

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN NGỌC KHÁNH

**NGHIÊN CỨU KIỂU HÌNH, KIỂU GEN
VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ CỦA BỆNH THIẾU ENZYM
BETA-KETOTHIOLASE Ở VIỆT NAM**

Chuyên ngành : Nhi Khoa

Mã số : 62720135

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2017

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
Trường Đại Học Y Hà Nội

Hướng dẫn khoa học:

PGS.TS. Nguyễn Thị Hoàn

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường.
Họp tại Trường đại học Y Hà Nội.

Vào hồi giờ ngày tháng năm 2017.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện quốc gia
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội
- Thư viện thông tin Y học Trung Ương.

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Giới thiệu

Bệnh thiếu enzym beta-ketothiolase (BKT) là một bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh (RLCHBS) liên quan tới chuyển hóa isoleucine và xeton trong cơ thể. Bệnh lần đầu tiên được mô tả năm 1971 bởi Daum RS. Trong 40 năm nghiên cứu, các tác giả nhận thấy đây là nhóm bệnh hiếm gặp: phát hiện trên 90 bệnh nhân trên toàn thế giới. 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. Trên thế giới đã tìm thấy khoảng 70 đột biến khác nhau trên 70 bệnh nhân, không tìm thấy đột biến phổ biến gây bệnh. 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. Khác với các nước trên thế giới, 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 tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Để góp phần tiếp cận chẩn đoán, điều trị có hiệu quả cũng như tìm hiểu kiểu đột biến gen ở bệnh nhân thiếu enzym BKT ở Việt Nam, chúng tôi nghiên cứu đề tài: **Nghiên cứu kiểu hình, kiểu gen và kết quả điều trị của bệnh thiếu enzym BKT.**

2. Mục tiêu

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.*

3. Ý nghĩa thực tiễn và những đóng góp mới của đề tài

Đây là đề tài nghiên cứu đầu tiên và tương đối toàn diện về bệnh thiếu enzym BKT ở Việt Nam. Nghiên cứu có tính khoa học và giá trị thực tiễn lớn cũng như nhân văn. Rút ra được các đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm đặc trưng của bệnh, kinh nghiệm điều trị có giá trị cứu sống bệnh nhân giúp cho việc chẩn đoán và điều trị kịp thời làm giảm tỉ lệ tử vong và di chứng. Đề xuất việc chẩn đoán sớm qua sàng lọc các anh chị em ruột của bệnh nhân qua phân tích acid hữu cơ niệu bằng kỹ thuật GC/MS. Phát hiện được đột biến gen T2 gây bệnh phổ biến ở Việt Nam và 5 đột biến mới là cơ sở cho việc tư vấn di truyền để giảm tỉ lệ tử vong và chẩn đoán sớm sau sinh.

Kết quả: bệnh nhân thiếu enzym BKT chiếm tỉ lệ cao nhất trong 27 bệnh qua sàng lọc RLCHBS ở Việt Nam (14,4%) và bệnh thiếu enzym BKT trên thế giới (40%). Đặc điểm lâm sàng đặc trưng là các đợt nhiễm toan

xeton cấp không có triệu chứng giữa các cơn. Xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu thấy 97,5% tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu. Phát hiện đột biến gen T2 gây bệnh phổ biến là p.R208X, IVS10-1g>c (85%) và 5 đột biến mới. Thấy mối tương quan kiểu gen với biến đổi xét nghiệm đặc hiệu: tăng rõ rệt 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu với đột biến mất chức năng; không tăng hoặc tăng nhẹ 2MAA, 2M3HB trong đột biến còn chức năng. 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.

4. Cấu trúc của luận án

Luận án bao gồm 123 trang, bao gồm: Đặt vấn đề: 2 trang; Chương 1 - Tổng quan vấn đề nghiên cứu, 38 trang; Chương 2 - Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 17 trang; Chương 3 - Kết quả nghiên cứu: 32 trang; Chương 4 - Bàn luận: 31 trang; Kết luận: 2 trang; Kiến nghị: 1 trang. Luận án có: 26 bảng, 8 biểu đồ, 26 hình, 120 tài liệu tham khảo (07 tiếng Việt, 113 tiếng Anh).

CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Lịch sử phát hiện bệnh

Bệnh thiếu enzym BKT lần đầu tiên được mô tả như một bệnh RLCHBS của isoleucine bởi Daum và cộng sự, năm 1971. Đến 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 sự thiếu hụt của enzym BKT. Năm 1983, Middleton và Bartlett cũng nhận thấy BKT là chất xúc tác chuyển hóa 2-methylacetoacetyl-CoA. Năm 1988, Yamaguchi 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. Năm 1989 – 1990, Fukao và cộng sự đã phân lập và giải trình tự cDNA mã hóa cho enzym BKT ở người và thỏ và sử dụng phương pháp Northern-blot phát hiện ra dị hợp tử ở mức độ mRNA mã hóa enzym BKT. 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. Năm 1992, xác định được vị trí của gen T2 trên NST số 11. 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. Năm 1997 – 1998, bệnh đã được đưa vào chương trình sàng lọc sơ sinh mở rộng tại một số nước phát triển.

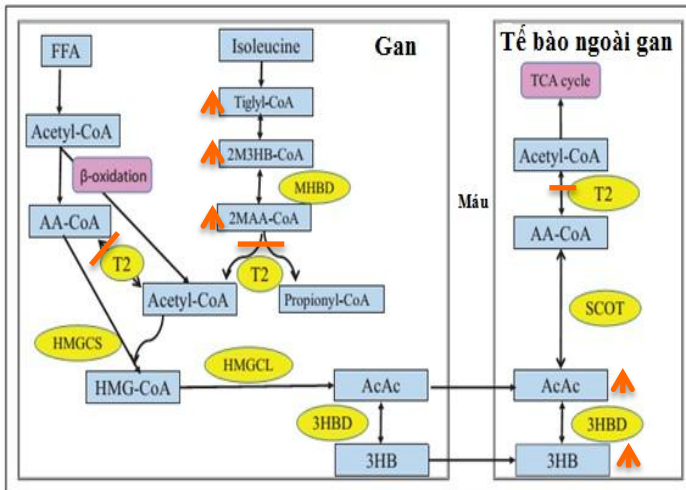
1.2. Khái niệm RLCHBS

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). 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.

1.3. Bệnh thiếu enzym BKT

Bệnh thiếu hụt enzym BKT là bệnh lý đột biến gen *T2* (*ACAT1*) mã hoá tạo ra enzym acetoacetyl CoA thiolase hay được gọi enzym T2 là enzym xúc tác quá trình chuyển hóa isoleucine và xeton trong cơ thể. 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 quá trình giáng hóa của thể xeton.

1.4. Cơ chế gây bệnh



Hình 1.1. Sơ đồ chuyển hoá của enzym BKT và cơ chế gây bệnh

Cơ chế gây bệnh của 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.

1.5. Nguyên nhân gây bệnh

Nguyên nhân gây bệnh là do đột biến gen *T2*, mã hóa cho enzym BKT. Đột biến gây bệnh đa dạng và đơn lẻ: 70 đột biến gen khác nhau/70 bệnh nhân. 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 hoạt độ enzym, đột biến được chia thành 2 nhóm: nhóm đột biến mất chức năng và nhóm 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.

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.

- Đặc điểm lâm sàng của bệnh là từng đợt cấp nhiễm toan xeton không có triệu chứng giữa các đợt cấp. Tuổi xuất hiện các cơn cấp thường từ 5 tháng đến 24 tháng.
- Toan chuyển hóa tăng khoảng trống anion: pH thường rất thấp dưới 7, HCO_3^- thấp (0-10 mmol/l), BE giảm nặng xuống tới - 30 mmol/l. Xeton niệu.
- Tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu.
- Giảm hoạt độ enzym BKT.
- Đột biến gen *T2* gây bệnh.

1.7. Điều trị

Nguyên tắc điều trị bệnh thiếu BKT:

- **Hạn chế cung cấp cơ chất:** Hạn chế protein và lipid để giảm sản xuất 2MAA, 2M3HB, TIG và các thể xeton.
- **Tăng cường hoạt động của enzym:** Hiện không cần biện pháp điều trị nào.
- **Tăng đào thải chất chuyển hóa độc:** Truyền Glucose liều cao để giảm sản xuất thể xeton. Sử dụng L. Carnitine để tăng đào thải 2MAA, 2M3HB, TIG. Bù Bicarbonat hoặc lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục khi toan chuyển hóa có pH < 7,1.
- **Cung cấp các chất chuyển hóa thiếu:** Truyền Glucose để cung cấp năng lượng thiếu hụt.

Điều trị cơn cấp: truyền Glucose (8-10mg/kg/phút), bù toan, L.Carnitine, điều trị triệu chứng: thở máy, vận mạch, lọc máu, kháng sinh, bù rối loạn điện giải...

Điều trị lâu dài: chế độ ăn hạn chế protein và lipid, cung cấp L.Carnitine, tư vấn phòng tránh cơn cấp, tư vấn di truyền.

1.8. Tiên lượng

Bệnh có tiên lượng tốt. Hầu hết các bệnh nhân phát triển bình thường sau các đợt cấp (80%) nếu được điều trị kịp thời. Khoảng 50% bệnh nhân có các cơn cấp tái phát xuất hiện trước 6 tuổi.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

41 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh thiếu enzym BKT.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân: tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu 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 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.

