu enzym beta-ketothiolase tại bệnh viện nhi Trung ương: kiểu hình, kiểu gen và kết quả điều trị. *Tạp chí y dược học quân sự số,* 2, 90-95.
3. Nguyễn Ngọc Khánh et al. (2013). Betaketothiolase deficiency in a referal center of Vietnam: Clinical feature and outcome. Oral Presentation. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), 27-29 th, November, 2013. Vol. 29 2013. I.SN 0912-0122
4. Nguyễn Ngọc Khánh et al. (2013). Report 23 cases with betaketothiolase deficiency in a Vietnam center. ICIEM 2013. Poster Presentation. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, 3rd – 6th September, 2013. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, Vol 36, Suppl 2, 91.
5. Khanh NN et al. (2017). Characterization and outcome of 41 patients with beta-ketothiolase deficiency: 10 years' experience of a medical center in northern Vietnam. *Jounal of inherited metabolic disease.* DOI 10.1007/s10545-017-0026-6.

# MỤC LỤC

**ĐẶT VẤN ĐỀ ..... 1**
**Chương 1: TỔNG QUAN ..... 3**
**1.1. Lịch sử phát hiện bệnh ..... 3**
**1.2. Phân loại RLCHBS ..... 4**
1.2.1. Phân loại theo hóa sinh bệnh học ..... 5
1.2.2. Phân loại theo sinh lý bệnh học ..... 6
**1.3. Bệnh thiếu enzym BKT ..... 8**
**1.4. Cơ chế gây bệnh ..... 8**
**1.5. Nguyên nhân gây bệnh ..... 10**
1.5.1. Vị trí và cấu trúc gen T2 ..... 10
1.5.2. Chức năng của gen *T2* ..... 11
1.5.3. Đột biến gen *T2* gây bệnh ..... 13
1.5.4. Các kỹ thuật phát hiện đột biến gen *T2* gây bệnh ..... 15
**1.6. Chẩn đoán bệnh ..... 20**
1.6.1. Triệu chứng lâm sàng ..... 20
1.6.2. Xét nghiệm chuyển hóa thường quy ..... 21
1.6.3. Xét nghiệm sinh hóa đặc hiệu ..... 21
1.6.4. Đo hoạt độ enzym BKT ..... 23
1.6.5. Xét nghiệm phân tử ..... 24
**1.7. Chẩn đoán sớm qua sàng lọc nguy cơ cao và sàng lọc sơ sinh mở rộng ..... 24**
1.7.1. Sàng lọc sơ sinh mở rộng ..... 24
1.7.2. Sàng lọc nguy cơ cao ..... 25
**1.8. Chẩn đoán phân biệt ..... 25**
1.8.1. Chẩn đoán phân biệt với các bệnh có nhiễm toan chuyển hóa xeton ... 25

1.8.2. Chẩn đoán phân biệt với các bệnh RLCH giáng hóa thể xeton và isoleucine ..... 27
**1.9. Các lưu ý trong xét nghiệm chẩn đoán ..... 28**
**1.10. Điều trị ..... 31**
1.10.1. Nguyên tắc điều trị bệnh thiếu BKT ..... 31
1.10.2. Các phương pháp điều trị trong cơn cấp mất bù chuyển hóa ..... 32
1.10.3. Điều trị lâu dài. ..... 36
**1.11. Tư vấn di truyền ..... 38**
**1.12. Tiên lượng ..... 39**
**1.13. Tình hình nghiên cứu trên thế giới ..... 40**
**Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ..... 41**
**2.1. Đối tượng nghiên cứu: ..... 41**
**2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu: ..... 41**
**2.3. Phương pháp nghiên cứu ..... 41**
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu: ..... 41
2.3.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu: ..... 42
**2.4. Các biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu: ..... 43**
2.4.1. Chọn các đối tượng có nguy cơ cao RLCHBS thiếu enzym BKT . 43
2.4.2. Các đặc điểm lâm sàng ..... 44
2.4.3. Các đặc điểm cận lâm sàng: ..... 45
2.4.4. Các phương pháp điều trị và đánh giá kết quả điều trị: ..... 46
2.4.5. Các phương pháp xét nghiệm và thu thập số liệu ..... 48
**2.5. Phương pháp xử lý số liệu ..... 56**
2.5.1. Làm sạch số liệu: ..... 56
2.5.2. Cách mã hóa: ..... 56
2.5.3. Xử lý số liệu: ..... 56
**2.6. Đạo đức trong nghiên cứu: ..... 57**

**Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ..... 58**
**3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng..... 58**
3.1 1. Đặc điểm chung..... 58
3.1.2. Đặc điểm về địa dư và dân tộc ..... 60
3.1.3. Đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù ..... 62
3.1.4. Đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu ..... 72
**3.2. Kết quả phân tích phân tử..... 75**
**3.3. Phương pháp và kết quả điều trị..... 80**
3.3.1. Các phương pháp điều trị trong cơn cấp và điều trị lâu dài ..... 80
3.3.2. Kết quả điều trị ..... 82
**Chương 4: BÀN LUẬN ..... 90**
**4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng..... 90**
4.1.1. Đặc điểm chung..... 90
4.1.2. Đặc điểm về địa lý và dân tộc ..... 93
4.1.3. Đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù ..... 95
4.1.4. Đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu ..... 101
**4.2. Kết quả phân tích phân tử..... 105**
**4.3. Phương pháp và kết quả điều trị..... 112**
4.3.1. Các phương pháp điều trị trong cơn cấp và điều trị lâu dài ..... 112
4.3.2. Kết quả điều trị ..... 116
**KẾT LUẬN ..... 121**
**KIẾN NGHỊ ..... 123**
**CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI**
**TÀI LIỆU THAM KHẢO**
**PHỤ LỤC**

