

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
HỌC VIỆN QUÂN Y

BỘ QUỐC PHÒNG

HOÀNG THỊ DUNG

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ BIẾN
ĐỔI GEN Ở BỆNH NHÂN PARKINSON KHỞI PHÁT SỚM

Ngành: Khoa học Thần kinh

Mã số: 9 72 01 58

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2024

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI HỌC VIỆN QUÂN Y

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS Nguyễn Đăng Tôn
2. PGS.TS Nguyễn Đức Thuận

Phản biện 1: PGS. TS Nguyễn Văn Liệu

Phản biện 2: GS. TS Trần Huy Thịnh

Phản biện 3: PGS. TS Phan Việt Nga

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
vào hồi: giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc Gia
2. Thư viện Học viện Quân y

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson thường được biết đến là bệnh thoái hóa thần kinh trung ương tiến triển của người cao tuổi, tuy nhiên có một tỷ lệ người bệnh Parkinson khởi phát sớm ở tuổi 50 hoặc thấp hơn (Early Onset Parkinson Disease, EOPD). Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy đặc điểm lâm sàng của người bệnh EOPD có nhiều điểm khác biệt so với các người bệnh Parkinson khởi phát muộn (Late onset Parkinson Disease, LOPD), người bệnh thường đang ở tuổi lao động với thời gian mang bệnh kéo dài, là gánh nặng cho nền kinh tế xã hội ở mỗi quốc gia. Sinh lý bệnh Parkinson là một quá trình phức tạp, chưa rõ ràng và chịu ảnh hưởng của cả yếu tố môi trường và di truyền. Theo ước tính, hơn 50% số trường hợp bệnh Parkinson khởi phát sớm và khoảng 2-3% số trường hợp bệnh LOPD có liên quan đến di truyền.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu trên người bệnh EOPD về các khía cạnh lâm sàng còn rất ít. Thông tin di truyền về bệnh Parkinson được công bố từ các nghiên cứu còn hạn chế và chủ yếu tập trung ở một số gen đơn lẻ, chưa có nghiên cứu nào về hệ gen mã hóa trên đối tượng này. Vì vậy, nghiên cứu lâm sàng và đặc điểm di truyền nhóm EOPD giúp các nhà khoa học xây dựng phương pháp điều trị, quản lý, chăm sóc tư vấn cho người bệnh và có được phổ di truyền của bệnh ở từng quần thể là tiền đề để tiếp cận các mục tiêu điều trị tiềm năng (liệu pháp gen,...), mở ra hy vọng mới trong bối cảnh việc điều trị bệnh Parkinson còn gặp nhiều khó khăn. Xuất phát từ lý do đó, thực hiện đề tài “*Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và biến đổi gen ở người bệnh Parkinson khởi phát sớm*” nhằm 2 mục tiêu:

1. *Mô tả một số đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm.*
2. *Xác định một số biến đổi gen và nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở người bệnh Parkinson khởi phát sớm.*

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Về mặt lâm sàng, nghiên cứu tiếp tục bổ sung các đặc điểm vận động và ngoài vận động của nhóm người bệnh Parkinson khởi phát sớm.

Về mặt di truyền: lần đầu tiên tại Việt Nam thực hiện việc giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa (WES) của người bệnh Parkinson khởi phát sớm được thực hiện, trong đó chiến lược phân tích dữ liệu tập trung trên các gen gây bệnh Parkinson đã biết và mở rộng thêm các gen gây bệnh thuộc nhóm bệnh thoái hóa thần kinh trung ương. Đồng thời phối hợp phương pháp Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (MLPA) xác định biến thể số lượng bản sao (Copy number variation: CNV).

Xác định 37 người bệnh (38%) mang biến thể gây bệnh Parkinson trong đó phát hiện 5 biến thể mới gây bệnh Parkinson gồm:

Gen *GBA*: c.G170A (p.C57Y) và c.G667T (p.E223X)

Gen *AMBRA1*: c.G2044A (p.E682K)

Gen *PGAM5*: c.C304T (p.L102F) và c.586-1G>A.

CẤU TRÚC LUẬN ÁN

Luận án gồm 136 trang (không kể tài liệu tham khảo và phụ lục), 4 chương, 28 bảng, 07 biểu đồ, 10 hình, 01 sơ đồ; 174 tài liệu tham khảo, trong đó có: 09 tài liệu tiếng Việt và 165 tài liệu tiếng Anh. Đặt vấn đề: 02 trang, tổng quan tài liệu: 38 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 19 trang, kết quả nghiên cứu: 40 trang, bàn luận: 34 trang, kết luận: 01 trang, Hạn chế và kiến nghị: 02 trang.

CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN

1.1. Định nghĩa bệnh Parkinson

Bệnh Parkinson (*Parkinson's disease, PD*) được James Parkinson mô tả vào năm 1817, bao gồm những triệu chứng điển hình là giảm vận động, cứng đờ, run khi nghỉ, mất ổn định tư thế và các triệu chứng ngoài vận động khác. Năm 2015, Hội Bệnh Parkinson và Rối loạn vận động thể giới (MDS) đã đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán

bệnh Parkinson, tiêu chuẩn này được thiết kế dành cho nghiên cứu, tuy nhiên vẫn được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán lâm sàng.

Bệnh Parkinson khởi phát sớm (Early onset Parkinson's disease - EOPD): cho tới nay, định nghĩa EOPD vẫn chưa được hoàn toàn thống nhất. Tuy nhiên, tuổi khởi phát ≤ 50 được tính là điểm “cut-off” để phân chia bệnh EOPD và bệnh Parkinson khởi phát muộn được nhiều tác giả sử dụng trong nghiên cứu và thực hành lâm sàng.

1.2. Giải phẫu sinh lý bệnh

1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.4. Đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm

1.4.1. Nhóm triệu chứng rối loạn vận động (Motor symptoms)

1.4.2. Nhóm triệu chứng ngoài vận động (Non – Motor symptoms)

1.4.3. Một số sự khác biệt về đặc điểm lâm sàng giữa nhóm EOPD và LOPD

• Triệu chứng vận động

Nghiên cứu của Mehanna R. và cộng sự (2014) trên 593 người bệnh Parkinson và chia thành 3 nhóm (≤ 49 tuổi, từ 50-69 và ≥ 70), nhận thấy các đặc điểm lâm sàng: cứng đờ và chuột rút gây đau là các triệu chứng khởi phát ban đầu và thường xuyên gặp ở người bệnh EOPD (tuổi khởi phát ≤ 49), trong khi dáng đi không ổn định là triệu chứng khởi phát ban đầu thấy thường xuyên hơn ở những người bệnh LOPD. Run và giảm vận động khi khởi phát xuất hiện với tần số không khác nhau ở người bệnh EOPD và LOPD. Tuy nhiên, khi bệnh tiến triển thì run xuất hiện nhiều hơn ở nhóm người bệnh EOPD. Biểu hiện phổ biến nhất là sự kết hợp của 2 hoặc 3 triệu chứng vận động (giảm vận động, run khi nghỉ và cứng đờ), với triệu chứng cứng đờ thì thường gặp hơn ở nhóm EOPD. Trong khoảng 80% người bệnh khởi phát triệu chứng cục bộ thì cánh tay là bộ phận bị ảnh hưởng nhiều nhất của cơ thể nhưng không có sự khác biệt giữa người bệnh EOPD và LOPD. Triệu chứng Cứng đờ cũng là một triệu chứng biểu hiện thường xuyên hơn ở nhóm EOPD (tuổi khởi phát < 50). Số lượng các triệu chứng vận động cũng như thể bệnh (run chiếm ưu