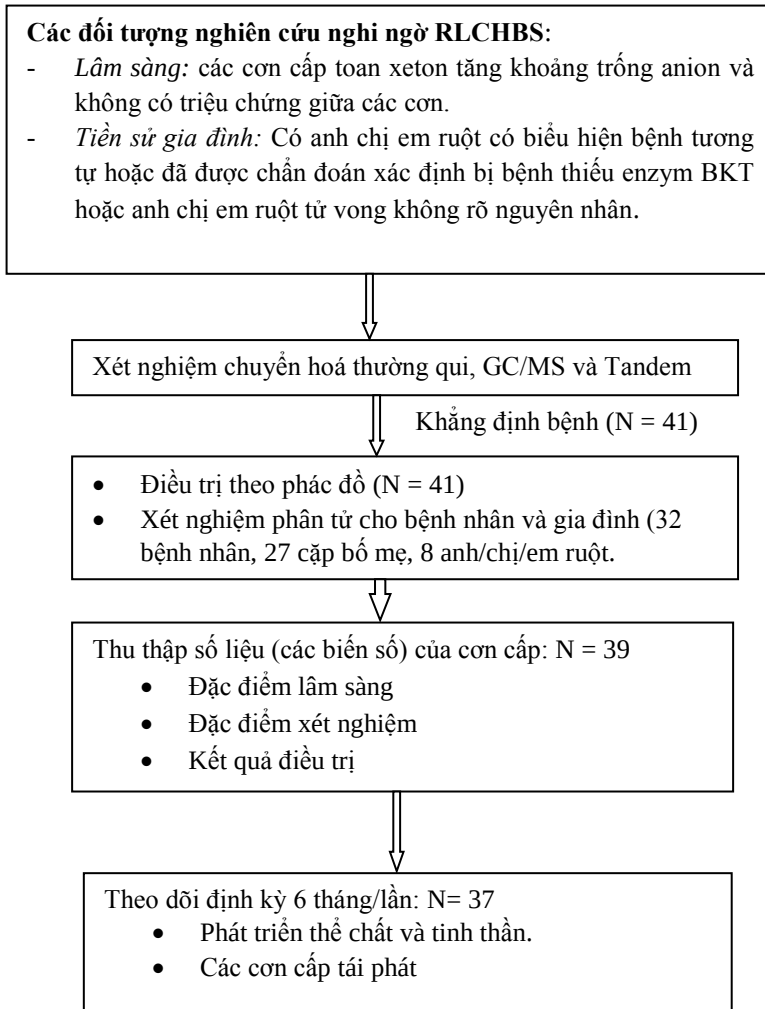
2.3.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu:

Cỡ mẫu toàn bộ. Phương pháp chọn mẫu theo sơ đồ nghiên cứu.

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

- Theo một mẫu bệnh án thống nhất để nghiên cứu.

Các biến số nghiên cứu: lâm sàng, xét nghiệm trong cơn cấp lần đầu, xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu, xét nghiệm phân tử, kết quả điều trị sau cơn cấp và lâu dài.



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

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 và acylcarnitine máu 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.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý theo thuật toán thống kê y học trên máy vi tính bằng chương trình phần mềm SPSS 16.0.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu:

Các xét nghiệm là cần thiết để chẩn đoán bệnh và điều trị, đơn giản, ít gây đau đớn, an toàn cho bệnh nhân. Bố mẹ bệnh nhân được giải thích về bệnh và đồng ý tham gia nghiên cứu

CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

3.1.1. Đặc điểm chung

41 bệnh nhân từ 34 gia đình khác nhau. 34 cặp bố mẹ không cùng huyết thống.

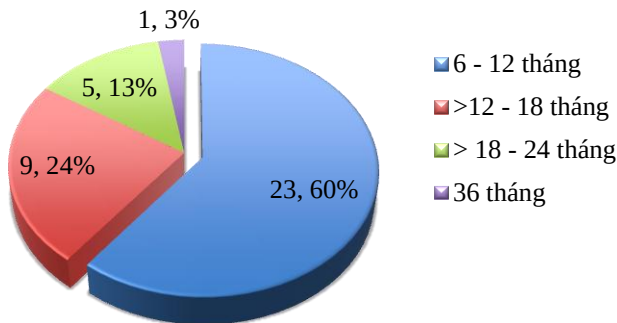
Tuổi chẩn đoán trung bình: $16,3 \pm 12,4$ tháng (3 ngày – 60 tháng).

39 bệnh nhân có cơn cấp chuyển hoá với tuổi xuất hiện cơn cấp lần đầu: $13,8 \pm 7,1$ tháng (6 – 36 tháng).

Tỉ lệ nam/nữ: 23/18.

41/41 bệnh nhân có tiền sử phát triển tâm thần vận động bình thường.

9/34 (26%) gia đình có anh/chị/em ruột có biểu hiện lâm sàng hoặc tử vong trong bệnh cảnh tương tự (nôn, khó thở, hôn mê).



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

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.

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% tổng số bệnh nhân.

3.1.3. Đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù

Bảng 3.1. 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 chỉ chưa có triệu chứng qua sàng lọc 21 anh/chị/em ruột của bệnh nhân bằng kỹ thuật GC/MS. 2 bệnh nhân 3 tuổi và 8 tuổi chưa có đợt cấp được chẩn đoán lúc 25 ngày tuổi và 55 tháng tuổi.

Bảng 3.2. Triệu chứng lâm sàng của cơn cấp lần đầu

Triệu chứng lâm sàng	N	%
Sốt	36/39	92
Nôn	35/39	90
Ỉa chảy	20/39	51
Ho/Sổ mũi	15/39	39
Viêm phổi	5/39	13
Thở nhanh	39/39	100
Mất nước	38/39	97
Li bì/Hôn mê	39/39	100
Co giật	6/39	15
Shock	6/39	15

Nhận xét: Dấu hiệu nhiễm trùng hô hấp (39%) hoặc đường tiêu hoá (51%) xuất hiện trước, sau đây là các biểu hiện khó thở và rối loạn ý thức.

87% bệnh nhân có mức độ hôn mê đáp ứng với đau (P/AVPU), 13% còn lại là hôn mê sâu không đáp ứng (U/AVPU).

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

Bảng 3.3. Biểu hiện xét nghiệm chuyển hóa thường quy trong cơn cấp lần đầu

Biểu hiện xét nghiệm	N	%
Toan chuyển hóa	39/39	100
Xeton niệu	36/36	100
Tăng glucose máu	11/39	28
Hạ glucose máu	3/39	8
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: 100% nhiễm toan xeton, 28% có tăng đường huyết.

Bảng 3.4. 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)
HCO ₃ ⁻ (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: Nhiễm toan nặng với pH trung bình 7,07 và tăng khoảng trống anion.

Bảng 3.5. Tình trạng đường máu

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

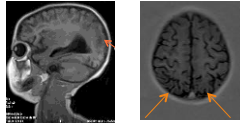
Nhận xét: có tới 11 bệnh nhân tăng glucose máu.

Mức độ ammoniac máu của 7 bệnh nhân tăng nhẹ với mức tăng cao nhất là 300 Mg/dl.

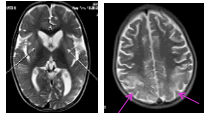
Mức độ tăng bạch cầu của 31 bệnh nhân cao nhiều từ 11 – 52 G/l, trong đó có 21 bệnh nhân (68%) bệnh nhân có bạch cầu ≥ 20 G/l và 5 bệnh nhân (16%) có bạch cầu ≥ 40 G/l.



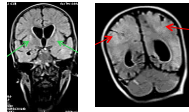
T1W



T2W



FLAIR

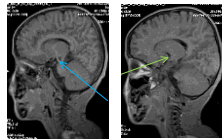


Tổn thương đối xứng của nhân đuôi và nhân bèo: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên trắng), tăng tín hiệu trên FLAIR (mũi tên xanh lá cây); Tổn thương vỏ não đối xứng vùng đỉnh chẩm: tăng tín hiệu trên T2W (mũi tên hồng) và FLAIR (mũi tên đỏ), giảm tín hiệu trên T1W (mũi tên cam); Teo não và giãn hệ thống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

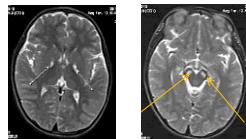
Hình 3.1. Ảnh và MRI sọ não của bệnh nhân 19



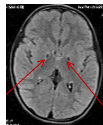
T1W



T2W



FLAIR



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 T1W (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 3.2. Ảnh và MRI sọ não bệnh nhân 21

3.1.4. Đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu

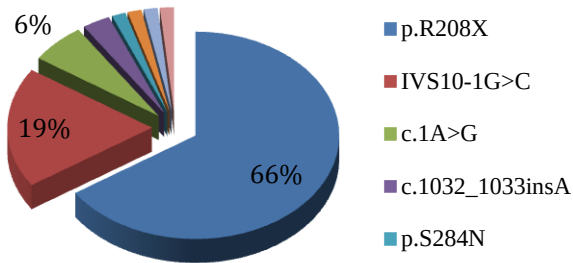
Bảng 3.6. Kết quả xét nghiệm phân tích acid hữu cơ niệu và định lượng acylcarnitine máu

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 38 không có bất thường về acid hữu cơ niệu.

