

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

HOÀNG THỊ DUNG

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

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

HOÀNG THỊ DUNG

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

Ngành đào tạo: Khoa học Thần kinh

Mã số: 9 72 01 58

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Chủ nhiệm bộ môn

Thầy hướng dẫn 1

Thầy hướng dẫn 2

PGS.TS Nhữ Đình Sơn

PGS.TS Nguyễn Đăng Tôn

PGS.TS Nguyễn Đức Thuận

Hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS Nguyễn Đăng Tôn

2. PGS.TS Nguyễn Đức Thuận

HÀ NỘI - 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi với sự hướng dẫn khoa học của tập thể cán bộ hướng dẫn.

Số liệu trong đề tài luận án là một phần số liệu trong đề tài nghiên cứu cấp nhà nước đã được nghiệm thu có tên: “*Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong sàng lọc bệnh Parkinson có yếu tố di truyền*”. Tôi trực tiếp tham gia với vai trò thành viên chính của đề tài và thu thập số liệu nghiên cứu. Tôi đã được Chủ nhiệm đề tài và toàn bộ các thành viên trong nhóm nghiên cứu đồng ý cho phép sử dụng số liệu của đề tài vào nội dung luận án để bảo vệ luận án tiến sĩ.

Các kết quả nêu trong luận án là trung thực và được công bố một phần trong các bài báo khoa học. Luận án chưa từng được công bố bởi các tác giả khác. Nếu có điều gì sai tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Tác giả luận án

Hoàng Thị Dung

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin trân trọng cảm ơn quý cơ quan Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng Sau đại học - Học viện Quân y và Đảng ủy, Ban Giám đốc Bệnh viện Quân y 103 đã cho phép và tạo mọi điều kiện thuận lợi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu của tôi.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS Nguyễn Đăng Tôn, Trưởng phòng Phân tích hệ gen, Viện nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và PGS.TS Nguyễn Đức Thuận, Phó chủ nhiệm khoa Thần kinh – Bộ môn Thần kinh - Bệnh viện Quân y 103, thầy đã trực tiếp hướng dẫn, chỉ bảo tận tình và tạo mọi điều kiện tốt nhất để tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới quý thầy cô và các quý bạn đồng nghiệp Bộ môn Thần kinh – Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp – TP Hải Phòng, Phòng phân tích Hệ gen - Viện nghiên cứu Hệ gen – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ và cho tôi những ý kiến đóng góp quý báu trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn các ý kiến đóng góp, nhận xét chuyên môn sâu sắc của các thầy cô trong các buổi báo cáo Hội đồng các cấp, các nhà khoa học, các cán bộ trong và ngoài Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y đã giúp tôi hoàn thiện luận án một cách tốt nhất.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới Người bệnh và gia đình người bệnh đã ủng hộ, hợp tác để tôi có thể hoàn thành số liệu nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới gia đình và những người thân đã luôn bên tôi, là động lực để tôi vượt qua mọi khó khăn để hoàn thành nghiên cứu.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Nghiên cứu sinh

Hoàng Thị Dung

MỤC LỤC

Lời cam đoan

Lời cảm ơn

Danh mục các chữ viết tắt trong luận án

Danh mục bảng

Danh mục biểu đồ

Danh mục hình

ĐẶT VẤN ĐỀ 1

Chương 1. TỔNG QUAN..... 3

1.1. Định nghĩa bệnh Parkinson..... 3

1.2. Giải phẫu sinh lý bệnh..... 3

1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh bệnh Parkinson 5

1.4. Đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm..... 8

1.4.1. Nhóm triệu chứng rối loạn vận động (Motor symptoms) 8

1.4.2. Nhóm triệu chứng ngoài vận động (Non – Motor symptoms) 11

1.4.3. Một số sự khác biệt về đặc điểm lâm sàng giữa nhóm EOPD và
LOPD 15

1.5. Chẩn đoán bệnh Parkinson và một số thang điểm đánh giá các triệu
chứng sử dụng trong nghiên cứu 19

1.5.1 Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Parkinson..... 19

1.5.2 Chẩn đoán giai đoạn bệnh 20

1.5.3 Chẩn đoán mức độ bệnh 20

1.5.4 Đánh giá triệu chứng ngoài vận động 20

1.5.5 Đánh giá triệu chứng trầm cảm..... 21

1.5.6 Đánh giá triệu chứng rối loạn nhận thức 21

1.5.7 Đánh giá triệu chứng đau..... 22

1.6 Đặc điểm di truyền và phương pháp xét nghiệm di truyền trong bệnh
Parkinson khởi phát sớm (EOPD). 22

1.6.1	Đặc điểm di truyền bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD)	22
1.6.2	Một số biến thể và kiểu hình tương ứng ở các gen gây bệnh Parkinson khởi phát sớm	23
1.7	Phương pháp xét nghiệm di truyền trong bệnh Parkinson.....	32
1.7.1	Ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong bệnh Parkinson.....	32
1.7.2	Phương pháp Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification: MLPA)....	33
1.8	Tình hình các nghiên cứu trong và ngoài nước	35
1.8.1	Tình hình nghiên cứu trong nước.....	35
1.8.2	Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	37
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....		41
2.1	Thiết kế nghiên cứu	41
2.2	Đối tượng nghiên cứu, thời gian, địa điểm thực hiện	41
2.2.1.	Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu.....	41
2.2.2	Tiêu chuẩn loại trừ	41
2.3	Cỡ mẫu nghiên cứu	42
2.4	Thiết bị, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu.....	42
2.5	Nội dung nghiên cứu	44
		44
2.5.1	Nghiên cứu lâm sàng.....	45
	+ Người bệnh được khám xác định mắc bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn MDS 2015 (Phụ lục 2) và thu thập thông tin tiền sử, bệnh sử, khám bệnh theo một mẫu bệnh án thống nhất (Phụ lục 1).	45
2.5.2	Xét nghiệm di truyền ở bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm	47
2.6	Xử lý số liệu.....	57
2.6.1	Xác định các biến số độc lập và phụ thuộc	57
2.6.2	Định nghĩa biến số.....	57

2.7 Phương pháp phân tích số liệu.....	58
2.8 Đạo đức nghiên cứu.....	59
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	60
3.1. Đặc điểm lâm sàng nhóm EOPD	60
3.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu EOPD	60
3.1.2 Đặc điểm triệu chứng rối loạn vận động ở người bệnh EOPD	62
3.1.3. Đặc điểm triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh EOPD.....	65
3.2 Xét nghiệm di truyền xác định biến thể gây bệnh Parkinson khởi phát sớm.....	73
3.2.1. Tách chiết DNA tổng số	73
3.2.2 Thiết lập thư viện, làm giàu và đánh giá thư viện	74
3.2.3. Dữ liệu thô toàn bộ hệ gen mã hóa người bệnh (Raw data).....	75
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)	75
3.2.5 Thực hiện phương pháp MLPA để xác định các biến thể số lượng bản sao (Copy Number Variation - CNV).....	75
3.2.6 Xác định các biến thể gây bệnh trong nhóm nghiên cứu EOPD	77
3.2.7 Nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở một số gen gây bệnh Parkinson.....	89
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN	100
4.1 Đặc điểm lâm sàng lâm sàng nhóm EOPD	100
4.1.1 Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.....	100
4.1.2 Đặc điểm triệu chứng vận động của đối tượng nghiên cứu	103
4.1.3 Đặc điểm triệu chứng ngoài vận động của đối tượng nghiên cứu.	105
4.1.4 Nhận xét một số đặc điểm khác biệt về lâm sàng giữa người bệnh Parkinson khởi phát sớm trong nghiên cứu với người bệnh Parkinson khởi phát muộn ở một số nghiên cứu khác	114