thể, cứng đờ - giảm vận động chiếm ưu thế hay hỗn hợp) giữa nhóm EOPD và LOPD chưa thấy có sự khác biệt rõ ràng. Trong một nghiên cứu cộng đồng trên 358 người bệnh bị bệnh Parkinson, loạn trương lực như một triệu chứng biểu hiện đã được báo cáo ở 20% người bệnh EOPD (tuổi khởi phát <45) nhưng chỉ có 3% ở người bệnh LOPD (tuổi khởi phát > 64). Trong vòng 2 năm sau khi khởi phát, loạn trương lực xuất hiện thêm ở 11% người bệnh EOPD và 1% LOPD. Điều đó cho thấy, loạn trương lực là triệu chứng thường gặp hơn ở người bệnh EOPD. Tuy nhiên, nghiên cứu Mehanna R. và cộng sự (2014) trên 593 người bệnh Parkinson, loạn trương lực chỉ gặp ở 1 người bệnh LOPD, không gặp ở nhóm tuổi khác. Các nghiên cứu đều chỉ ra rằng các triệu chứng vận động ở bệnh EOPD tiến triển chậm hơn và mức độ nhẹ hơn so với LOPD (tính theo thang điểm Hoehn và Yahr và thang điểm UPDRS). Đồng thời, nhóm EOPD ít gặp rối loạn thăng bằng, rối loạn dáng đi, triệu chứng đông cứng và té ngã so với nhóm LOPD. Liên quan tới điều trị, tình trạng loạn động và loạn trương lực do thuốc thường gặp hơn ở nhóm người bệnh EOPD và điều này cũng dẫn tới phẫu thuật đặt điện cực kích thích não sâu chủ yếu được chỉ định ở nhóm bệnh Parkinson có tuổi khởi phát trước 50.

• *Triệu chứng ngoài vận động*

Một số triệu chứng ngoài vận động thường được so sánh giữa nhóm EOPD với LOPD là rối loạn nhận thức và trầm cảm. Hầu hết các nghiên cứu đều chỉ ra rằng, mặc dù người bệnh EOPD ít xuất hiện suy giảm nhận thức và nếu có thì tiến triển của tình trạng này cũng chậm còn triệu chứng trầm cảm lại thường gặp hơn. Ngoài ra, các triệu chứng như mất hứng thú làm việc, rối loạn lo âu, rối loạn tình dục, mất tin tưởng vào tương lai cũng là những triệu chứng hay gặp hơn ở người bệnh EOPD so với LOPD. Người bệnh Parkinson nói chung thường có nguy cơ mắc chứng hành vi nghiện cao hơn. Nguyên nhân của hành vi này trước hết do bản thân bệnh lý Parkinson gây ra, đồng thời cũng do tác dụng phụ của thuốc điều trị bệnh mà trong đó, nhóm thuốc đồng vận Dopamine là nguyên nhân

hay gặp nhất (nguy cơ mắc chứng rối loạn kiểm soát cường bức, nghiện mua sắm và tình dục tăng gấp 3 lần). Thông thường, người bệnh EOPD là nhóm đối tượng sử dụng nhóm thuốc này sớm và kéo dài hơn so với người bệnh LOPD. Khi so với quần thể chung thấy rằng, người bệnh EOPD có khoảng 17% được ghi nhận là mắc chứng lạm dụng/ nghiện chất kích thích, tỷ lệ này gấp 3 lần so với quần thể chung cùng lứa tuổi. Hơn nữa, trong các nguyên nhân liên quan bệnh lý tâm thần phải nhập viện điều trị, triệu chứng lạm dụng/ nghiện chất kích thích nêu ở trên là nguyên nhân chiếm cao nhất (82,6%) và chiếm 11,6% các ca EOPD phải nhập viện. So với quần thể bị bệnh không phải EOPD thì những người bệnh EOPD có tỷ lệ nhập viện do rối loạn ám ảnh cưỡng bức (tăng 5 lần), loạn thần (psychosis) tăng 3 lần, rối loạn điều chỉnh cấp tính (acute adjustment disorder)/ rối loạn chức năng tâm lý xã hội tăng 4 lần, lạm dụng chất kích thích tăng 2 lần, rối loạn trầm cảm tăng gấp 1,4 lần. Đồng thời, khi so với quần thể người bệnh không mắc EOPD cùng lứa tuổi thì tỷ lệ rối loạn nhận thức nhẹ và sa sút trí tuệ ở người bệnh EOPD tăng gấp 7 lần và tăng dần theo tuổi.

1.5. Chẩn đoán bệnh Parkinson và một số thang điểm đánh giá các triệu chứng sử dụng trong nghiên cứu

1.5.1 Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Parkinson

Chẩn đoán bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn của Hội bệnh Parkinson và rối loạn vận động quốc tế (International Parkinson and Movement Disorder Society) năm 2015 (MDS).

1.5.2 Chẩn đoán giai đoạn bệnh

1.5.3 Chẩn đoán mức độ bệnh

Thang điểm MDS-UPDRS phần II.

1.5.4 Đánh giá triệu chứng ngoài vận động

Thang điểm các triệu chứng ngoài vận động (Non Motor Symtoms Scale - NMSS).

1.5.5 Đánh giá triệu chứng trầm cảm

Đánh giá theo thang điểm BDI (The Beck Depression Inventory).

1.5.6 Đánh giá triệu chứng rối loạn nhận thức

The Mini - Mental State Examination – MMSE

1.5.7 Đánh giá triệu chứng đau

Thang điểm KPPS (The King's Parkinson's Disease Pain Scale)

1.6 Đặc điểm di truyền và phương pháp xét nghiệm di truyền trong bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD).

1.6.1 Đặc điểm di truyền bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD)

Yếu tố di truyền trong bệnh Parkinson theo hai phương thức di truyền trội và di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu đã phát hiện một số gen gây bệnh Parkinson nhưng chưa xác định được phương thức di truyền. Hiện nay, khoảng 23 dạng đơn gen của bệnh Parkinson đã được mô tả và hơn 100 locus đã được xác định là yếu tố nguy cơ đối với bệnh Parkinson.

1.6.2 Một số biến thể và kiểu hình tương ứng ở các gen gây bệnh Parkinson khởi phát sớm

1.6.2.1 Gen gây bệnh theo mô hình di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường (Autosomal Recessive: AR)

1.6.2.2 Gen gây bệnh theo mô hình di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (Autosomal Dominant: AD)

1.7 Phương pháp xét nghiệm di truyền trong bệnh Parkinson

1.7.1 Ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong bệnh Parkinson

Giải trình tự hệ gen mã hóa (Whole Exome Sequencing-WES) để xác định các biến thể gây bệnh trên các gen gây bệnh Parkinson đã được công bố và nhóm gen các bệnh lý thoái hóa thần kinh trung ương.

1.7.2 Phương pháp Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification: MLPA)

Xét nghiệm phát hiện các biến thể cấu trúc, các mất đoạn/lặp đoạn lớn trong hệ gen (CNV), là một trong những nguyên nhân quan trọng gây ra dạng bệnh Parkinson theo di truyền Mendel.