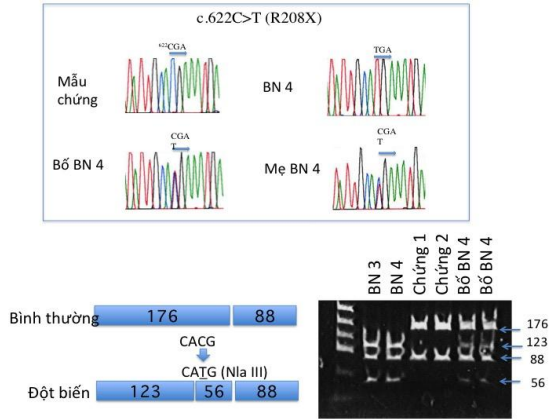
Mức độ tăng của chất 2M3HB là cao nhất (550,78 mol /mol Creatinine), tiếp theo là 2MAA (392,67 mol /mol Creatinine) và cuối cùng là TIG (231,39 mol /mol Creatinine). Mức độ tăng của 2MAA, 2M3HB, TIG trong giai đoạn cấp cao hơn hẳn trong giai đoạn ổn định. Mức độ tăng C5:OH và C5:1 trong giai đoạn cấp và giai đoạn ổn định không có sự khác biệt. Bệnh nhân 37 có mức tăng 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu thấp nhất.

3.2. Kết quả phân tích phân tử



Biểu đồ 3.2. Tỷ 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. 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 tỷ 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.



Hình 3.3. Hình ảnh đột biến p.R208X của bệnh nhân số 3 và 4

Nhận xét: Hình trên là hình ảnh giải trình tự gen trực tiếp của exon 7 gen *T2*. Hai hình dưới là hình ảnh phương pháp enzym giới hạn bởi *Nla* III để phát hiện p.R208X.

Bảng 3.7. Kiểu gen của bệnh nhân

STT	Kiểu gen của bệnh nhân	N	%
1	p.R208X/p.R208 X	16	50
2	p.R208X/IVS10 -1g>c	5	15,6
3	IVS10 -1g>c /IVS10 -1g>c	3	9,4
4	p.R208X/c.1032-1033insA	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/exon6-10del	1	3,1
9	c.163-167del5ins2/p.R208X	1	3,1

Chưa thấy mối liên quan kiểu gen với việc xuất hiện các đợt cấp, tuổi xuất hiện cũng như tổn thương não và tăng amonioc máu. Nghiên cứu 5 cặp anh chị em được phân tích gen thấy kiểu hình khác nhau.

Bệnh nhân số 37, 38 có kiểu gen c.1A>G/c.1A>G thì không tăng và tăng nhẹ 2MAA, 2M3HB, TIG niệu, C5:1 và C5:OH máu.

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

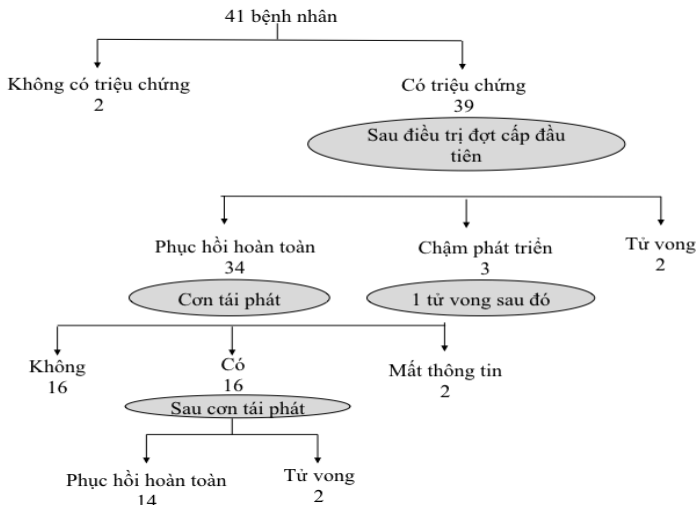
Bảng 3.8. Phương pháp điều trị

Phương pháp điều trị trong cơn cấp (N=39)	N	%
• Truyền Glucose	39	100
• Kháng sinh	38	97
• Bù toan bằng Bicarbonat	37	95
• L. Carnitine	33	85
• Thở máy	16	41
• Insulin	5	13
• Thuốc vận mạch	5	13
• Lọc máu tĩnh mạch – tĩnh mạch liên tục	4	10
• Điều trị rối loạn điện giải đồ	4	10
Phương pháp điều trị lâu dài (N=37)	N	%
• Chế độ ăn	37	100
• L. Carnitine	37	100

Nhận xét: Trong quá trình điều trị cơn cấp 4 bệnh nhân không cải thiện tình trạng nhiễm toan sau 3- 6 tiếng đã được tiến hành lọc máu

Thời gian lọc máu của bệnh nhân từ 1 – 3 ngày. Thời gian bệnh nhân cần thở máy cũng từ 2 – 3 ngày. Thời gian nhiễm toan trung bình của bệnh nhân là 37 tiếng.

3.3.2. Kết quả điều trị



Hình 3.4. Sơ đồ kết quả điều trị

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

Thời gian theo dõi điều trị trung bình là $4,1 \pm 2,7$ năm (0,5 – 10 năm). Tuổi bệnh nhân hiện tại trung bình là $5,6 \pm 2,7$ (1 – 11 tuổi).

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 3.9. 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

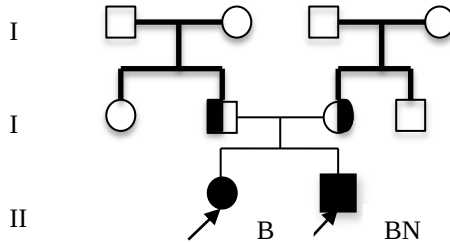
Bảng 3.10. Phát triển tinh thần vận động theo test Denver II

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

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.



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

Chẩn đoán lúc 3 ngày, đến 6 tháng xuất hiện

Gia đình cặp bệnh nhân 8, 20



Hình 3.10. Ảnh bệnh nhân 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. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

4.1.1. Đặc điểm chung

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%, 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. 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 dần 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. 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. 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.

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.

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.

21 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 con cấp. Phát hiện được 3 bệnh nhân chưa có triệu chứng. Đó là bệnh nhân số 20, số 26, số 27 được chẩn đoán qua sàng lọc lúc 3 ngày, 55 tháng, 25 ngày tuổi. Cho tới nay chỉ có bệnh nhân số 20 đã xuất hiện con cấp lần đầu lúc 6 tháng tuổi. Còn bệnh nhân số 26 và số 27 là chưa có con 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 con cấp lần đầu lúc 6 tuổi. 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 con cấp. 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 con cấp.

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. Việc chẩn đoán được bệnh bằng định lượng acid hữu cơ niệu cho các anh/chị/em ruột của bệnh nhân khi chưa có triệu chứng 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.

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.

4.1.2. 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%. Vì Bệnh viện Nhi Trung ương là trung tâm đầu tiên của Việt Nam nghiên cứu cũng như có hệ thống chẩn đoán và điều trị bệnh trên toàn quốc.

Trong suốt trên 10 năm vừa qua, 2886 đối tượng được sàng lọc nguy cơ cao và phát hiện 284 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 14,4%) ở Việt Nam và 40% tổng số bệnh nhân trên thế giới. 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. Vì không có sàng lọc sơ sinh mở rộng trên toàn quốc về nhóm bệnh này nên không tính được tỉ lệ mắc nhưng qua số lượng trẻ em sinh ra trong 10 năm trong 16 tỉnh thành ta 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 và tại Minnesota là 1/232.000. Để tìm hiểu tại sao tỉ lệ mắc ở Việt Nam cao, 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. Tại sao Việt Nam có số lượng bệnh nhân lớn thế vẫn là một câu hỏi.

4.1.3. Đặc điểm của cơn cấp chuyển hoá mất bù

39/41 bệnh nhân chiếm 95% có cơn cấp chuyển hoá mất bù. 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. Bệnh có thể bị bỏ sót chẩn đoán ngay cơn cấp đầu tiên nếu như các bác sĩ không có nhận thức về nhóm bệnh RLCHBS và bệnh nhân vô tình được thoát khỏi cơn cấp mất bù do được truyền glucose và bù toan.

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%), rối 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.

Biểu hiện nổi bật của các xét nghiệm thường quy là 100% bệnh nhân có toan chuyển hoá nặng với pH trung bình 7,07 và tăng khoảng trống anion trung bình là 26. Kết quả này giống với kết quả nghiên cứu của tác giả Fukao: pH từ 6,76 – 7,3. 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. 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. 100% bệnh nhân có xeton niệu. 28% bệnh nhân có tăng glucose máu với mức độ 13,5 – 23,3 mmol/l. 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. 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 và không có gan lách to, 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 lactat máu tăng cao.

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.

4/28 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 thằm 2 bên: tăng tín hiệu trên T2W, giảm tín hiệu trên T1W; tổn thương và teo não vùng đỉnh chằm 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 nhọt 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 gập cứng, chậm phát triển tâm thần nhẹ. Nhận thấy tổn thương não trên phim MRI trên thế giới là tổn thương vùng nhân bèo, nhân đuôi. 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 $p < 0,05$. Ngoài ra,

các chất chuyển hoá trung gian ứ đọng 2MAA, 2M3HB, TIG có thể gây tổn thương não. Tổn thương nhân bào, 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.

4.1.4. Đặc điểm của xét nghiệm hoá sinh đặc hiệu

97,5% bệnh nhân có tăng 2M3HB và TIG niệu. 7/8 bệnh nhân có tăng thêm 2MAA do được phân tích acid hữu cơ niệu từ bệnh phẩm 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. Do đó xét nghiệm ngay lúc cơn cấp sẽ có chẩn đoán chính xác hơn.

97,5% 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 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.

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.

4.2. 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. Tỉ lệ tìm thấy đột biến của bệnh nhân trên thế giới cũng là 100%. 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%. 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_167delinsAA gây mất 2 acid amin Phenylalanine, Leucine và chèn 1 acid amin Lysine chiếm 12,5%.