4.2 Một số biến đổi gen và nhận xét đặc điểm kiểu gen – kiểu hình ở người bệnh Parkinson khởi phát sớm	115
4.2.1 Phổ các biến thể gây bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể thường (AR)	117
4.2.2 Phổ các biến thể gây bệnh di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường (AD) ở nhóm EOPD	120
4.2.3 Phổ các biến thể gây bệnh Parkinson chưa biết rõ kiểu di truyền.	127
KẾT LUẬN.....	134
HẠN CHẾ CỦA NGHIÊN CỨU	135
KIẾN NGHỊ.....	136
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ KẾT QUẢ CỦA LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT TRONG LUẬN ÁN

Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ tiếng Anh	Phần viết đầy đủ tiếng Việt
1000g	The 1000 genome project	Dự án 1000 hệ gen
AD	Autosomal Dominant	Di truyền trội nhiễm sắc thể thường
ANNOVAR	ANNOtate VARIation	Chú giải các biến thể
AR	Autosomal Recessive	Di truyền lặn nhiễm sắc thể thường
BDI (BECK)	The Beck Depression Inventory	Thang điểm đánh giá triệu chứng trầm cảm
cDNA	Complementary DNA	DNA bổ sung
CNV	Copy number variation	Biến thể số lượng bản sao
CRISPR	Clusters of regularly interspaced short palindromic repeats	Công nghệ chỉnh sửa gen
DNA	Deoxyribonucleic Acid	ADN, axit deoxiribonucleic
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	
EOPD	Early - Onset Parkinson Disease	Bệnh Parkinson khởi phát sớm
GWAS	Genome-wide association study	Nghiên cứu tương quan toàn bộ hệ gen
HGMD	The Human Gene Mutation Database	Cơ sở dữ liệu biến thể của người
Indels	Insertions and deletions	Thêm và mất nucleotide
KPPS	King's Parkinson's Disease Pain Scale	Thang điểm King đánh giá triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson
LOPD	Late onset Parkinson disease	Bệnh Parkinson khởi phát muộn
MDS	Movement Disorder Society	Hội rối loạn vận động
MDSGene	Movement Disorder Society Genetic mutation database	Cơ sở dữ liệu biến thể gen của Hiệp hội Rối loạn vận động
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe Amplification	Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối
MMSE	Mini Mental State Examination	Thang điểm đánh giá trạng thái tâm thần tối thiểu

Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ tiếng Anh	Phần viết đầy đủ tiếng Việt
1000g	The 1000 genome project	Dự án 1000 hệ gen
AD	Autosomal Dominant	Di truyền trội nhiễm sắc thể thường
MRI	Magnetic resonance imaging	Chụp cộng hưởng từ
mRNA	Messenger Ribonucleic acid	ARN thông tin
NCBI	National Center for Biotechnology Information	Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia
NGS	Next Generation Sequencing	Giải trình tự gen thế hệ mới
NMS	Non Motor Symptom	Triệu chứng ngoài vận động
NMSS	Non-Motor Syndroms Scale	Thang điểm đánh giá triệu chứng ngoài vận động.
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng đồng trùng hợp
PET	Positron emission tomography	Ghi hình cắt lớp phát positron
PRINSEQ	Preprocessing and information of sequence data	Tiền xử lý và thông tin của dữ liệu trình tự
SNVs	Single nucleotide variants	Các biến thể đơn nucleotide
SPECT	Single-Photon emission CT	Kỹ thuật phát xạ photon đơn lẻ 123I ioflupane CT
MDS-UPDRS	Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale	Thang điểm thống nhất đánh giá bệnh Parkinson theo Hội rối loạn vận động Quốc tế
WES	Whole Exome Sequencing	Giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa
WGS	Whole Genome Sequencing	Giải trình tự toàn bộ hệ gen

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
2.1.	Thông số điện di mao quản trên máy 3500	54
2.2.	Mối liên hệ giữa giá trị DQ và số bản sao của mẫu nghiên cứu	55
2.3.	Trình tự môi cho phản ứng real-time PCR.....	56
2.4.	Các loại biến số trong nghiên cứu.....	57
2.5.	Hệ số tương quan Pearson	59
3.1.	Phân bố người bệnh EOPD theo trình độ học vấn.....	62
3.2.	Đặc điểm triệu chứng vận động của người bệnh EOPD tại thời điểm khi khởi phát bệnh và khi nghiên cứu	62
3.3.	Phân bố người bệnh EOPD theo mức độ bệnh.....	63
3.4.	Phân bố người bệnh theo giai đoạn bệnh	64
3.5.	Đặc điểm các triệu chứng ngoài vận động của người bệnh EOPD theo thang điểm NMSS	66
3.6.	Mối tương quan giữa triệu chứng ngoài vận động (điểm NMSS) với một số đặc điểm lâm sàng ở người bệnh EOPD.....	67
3.7.	Mối liên quan giữa triệu chứng ngoài vận động (thang NMSS) theo mức độ bệnh (MDS- UPDRS phần III).....	68
3.8.	Tỷ lệ các loại đau theo thang điểm KPPS	69
3.9.	Đặc điểm các loại đau theo thang điểm KPPS	70
3.10.	Đặc điểm mức độ đau tính theo thang điểm KPPS.....	71
3.11.	Phân tích hồi quy tuyến tính đa biến giữa mức độ đau (điểm KPPS) và các đặc điểm lâm sàng ở người bệnh EOPD.....	72
3.12.	Các biến thể SNV/indel gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường ở nhóm EOPD	79
3.13.	Biến thể SNV kết hợp CNV gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD.....	81

Bảng	Tên bảng	Trang
3.14.	Các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD	83
3.15.	Các biến thể trên các gen hiếm gặp gây bệnh Parkinson chưa xác định được kiểu di truyền.....	87
3.16.	Nhận xét đặc điểm chung giữa nhóm EOPD mang biến thể gây bệnh và nhóm EOPD không mang biến thể gây bệnh.....	89
3.17.	Nhận xét đặc điểm lâm sàng giữa nhóm EOPD mang biến thể gây bệnh và nhóm EOPD không mang biến thể gây bệnh	90
3.18.	Đặc điểm kiểu hình của người bệnh mang biến thể SNV/indel gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường	91
3.19.	Đặc điểm kiểu hình của người bệnh mang biến thể SNV kết hợp CNV gây bệnh Parkinson theo kiểu di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD	92
3.20.	Đặc điểm kiểu hình của các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường	93
3.21.	Đặc điểm kiểu hình của các biến thể gây bệnh Parkinson của gen <i>LRRK2</i>	94
3.22.	Đặc điểm kiểu hình các biến thể trên các gen hiếm gặp gây bệnh Parkinson chưa xác định được kiểu di truyền	97
4.1.	Tỷ lệ đau ở một số nghiên cứu trên thế giới.....	110