1.8 Tình hình các nghiên cứu trong và ngoài nước

1.8.1 Tình hình nghiên cứu trong nước

1.8.2 Tình hình nghiên cứu trên thế giới

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu tiền cứu, mô tả cắt ngang, có phân tích

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 135 người bệnh Parkinson có tuổi khởi phát ≤ 50 , được khám và chẩn đoán bệnh bởi các bác sĩ chuyên khoa thần kinh, điều trị nội và ngoại trú tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện Đại học Y được thành phố Hồ Chí Minh, Bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp Hải Phòng, thời gian từ 04/2019 tới 12/2021.

Nghiên cứu sinh trực tiếp tiến hành khám xác định lại các triệu chứng lâm sàng theo các tiêu chí của nghiên cứu (mẫu bệnh án nghiên cứu) từ các bệnh nhân đã được chẩn đoán Parkinson ở các cơ sở y tế.

Người bệnh Parkinson được thu thập mẫu máu và gửi về Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam để thực hiện xét nghiệm di truyền.

2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu

Người bị bệnh Parkinson được chẩn đoán “chắc chắn Parkinson” trên lâm sàng theo tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh của Hội Bệnh Parkinson và Rối loạn vận động thế giới (International Parkinson-Movement Disorder Society - MDS) năm 2015. Người bệnh đồng ý tham gia nghiên cứu và kí giấy tự nguyện tham gia.

2.2.2 Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân mắc các bệnh theo tiêu chuẩn loại trừ trong tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh của MDS 2015

- Người bệnh không đủ khả năng hoàn thành các bảng câu hỏi thu thập thông tin nghiên cứu (Chậm phát triển trí tuệ, sa sút trí tuệ mức độ nặng và không có khả năng nhìn, đọc, nghe)

2.3 Cỡ mẫu nghiên cứu

Chọn cỡ mẫu theo công thức tính cỡ mẫu của WHO cho nghiên cứu mô tả cắt ngang, Ở nghiên cứu này chúng tôi chọn $\alpha=0,05$; với tỷ lệ bệnh Parkinson khởi phát sớm dự kiến 20%, do đó $p=0,2$; sai số tuyệt đối $d=0,07$. Theo công thức, cỡ mẫu tối thiểu cần cho nghiên cứu là 126.

Nghiên cứu này có cỡ mẫu là 135 người bệnh EOPD, trong đó:

- Mục tiêu 1: Phân tích đặc điểm lâm sàng của 135 người bệnh EOPD

- Mục tiêu 2: Phân xét nghiệm di truyền trong nghiên cứu thuộc đề tài cấp Nhà nước, do điều kiện thời gian tiến độ đề tài (2018-2020) và kinh phí thực hiện nên số lượng mẫu xét nghiệm di truyền sẽ lấy ngẫu nhiên theo thứ tự các mẫu được thu thập sớm hơn gồm 100 người bệnh được thực hiện xét nghiệm di truyền xác định biến thể gây bệnh, trong quá trình xử lý có 3 mẫu không đạt chuẩn, nên số lượng thực mẫu còn lại là 97 bệnh nhân. Các bệnh nhân xét nghiệm Exome tìm biến thể gây bệnh nên sẽ không sử dụng công thức tính cỡ mẫu n và nhóm chứng.

2.4 Thiết bị, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu

Các máy móc, thiết bị phục vụ cho quá trình xét nghiệm Exome thuộc Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

2.5 Nội dung nghiên cứu

2.5.1 Nghiên cứu lâm sàng

+ Người bệnh được khám xác định mắc bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn MDS 2015 và thu thập thông tin tiền sử, bệnh sử, khám bệnh theo một mẫu bệnh án thống nhất.

+ Đánh giá mức độ bệnh theo thang điểm MDS- UPDRS phần II.

+ Giai đoạn bệnh được phân loại theo Hoehn và Yahr (Hoehn và Yahr).

+ Đánh giá triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh Parkinson theo thang điểm NMSS (Non - Motor Syndroms Scale).

+ Đánh giá triệu chứng rối loạn nhận thức theo thang MMSE (The Mini - Mental State Examination).

+ Đánh giá triệu chứng rối loạn trầm cảm theo thang điểm BDI (The Beck Depression Inventory).

+ Đánh giá thể bệnh lâm sàng theo công thức UPDRS

2.5.2 Xét nghiệm di truyền ở bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm

2.5.2.1 Thu thập mẫu máu của người bệnh EOPD (kí hiệu mẫu: PKS)

2.5.2.2 Phân tích hệ gen mã hóa (exome) ở người bệnh EOPD bằng phương pháp Whole Exome Sequencing (WES).

- Tách chiết DNA tổng số từ mẫu máu
- Xác định nồng độ DNA tổng số
- Thiết lập thư viện DNA
- Giải trình tự thư viện DNA đã làm giàu trên máy NextSeq

500

- Phân tích dữ liệu WES
- Tiêu chí đánh giá đảm bảo chất lượng quy trình giải trình tự

gen (WES)

2.5.2.3 Xác định các biến thể CNV bằng phương pháp khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification: MLPA)

2.5.2.4 Phương pháp Real-time PCR

Số bản sao của các mẫu (CNV) được kiểm chứng lại bằng phương pháp real-time PCR.

2.5.2.4 Chú thích và dự đoán biến thể gây bệnh Parkinson khởi phát sớm

Phân tích dự đoán *insilico* được thực hiện để xác định khả năng gây bệnh của các biến thể di truyền. Tác động của các biến thể được dự đoán bằng các công cụ tin sinh SIFT, PolyPhen-2, và Mutation Taster. Sử dụng phần mềm HOPE để đánh giá ảnh hưởng của các biến thể lên cấu trúc 3D của protein (<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope>). Dữ liệu thường xuyên về các biến thể của quần thể toàn cầu cũng như các biến thể liên quan đến bệnh Parkinson được trích xuất từ cơ sở dữ liệu 1000 bộ gen, gnomAD, dbSNP, cơ sở dữ liệu biến thể gen người (HGMD), PDgene.

Nguyên nhân di truyền ở bệnh Parkinson xảy ra ở cả hai mô hình, di truyền lặn và di truyền trội, tùy theo từng gen. Đối với mô hình di truyền lặn, người bệnh phải mang đồng thời 2 biến thể trên cùng gen và có ít nhất 1 biến thể được xác định gây bệnh trên các công cụ tin sinh học. Đối với mô hình di truyền trội, người bệnh chỉ cần mang 1 biến thể gen được xác định gây bệnh. SNV không có trong cơ sở dữ liệu 1000 bộ gen, gnomAD và dbSNP, cũng như không được báo cáo trong tài liệu, được coi là SNV mới.