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. 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 đầu tiên trên thế giới p.R208X (66%) và IVS10-1g>c (19%) ở bệnh nhân Việt Nam. Đột biến p.R208X đã được tìm thấy ở bệnh nhân Hà Lan, Trung Quốc. 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%. Điều này có lẽ do tỉ lệ hôn nhân trong cùng làng xóm ở Việt Nam cao. Tuy các tất cả bố mẹ bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đều không cùng huyết thống nhưng hầu hết họ đều sinh ra cùng thôn/xóm hoặc cùng huyện. Với đặc điểm của di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, bệnh thường không xuất hiện ở các thế hệ trước nhưng alen đột biến được truyền từ đời trước sang đời sau. Như vậy, alen đột biến p.R208X cứ được nhân dần lên theo năm tháng và cùng với truyền thống lấy cùng địa dư có thể là nguyên nhân tạo nên đột biến phổ biến p.R208X ở Việt Nam.

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

8 loại đột biến được phân thành 9 kiểu gen. 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. Nhận thấy có mối liên quan giữa đột biến gen và biến đổi đặc hiệu của acid hữu cơ niệu và acylcarnitine máu. 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 μ mol/l), C5:OH (0,8 – 13,8 μ mol/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.

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 amonioc máu

4.3. Phương pháp và kết quả điều trị

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

39 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. 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.

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). 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.

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. Thời gian khí máu về bình thường trong nghiên cứu của chúng tôi là 37,4 giờ.

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).

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

4.3.2. Kết quả điều trị

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%. Tỉ lệ di chứng chậm phát triển tâm thần vận động là 7,3%.

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 và trung bình là 22 tháng tuổi. Như vậy, tần suất tái phát cơn sẽ giảm theo độ tuổi.

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 dưới từ - 2 SD đến 0 SD (biểu đồ 3.8) và 82,3% bệnh nhân có cân nặng ở vùng giới hạn dưới từ - 2 SD đến 0 SD (biểu đồ 3.9). Trên thế giới chưa có thông kê về phát triển thể chất chiều cao, cân nặng của nhóm bệnh này nhưng trên báo cáo lẻ tẻ các ca bệnh thì thấy bệnh nhân có phát triển thể chất bình thường nhưng cũng ở giới hạn thấp của bình thường. Việc giám sát chế độ ăn là quan trọng để bệnh nhân đạt được phát triển như trẻ bình thường. 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. Đây là cơ sở dữ liệu để theo dõi phát triển thể chất của nhóm bệnh cũng như hiệu quả điều trị bệnh.

Qua phân tích các yếu tố tiên lượng nặng, chúng tôi nhận thấy co giật, sốt, thở máy và tăng amoniac máu là các yếu tố tiên lượng nặng trong các đợt cấp với p là 0,001; 0,008; 0,013; 0,035 tương ứng. Các nghiên cứu theo dõi lâu dài trên thế giới thấy có 2 bệnh nhân nữ mang thai và sinh con khoẻ mạnh.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 41 bệnh nhân thiếu enzym BKT trong hơn 10 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 (14,4%) cũng như trên toàn thế giới (40% tổng số ca bệnh thiếu enzym BKT).
- 95% bệnh nhân có cơn cấp chuyển hoá với đặc điểm 97,5% có tuổi xuất hiện 6 – 24 tháng, trung bình là 13,8 tháng; 97,5% yếu tố khởi phát là nhiễm trùng tiêu hoá và hô hấp; 100% biểu hiện lâm sàng của nhiễm toan nặng như thở nhanh, li bì/hôn mê với $\text{pH} < 7,1$, khoảng trống anion tăng trung bình là 26 và có xeton niệu.
- Đặc điểm của xét nghiệm chuyển hoá đặc hiệu: 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, xóa 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, xóa đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA.
- 8/9 kiểu gen là đột biến mất chức năng có tăng rõ rệt 2MAA, 2M3HB, TIG niệu và C5:1, C5:OH máu.
- Chưa có 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, sốt, thở máy và tăng amoniac là các yếu tố tiên lượng nặng tương ứng với p là 0,001; 0,008; 0,013; 0,035.

KHUYẾN 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.

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

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. Nguyen Ngoc Khanh (2013). Betaketothiolase deficiency in a referral 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. Nguyen Ngoc Khanh (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. Journal of inherited metabolic disease. DOI 10.1007/s10545-017-0026-6.

MINISTRY OF EDUCATION & TRAINING

MINISTRY OF HEALTH

HANOI MEDICAL UNIVERSITY



NGUYEN NGOC KHANH

**STUDY ON PHENOTYPE, GENOTYPE, OUTCOME
OF BETA-KETOTHIOLASE DEFICIENCY
IN VIETNAM**

Major: Pediatrics

Code: 62720135

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS

Hanoi - 2017

**Doctoral thesis is completed
AT HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

Supervisors: Nguyen Thi Hoan

Reviewer 1: A.Prof. Nguyen Phu Dat

Reviewer 2: A.Prof. Tran Van Khoa

Reviewer 3: Dr. Tran Thi Chi Mai

Doctoral thesis will be evaluated at thesis evaluation council at
Hanoi Medical University.

On ...a.m/ p.m// 2016

You can find the thesis at:

- The National Library
- Library of Hanoi Medical University
- Library of Central Medicine Information

1. Introduce

Beta-ketothiolase (BKT) deficiency is an inherited metabolic disease of isoleucine and ketone body metabolism caused by mutations in the *T2* gene. Since the first report of BKT deficiency by Daum et al., in 1971, more than 90 patients with this disorder have been identified worldwide. BKT deficiency is clinically marked by intermittent ketoacidotic episodes of variable severity; no symptoms exist during stable conditions. Infections, excess protein eating were frequent trigger factors. Onset ages of the first episodes were 6 – 24 months old. Patients may be died or mental consequences if early and adequate management have been not done. The disease have good outcome with 80% normal development patients. 70 different mutations were identified among 70 patients. There were no correlations between genotype and severity or onset age of acute episode. During the period from 2005 up to now (2016), we have diagnosed 41 Vietnamese patients with BKT deficiency through screening program high risk of inherited metabolic disease. This may be the highest ever reported number of patients from a single country or ethnic group. To approach diagnosis, adequate management and genotype of Vietnamese BKT deficiency patients, we carried out the study “Study on phenotype, genotype, outcome of BKT deficiency in Viet Nam”.

2. Objectives

1. *Describe clinical and laboratory characteristics of BKT deficiency patients.*
2. *Identify T2 gene mutations of patients and some of family patients' members of BKT deficiency.*
3. *Evaluate outcome of BKT deficiency.*

3. Practical significance and contribution of the study

It is the first and comprehensive study on BKT deficiency in Vietnam. The study had great practical significance with describing clinical and laboratory characteristics of BKT deficiency to gain early diagnosis and adequate management to reduce rate of mortality, consequences. Early diagnosis with patients with asymptomatic are confirmed by urinary organic aciduria by GC/MS method. Vietnamese common and 5 novel mutations of *T2* gene were identified. It is the evidence for genetic counseling to reduce rate of mortality.

Results: Patients with BKT deficiency were the largest in 27 kinds of inherited metabolic disease through high risk newborn screening in Vietnam (14,4%) as well as in the total numbers of BKT deficiency patients worldwide (40%). Clinical characteristics was intermittent ketonic acidosis and asymptomatic between episodes. Results of metabolic chemistry

revealed 97,5% of elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH. The common mutations of *T2* gene were p.R208X, IVS10-1g>c (85%). 5 novel mutations of *T2* gene were identified (IVS10-1g>c, c.1032_1033insA, p.S284N, exon 6 -11del, c.163_167delinsAA). There was a correlation between genotype and metabolic chemistry abnormalities: clearly elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH in null mutations; normal or mild elevated urinary 2MAA, 2M3HB in residual mutations. The outcome was good: 83% complete recover, 7% mental consequences, 12% death. 100% were normal growth rate according to growth chart - WHO 2007.

4. Structure of the thesis

The doctoral thesis included 123 pages with: Introduction: 2 pages; Chapter 1 – Overview of research: 37 pages; Chapter 2: Subjects and Methods: 17 pages; Chapter 3: The results of research: 33 trang; Chapter 4: Discussions: 31 pages; Conclusions: 2 trang; Suggestions: 1 pages. The thesis included: 26 tables, 8 charts, 25 figures, 120 references (07 Vietnamese, 113 English).

CHAPTER 1 OVERVIEW

1.1. History of the diseases

BKT deficiency disease was the first report by Daum et al. (1972), who described it as an inherited disorder of isoleucine catabolism. Later, it was found that this disease is not a defect of isoleucine degradation itself and that the deficient enzyme is the K⁺-dependent MAT, which plays a major role in ketone body metabolism (Robinson et al., 1979). Four thiolases: mt 3-ketoacyl-CoA thiolase, MAT, cytosolic acetoacetyl-CoA thiolase, and PKT have been identified in mammals (Miyazawa et al., 1981). It was also reported that MAT acts on 2-methylacetoacetyl-CoA and that no activity with this substrate is observed in fibroblast extracts of 3KTD patients (Middleton and Bartlett, 1983). We made an immunochemical analysis of the fibroblasts from several 3KTD patients and noted a defect in the biosynthesis of MAT, and that the disease is molecularly heterogeneous among the patients (Yamaguchi et al., 1988; Nagasawa et al., 1989). We cloned and sequenced rat and human MAT cDNAs and also found, using Northern-blot analysis, heterogeneity at the level of MAT mRNA expression (Fukao et al., 1989; 1990). To examine this clinical disorder at the DNA level, we cloned the human gene for this enzyme using the corresponding human cDNA as a probe and the structure was analyzed. In 1992, *T2* gene was located in Chromosome 11. Urinary organic acid analysis by GC/MS

technique was used to diagnose the disease in 1992. 1997 – 1998, the disease was selected to expand newborn screening in some developed countries.