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Tên biểu đồ	Trang
3.1.	Phân bố người bệnh theo nhóm tuổi tại thời điểm nghiên cứu	60
3.2.	Phân bố người bệnh theo nhóm tuổi khởi phát.....	60
3.3.	Phân bố người bệnh EOPD theo giới.....	61
3.4.	Phân bố người bệnh theo thời gian mắc bệnh	61
3.5.	Phân bố người bệnh EOPD theo thể bệnh.....	63
3.6.	Tỷ lệ các triệu chứng ngoài vận động theo thang điểm NMSS ở người bệnh EOPD	65
3.7.	Số lượng người bệnh mang biến thể gây bệnh trong các gen gây bệnh Parkinson khởi phát sớm.....	77

DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Bệnh học bệnh Parkinson	4
1.2.	Bệnh học các giai đoạn tổn thương não của bệnh Parkinson.....	4
1.3.	Cơ chế bệnh Parkinson	6
2.1.	Sơ đồ chi tiết các bước phân tích hệ gen mã hóa (WES).....	47
2.2.	Các bước thực hiện phản ứng MLPA	52
3.1.	Điện di đồ DNA tổng số trên gel agarose 0,8% một số mẫu đại diện.	73
3.2.	Ảnh điện di phân tách đoạn thư viện DNA	74
3.3.	Kết quả phân tích MLPA của người bệnh Parkinson	76
3.4.	Kết quả Real-time PCR kiểm tra mất số bản sao của gen <i>PRKN</i>	77
3.5.	Ảnh hưởng của biến thể p.C441R của gen <i>PRKN</i>	82

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh trung ương tiến triển, phổ biến thứ hai sau bệnh Alzheimer [1]. Khoảng 1-2/1000 người dân mắc bệnh ở mọi lứa tuổi. Tỷ lệ này ở nhóm người trên 60 tuổi khoảng 1%, tăng lên 2% ở lứa tuổi từ 80 trở lên [2], [3]. Triệu chứng lâm sàng điển hình của bệnh Parkinson bao gồm triệu chứng rối loạn vận động (motor symptoms): run khi nghỉ, cứng đờ, giảm vận động và mất ổn định tư thế [4], [5], [6]. Bên cạnh đó, có khoảng hơn 30 triệu chứng ngoài vận động (non-motor symptoms) đã được xác định (trầm cảm, suy giảm nhận thức, triệu chứng đau, rối loạn khứu giác,...), các triệu chứng này có thể xuất hiện trước triệu chứng rối loạn vận động nhiều năm nhưng lại khó xác định do sự chồng lấp với các bệnh khác, đồng thời ảnh hưởng lớn tới chất lượng cuộc sống của người bệnh và điều trị còn nhiều khó khăn [5], [7], [8].

Bệnh Parkinson thường được biết đến là bệnh 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) [9]. 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) [3], [9]. Người bệnh EOPD thường đang ở tuổi lao động với thời gian mang bệnh kéo dài, triệu chứng lâm sàng ảnh hưởng nhiều đến hoạt động sống hàng ngày, là gánh nặng cho nền kinh tế xã hội ở mỗi quốc gia [3]. Vì vậy, nghiên cứu lâm sàng nhóm EOPD giúp các nhà khoa học có hiểu biết toàn diện hơn về các đặc điểm riêng cũng như tiến triển của bệnh, từ đó xây dựng phương pháp điều trị, quản lý, chăm sóc và tư vấn cho người bệnh để họ có kế hoạch gia đình, lựa chọn công việc và phương pháp điều trị phù hợp.

Sinh lý bệnh Parkinson chủ yếu được xác định bởi tình trạng mất dần các tế bào thần kinh tiết Dopamine ở vùng liềm đen của não, đây là một quá trình phức tạp chịu ảnh hưởng của cả yếu tố môi trường và di truyền. Khi

nghiên cứu về đặc điểm di truyền của bệnh Parkinson, các nhà khoa học đặc biệt quan tâm đến nhóm EOPD. Các bằng chứng hiện có cho thấy, di truyền đóng một vai trò rất lớn đối với nguồn gốc phát sinh của bệnh EOPD [10]. Theo ước tính, hơn 50% số trường hợp EOPD và khoảng 2-3% số trường hợp LOPD có liên quan đến di truyền [11]. Bên cạnh đó, cũng tương tự như các bệnh di truyền khác, nguyên nhân di truyền của bệnh Parkinson có thể khác nhau giữa các dân tộc, thậm chí là giữa các vùng của một chủng tộc; vì vậy, thực hiện nghiên cứu di truyền trên các quần thể khác nhau là thực sự cần thiết [12], [13]. Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành để xác định các yếu tố di truyền gây EOPD, giúp cung cấp thêm thông tin chi tiết về nguyên nhân gây bệnh. Điều quan trọng hơn nữa, 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.

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu bệnh Parkinson về khía cạnh lâm sàng, cận lâm sàng, các gen đơn lẻ liên quan tới bệnh nhưng nghiên cứu giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa (exome) cũng chưa nhiều [14], [15]. Tại Việt Nam, các nghiên cứu trên nhóm EOPD về các khía cạnh lâm sàng còn rất ít [16], [17], [18]. 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 [19], [20], [21], [22], [23]. Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào về hệ gen mã hóa trên đối tượng này. 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 **hai** 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.*

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Định nghĩa bệnh Parkinson

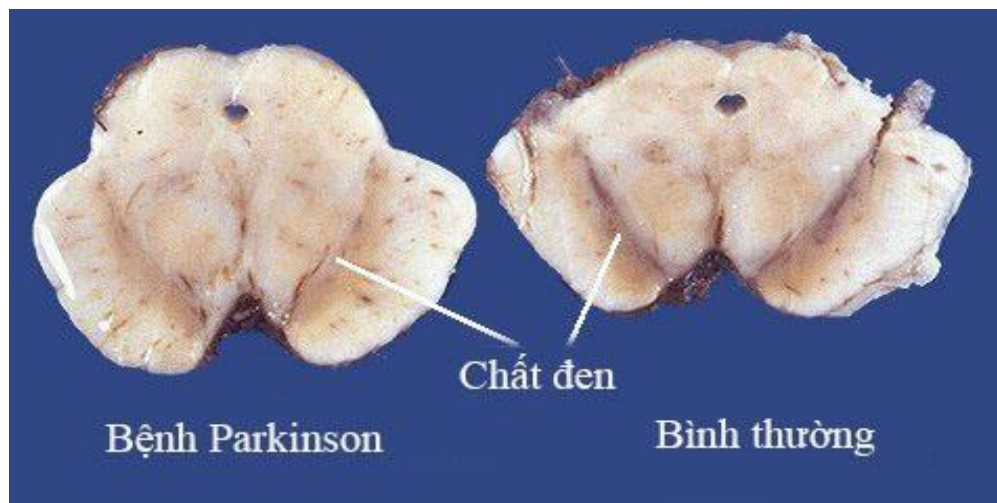
Bệnh Parkinson (Parkinson's disease, PD) được James Parkinson mô tả vào năm 1817, bao gồm những triệu chứng điển hình là giảm vận động, cứng đờ, run khi nghỉ, mất ổn định tư thế và các triệu chứng ngoài vận động khác [5]. Trải qua nhiều thập kỷ nghiên cứu về nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và biểu hiện lâm sàng, tuy nhiên chẩn đoán bệnh Parkinson còn gặp nhiều thử thách. 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 [24].