2.6 Xử lý số liệu

2.6.1 Xác định các biến số độc lập và phụ thuộc

2.6.2 Định nghĩa biến số

- Tuổi tại thời điểm nghiên cứu: được xác định dựa vào tuổi tại thời điểm khám bệnh (bằng năm hiện tại trừ đi năm sinh trên giấy chứng minh nhân dân/căn cước công dân của người bệnh).
- Tuổi khởi phát bệnh: được xác định dựa vào tuổi lúc bắt đầu xuất hiện triệu chứng vận động đầu tiên (bằng năm xuất hiện triệu chứng trừ đi năm sinh trên giấy chứng minh nhân dân/ căn cước công dân của người bệnh).
- Thời gian mắc bệnh (năm): được xác định dựa vào thời điểm người bệnh xuất hiện triệu chứng vận động đầu tiên đến thời điểm khám bệnh (bằng tuổi tại thời điểm nghiên cứu trừ đi tuổi khởi bệnh).
- Tiền sử gia đình: Có (ít nhất một thành viên gia đình trong 3 thế hệ mắc bệnh Parkinson gồm: Ông/bà, bố/mẹ, anh/chị em ruột, con). Không (không có thành viên gia đình trong 3 thế hệ mắc bệnh Parkinson)
- Giai đoạn bệnh: xác định theo phân độ Hoehn và Yahr
- Mức độ nặng của bệnh theo thang điểm MDS-UPDRS II
- Điểm đánh giá triệu chứng ngoài vận động xác định theo thang NMSS
- Điểm đánh giá triệu chứng đau xác định theo thang điểm đau KPSS
- Điểm đánh giá triệu chứng trầm cảm xác định theo thang điểm BDI
- Điểm đánh giá rối loạn nhận thức tính theo thang MMSE

2.7 Phương pháp phân tích số liệu

- Nhập liệu và xử lý số liệu nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 20.0.
- Biến số định tính được trình bày dưới dạng tần số, tỷ lệ %.
- Biến số định lượng được trình bày dưới dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn, nếu số liệu không đạt phân phối chuẩn thì trình bày thêm trung vị.
- Mối liên quan giữa các biến số định tính được khảo sát bằng phép kiểm chi bình phương. Trong trường hợp số liệu không đáp ứng điều kiện sử dụng phép kiểm định chi bình phương (tần số kỳ vọng nhỏ hơn 5), chúng tôi sử dụng phép kiểm chính xác Fisher.
- Mối liên quan giữa các biến số định lượng được khảo sát bằng phép kiểm T-test. Trong trường hợp số liệu không đạt phân phối chuẩn, chúng tôi sử dụng phép kiểm phi tham số Mann-Whitney.
- Phân tích hồi quy tuyến tính đa biến đánh giá mối tương quan giữa mức độ triệu chứng đau và một số đặc điểm lâm sàng.
- Giá trị $p \leq 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

2.8 Đạo đức nghiên cứu

Đề tài được sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, theo quyết định 3-2019/ NCHG-HĐĐĐ ngày 02.04.2019 của Viện nghiên cứu hệ gen thuộc Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam.

CHƯƠNG 3 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm lâm sàng nhóm EOPD

3.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu EOPD

3.1.1.1 Phân bố người bệnh EOPD theo nhóm tuổi tại thời điểm nghiên cứu

- Tuổi trung bình của 135 người bệnh EOPD là 45,5.

3.1.1.2 Phân bố người bệnh EOPD theo nhóm tuổi khởi phát

- Tuổi khởi phát trung bình của 135 bệnh nhân EOPD : 38,1 ($\pm 6,1$) năm.

3.1.1.3 Phân bố người bệnh EOPD theo giới

Nam giới có tỷ lệ mắc cao hơn nữ giới tương ứng là 53,3% và 46,7%.

3.1.1.4 Phân bố người bệnh EOPD theo thời gian mắc bệnh

2/3 tổng số người bệnh EOPD có thời gian mắc bệnh từ 5 năm trở lên với thời gian mắc bệnh trung bình là 7,97 năm.

3.1.2 Đặc điểm triệu chứng rối loạn vận động ở người bệnh EOPD

3.1.2.1 Đặc điểm triệu chứng vận động khi khởi phát và khi nghiên cứu

- Tại thời điểm khởi phát bệnh Parkinson, triệu chứng run xuất hiện với tỷ lệ lớn nhất (98/135, 72,6%). Tại thời điểm nghiên cứu triệu chứng giảm vận động và cứng đờ chiếm tỷ lệ cao hơn cả lần lượt là 97,8% và 93,3%, loạn trương lực cơ vẫn chiếm tỷ lệ nhỏ nhất (23/135, 17%).

3.1.2.2 Phân bố người bệnh EOPD theo thể bệnh

- Thể bệnh “Cứng đờ/Giảm vận động ưu thế” có tỷ lệ cao nhất với 88/135 (65,2%) người bệnh. Thể hỗn hợp chiếm tỷ lệ thấp nhất là 15/135 (11,1%).

3.1.2.3 Phân bố người bệnh EOPD theo mức độ bệnh (MDS II)

- Tỷ lệ người bệnh ở mức độ nhẹ là cao nhất (58,5%), mức độ trung bình chiếm 33,3%, mức độ nặng chiếm tỷ lệ thấp nhất (8,1%). Điểm MDS trung bình là 33,38 ($\pm 17,62$).

3.1.2.4 Phân bố người bệnh theo giai đoạn bệnh (Theo Hoehn và Yahr)

- Người bệnh ở giai đoạn sớm của bệnh chiếm tỷ lệ chủ yếu (63,7%) và người bệnh ở giai đoạn muộn của bệnh chiếm 36,3%. Điểm Hoehn và Yahr trung bình của người bệnh trong nhóm nghiên cứu EOPD là 2,3.

3.1.3. Đặc điểm triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh EOPD

3.1.3.1 Tỷ lệ các triệu chứng ngoài vận động theo thang điểm NMSS ở người bệnh EOPD

- Triệu chứng ngoài vận động hay gặp nhất là “Mệt mỏi” (76,3%).

3.1.3.2 Đặc điểm các triệu chứng ngoài vận động theo thang điểm NMSS

- 91,1% người bệnh có các triệu chứng ngoài vận động (ít nhất 1 triệu chứng). Triệu chứng “Ngủ/mệt mỏi” chiếm tỷ lệ cao nhất (91,1%). triệu chứng liên quan tới “Tri giác/ảo giác” chiếm tỷ lệ thấp nhất (15,6%).

- Về mức độ nặng các triệu chứng ngoài vận động: nhóm triệu chứng “Tâm trạng/nhận thức” là cao nhất với điểm trung bình là 14,29; nhóm triệu chứng “Tim mạch” với mức độ thấp nhất với điểm trung bình là 3,0.

3.1.3.3 Tương quan giữa triệu chứng ngoài vận động với một số đặc điểm lâm sàng khác

Triệu chứng ngoài vận động (điểm NMSS) có mối tương quan thuận với tuổi khởi phát bệnh ($r=0,359$), thời gian mắc bệnh ($r=0,304$), mức độ bệnh (điểm MDS-UPDRS) ($r=0,470$), giai đoạn bệnh (điểm Hoehn và Yahr) ($r=0,293$), đau (điểm KPPS) ($r=0,679$), suy giảm nhận thức (tương quan nghịch với điểm MMSE) ($r=-0,598$) và trầm cảm (điểm BDI) ($r=0,597$).