1.2. Inborn errors of metabolism

Inborn errors of metabolism (IEM) is called by Achibald Garrod to describe molecular diseases result in defect of metabolism due to deficiency of enzyme, receptor, carrier protein and cofactor. Until now, there are 1000 kinds of IEM. There are also many diferente classicfications of IEM but pathobiochemical and pathophysiological mechanism classicfication are practical signification.

1.3. BKT deficiency

Beta-ketothiolase deficiency is an autosomal recessive disease caused by a defect of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) due to mutations of *T2* (*ACAT1*) gene located in chromosome 11q22.3 to q23.1. This disorder affects ketone body metabolism and isoleucine catabolism. The disease was classicfied to organic aciduria as well as energy group.

1.4. Pathophysiological mechanisms

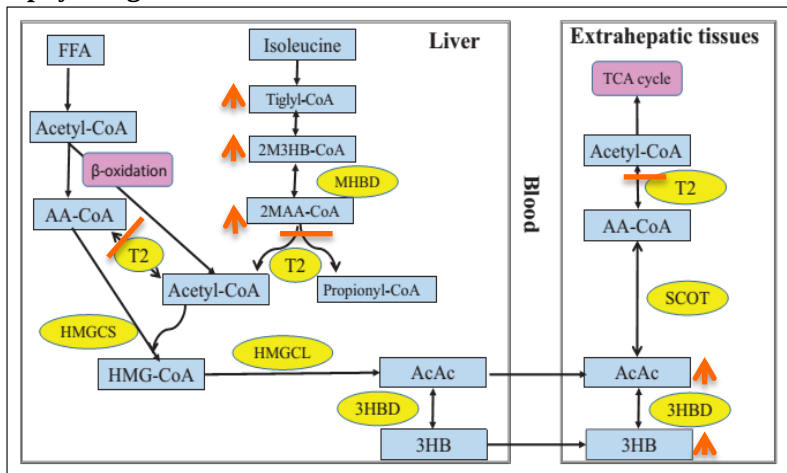


Figure 1.1. Metabolism of BKT and pathophysiological mechanism

The pathophysiological mechanism is the interruption of isoleucine metabolism result in elevated 2-methylacetoacetate (2MAA), 2-methyl 3hydroxybutyrate (2M3HB), tigglyglycine (TIG). 2MAA and 2M3HB may damage brain. In addition, elevated body ketones (AcAc, 3HB) result in metabolic acidosis. The metabolic acidosis condition affect on body metabolism, then damage many organ functions. Interruption of ketolysis cause defect of energy for Krebs cycle.

1.5. Etiology

The cause of BKT deficiency is mutations of *T2* gene. Genetic mutations resulting in *T2* deficiency are highly heterogeneous: more than 70 different mutations/70 patients have been discovered, with no clear genotype–phenotype correlation. Mutations of *T2* were divided to 4 groups: 1) Missense mutations, 2) Nonsense mutations, 3) Frameship mutations, 4) Slipping site mutations. Base on enzyme activity, mutations were divided to 2 groups: null mutations and residual mutations. There were the correlation between genotype and abnormalities of urinary organic acids and blood acylcarnitine. Patients with null mutations were clearly elevated urinary 2M3HB, TIG, 2MAA and blood C5:1, C5:OH. Patients with residual mutations were no special abnormalities for BKT deficiency.

1.6. Diagnosis

Base on clinical and laboratory characteristics, abnormalities of special biochemistry, enzyme assay, molecular analysis.

- Clinical characteristics: Intermittent ketone acidosis with asymptomatic between episodes. Age of acute episode was 5 – 24 months old.
- Severe acidosis with increased anion gap: pH < 7, low HCO₃ (0-10 mmol/l), low BE – 30 mmol/l. Ketonuria.
- Increased urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH.
- Decreased BKT enzyme activity.
- Mutations of *T2* gene.

1.7. Management

Principle of management:

- **Substrate limitation:** Protein and lipid limitations to reduce 2MAA, 2M3HB, TIG and body ketone.
- **Enzyme enhance:** not yet.
- **Detoxifying enhance:** Glucose infusion to reduce body ketone. L. Carnitine supplement to reduce 2MAA, 2M3HB, TIG. Bicarbomat or venous-venous continuous hemofiltration if pH < 7.1.
- **Deficient metabolites supplement:** Glucose infusion for energy.

Acute management: Glucose infusion (8-10mg/kg/min), acidosis correction, L.Carnitine supplement, symptomatic treatment: mechanical

ventilation, vasodilations, hemofiltration, antibiotics, corrections of electrolyte disorders...

Long-term management: diet therapy without excess of protein and lipid, L.Carnitine support, prevention of acute episodes, genetic counseling.

1.8. Prognosis

The disease is good prognosis. Most of patients were normal development after acute episodes (80%). 50% patients had recurrent episodes before 6 years old.

CHAPTER 2

SUBJECTS AND METHODS

2.1. Subjects

41 patients were diagnosed of BKT deficiency.

Selective criterias: elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and/or T2 gene mutations.

Excluded criteria: patients without informations.

2.2. Time and location:

The study was carried out in Vietnam National Children's Hospital in the project of collaboration with Shimane Institute and Gifu Institute, Japan from 01/2015 to 06/2016.

2.3. Methods

2.3.1. Design:

Past and future descriptive study for clinical and laboratory characteristics and genotypes. Past and future analytic study for the outcome after and before the management.

2.3.2. Sample size and technique:

Simple random sampling. Selecting sample as the study chart.

2.4. Variables and collecting:

- Collecting informations to study form.

Variables: clinical, laboratory characteristics in the 1st acute episode, special metabolic biochemistry, molecular analysis, outcome.

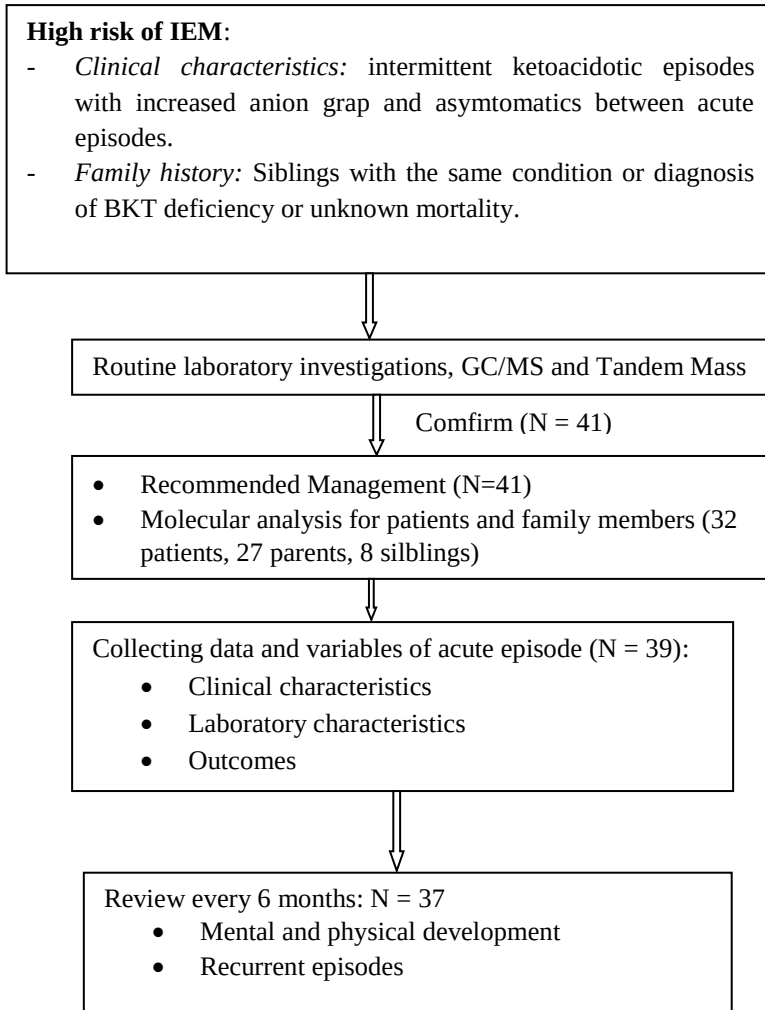


Fig 2.1. Study Chart

Technique of collection variables:

- Clinical examination by physician in Emergency Department and Endocrinology-Metabolism-Genetics Department.
- Evaluation of Denver test by psychologist in Psychology department.
- Measurement of weight and height by nurses in Endocrinology-Metabolism-Genetics Department.

- Routine laboratory by automatic biochemical analyzer in National Children's Hospital.
- Special biochemical analyzer as urinary organic acid and blood acylcarnitine profile were done in Shimane Institute – Japan and Vietnam National Children's Hospital.
- Molecular analysis were done in Gifu Institute – Japan.

2.5. Statistic analysis

Study data was analyzed by medical statistic in SPSS 16.0.

2.6. Ethical issues in researching:

Investigations is necessary and safety to diagnosis and management. Families agreed with the study.

CHAPTER 3 RESULTS

3.1. Clinical and laboratory characteristics

3.1 1. Demographics.

41 patients from 34 different and unrelated families.

Average age of diagnosis: $16,3 \pm 12,4$ months (3 days – 60 months).

39 patients had acute episodes with average onset age of $13,8 \pm 7,1$ months (6 – 36 months).

Male/Female ratio: 23/18.

41/41 patients had normal mental development.

9/34 (26%) families had siblings who presented the same condition or mortality (vomiting, dyspnea, coma).