Bệnh Parkinson khởi phát sớm (Early onset Parkinson's disease - EOPD): cho tới nay, định nghĩa EOPD vẫn chưa được hoàn toàn thống nhất, có tác giả định nghĩa EOPD là triệu chứng rối loạn vận động bắt đầu xuất hiện trước tuổi 50, cũng có tài liệu lại coi bệnh lý này có tuổi khởi phát nhỏ hơn 40 hoặc 45 tuổi [3]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu đều thống nhất tuổi khởi phát nhỏ nhất của nhóm bệnh lý này là 21. Những người bệnh Parkinson có tuổi khởi phát nhỏ hơn 20 được gọi là bệnh Parkinson tuổi thiếu niên (Juvenile Parkinson disease) [3]. Tương tự như vậy, bệnh Parkinson khởi phát muộn (Late onset Parkinson disease - LOPD) cũng chưa có một định nghĩa chung. Tuổi khởi phát của nhóm bệnh lý này có tài liệu cho rằng từ 50 tuổi trở lên, nhưng cũng có những tác giả coi tuổi khởi phát thấp nhất là 60 hoặc 70 tuổi [3], [25]. Tuy nhiên, tuổi 50 được tính là điểm “cut-off” để phân chia EOPD và LOPD được nhiều tác giả sử dụng trong nghiên cứu và thực hành lâm sàng [9].

1.2. Giải phẫu sinh lý bệnh

Bệnh Parkinson đặc trưng bởi hiện tượng mất các tế bào sắc tố trong phần đặc của liềm đen ở trung não, do vậy chất đen trở nên nhạt màu hơn.

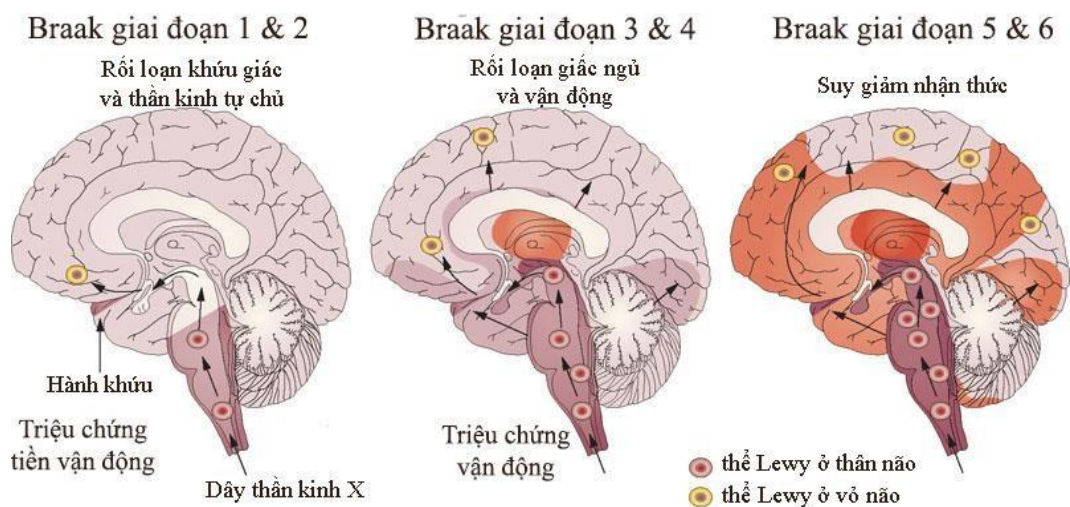
Các tế bào này sản sinh Dopamine đưa tới thể vân. Khi số lượng các tế bào này mất đi quá 70% sẽ thiếu hụt trầm trọng Dopamine, gây ra các triệu chứng về vận động. Trong hệ liềm đen – thể vân, hai chất trung gian hóa học là Acetylcholine và Dopamine đóng vai trò đối kháng nhau. Sự cân bằng giữa hai chất này giúp duy trì sự cân bằng trong hoạt động hưng phấn và ức chế của các hạch nền. Thiếu hụt Dopamine làm mất cân bằng hai hoạt động trên dẫn đến các triệu chứng của bệnh Parkinson [26].



Hình 1.1. Bệnh học bệnh Parkinson

**Nguồn: theo Mackenzie I.R. (2001)[27]*

Tiến triển bệnh



Hình 1.2. Bệnh học các giai đoạn tổn thương não của bệnh Parkinson

**Nguồn: theo Doty R.L. (2012) [28]*

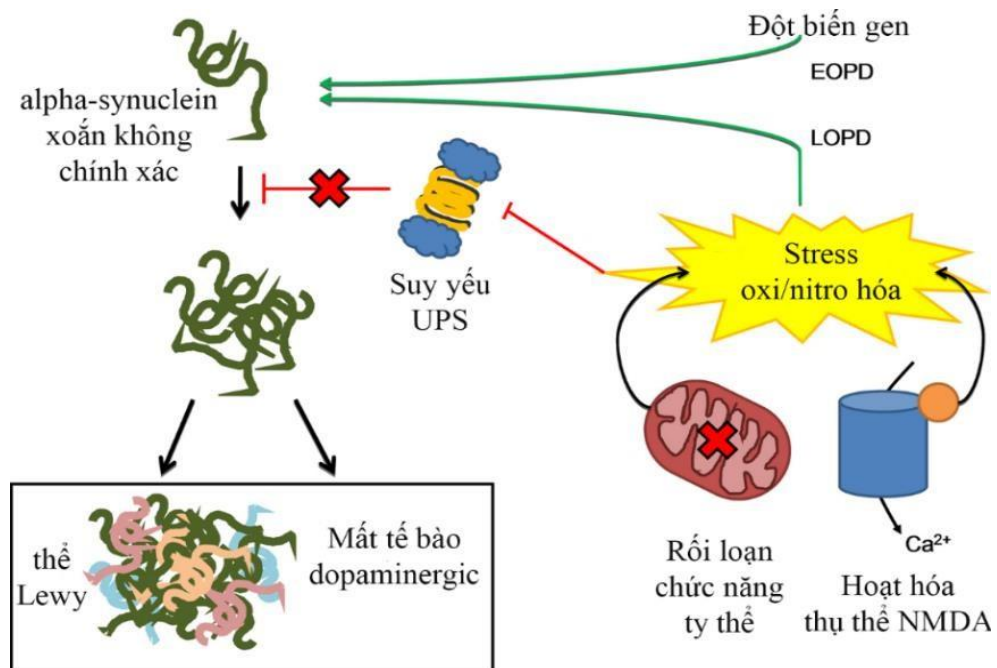
Giai đoạn Braak 1 và 2, quá trình bệnh khởi đầu từ phần thấp thân não, ở nhân lưng vận động của dây thần kinh X và ở vùng hành khứu. Vì vậy, người bệnh sẽ biểu hiện triệu chứng rối loạn khứu giác và rối loạn thần kinh tự chủ trước khi triệu chứng vận động đầu tiên xuất hiện. Sau đó, giai đoạn 2, bệnh tiến triển đến các trung tâm tiếp nhận cảm giác ở thân não, sự thoái hóa các trung tâm này có thể giải thích các triệu chứng ngoài vận động của bệnh Parkinson, bao gồm đau tự phát, trầm cảm, rối loạn giấc ngủ. Giai đoạn Braak 3 và 4, sự tích tụ Alpha synuclein lên đến chất đen, trần cầu não (pontine tegmentum), trung não (midbrain), vùng nền não trước (basal forebrain), lúc này rối loạn giấc ngủ tiến triển thành rối loạn hành vi giấc ngủ pha cử động mắt nhanh (rapid eye movement (REM) sleep behavioral disorders (RSBD)) do ảnh hưởng nhân cuống – cầu não. Thoái hóa nhân cuống – cầu não không chỉ gây ra rối loạn giấc ngủ tiến triển thành rối loạn hành vi giấc ngủ pha cử động mắt nhanh, mà còn có thể dẫn đến rối loạn chức năng vận động, cũng như suy giảm nhận thức với ảo giác, hoang tưởng. Giai đoạn Braak 5 và 6, quá trình bệnh xâm lấn lên vỏ não, biểu hiện rối loạn chức năng nhận thức nặng và sa sút trí tuệ tiến triển [29].