3.1.3.4 Đặc điểm triệu chứng ngoài vận động theo mức độ bệnh

Nhóm triệu chứng “Mất ngủ/mệt mỏi”, “Tri giác/ảo giác”, “Đường tiêu hóa”, “Tiết niệu” và “Các triệu chứng khác” có liên quan tới mức độ bệnh, cụ thể các nhóm triệu chứng trên có tỷ lệ mắc cao hơn ở giai đoạn bệnh nặng hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.3.5 Đặc điểm triệu chứng đau ở người bệnh nghiên cứu

Trong số 107 người bệnh có triệu chứng đau thì đau cơ xương chiếm tỷ lệ cao nhất (70,1%), tiếp đến là đau về đêm, đau kiểu rễ thần kinh, đau mạn tính với tỷ lệ lần lượt là 43,9%, 43,0% và 42,1%. Đau vùng hàm mặt chiếm tỷ lệ thấp nhất với 16,8%.

Đặc điểm các loại đau theo thang điểm KPPS: Khi phân tích đặc điểm đau theo giới tính, giai đoạn bệnh (tính theo Hoehn và Yahr) và theo tuổi khởi phát nhận thấy ở giai đoạn bệnh muộn (Hoehn và Yahr = 3,4,5) có tỷ lệ “Đau dao động” và “Đau vùng hàm

mặt” cao hơn ở nhóm giai đoạn sớm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Về số lượng các loại đau, kết quả bảng trên cho thấy khoảng ¾ (74,8%) người bệnh có từ 2 loại đau trở lên và chỉ có ¼ (25,2%) người bệnh ghi nhận có duy nhất một loại đau.

Đặc điểm mức độ đau tính theo thang điểm KPPS ($n = 107$): kiểu “đau dao động”, “đau kiểu rễ thần kinh” và mức độ đau nói chung ở nhóm người bệnh giai đoạn muộn (Hoehn và Yahr 3, 4, 5) có mức độ nặng hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Phân tích hồi quy tuyến tính đa biến giữa mức độ đau (điểm KPPS) và các đặc điểm lâm sàng ở người bệnh EOPD ($n = 135$): cho thấy mối liên quan độc lập giữa mức độ đau (điểm KPPS) và tuổi ($p=0,028$), mức độ trầm cảm ($p=0,018$), các vấn đề về tri giác/ảo giác ($p=0,033$) và chức năng tình dục ($p=0,024$).

3.2 Xét nghiệm di truyền xác định biến thể gây bệnh Parkinson khởi phát sớm

3.2.1. Tách chiết DNA tổng số

3.2.2 Thiết lập thư viện, làm giàu và đánh giá thư viện

3.2.3. Dữ liệu thô toàn bộ hệ gen mã hóa người bệnh (Raw data)

3.2.4. Xác định các biến thể SNV liên quan đến bệnh Parkinson từ quy trình Giải trình tự hệ gen mã hóa (WES)

3.2.5 Thực hiện phương pháp MLPA để xác định các biến thể số lượng bản sao (Copy Number Variation - CNV)

Bất thường dạng CNV trên gen PRKN ở 5 mẫu người bệnh Parkinson (PKS53, PKS54, PKS55, PKS88, PKS111).

3.2.6 Xác định các biến thể gây bệnh trong nhóm nghiên cứu EOPD

Nghiên cứu xác định có 37 (37/97, 38%) người bệnh EOPD mang biến thể gây bệnh trong các gen liên quan đến bệnh Parkinson, trong đó: 13 người bệnh (13/97, 13,4%) mang các biến thể gây bệnh trên các gen di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường (*ATP13A2*, *VPS13C* và *PRKN*). 21 người bệnh (21/97, 21,6%) mang biến thể gây bệnh trên các gen di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (*SNCAIP*,

DNAJC13, *EIF4G1*, *GBA*, *LRRK2*, *VPS35*). 11 người bệnh (11/97, 11,3%) mang các biến thể trên các gen hiếm gặp và chưa biết rõ kiểu di truyền (*AMBRA1*, *INPP5F*, *PGAM5*, *TMEM175*, *CCDC62*). 5 người bệnh mang biến thể gây bệnh Parkinson trên hai gen là *PKS102* (*DNAJC13/EIF4G1*), *PKS95* (*INPP5F/EIF4G1*), *PKS48* (*LRRK2/VPS35*), *PKS31* (*TMEM175/LRRK2*) và *PKS34* (*TMEM175/LRRK2*). Số lượng người bệnh mang biến thể gây bệnh ở gen *LRRK2* là nhiều nhất (9/97, 9,28%).

+ Nghiên cứu phát hiện các biến thể mới trên các gen gây bệnh Parkinson khởi phát sớm gồm: 2 biến thể trên gen *GBA* là G170A p.C57Y (*PKS02*) và c.G667T p.E223X (*PKS110*). 1 biến thể c.G2044A (p.E682K) trên gen *AMBRA1* (*PKS68*). 2 biến thể trên gen *PGAM5* là c.C304T p.L102F (*PKS46* và *PKS106*) và c.586-1G>A (*PKS82*).

3.2.7 Nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở một số gen gây bệnh Parkinson

So sánh đặc điểm chung giữa nhóm mang biến thể gây bệnh và nhóm không mang các biến thể gây bệnh: Tuổi khởi phát và tuổi tại thời điểm khám bệnh của nhóm mang biến thể gây bệnh ($34,9 \pm 5,7$; $41,7 \pm 6,8$) đều thấp hơn nhóm không mang biến thể gây bệnh ($37,5 \pm 5,7$; $45,4 \pm 7,6$), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Đồng thời, nhóm mang biến thể gây bệnh có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson (11/18, 61,1%) cao hơn đáng kể so với nhóm không mang biến thể gây bệnh (7/18, 38,9%) với $p = 0,026$. Chưa thấy sự khác biệt về giới, các triệu chứng vận động và ngoài vận động giữa hai nhóm.

CHƯƠNG 4 - BÀN LUẬN

4.1 Đặc điểm lâm sàng lâm sàng nhóm EOPD

4.1.1 Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

4.1.2 Đặc điểm triệu chứng vận động của đối tượng nghiên cứu

Tại thời điểm khởi phát, qua khảo sát nhận thấy triệu chứng run gập với tỷ lệ cao nhất (72,6%), tiếp đến là triệu chứng giảm vận

động (60,7%), Cứng đờ (51,1%), rối loạn tư thế (5,2%). Nghiên cứu Mehanna R. (2014) trên 60 người bệnh EOPD trong tổng 593 người bệnh Parkinson cho thấy run là triệu chứng khởi phát chiếm tỷ lệ cao nhất (58,3%), sau đó là Cứng đờ (21,7%) và giảm vận động (18,3%), khi so sánh với nhóm LOPD và trung gian, thì chỉ có triệu chứng cứng đờ khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu De Carolis L. (2023) với cỡ mẫu nhỏ hơn trước đó cũng cho kết quả tương tự với run là triệu chứng khởi phát gặp nhiều nhất. Điều này có thể lý giải vì run thường là triệu chứng mà người bệnh/người chăm dễ nhận biết và ghi nhận hơn so với các triệu chứng rối loạn vận động khác.