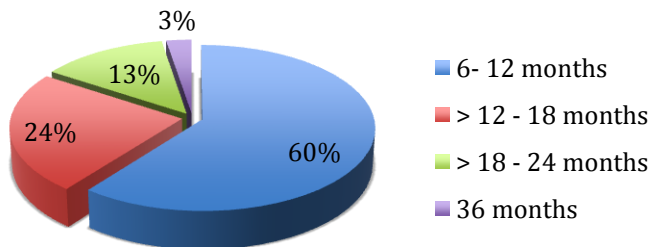


Chart 3.1. Age frequency of 1st acute episode

Note: Onset age before 24 months old accounted 97,5%.

3.1.2. Geographic and ethnic characteristics

Most of patients were located in Northern and Northern Middle. 70% patients lived around Hanoi. There were only 3 patients living in Southern and Danang. All patients is Kinh ethnic.

Screening 2886 high risk subjects of IEM in Vietnam National Children's Hospital, we identified 284 patients including 27 different kinds of IEMs. BKT deficiency is the most common accounted 14,4%.

3.1.3. Characteristics of 1st acute episode

Table 3.1. Time of diagnosis

Time of diagnosis	N	%
In the 1 st episode	32	78,1
In the recurrent episode	6	14,6
Asymptomatic	3	7,3

Note: 38 patients were diagnosed when their symptoms appeared. 3 patients were diagnosed with asymptomatic by high risk screening of 21 siblings. 2 patients with asymptomatic are 3 and 8 years old in present.

Table 3.2. Clinical features of 1st episode

Symptoms	N	%
Tachypnea	39/39	100
Lethargy/Coma	39/39	100
Dehydration	38/39	97
Fever	36/39	92
Vomiting	35/39	90
Diarrhea	20/39	51
Cough/Sneezing	15/39	39
Shock	6/39	15
Convulsion	6/39	15
Pneumonia	5/39	13

Note: Symptoms of initial infections appeared, then tachypnea and coma.

87% patients presented coma with pain degree (P/AVPU), the rest of 13% presented deep coma (U/AVPU).

89% patients presented dehydration degree B, 11% of degree C dehydration.

Table 3.3. Laboratory characteristics of 1st episode

Laboratory features	N	%
Leukocytosis	30/31	96,7
Acidosis	39/39	100
Ketonuria	36/36	100
Hyperglycemia	11/39	28
Hyperammonemia	7/31	22,5
Pumonary lessions in lung XR	5/37	13,5
Hypoposstasium	4/35	11,5
Brain lesion in CT Scanner/MRI	4/28	14,2
Hypoglycemia	3/39	8

Note: 100% ketontic acidosis, 28% hyperglycemia.

Table 3.4. Degree of acidosis

Degree of acidosis	N	Average (Min – Max)
pH	39	7,07 ± 0,11 (6,84 – 7,26)
HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	39	3,3 ± 1,9 (0 – 10,7)
BE (mmol/l)	39	- 25,1 ± 3,8 (- 30 – - 17)
Anion grap	39	26,7 ± 1,9 (20 – 30)

Note: Severe acioidis pH 7.07 and increased anion grap.

Table 3.5. Degree of blood glucose

Glucose máu (mmol/l)	N	Average (Min-Max)
Hypoglycemia <2,7	3	2,1 ± 0,4 1,7 – 2,6
Hyperglycemia ≥ 11,1	11	17,8 ± 3,5 13,5 – 23,3
Normal blood glucose 2,8 – 11	25	6,1 ± 1,9 3,9 – 10,3

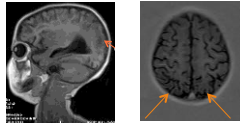
Note: 11 patients with hyperglycemia.

Degree of hyperammonemia of 7 patients were mild with the highest of 300 Mg/dl.

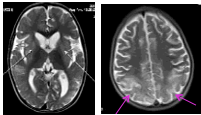
Degree of leukocytosis of 31 patients were 11 – 52 G/l, and 21 patients had ≥ 20 G/l, 5 patients (16%) had ≥ 40 G/l.



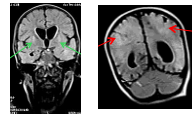
T1W



T2W



FLAIR

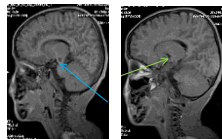


Lesions of bilateral head of caudate nucleus and putamen: hyperintensity in T2W (white arrow), FLAIR (green arrow); Brain cortex lesions of bilateral parieto-occipital lobes: hyperintensity in T2W (pink arrow), FLAIR (red arrow), hypointensity in TW1 (orange arrow); Cerebral atrophy and dilated ventricular system: T2W, T1W, FLAIR.

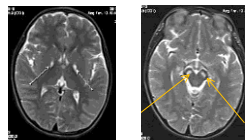
Figure 3.1. Picture and brain MRI of Patient 19



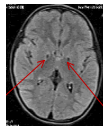
T1W



T2W



FLAIR



Lesions of bilateral globus pallidus: hyperintensity in T2W (white arrow), hypointensity in FLAIR (red arrow), hypointensity in TW1 (blue arrow); Lesions of substantia nigra: hyperintensity in T2W (orange arrow), hypointensity in T1W (green arrow)

Figure 3.2. Picture and brain MRI of patient 21

3.1.4. Special metabolic biochemistry characteristics

Table 3.6. Profile of organic aciduria and blood acylcarnitine

Results		Dried blood (N=39) & urine (N=33) samples	Fresh urine samples (N=8)
GC/MS	Elevated 2MAA	Undetected	7/8
	Elevated 2M3HB	33/33 (100%)	7/8
	Elevated TIG	33/33 (100%)	7/8
Tandem Mass	Elevated C5:1	38/39 (97,4%)	
	Elevated C5:OH	38/39 (97,4%)	

Note: 97,5% patients revealed elevated urinary 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH. 7/8 patients revealed elevated urinary 2MAA in fresh urine samples. Patient 38 was not abnormalities of organic acid profile.

Urinary 2M3HB degree is highest (550,78 mol /mol Creatinine), next to 2MAA (392,67 mol /mol Creatinine) and finally TIG (231,39 mol /mol Creatinine). Urinary 2MAA, 2M3HB, TIG degree is higher in the acute episodes than in the stable condition. Blood C5:OH và C5:1 degree is no difference between in acute and stable condition. Patients 37 had the lowest degree of urinary 2MAA, 2M3HB, TIG niệu and blood C5:1, C5:OH.

3.2. Results of molecular analysis

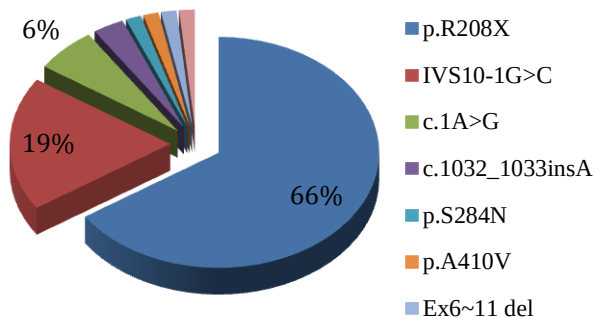


Chart 3.2. Incidence of T2 gene mutations

Note: 32 patients from 27 different families were molecular analyzed and identified mutations in 100%. 8 kinds of different mutations were identified. p.R208X is the most common mutation accounted 66%, next to IVS10-1g>c accounted 19%. Molecular screening for 8 siblings with asymptomatic of patients 2, 4, 5, 15, we identified 2 older sister of patients 2 and brother of patients 15 with carrier of p.R208X and p.A410V. 27 parents were carriers.

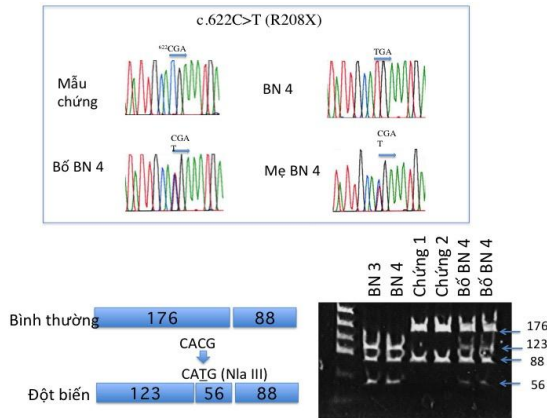


Figure 3.3. Picture of p.R208X mutation of patients 3 & 4

Note: The above picture: direct sequencing of exon 7 of T2 gene. The below pictures: Restricted enzyme by Nla III to identify mutation p.R208X.

Table 3.7. Genotype of patients

STT	Genotype	N	%
1	p.R208X/p.R208 X	16	50
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

There were not correlation between genotypes and acute episode incidence, onset age, brain MRI, heperammonemia. Analysis of 5 pairs of siblings found that different phenotypes occurred in the siblings.

Patients 37, 38 with genotype of c.1A>G/c.1A>G revealed no abnormalities or mild elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH.

3.3. Management and outcomes

3.3.1. Acute and longterm management

Table 3.8. Management

Acute management (N=39)	N	%
• Glucose infusion	39	100
• Antibiotics	38	97
• Acidotic correction by Bicarbonat	37	95
• L. Carnitine	33	85
• Machenical ventilation	16	41
• Insulin	5	13
• Vasolidations	5	13
• Continuous venous-venous hemofiltration	4	10
• Correction of electrolyte disorders	4	10
Longterm management (N=37)	N	%
• Diet therapy	37	100
• L. Carnitine	37	100

During hemofiltration of patients were 1 – 3 days. During machenical ventilation were 2 – 3 days. During average acidosis was 37 hours.