1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh bệnh Parkinson

- **Nguyên nhân gây bệnh**

Hiện nay, nguyên nhân cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson có những điểm được làm sáng tỏ nhưng cơ chế thực sự của bệnh vẫn còn chưa được hiểu biết hết và đòi hỏi tiếp tục được nghiên cứu sâu rộng hơn. Những giả thuyết về sự lão hóa, oxy hóa, các yếu tố môi trường, nhiễm độc và di truyền đều có những đóng góp nhất định trong việc hình thành cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson. Quá trình này rất phức tạp, là kết quả của sự cộng gộp, tương tác lẫn nhau giữa các yếu tố về gen (các đa hình di truyền có nguy cơ, biến thể gen gây bệnh như: *SNCA*, *PRKN*, *DJ-1*, *LRRK2*, *GBA*, *FBX07*, *VPS35*, *DNAJC6*, *ATP13A2*...); các yếu tố ngoại gen; các yếu tố môi trường (thuốc trừ sâu, kim loại nặng...) [5].

- **Cơ chế gây bệnh**



Hình 1.3. Cơ chế bệnh Parkinson

*Nguồn: theo Branco D.M. (2010) [30]

EOPD (Early-onset Parkinson's disease): bệnh Parkinson khởi phát sớm.

LOPD (Late onset Parkinson's disease): bệnh Parkinson khởi phát muộn.

NMDA (N-Methyl-D-Aspartate).

Bệnh Parkinson thể gia đình thường liên quan đến các biến thể gen. Trong khi đó, Parkinson rải rác liên quan đến quá trình stress oxy và nitro hóa, làm suy yếu chức năng hệ thống ubiquitin – proteasome (UPS). Hai cơ chế này làm cho các Alpha synuclein gấp cuộn, xoắn không chính xác. Các Alpha synuclein xoắn bất thường này tích tụ lại hình thành nên các thể vùi, gọi là thể Lewy, làm chết các tế bào thần kinh hệ Dopaminergic ở liềm đen, gây ra các rối loạn vận động gây tàn phế theo thời gian [30].

Một số điểm quan trọng về cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson có ý nghĩa quan trọng tới điều trị được tóm tắt như sau [5]:

a) Sự biến đổi của Alpha synuclein (α -synuclein): α -synuclein bình thường không tạo nếp gấp và chiếm một vị trí cấu trúc nhất định trong những

phản ứng sinh hóa. Sự tổng hợp bất thường của protein này đã được phát hiện và chứng minh gây độc hại đối với tế bào thần kinh hệ Dopaminergic, dẫn đến quá trình thoái hóa thần kinh liên quan tới bệnh Parkinson. Stress oxy hóa, biến thể gen liên quan bệnh Parkinson có thể ảnh hưởng đến những thay đổi cấu trúc và sự tổng hợp của α -synuclein.

b) Rối loạn chức năng ty thể: giảm hoạt động phức hợp 1 của ty thể đã được tìm thấy ở người bệnh Parkinson và việc sử dụng chất ức chế nó (ví dụ: rotenone) được cho là gây ra tổn thương ty thể (chẳng hạn như giảm điện thế ty thể, sự giải phóng của cytochrome C và sự hoạt hóa của dòng Caspase – một enzyme protease đóng vai trò trong quá trình viêm, hoại tử, chết tế bào và tế bào gốc) trong các mô hình bệnh Parkinson thực nghiệm. Tương tự, các đặc điểm của rối loạn chức năng ty thể, bao gồm cả sự suy giảm có chọn lọc của ty thể (mitophagy) do quá trình tự thực bào (autophagy), đã được xác định là hậu quả do bất thường ở một số gen liên quan đến Parkinson như *Parkin*, *PINK1* và *DJ-1*. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng tổn thương ty thể làm tăng tích tụ Dopamine bị oxy hóa và giảm gluco-cerebrosidase, cho thấy rằng Dopamine là liên kết phổ biến giữa sự tích lũy α -synuclein và suy giảm lysosome. Những kết quả này góp phần phát triển cho các nghiên cứu điều trị đích là các ty thể và phương pháp điều trị chống oxy hóa trong tương lai.

c) Viêm thần kinh: bất thường về đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và sự thích ứng đã được đề cập ở người bệnh Parkinson bao gồm sự gia tăng các cytokine tiền viêm và quần thể tế bào miễn dịch bị thay đổi (chẳng hạn như bạch cầu đơn nhân và các tiền chất của nó). Điều này còn được hỗ trợ bởi các nghiên cứu lâm sàng chứng minh mối liên hệ giữa các bệnh tự miễn và bệnh Parkinson, bằng chứng là sự kích hoạt tế bào viêm (chẳng hạn như tế bào microglia) trên hình ảnh phân tử và các đặc điểm của viêm thần kinh trong mô hình bệnh Parkinson thực nghiệm.

d) Sự tương tác ruột – não: ngày càng có nhiều bằng chứng về mối liên kết ruột - não như một yếu tố góp phần vào cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson. Trong đó, dây thần kinh phế vị hoạt động như một 'đường cao tốc' cho α -synuclein tổng hợp di chuyển từ đường tiêu hóa đến vùng dưới của thân não. Sự tương tác giữa ruột và não được hỗ trợ bởi một thử nghiệm, trong đó mẫu bệnh được cô lập từ người bệnh Parkinson khi được cấy vào chuột biến đổi gen α -synuclein dẫn đến thiếu hụt khả năng vận động. Đồng thời, điều trị một số bệnh bằng kháng sinh làm chết vi khuẩn ở đại tràng gây ra tình trạng nặng thêm của bệnh Parkinson. Hơn nữa, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, phẫu thuật cắt bỏ dây thần kinh phế vị và cắt ruột thừa có thể làm giảm nguy cơ phát triển bệnh Parkinson. Tuy nhiên, cần thực hiện các nghiên cứu sâu để làm sáng tỏ hơn vai trò của hệ vi sinh vật đường tiêu hóa và loạn khuẩn, nhiễm trùng và viêm trong việc kích hoạt sự kết tập α -synuclein và sự lây lan của nó đến trung tâm hệ thần kinh như một cơ chế gây bệnh cho bệnh Parkinson.