Triệu chứng loạn trương lực là một triệu chứng thường không được người bệnh nhận biết đến và cũng khó chẩn đoán vì dễ nhầm với triệu chứng rối loạn vận động khác. Ở nghiên cứu này, chúng tôi ghi nhận loạn trương lực gặp ở 4/135 (3%). Ở nghiên cứu của Mehanna R. và cộng sự trên 593 người bệnh Parkinson (có 60 EOPD) thì không ghi nhận người bệnh nào có loạn trương lực khi khởi phát và cũng chỉ có một người bệnh LOPD. Tuy nhiên, nghiên cứu của Wickremaratchi M.M. và cộng sự lại cho thấy kết quả khác với loạn trương lực khi khởi phát gặp ở 20% người bệnh EOPD, cao hơn hẳn khi so với nhóm người bệnh khởi phát muộn (chỉ có 3% người bệnh có loạn trương lực). Khi theo dõi 2 năm sau khởi phát bệnh ở nhóm EOPD thấy có thêm 11% người bệnh có loạn trương lực, trong khi đó ở nhóm LOPD chỉ thêm 1%.

Trong nghiên cứu này, tính theo thang điểm MDS-II, người bệnh mức độ nhẹ chiếm tỷ lệ cao nhất là 58,5%, mức độ trung bình chiếm 33,3%, mức độ nặng chiếm tỷ lệ thấp nhất là 8,1%, điểm MDS-II trung bình là 33,38 ($\pm 17,62$). Tương tự tính theo thang điểm Hoehn và Yahr, người bệnh ở giai đoạn sớm của bệnh (Hoehn và Yahr 1 và 2) chiếm chủ yếu với tỷ lệ 63,7% và người bệnh ở giai đoạn muộn của bệnh (Hoehn và Yahr 3, 4 và 5) chỉ chiếm 36,3%, điểm Hoehn và Yahr trung bình ở nhóm người bệnh nghiên cứu là 2,3. Như vậy, người bệnh tham gia nghiên cứu chủ yếu là ở giai đoạn đầu của bệnh với mức độ bệnh nhẹ và trung bình, là giai đoạn bệnh

mà người bệnh còn chủ động đi lại được, chưa cần có sự giúp đỡ của người khác. Điểm này cũng có thể lý giải được vì những người bệnh EOPD thường có tiến triển bệnh sau khởi phát chậm hơn so với người bệnh LOPD. Nghiên cứu của Zhao Y.J. và cộng sự chỉ ra rằng, người bệnh EOPD nâng thêm 1 điểm Hoehn và Yahr thường cần khoảng thời gian trên 10 năm, trong khi đó điểm Hoehn và Yahr tăng thêm 1 điểm chỉ cần khoảng 2 năm ở những người bệnh LOPD. Do đó, nhóm đối tượng EOPD ở nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả ở nhiều công bố trước đó ở mức độ và giai đoạn bệnh.

4.1.3 Đặc điểm triệu chứng ngoài vận động của đối tượng nghiên cứu

** Tỷ lệ triệu chứng ngoài vận động*

Nghiên cứu nhận thấy, có tới 91,1% người bệnh phản ánh có ít nhất một triệu chứng ngoài vận động. Điều đó cho thấy rằng, triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh EOPD rất hay gặp. Kết quả này cũng tương tự với nhận xét củ Spica V. và cộng sự (2013) khi nghiên cứu trên 101 người bệnh EOPD (có tuổi khởi phát < 45) sử dụng bộ câu hỏi đánh giá các triệu chứng ngoài vận động thì thấy có 91,09% người bệnh có ít nhất một triệu chứng ngoài vận động.

** Phổ triệu chứng ngoài vận động*

Thang NMSS bao gồm 9 nhóm triệu chứng chứa tổng cộng 30 triệu chứng ngoài vận động khác nhau. Ở nghiên cứu của chúng tôi, nhóm triệu chứng “Mất ngủ/mệt mỏi” chiếm tỷ lệ cao nhất (91,1%), triệu chứng liên quan tới “Tri giác/ảo giác” chiếm tỷ lệ thấp nhất (15,6%). Nghiên cứu của nhóm TS.Trần Ngọc Tài và cộng sự trước đó cũng cho thấy kết quả tương tự như ở nghiên cứu của chúng tôi. Tác giả cũng ghi nhận nhóm triệu chứng “Mất ngủ/mệt mỏi” gặp với tỷ lệ cao nhất (89,9%). Một số nghiên cứu ở các quốc gia khác trên thế giới dùng bộ câu hỏi khác ghi nhận các triệu chứng ngoài vận động cũng rất đa dạng. Ở một nghiên cứu ở Trung Quốc (2013), thì thấy ở nhóm khởi phát sớm (có tuổi khởi phát < 45) những triệu chứng xuất hiện nhiều nhất (>50%) là suy giảm trí nhớ (69,2%), táo

bón (61,5%), đi tiểu đêm (61,5%), chóng mặt (61,5%) và giấc mơ trong giấc mơ (vivid dream) (53,8%) [133]. Nghiên cứu của Spica V. và cộng sự (2013) thấy trong 9 nhóm triệu chứng ngoài vận động thì nhóm” lo âu, trầm cảm” chiếm tỷ lệ cao nhất với 48%, tiếp đến là nhóm triệu chứng rối loạn tiểu tiện với 44%, rối loạn chức năng tình dục với 40%, rối loạn tiêu hóa với 31 %, rối loạn trí nhớ và giấc ngủ cùng chiếm 28%, một số nhóm triệu chứng khác chiếm tỷ lệ thấp hơn.

Các nghiên cứu đưa ra những kết quả khác nhau về tỷ lệ các triệu chứng ngoài vận động có thể do sử dụng các bộ câu hỏi, thang điểm đánh giá khác nhau, văn hóa khác nhau, cũng có thể do nhận thức của các đối tượng nghiên cứu và nhận biết về các triệu chứng ngoài vận động cũng không giống nhau nên sự phản ánh của họ khác nhau. Tuy nhiên, các nghiên cứu đều cho thấy nhóm triệu chứng liên quan tới tâm thần là chủ đạo và đặc trưng như trầm cảm, rối loạn chức năng sinh dục, hội chứng chân không yên (tần xuất xuất hiện và mức độ nặng hơn khi so với nhóm người bệnh LOPD).

4.2 Một số biến đổi gen và nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở người bệnh Parkinson khởi phát sớm

Nghiên cứu sử dụng phương pháp WES kết hợp MLPA xác định các biến thể gây bệnh ở 97 người bệnh EOPD tại Việt Nam, kết quả thấy rằng: có 37/97 (38%) người bệnh mang các biến thể gây bệnh ở các gen *ATP13A2*, *VPS13C*, *PRKN*, *VPS35*, *SNCA*, *EIF4G1*, *DNAJC13*, *GBA*, *LRRK2*, *AMBRA1*, *PGAM5*, *INPP5F*, *TMEM175*, *CCDC62*. Đây là tỷ lệ biến thể gây bệnh tương đối cao, phù hợp với các báo cáo từ các bằng chứng hiện có cho thấy các thành phần di truyền đóng một vai trò rất lớn đối với nguồn gốc phát sinh của EOPD và theo ước tính, hơn 50% số trường hợp EOPD có liên quan đến di truyền. Tỷ lệ của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Đỗ Minh Đức và cộng sự (2022) với số lượng biến thể gây bệnh/nguy cơ là 27,6% (24/87) và một số nghiên cứu của dân số châu Á như Trung Quốc thì tỷ lệ này cũng thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi là 4,59%. Sự chênh lệch này có thể do nghiên cứu tập trung trên 24 gen

Parkinson liên quan đến bệnh Parkinson di truyền, chưa thấy các gen liên quan đến bệnh Parkinson rải rác và các gen nhóm bệnh thoái hóa thần kinh. Bên cạnh đó, sự không đồng nhất về đặc tính chủng tộc, địa lý là các đặc điểm như tuổi khởi phát, tiền sử gia đình là nguyên nhân đáng kể liên quan đến tỷ lệ biến thể cụ thể.