3.3.2. Outcomes

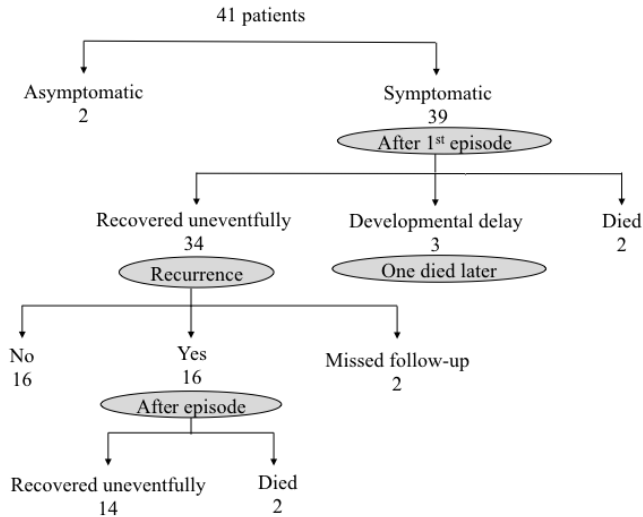


Figure 3.4. Outcome chart

Note: 2 patients are asymptomatic until 3 & 8 years old. 5 patients died accounted 12,2 %. 3 patients were mental consequences. 34 patients recovered after the 1st episodes. In present, 34 patients were follow-up. Mean management during was $4,1 \pm 2,7$ year (0,5 – 10 year). Mean age was $5,6 \pm 2,7$ years old (1 – 11 years old).

16 patients had recurrent episodes from 9 to 53 months old with mean age of 22 months old. 2 patients had more than 3 recurrent episodes.

Table 3.9. Physical development compare with WHO growth chart 2007

Physical development		N	%
Heigh	< - 2SD	0	0
	- 2SD – 0SD	31	91,2
	> 0SD – 2SD	3	9,8
Weight	> 2SD	0	0
	- 2SD – 0SD	28	82,4
	> 0 - 2SD	6	17,6

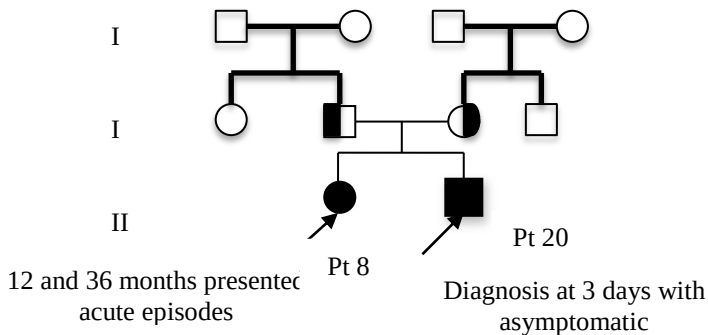
Table 3.10. Metal development with test Denver II

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

Bảng 3.20. High risk factors

Factors	Chi Square Test		P
	Value	Df	
Sex	3,486	1	0,062
Convulsion	11,482	1	0,001
Shock	8,048	1	0,008
Machenical ventilation	7,042	1	0,013
Recurrent episodes	1,005	4	0,909
	T student Test		P
	T	Df	
Onset age	-0,083	37	0,934
During before admission	-0,454	37	0,653
pH	0,297	35	0,768
HCO ₃	-1,757	35	0,088
Blood Glucose	0,435	35	0,666
Blood Amoniac	-2,216	29	0,035

Note: Convulsion, shock, machenical ventilation, hyperammonemia were high risk factor with p: 0,001; 0,008; 0,013; 0,035, respectively.



Patient family 8, 20



Figure 3.10. Picture patients 8, 20.

Note: Sister had 2 episodes and diagnosis at the 2nd episode. Brother was diagnosed at 3 days by GC/MS screening. The brother was treated with diet therapy and L.Carnitine and presented mild episode at 6 months old.

CHAPTER 4

DISCUSSION

4.1. Clinical and laboratory characteristics

4.1.1. Demographics

Onset age was 6 – 36 months old with mean age 13.8 months old. Age group 6 – 12 months old was 60%, next to >12 - 24 months old was 37%. The result is the same with the study of Fukao on 26 patients: mean age of onset was 15 months old and the youngest and oldest patients was 3 day and 48 months old, respectively. There was only patient with onset age of 3 days old in Spain. The age of onset was explained of metabolic physiology and pathophysiological mechanism. Firstly, after the first 6 months of age, maternal immunology starts reduced result in high risk of infections. And infection is cause of triggers of acute episodes. Because mitochondrial medium-chain 3-ketoacyl-CoA thiolase (T1) can partially compensate for T2 deficiency in ketone body utilization, ketogenic triggers such as prolonged fasting, infection, and protein-rich foods play an important role in disrupting this compensation and precipitating acute ketoacidosis. Such triggers are less

likely to be present in the first 3–6 months after birth because of frequent feeding, protective maternally acquired immuno- globulins, and the relatively lower protein content of breast and ordinary milk formulas. On the other hand, older children develop ketosis slower than younger children, thanks to decreased energy demands relative to body weight coupled with increased muscle mass, which provides a protein reservoir for gluconeogenesis

All patients had normal mental development before the 1st episode. This is the point to distinction of other organic acidurias as methylmalonic acidemia, propionic acidemia, HSD10. Because most of patients of this disorders had development delay.

Family history with siblings who presented the same condition or unknown mortality or suffer from BKT deficiency was 9/34 (26%). Among of them, 7 pairs of siblings were management in Natinal Children's Hospital.

21 siblings with asymptomatic were screening by GC/MS to avoid misdiagnosis of BKT deficiency. We identified 3 patients at 3 days, 55 months, 25 days old. Only patient 20 presented mild acute episode at 6 months old. Others patient 26 & 27 were still asymptomatic at 8 & 3 years old. Other studies worldwide had many pairs of siblings suffered from BKT deficiency. In the study of Thummler, the older sister was diagnosis at 2 years old and the brother was misdiagnosis until 6 years old when the 1st episode occurred. In the study of Sarafoglou, older sister was diagnosis in the 1st episode at 5 years old and the younger brother with asymptomatic was diagnosis at 11 months old. In the study of Kose, the younger brother was diagnosis at 8 months old and the 6 years old sister with asymptomatic was diagnosed BKT deficiency.

Asking family history is important to help physicians have consumptive diagnosis and considerably management. Screening by GC/MS may diagnose siblings with asymptomatic and help early management to gain good outcomes. The disease was selected for expand newborn screening because of newborn and asymptomatic diagnosis.

Sex ratio is equal (Male/Female: 23/18), is the same of the study of Fukao in 2001.

4.1.2. Geographic and ethnic characteristics

The diaseze was identified in 16 provinces but most of them were in Northern and Northern Middle (88%). Because Vietnam National Children's Hospital is the 1st metabolic service in Vietnam.

During 10 years, 2886 high risk of IEM were screening and 284 patients identified 27 kinds of different IEM. BKT deficiency is the most common 41/284 (14,4%) in Vietnam and accounted 40% total patients worldwide. This incidence is higher than in China with 8/1135 (0,7%) during 10 years of 18303 high risk screening. Expand newborn screening is not available in Vietnam so it could not calculate the incidence. But we can estimate incidence of 1/190.000 with base on newborn rate in 16 provinces during 10 years. This incidence is much higher than in North Carolina (1/313.000) and in Minesota (1/232.000). We carried out the study to compare mutations of T2 gene in Vietnamese and Dutch patients but identified different haplotype. "Why was the incidence high" is still question.

4.1.3. Characteristics of acute episode

39/41 patients presented acute episodes. Most of them were diagnosed in the 1st episode (32/39 patients accounted 78,1%). The disease may be misdiagnosed in the 1st episode if physicians have not got IEM knowledge.

The first clinical manifestations were symptom of respiratory and intestinal infections. Only patient 18 hadn't got infection but eaten protein at 9 months old. After 2-3 days of infections, patients presented tachypnea (100%), dehydration (100%), then coma (100%). Some patients presented convulsions (15%), shock on admission (15%). So, pneumonia, severe diarrhea, meningitis and shock – septicemia were diagnosis on admission. Patients presented coma with degree of P/AVPU (87%) and 13% patients presented U/AVPU. Dehydration B is the most common (89%), 11% patients presented dehydration C.

Characteristics of routine laboratory were severe metabolic acidosis (100%) with average pH of 7,07 and average increased anion gap of 26. The result is the same of Fukao's study: pH 6,76 – 7,3. This is distinction with nephrotubular acidosis, diarrhea acidosis (normal anion gap). Severe acidosis with normal or mild elevated blood lactate is distinction with shock – septicemia (33/39). 100% patients presented ketonuria and 11 patients presented hyperglycemia with blood glucose 13,5 – 23,3 mmol/l. All 11 patients revealed normal HbA1C and blood glucose became normal rapidly with insulin injection during 3 – 8 hours/without insulin. In addition, these patients didn't need insulin to remain normal blood glucose. The hyperglycemia in acute episode was explained that the response to stress results in increased cortisol, catecholamine hormone.

We had 3 patients with mild hypoglycemia 1.7 – 2.3 mmol/l and no hepato-splenomegaly, mild hyperlactatemia. This is distinction with glycogen storage which present ketotic acidosis, hyperlactatemia, keton, hypoglycemia, hepato-splenomegaly.

Most of patients revealed leukocytosis (68% leukocyte > 20 G/l, 16% > 40 G/l) of severe infections in acute episodes. This is triggers of acute episodes.