1.4. Đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm

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

- *Run (Tremor)*

Run là triệu chứng thường gặp và xuất hiện sớm ở người bệnh Parkinson nói chung cũng như ở nhóm EOPD, đây là những động tác bất thường không chủ ý, biểu hiện chủ yếu ở ngón chi, có khi ở cả đầu, môi, lưỡi nhưng hiếm khi run đầu. Run điển hình ở người bệnh Parkinson có biên độ nhỏ, tần số khoảng 4-8 chu kỳ/giây và xuất hiện ở tư thế nửa nghỉ, mất đi khi người bệnh làm các động tác hữu ý hoặc khi ngủ. Run thường khởi đầu ở ngón cái và ngón trỏ và được mô tả là run kiểu “vê thuốc” (pill-rolling), run xuất hiện một bên sau đó lan sang bên đối diện sau vài năm, bên bị ảnh hưởng đầu tiên có xu hướng bị nặng hơn trong suốt quá trình bệnh. Triệu chứng run tăng lên khi mệt mỏi, căng thẳng, xúc động hoặc tập trung suy nghĩ. Tuy

nhiên, ở giai đoạn muộn của bệnh thì run có thể xuất hiện cả khi vận động và khi nghỉ. Mặc dù run là dấu hiệu bên ngoài rõ ràng nhất của bệnh, nhưng không phải tất cả người bệnh mắc bệnh Parkinson đều xuất hiện triệu chứng run. Trong giai đầu, khoảng 70% trường hợp cảm thấy run nhẹ khu trú ở một bên của cơ thể (tay và/ hoặc chân), ít thường xuyên hơn ở mặt hoặc hàm, giai đoạn sau run có thể gặp ở trên 90% người bệnh và hầu như xuất hiện cả hai bên [1], [4], [6], [31], [32].

- *Cứng đờ (Rigidity)*

Triệu chứng cứng đờ là đặc trưng của bệnh Parkinson, đó là sự kháng lại không chủ ý, trong đó kháng lực đồng nhất trong suốt biên độ vận động tại một khớp cụ thể và ảnh hưởng đều nhau đến cả cơ chủ vận và đối vận, hay nói cách khác lực kháng không phụ thuộc vào vận tốc đối với vận động thụ động của một khớp tạo ra bởi người khám. Cứng đờ có thể được mô tả bởi dấu hiệu bánh xe răng cưa (cogwheel rigidity) do vận động thụ động bị gián đoạn từng nấc như chuyển động của bánh răng. Biểu hiện của triệu chứng này là sự căng cứng, thiếu linh hoạt của các cơ ở cơ thể người bệnh. Cứng đờ rõ, nặng hơn vào buổi sáng và có thể gây nên sự không thoải mái kèm theo cảm giác đau cho người bệnh cả lúc nghỉ và khi vận động. Cứng đờ có thể xuất hiện ở tất cả các nhóm cơ, tuy nhiên ưu thế các cơ gấp dẫn đến người bệnh Parkinson thường có một tư thế đặc biệt: đầu nghiêng, lưng gù, đầu gối hơi gấp nếu cứng đờ lan tràn ra toàn cơ thể. Triệu chứng cứng đờ cũng thường bắt đầu xuất hiện ở một bên và cùng bên với triệu chứng run (nếu có). Khi bệnh tiến triển, cứng đờ có thể tiến triển sang bên đối diện và thường nặng hơn ở bên xuất hiện trước [4], [6], [31], [32].

- *Giảm vận động (Bradykinesia)*

Giảm vận động là triệu chứng bắt buộc phải có để chẩn đoán hội chứng Parkinson, xuất hiện trong giai đoạn đầu ở 80% người bệnh và cũng là

nguyên nhân chính gây tàn phế ở người bệnh Parkinson. Giảm vận động là sự giảm dần của các cử động với biên độ vận động nhỏ dần (hypokinesia) khi lặp lại một cử động (ví dụ: ngón trỏ và ngón tay cái chạm-mở, nắm/gấp và duỗi ngón tay) nhiều lần liên tiếp. Người bệnh Parkinson có thể tự cảm nhận thấy được là có sự vận động chậm chạp này, ban đầu có thể ở các chi thể, khi thực hiện các cử động tinh tế như đóng mở cúc áo, kéo khóa quần áo, vặn nút chai lọ, viết chậm và nhỏ dần...Triệu chứng này không chỉ biểu hiện ở tứ chi mà có thể thấy ở các bộ phận khác của cơ thể khi cử động như khuôn mặt (giảm biểu cảm gọi là hiện tượng “mặt tượng” hay “đeo mặt nạ”, giảm chớp mắt, khe mi rộng), giọng nói đơn điệu, ngắt quãng, khó nghe nên thường nói câu ngắn, chậm, dáng đi bước chân ngắn như kéo lê trên sàn, khó khăn khi bắt đầu vận động. Cùng với sự giảm vận động ở thân người, chi trên cũng ảnh hưởng làm cho cánh tay ít vung vẩy, người bệnh có dáng đi như lao về phía trước, đây là dáng đi đặc trưng ở người bệnh Parkinson. Giảm vận động gây rối loạn dáng đi và thăng bằng do vậy người bệnh Parkinson hay bị ngã nhất là khi chuyển hướng vận động [6], [31].

- *Mất ổn định tư thế (Postural instability)*

Mất ổn định tư thế là sự suy giảm các phản xạ tư thế của hệ thần kinh trung ương, gây ra cảm giác mất thăng bằng và làm cho người bệnh dễ bị té ngã, nhất là ở tư thế đứng thẳng và có thể ngã về phía sau nếu bị xô đẩy dù chỉ một lực nhẹ. Triệu chứng này thường xuất hiện ở giai đoạn sau của bệnh (từ giai đoạn 3 theo Hoehn và Yahr). Khám đánh giá triệu chứng mất ổn định tư thế ở người bệnh thông qua nghiệm pháp kéo (Pull test). Mất ổn định tư thế là một triệu chứng để chẩn đoán hội chứng Parkinson theo tiêu chuẩn của hội Ngân hàng não bệnh Parkinson Anh quốc và được chú ý nhiều trong quản lý chăm sóc người bệnh Parkinson vì người bệnh với triệu chứng này sẽ có nguy cơ bị ngã cao hơn. Đây cũng là triệu chứng ít đáp ứng với liệu pháp Dopamine [1], [6].