Khi so sánh kiểu hình lâm sàng giữa nhóm mang biến thể gây bệnh và nhóm không mang các biến thể gây bệnh, chúng tôi thấy rằng tuổi khởi phát và tuổi tại thời điểm khám bệnh của nhóm mang biến thể gây bệnh ($34,9 \pm 5,7$; $41,7 \pm 6,8$) đều thấp hơn nhóm không mang biến thể gây bệnh ($37,5 \pm 5,7$; $45,4 \pm 7,6$), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ ($p = 0,036$ và $p = 0,017$), sự khác biệt này cũng được nhận thấy ở nghiên cứu ở khu vực miền đông Trung Quốc (2022). Đồng thời, nhóm mang biến thể gây bệnh có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson ($11/18$; $61,1\%$) cao hơn đáng kể so với nhóm không mang biến thể gây bệnh ($7/18$; $38,9\%$) với $p = 0,026$, điều này cũng hoàn toàn phù hợp với quy luật di truyền trong bệnh Parkinson.

4.2.1 Phổ các biến thể gây bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể thường

Các biến thể trên hai gen *ATP132* và *VPS35* đều đã được công bố ở các nghiên cứu trước đó.

Các biến thể phát hiện được trên gen *PRKN* cũng đã được công bố ở các nghiên cứu khác trên. Kiểu gen- kiểu hình của 5 người bệnh trong nghiên cứu mang biến thể trên gen này có kiểu hình tương tự như các công bố trước đây với tuổi khởi phát rất trẻ (dưới 35 tuổi) và xuất hiện sớm các triệu chứng rối loạn vận động, đáp ứng tốt với Levodopa nhưng chưa có biểu hiện rối loạn trầm cảm và rối loạn nhận thức mặc dù có hai người bệnh *PKS53* và *PKS111* đã có thời gian mang bệnh 10 năm và xuất hiện triệu chứng loạn động sau điều trị.

4.2.2 Phổ các biến thể gây bệnh di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (AD) ở nhóm EOPD

• Gen *GBA*

Nghiên cứu của chúng tôi xác định có 6 người bệnh mang các biến thể gây bệnh dạng hợp tử trên gen *GBA* chiếm tỷ lệ $6,1\%$

(6/97), với tỷ lệ các nghiên cứu như trên. Trong đó, bốn người bệnh (PKS69, PKS83, PKS92 và PKS98) mang cùng biến thể c.115+1G>A đã được công bố và có kiểu hình tương tự các nghiên cứu khác.

Hai biến thể mới là c.G170A (p.C57Y) trên người bệnh PKS02 và c.G667T (p.E223X) trên người bệnh PKS110. Các biến thể này được khẳng định là gây bệnh trên công cụ phân tích *Insilico* nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu nào. Trong đó, người bệnh PKS02 có yếu tố gia đình, thời gian mắc bệnh 12 năm và xuất hiện các triệu chứng loạn trương lực cơ kèm rối loạn nhận thức. Người bệnh PKS110 không có yếu tố gia đình, thời gian mắc bệnh 5 năm với các triệu chứng vận động ở giai đoạn 2 của bệnh là chủ yếu. Có thể thấy rằng, biến thể mới này góp phần vào dữ liệu di truyền trên gen *GBA* mang yếu tố chủng tộc của người Việt Nam.

4.2.3 Phổ các biến thể gây bệnh Parkinson chưa biết rõ kiểu di truyền

• Gen *AMBRA1*

Cho đến nay, vai trò và mối liên quan của *AMBRA1* với sinh bệnh học bệnh Parkinson đã được một số tác giả quan sát và nghiên cứu trên các mô hình động vật. Để phù hợp với vai trò quan trọng của nó trong quá trình giảm phân, bằng chứng gần đây chỉ ra sự liên quan tiềm tàng của *AMBRA1* trong sinh bệnh học bệnh Parkinson. *AMBRA1* liên kết với SNCA/ α -synuclein và tích lũy trong tiểu thể Lewy của người bệnh Parkinson. Biểu hiện *AMBRA1* giảm trong não của cả người bệnh Parkinson và mô hình chuột Parkinson mang biến thể dị hợp tử ở gen beta glucosylceramidase, một yếu tố nguy cơ di đối với bệnh Parkinson. Biểu hiện *AMBRA1* bị ức chế bởi MIR103A-3p, một miRNA được điều hòa trong mô hình chuột Parkinson và ở người bệnh Parkinson. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về gen *AMBRA1* liên quan đến người bệnh Parkinson còn hạn chế.

Trong nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện một người bệnh PKS68 được xác định mang biến thể c.G2044A (p.E682K) trên gen *AMBRA1*, được dự đoán gây bệnh trên công cụ dự đoán chức năng

Insilico với CADD là 31 nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu (1000g và ExAC) và chưa biết rõ kiểu di truyền của biến thể trên gen này của người bệnh. Biến thể này được xác định là biến thể gây bệnh mới. Người bệnh này khởi phát bệnh ở tuổi 36 với triệu chứng đầu tiên là cứng cơ. Tại thời điểm thu thập số liệu là năm thứ 5 của bệnh với các triệu chứng vận động ở giai đoạn 2 (Hoehn và Yahr) gồm run, Cứng đờ, giảm vận động, dao động vận động, chưa có rối loạn tư thế, thể bệnh ưu thế cứng. Các triệu chứng ngoài vận động chủ yếu là triệu chứng đau, chưa có các triệu chứng trầm cảm và suy giảm nhận thức. Người bệnh này không có tiền sử gia đình mắc Parkinson và đáp ứng điều trị tốt.

• Gen *PGAM5*

PGAM5 là một protein ty thể, về mặt sinh hóa được xác định góp phần quá trình ổn định protein *PINK1*. Cho đến nay, các nghiên cứu di truyền về gen *PGAM5* trong mối liên quan với bệnh Parkinson còn rất hạn chế, phổ biến là các mô hình gây bệnh Parkinson thực nghiệm trên động vật.

Các nghiên cứu trên động vật (chuột) thấy rằng, mất *PGAM5* sẽ vô hiệu hóa quá trình giảm thiểu qua trung gian *PINK1* trong ống nghiệm và dẫn đến thoái hóa thần kinh hệ Dopaminergic và giảm Dopamine mức độ nhẹ trong cơ thể. Dữ liệu cũng chỉ ra rằng, *PGAM5* là chất điều chỉnh quá trình nguyên phân cần thiết cho sự luân chuyển của ty thể và phục vụ chức năng bảo vệ tế bào trong các tế bào thần kinh Dopaminergic in vivo. Hơn nữa, *PGAM5* có thể cung cấp một liên kết phân tử để cân bằng nội môi ty thể và có cơ chế bệnh sinh của chứng rối loạn vận động tương tự như bệnh Parkinson. Để xác định mức độ ảnh hưởng, nghiên cứu đã tạo ra chuột bị loại bỏ *PGAM5* (KO) từ tế bào gốc phôi nhằm đến mục tiêu gen và xác minh rằng các đồng hợp tử biểu hiện sự mất gần như hoàn toàn *PGAM5* mRNA cũng như biểu hiện protein. Sau đó, quan sát những con chuột KO già và thấy rằng chúng có biểu hiện giảm vận động giống bệnh Parkinson. Tiếp đó, định lượng Dopamine, các sản phẩm chuyển hóa Dopamine và so sánh giữa nhóm chuột KO và

nhóm khỏe mạnh thì thấy rằng có sự giảm đáng kể nồng độ Dopamine sau 12 tháng tuổi giữa 2 nhóm chuột, chưa nhận thấy sự khác biệt giữa các sản phẩm chuyển hóa trung gian.