4/28 patients presented brain damage in MRI and CT Scanner. Among of them, patients 1 and 33 presented hypodensity in CT Scanner. Consequence of patient 1 after the episode was hypotonic, development delay.

Patient 19 presented lesions of bilateral head of caudate nucleus and putamen: hyperintensity in T2W, FLAIR; Brain cortex lesions of bilateral parieto-occipital lobes: hyperintensity in T2W FLAIR, hypointensity in TW1; Cerebral atrophy and dilated ventricular system: T2W, T1W, FLAIR. Clinical symptoms of patient 19 were dystonia, development delay.

Patient 21 presented lesions of bilateral globus pallidus: hyperintensity in T2W, hypointensity in FLAIR, hypointensity in TW1; Lesions of substantia nigra: hyperintensity in T2W, hypointensity in T1W. Clinical symptoms of patient 20 were hypertonia, development delay.

All brain damage of BKT deficiency in other study were lesions of bilateral head of caudate nucleus and putamen, bilateral globus pallidus. There were correlation between brain lesions and shock/pulmonary hypertension, convulsions, $p < 0,05$. In addition, metabolites 2MAA, 2M3HB, TIG may damage brain. Lesions of bilateral head of caudate nucleus and putamen, bilateral globus pallidus could be in other IEM so not special for BKT deficiency.

4.1.4. Special metabolic biochemistry characteristics

97,5% patients revealed elevated urinary 2M3HB và TIG. 7/8 patients revealed elevated 2MAA in fresh urine samples. Urinary 2MAA, 2M3HB, TIG degree were clearly higher in acute episode than in stable condition.

97,5% patients revealed elevated blood C5:1 (tiglylcarnitine) và C5:OH (2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine) by Tandem Mass. There were no difference between acute episode and stable condition.

Only patient 38 had normal organic aciduria and blood acylcarnitine. Patient 37 had mild elevated urinary 2M3HB, 2MAA & TIG and the lowest blood C5:1, C5:OH with 0,05 và 0,8 mol/l.

Null mutations or remain function mutations of *T2* gene affect on abnormalities of organiac aciduria and blood acylcarnitine profile.

4.2. Results of molecular analysis

32 patients from 27 different families were analyzed *T2* gene and identified mutations with 100%. 8 different kinds of mutations were identified p.R208X, IVS10-1g>c, c.1A>G, c.1032_1033insA, p.A410V, p.S284N, xoá đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA with 66%, 19%, 6%, 3%, 1,5%, 1,5%, 1,5%, 1,5%, respectively. In our study, muations distribution was 3 point mutations c.1A>G, p.A410V, p.S284N result in missen mutation (37,5%); 1 point mutation p.R208X result in nonsense mutation (12,5%); 1 point mutation IVS10-1g>c result in splice site mutation to exon 11 (12,5%); 1 insert mutation result in frameship mutation (12,5%); 1 large deletion exons 6 – 11 (12,5%); 1 nucleotide del and insert c.163_167 delinsAA result in deletion of Phenylalanine, Leucine and insert of Lysine (12,5%).

In our study, most of mutations were point mutation 62,5%, the same with other studies. But, we identified common mutations p.R208X (66%) and IVS10-1g>c (19%) in Vietnamese patients. Mutation p.R208X were identified in Dutch, Chinese patients. In 2016, one more common mutation p.M193R (c.578T>G) was identified in Indian patients.

5 novel mutation were identified: IVS10-1g>c, c.1032_1033insA, p.S284N, del exon 6 -11, c.163_167delinsAA.

There were 9 genotypes and 8/9 null mutations. Only homozygous c.1A>G was remain function mutation. There were correlation between genotype and abnormalities of organic aciduria and blood acylcarnitine profile. 30 patients with null mutations revealed clearly elevated urinary 2MAA (6 – 1091 mol /mol Creatinine), 2M3HB (132 – 1738 mol /mol Creatinine) and TIG (40 – 580 mol /mol Creatinine), blood C5:1 (0,08 – 15,56 μ mol/l) and C5:OH (0,8 – 13,8 μ mol/l). While, 2 patients with mild mutation revealed normal or mild abnormalities in organic aciduria and blood acylcarnitine profile.

There were no correlation between genotype and onset age, recurrent frequency, brain lesions, convulsion, hyperammonemia.

4.3. Management and Outcomes

4.3.1. Acute and longterm management

39 patients were acute management. Acute management included Glucose infusion, acidosis correction by bicarbonat, L.Carnitine, antibiotics, ventilation, vasolidations, hemaofiltration, insulin, correction of electrolyte disorders with 100%, 95%, 85%, 97%, 41%, 13%, 10%, 13%, 10%, respectively.

Glucose infusion with 8 – 10 mg/kg/phút were for all patients. Glucose infusion is the most important for the disease because it inhibited ketolysis from lipid to reduce ketoacidosis.

Insulin infusion was indicated for 5 patients with blood glucose over 15 mmol/l. Blood glucose became normal range for short time 2 – 8 hours despite of insulin stop and continuous glucose infusion. This is distinction with ketoacidotic diabetes during admission first hours.

Acidotic correction by Bicarbonat were indicated in 37/39 patients. 37 patients presented $\text{pH} < 7.1$ on the admission. The rest 2 patients were not indicated by Bicarbonate because of $\text{pH} > 7.2$. This was the 1st treatment because mainly symptom was acidosis on the admission. Average recovered acidotic during was 37,4 giò.

Most of them admitted on the severe condition which needed intensive care as machanical ventilation (16 patients), vasolidattions (5 patients), hemofiltration (4 patients).

All patients recovered after the episodes were treated with diet therapy, L.Carnitine, prevent from acute episode.

4.3.2. Outcomes

Recovered rate after the 1st episode was 83%. 2 patients with asymptomatic were 3 and 8 years old. Average follow-up during was 4.1 year (0.5 – 10 years). Average present age was 5.6 years (1-11 years). Mortality rate was 12,2%. Consequence rate was 7,3%.

Recurrent rate was 48% (16/34 patients). Among of them, 69% had 1 recurrent episode (11 patients), 19% had 2 recurrent episodes (3 patients), 12% had 3 - 5 recurrent episodes (2 patients). All triggers were irespiratory and intestinal infections. Recurrent age was 9 - 53 months old with average of 22 months old and recurrent episodes were gradually decreased with age.

Physical study of 34 patients with BKT deficiency is the largest study. Physical development of 34 patients (height and weight) were in normal range from - 2 SD to 2 SD compared with WHO 2007 growth chart. Although, 91,2 % patients' height were – 2 SD to 0 SD and 82,3% patients' weight were - 2 SD to 0 SD. Some patients were nearline of normal range in some others study. So, the control of diet therapy is important to keep patients normal development but avoid acute episodes.

Convulsion, shock, ventilation and hyperammonemia were high risk factors in acute episode with p 0.001; 0.008; 0.013; 0.035 respectively. 2 patients were pregnancy and healthy children.

CONCLUSSIONS

With 41 patients BKT deficiency during 10 years, we had some conclusions:

1. Clinical and laboratory characteristics of BKT deficiency patients

- The disease is the most common IEM in Vietnam (14,4%) and the biggest numbers of total patients worldwide (40%).

- 95% patients presented acute episodes with characteristics of 97,5% patients occurred at 6 – 24 months old, average onset age was 13.8 months old; 97,5% triggers were respiratory and intestinal infections; 100% manifested severe acidotic symptoms as tachypnea, coma, $\text{pH} < 7.1$, increased average anion gap of 26 and ketonuria.

- Special biochemical characteristics: 97,5% were elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and elevated blood C5:1, C5:OH.

2. Results of molecular analysis

- 32/41 patients were analyzed *T2* gene and identified mutations. 8 mutation alleles with p.R208X, IVS10-1g>c, c.1A>G, c.1032_1033insA, p.A410V, p.S284N, xóa đoạn exon 6 -11, c.163_167delinsAA.

- Common mutation p.R208X (66%) and IVS10-1g>c (19%) were identified.

- 5 novel mutations were identified IVS10-1g>c, c.1032_1033insA, p.S284N, del exon 6 -11, c.163_167delinsAA.

- 8/9 genotype were null mutations which revealed elevated urinary 2MAA, 2M3HB, TIG and blood C5:1, C5:OH.

- There were not correlation between genotype and appearance of episodes, severe acute episodes, onset age.

3. Outcomes

- Good outcomes: 83% recovered, 7% mental consequences, 12% mortality. 100% height and weight were normal range compared with WHO 2007 growth chart. 47% patients were recurrent at under 53 months old. Convulsion, shock, ventilation, hyperammonemia were high risk factors with $p = 0.001; 0.008; 0.013; 0.035$, respectively.

RECCOMENDATION

1. BKT deficiency should be a disease in expand newborn screening or high risk IEM screening to get early diagnosis to reduce mortality and consequence rate
2. Organization of training courses for IEM to avoid misdiagnosis and get acute management for BKT deficiency in local hospital to reduce travel for patients and their families.

LIST OF PAPERS RELATED WITH DOCTORAL THESIS

1. Nguyen Ngoc Khanh et al. (2015). Physical and mental development of Beta-ketothiolase deficiency patients in National Hospital of Pediatrics.. *Journal of Pediatrics*, 8 (2), 54-57.
2. Nguyen Ngoc Khanh et al. (2015). Beta-ketothiolase deficiency in National Hospital of Pediatrics: phenotype, genotype and outcome. *Journal of Military Medicine*, 2, 90-95.
3. Nguyen Ngoc Khanh. (2013). Betaketothiolase deficiency in a referral 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. Nguyen Ngoc Khanh. (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. *Journal of inherited metabolic disease*. DOI 10.1007/s10545-017-0026-6.