- *Các triệu chứng khác*

Ngoài các triệu chứng rối loạn vận động kể trên còn có những triệu chứng khác như rối loạn dáng đi (đông cứng dáng đi), rối loạn chữ viết, rối loạn giọng nói, loạn trương lực, rối loạn nhìn. Đồng thời những triệu chứng loạn động, dao động vận động và các triệu chứng khác do quá trình điều trị cũng có thể xuất hiện. Trong quá trình chẩn đoán, điều trị, chăm sóc và quản lý người bệnh Parkinson cũng cần chú ý tới những đặc điểm này [6].

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

Mặc dù nhóm triệu chứng ngoài vận động ở bệnh Parkinson vẫn chưa được đưa vào các tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh nhưng ngày càng được quan tâm nhiều hơn vì nó ảnh hưởng nhiều tới chất lượng cuộc sống của người bệnh. Nhóm triệu chứng này rất đa dạng, biểu hiện ở nhiều cơ quan trong cơ thể, có thể xuất hiện trước, cùng hoặc sau khi các triệu chứng rối loạn vận động được ghi nhận. Trong đó, một số triệu chứng thường gặp được đề cập nhiều như sau:

- *Trầm cảm, lo âu*

Nguyên nhân xuất hiện các triệu chứng này được cho là do sự mất cân bằng các chất dẫn truyền thần kinh như Serotonin, Norepinephrine và Dopamine. Trầm cảm là triệu chứng hay gặp ở người bệnh Parkinson, có thể xuất hiện trong bất cứ giai đoạn nào của bệnh thậm trí trước các triệu chứng vận động và thường dễ bị bỏ qua vì chẩn đoán còn nhiều khó khăn do triệu chứng bị chồng lấp với các triệu chứng khác của bệnh Parkinson. Ở giai đoạn tiến triển, trầm cảm có liên quan đến những ảnh hưởng do tàn tật vận động và suy giảm chất lượng cuộc sống. Rối loạn lo âu xuất hiện ở 30-40% người bệnh Parkinson, phổ biến nhất là lo âu lan tỏa và ám ảnh sợ xã hội. Trầm cảm và lo âu được chứng minh nặng nề hơn khi người bệnh ở trạng thái “tắt:off”, cải thiện hơn khi ở trạng thái “bật:on” và ảnh hưởng nhiều tới chất lượng cuộc sống cũng như hiệu quả điều trị ở người bệnh Parkinson [6], [7].

- *Suy giảm khứu giác (Olfactory deficits)*

Giảm khứu giác (hyposmia) hoặc mất khứu giác (anosmia) là giảm hoặc mất khả năng phát hiện hay phân biệt mùi. Đây triệu chứng gặp ở hơn 80% người bệnh Parkinson, có độ nhạy cao nhưng thường không được người bệnh chú ý. Trong giai đoạn tổn thương não của Braak - ở giai đoạn 1, sự lắng đọng α -synuclein và thể Lewy bắt đầu từ dải khứu, cho thấy sự xuất hiện của triệu chứng rối loạn khứu giác không những được coi là một dấu hiệu của giai đoạn tiền vận động ở bệnh Parkinson mà còn là dấu hiệu đầu tiên của sự thoái hóa thần kinh. Sử dụng nghiệm pháp mùi để phát hiện triệu chứng này góp phần vào định hướng chẩn đoán sớm bệnh Parkinson. Rối loạn khứu giác xuất hiện ở giai đoạn muộn của bệnh có liên quan tới sự mất phân bố của hệ Cholinergic và sự khởi phát của rối loạn nhận thức, sa sút trí tuệ ở người bệnh Parkinson [6].

Trong một nghiên cứu trên nhóm người Honolulu ở châu Á, các cá nhân trong nhóm nhận biết mùi kém nhất có nguy cơ phát triển thành bệnh Parkinson cao hơn 5,2 lần so với những người còn lại ở trong khoảng thời gian là 4 năm [33]. Một nghiên cứu trên nhóm đối tượng là những người có quan hệ huyết thống gần gũi với những người bệnh Parkinson phát hiện thấy khoảng 10% số đối tượng có chức năng khứu giác kém nhất phát triển thành bệnh Parkinson trong vòng hai năm, trong khi đó ở nhóm đối chứng không có đối tượng nào bị mắc bệnh [34].

- *Suy giảm nhận thức và sa sút trí tuệ*

Suy giảm nhận thức và sa sút trí tuệ là triệu chứng thường gặp ở giai đoạn muộn của người bệnh Parkinson. Suy giảm nhận thức gặp trong bệnh Parkinson dao động khoảng 40-93% so với quần thể dân số chung. Các yếu tố nguy cơ gây suy giảm nhận thức ở người bệnh Parkinson bao gồm: tuổi khởi phát muộn, thời gian bị bệnh kéo dài, có triệu chứng ảo giác, trầm cảm và tiền sử gia đình có người bị sa sút trí tuệ. Những thiếu hụt này có thể liên quan

đến tổn thương dưới vỏ não ở vùng liềm đen - thể vân (Dopaminergic nigrostriatal). Chúng chủ yếu ảnh hưởng đến nhiệm vụ làm việc, thu hồi và ra quyết định trong không gian trực quan. Có bằng chứng rõ ràng về sự suy giảm không gian thị giác trong bệnh Parkinson, ngay cả khi tư duy logic được bảo đảm. Điều này khác với sa sút trí tuệ trong Alzheimer là sa sút trí tuệ vỏ não, chủ yếu là các triệu chứng về trí nhớ và rối loạn ngôn ngữ. Về mặt lâm sàng, người bệnh được chẩn đoán sa sút trí tuệ trong bệnh Parkinson nếu biểu hiện đầu tiên với các triệu chứng của bệnh Parkinson, và xuất hiện suy giảm nhận thức sau ít nhất một năm kể từ khi bắt đầu có các triệu chứng vận động. Nếu các triệu chứng về nhận thức xuất hiện trước hoặc đồng thời với các triệu chứng của Parkinson thì nên nghĩ đến sa sút trí tuệ thể Lewy [6].

- *Triệu chứng đau (Pain symptom)*

Đau là một triệu chứng ngoài vận động phổ biến của bệnh Parkinson. Theo thang điểm đau King's Parkinson's disease pain scale (KPPS), có các loại đau khác nhau ở người bệnh Parkinson bao gồm: Đau cơ xương (Musculoskeletal pain), Đau loạn trương lực (Dystonic pain), đau mạn tính (trung tâm hoặc nội tạng), Đau dao động (Fluctuating pain), Đau hàm mặt (Orofacial pain), đau do phù/sưng và biến đổi màu da, Đau rễ thần kinh (Radicular pain) [35]. Trong đó, Đau loạn trương lực (Dystonic pain) và Đau dao động (Fluctuating pain) là hai loại đau riêng biệt của bệnh Parkinson.