Năm 2022, Feng L. và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu nhằm mục đích kiểm tra xem liệu phosphoglycerate mutase 5 (*PGAM5*) có nguồn gốc từ huyết tương có thể là dấu ấn sinh học để chẩn đoán bệnh Parkinson cũng như mối liên quan của nó với mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng vận động /ngoài vận động ở bệnh Parkinson hay không. Nghiên cứu được thực hiện trên 124 người bệnh mắc bệnh Parkinson (nhóm PD) và 50 người bệnh đối chứng khỏe mạnh (nhóm HC), đo nồng độ *PGAM5* trong huyết tương bằng cách sử dụng xét nghiệm miễn dịch định lượng enzyme. Người bệnh mắc bệnh Parkinson đã trải qua các đánh giá cơ bản bằng Thang UPDRS, triệu chứng ngoài vận động được đánh giá ở cả hai nhóm bằng các thang đo. Kết quả, nồng độ *PAMG5* trong huyết tương cao hơn đáng kể ở nhóm Parkinson. Phân tích hồi quy đa biến cho thấy nồng độ *PAMG5* trong huyết tương có liên quan độc lập với bệnh Parkinson nhưng không liên quan mức độ nghiêm trọng của các biểu hiện vận động/ngoài vận động của bệnh Parkinson. Như vậy, *PGAM5* huyết tương là dấu ấn sinh học độc lập cho bệnh Parkinson, đặc biệt ở người bệnh cao tuổi (>60 tuổi) và người bệnh không bị tăng huyết áp. Giá trị dự đoán của *PGAM5* đã được cải thiện khi kết hợp với α -synuclein huyết tương.

Nghiên cứu đã tìm thấy ba người bệnh mang biến thể trên gen *PGAM5*, trong đó người bệnh PKS46 và PKS106 mang cùng biến thể c.C304T (p.L102F) với CADD là 25,7; người bệnh PKS82 mang biến thể c.586-1G>A với CADD là 26,6. Các biến thể trên đều được dự đoán gây bệnh trên công cụ dự đoán chức năng năng Insilico nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu (1000g và ExAC) và chưa biết rõ kiểu di truyền của biến thể trên gen này của người bệnh. Các biến thể này được xác định là các biến thể gây bệnh mới.

Kiểu hình của ba người bệnh với tuổi khởi phát lần lượt là 28 (PKS46), 37 (PKS82) và 40 (PKS106), không có yếu tố gia đình.

Trong đó, người bệnh PKS106 khởi phát bệnh năm thứ 3 nhưng các triệu chứng vận động lại nặng nề hơn so với người bệnh PKS46 và PKS82 với thời gian mang bệnh lần lượt là 8 và 10 năm. Cả ba người bệnh đều không có biểu hiện rối loạn nhận thức, triệu chứng trầm cảm mới chỉ xuất hiện ở người bệnh PKS106.

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng 135 người bệnh Parkinson khởi phát sớm

+ Tuổi khởi phát trung bình của 135 người bệnh EOPD là 38,1 ($\pm 6,1$) năm, khởi phát sớm nhất là 24 tuổi. Nhóm tuổi 30-39 chiếm tỷ lệ cao nhất (56,3%).

+ Tỷ lệ nam giới mắc bệnh cao hơn nữ giới (nam 53,3%).

+ Thời gian mắc bệnh trung bình là $7,97 \pm 5,28$ năm với giai đoạn bệnh sớm (Hoehn và Yahr 1,2) (63,7%) và mức độ bệnh nhẹ (58,5%) là chủ yếu.

+ Triệu chứng ngoài vận động có mối tương quan thuận với cường độ đau ($r=0,679$), trầm cảm ($r=0,597$) và tình trạng rối loạn nhận thức (tương quan điểm MMSE, $r = -0,589$).

+ Đau là triệu chứng ngoài vận động thường gặp với tỷ lệ cao (79,2%) trong đó đau cơ xương khớp phổ biến nhất (70,1%). Phân tích hồi quy tuyến tính đa biến cho thấy mối liên quan độc lập giữa mức độ đau (điểm KPPS) với tuổi ($p=0,028$), mức độ trầm cảm ($p=0,018$), các vấn đề về tri giác/ảo giác ($p=0,033$) và chức năng tình dục ($p=0,024$).

2. Một số biến đổi gen và nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở 97 người bệnh Parkinson khởi phát sớm

+ Tỷ lệ người bệnh EOPD mang biến thể gây bệnh trong nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao (38%), gồm các gen: *ATP132*, *PRKN*, *VPS35*, *SNCAIP*, *DNAJC13*, *EIF4G1*, *GBA*, *LRRK2*, *AMBRA1*, *INPP5F*, *PGAM5*, *TMEM175*, *CCDC62*, Biến thể gây bệnh ở gen *LRRK2* là phổ biến nhất (9,28%).

+ Phát hiện 5 biến thể mới gây bệnh Parkinson gồm: Gen **GBA** là c.G170A (p.C57Y) và c.G667T (p.E223X); gen **AMBRA1** là c.G2044A (p.E682K); gen **PGAM5** là c.C304T (p.L102F) và c.586-1G>A.

+ Nhóm người bệnh mang biến thể gây bệnh có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không mang biến thể gây bệnh và có tuổi khởi phát bệnh và tuổi tại thời điểm khám thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không mang biến thể gây bệnh.

KIẾN NGHỊ

1. Cần triển khai tiếp nghiên cứu tiến cứu, theo dõi dọc về các về các dấu ấn sinh học để khẳng định có hay không mối liên quan giữa triệu chứng đau và rối loạn trầm cảm, tri giác và chức năng tình dục.
2. Cần tiếp tục nghiên cứu làm rõ mô hình di truyền gia đình của các biến thể gây bệnh chưa biết rõ kiểu di truyền và biến thể mới trong nghiên cứu để đánh giá tính chất phân ly kiểu gen kiểu hình giữa các thể hệ đồng thời luận giải tính chất gây bệnh của các biến thể di truyền.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. **Dung Thi Hoang**, Frank Xing, Thuan Duc Nguyen, Ton Dang Nguyen, Tai Ngoc Tran, Son Dinh Nhu, Quang Huu Nguyen, Hai Thanh Nguyen, Ung Tien Hoang, Quyen Van Thanh, Daniel Truong (2023). Pain is common in early onset Parkinson's disease and pain severity is associated with age and worsening of motor and non-motor symptoms. *Journal of the Neurological Sciences.*, 455: 122784.
2. **Hoàng Thị Dung**, Nguyễn Đăng Tôn, Nguyễn Đức Thuận (2023). Phân tích đặc điểm triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh Parkinson khởi phát sớm. *Tạp chí Y Dược học quân sự*, (9): 36-45.