# DANH MỤC BẢNG


Bảng 1.1. Phân loại RLCHBS theo sinh lý bệnh học ..... 6
Bảng 1.2. Các phương pháp chẩn đoán bệnh RLCHBS ..... 24
Bảng 1.3. Lượng protein và isoleucine hàng ngày theo lứa tuổi của bệnh nhân thiếu enzym BKT ..... 37
Bảng 2.1. Bảng phân độ mất nước theo CDD ..... 44
Bảng 2.2. Trình tự mồi sử dụng cho phân tích gen *T2* ..... 55
Bảng 2.3. Các probe MLPA cho phân tích gen *T2* ..... 56
Bảng 3.1. Đặc điểm về tuổi, giới, huyết thống và tiền sử gia đình ..... 58
Bảng 3.2. Phân bố địa dư của bệnh nhân ..... 60
Bảng 3.3. Phân bố nhóm bệnh RLCHBS qua chương trình sàng lọc nguy cơ cao từ năm 2005 ..... 61
Bảng 3.4. Thời điểm được chẩn đoán bệnh ..... 62
Bảng 3.5. Triệu chứng lâm sàng của cơn cấp ..... 63
Bảng 3.6. Biểu hiện xét nghiệm chuyển hóa thường quy trong cơn cấp ..... 65
Bảng 3.7. Tình trạng nhiễm toan chuyển hóa ..... 65
Bảng 3.8. Tình trạng đường máu ..... 66
Bảng 3.9. Kết quả xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu và định lượng acylcarnitine máu ..... 72
Bảng 3.10. Mức độ tăng 2MMA, 2M3HB, TIG trong nước tiểu ..... 73
Bảng 3.11. Mức độ tăng C5:1, C5:OH trong máu ..... 74
Bảng 3.12. Kiểu gen của bệnh nhân ..... 77
Bảng 3.13. Mối liên quan kiểu gen kiểu hình ..... 78
Bảng 3.14. Kiểu gen và kiểu hình của 5 cặp anh chị em ruột ..... 79
Bảng 3.15. Phương pháp điều trị ..... 80
Bảng 3.16. Diễn biến điều trị của cơn cấp ..... 81
Bảng 3.17. Tần suất và tuổi tái phát của bệnh nhân ..... 83
Bảng 3.18. Phát triển chiều cao, cân nặng theo biểu đồ tăng trưởng của WHO 2007 ..... 84
Bảng 3.19. Phát triển tinh thần vận động theo test Denver II ..... 85
Bảng 3.20. Yếu tố tiên lượng nặng ..... 86

# DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Tần suất xuất hiện cơn cấp lần đầu theo lứa tuổi ..... 59
Biểu đồ 3.2. Mức độ hôn mê theo thang đánh giá AVPU ..... 64
Biểu đồ 3.3. Mức độ mất nước ..... 64
Biểu đồ 3.4. Mức độ tăng amoniac máu (µg/dl) ..... 66
Biểu đồ 3.5. Mức độ tăng bạch cầu (G/l) ..... 67
Biểu đồ 3.6. Tỉ lệ các đột biến gen T2 gây bệnh ..... 75
Biểu đồ 3.7. Biểu đồ chiều cao của bệnh nhân theo Z-score của WHO 2007 ... 85
Biểu đồ 3.8. Biểu đồ cân nặng của bệnh nhân theo Z-score của WHO 2007 .... 85

# DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Các chuyển hóa cơ bản trong cơ thể ..... 5
Hình 1.2. Sơ đồ chuyển hoá của enzym BKT và cơ chế gây bệnh ..... 9
Hình 1.3. Vị trí gen *T2 (ACAT1)* trên NST 11 ..... 10
Hình 1.4. Cấu trúc của gen *T2* ở người. ..... 11
Hình 1.5. Cấu trúc không gian của protein T2 ..... 12
Hình 1.6. Sơ đồ các loại đột biến gen *T2*. ..... 14
Hình 1.7. Các bước cơ bản của phản ứng PCR ..... 15
Hình 1.8. Trình tự nucleotid được xác định trên máy giải trình tự gen. ..... 16
Hình 1.9. Các giai đoạn của phương pháp MLPA ..... 17
Hình 1.10. Phương pháp MLPA phân tích gen T2 ..... 19
Hình 1.11. Kết quả xét nghiệm acid hữu cơ niệu của bệnh nhân thiếu enzym BKT: với 2 đỉnh tăng tương ứng 2M3HB và TIG ..... 22
Hình 1.12. Kết quả Tandem Mass của bệnh nhân thiếu enzym BKT ..... 23
Hình 1.13. Sơ đồ chẩn đoán cho thiếu enzym BKT ..... 30
Hình 1.14. Khả năng di truyền cho thế hệ sau của bệnh thiếu enzym BKT ..... 39
Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu ..... 42
Hình 3.1. Hình ảnh tổn thương não của bệnh nhân 19. ..... 68
Hình 3.2. Ảnh bệnh nhân 19 ..... 69
Hình 3.3. Hình ảnh MRI não của bệnh nhân 21. ..... 70
Hinh 3.4. Ảnh bệnh nhân 21 ..... 71
Hình 3.5. Hình ảnh đột biến p.R208X của bệnh nhân số 3 và 4 ..... 76
Hình 3.6. Sơ đồ kết quả điều trị ..... 82
Hình 3.7. Diễn biến bệnh của 41 bệnh nhân ..... 83
Hình 3.8. Ảnh bệnh nhân số 6 ..... 87
Hình 3.9. Ảnh bệnh nhân số 39 ..... 88
Hình 3.10. Ảnh bệnh nhân số 8, 20. ..... 89