Đau loạn trương lực (Dystonic pain) là loại đau đặc trưng ở người bệnh Parkinson, với tỷ lệ dao động từ 8-40% [36, 37]. Loại đau này có các đặc điểm lâm sàng khác nhau như loạn trương lực bàn chân, từ các dạng đơn giản (chẳng hạn như dưới dạng đảo ngược hoặc duỗi ngón chân cái) tới các dạng phức tạp (với sự kết hợp của đảo ngược, gập bàn chân và ngón chân, sự xoay trong, và duỗi ngón chân cái về phía mu chân). Đau loạn trương lực thường xảy ra vào buổi sáng, trước liều đầu tiên của Levodopa, hoặc thậm chí trong

thời gian dùng thuốc. Loạn trương lực bàn chân và ngón chân thường rất đau và gây khó khăn khi đi lại [38].

Đau dao động (Fluctuating pain) là loại đau riêng biệt ở người bệnh Parkinson, được hiểu là đau tăng nặng hơn ở giai đoạn off của bệnh, phản ánh nồng độ Dopamine ở synap thần kinh. Kurihara K. và cộng sự khi nghiên cứu trên 331 người bệnh Parkinson thì thấy có 10,6% xuất hiện kiểu đau này. Người bệnh có đau dao động hay gặp ở đối tượng khởi phát bệnh trẻ hơn, có giai đoạn bệnh muộn hơn (theo Hoehn và Yahr), có tỷ lệ loạn động cao hơn, hay có hiện tượng wearing-off hơn và có chất lượng cuộc sống kém hơn [39]. Ở một nghiên cứu khác trên 103 người bệnh Parkinson thì có 29% có đau ở giai đoạn off và 33% đau liên quan tới loạn động (dyskinetic pain) [40]. Tỷ lệ đau dao động còn gặp cao hơn ở một nghiên cứu trên 89 người bệnh Parkinson ở Trung Quốc (67,4%). Đau dao động cho thấy ở người bệnh Parkinson, không chỉ các triệu chứng rối loạn vận động mới có sự dao động và cả các triệu chứng ngoài vận động cũng có tính chất này.

Tỷ lệ đau khác nhau tùy theo giai đoạn bệnh, bệnh kết hợp và công cụ đánh giá triệu chứng đau. Các yếu tố nguy cơ gây triệu chứng đau ở bệnh Parkinson bao gồm tuổi khởi phát sớm, thời gian mắc bệnh kéo dài, xuất hiện các biến chứng vận động, có triệu chứng trầm cảm đi kèm, giới tính nữ và một số tình trạng bệnh lý liên quan. Các cơ chế tiềm ẩn của triệu chứng đau bao gồm sự gián đoạn khả năng cảm thụ ở ngoại vi và những thay đổi trong ngưỡng/xử lý cơn đau trung tâm. Các đa hình di truyền ở các gen gây ra tính nhạy cảm với cơn đau cũng có thể đóng một vai trò trong việc gây ra cơn đau ở bệnh Parkinson. Ở giai đoạn tiến triển của người bệnh mắc bệnh Parkinson, bệnh đa dây thần kinh có thể xảy ra do sử dụng liều cao Levodopa. Đau thường tương quan với các triệu chứng ngoài vận động khác bao gồm trầm cảm, buồn ngủ và các triệu chứng rối loạn thần kinh tự chủ. Thuốc thay thế Dopamine, thuốc không chứa Dopamine, độc tố Botulinum, kích thích não

sâu và vật lý trị liệu đã cho thấy một số lợi ích trong việc cải thiện một số loại đau ở bệnh Parkinson [35].

- *Rối loạn thần kinh tự chủ (Autonomic dysfunction)*

Nhóm triệu chứng rối loạn thần kinh tự chủ có thể gặp ở mọi giai đoạn của bệnh Parkinson với tỷ lệ khoảng 50% và rất đa dạng. Triệu chứng thường gặp là táo bón, hạ huyết áp tư thế, tăng tiết mồ hôi, tăng tiết nước bọt, rối loạn chức năng dạ dày, rối loạn chức năng bàng quang, rối loạn chức năng sinh dục... Trong đó, triệu chứng táo bón đã được chứng minh là yếu tố nguy cơ mắc bệnh Parkinson và nó có thể xuất hiện sớm trước khi có các triệu chứng rối loạn vận động thậm chí 10-20 năm. Hạ huyết áp tư thế đứng là triệu chứng gây ảnh hưởng rất nhiều tới sinh hoạt hàng ngày và chất lượng cuộc sống, đồng thời cũng là yếu tố nguy cơ gây ngã và các tổn thương thứ phát cho người bệnh. Các rối loạn thần kinh tự chủ được chẩn đoán thông qua thang điểm đánh giá riêng cho người bệnh Parkinson [6].

- *Các triệu chứng khác*

Ngoài các triệu chứng đề cập trong khuôn khổ luận án ở trên thì cho tới nay xác định được khoảng 30 triệu chứng ngoài vận động khác nhau ví dụ rối loạn tâm thần với hoang tưởng, ảo giác; hội chứng chân không yên; hội chứng mệt mỏi; rối loạn trí nhớ; rối loạn thị giác... cũng ngày càng được quan tâm nhiều hơn để góp phần nâng cao chất lượng điều trị, quản lý và chăm sóc người bệnh Parkinson.

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

Người bệnh EOPD có đầy đủ các triệu chứng lâm sàng giống như người bệnh LOPD, tuy nhiên vẫn mang một số đặc điểm riêng biệt. Nguyên nhân dẫn đến một số sự khác biệt về bảng lâm sàng giữa nhóm người bệnh EOPD và LOPD được cho là do sự tổn thương khác nhau của các vị trí giải phẫu trong não. Trong đó, người bệnh EOPD không tổn thương vùng nhân đuôi (caudate) nhưng vùng bào sẫm (putamen) lại tổn thương rõ; ở người

bệnh LOPD thì thấy cả hai vùng giải phẫu trên đều bị tổn thương. Vùng nhân đuôi chi phối hoạt động tâm thần và hoạt động nhận thức phức tạp, điều này có thể giải thích vì sao ở người bệnh EOPD thường có tỷ lệ thấp các triệu chứng rối loạn ngoài vận động hơn so với LOPD. Bên cạnh đó, sử dụng kỹ thuật chụp PET và quét “F-fluorodopa” nhằm đánh giá sự tích lũy Dopamine ở synap thần kinh thấy rằng, người bệnh EOPD có sự dao động tích lũy Dopamine quá trình chuyển hóa lớn hơn so với người bệnh LOPD. Điều này dẫn tới sự dao động vận động thường gặp ở người bệnh trẻ tuổi hơn [41]. Đồng thời người ta cũng thấy rằng, ở cùng mức độ bệnh, người bệnh EOPD có sự mất các tế bào thần kinh nhiều hơn so với nhóm người bệnh LOPD, do đó có nguy cơ cao hơn xuất hiện triệu chứng loạn động (dyskinesia).

Sau đây là một số sự khác biệt qua các nghiên cứu về triệu chứng vận động, ngoài vận động và đáp ứng điều trị:

- *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 [25]. 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 [42]. Triệu chứng cứng đờ cũng là một triệu chứng biểu hiện thường xuyên hơn ở nhóm

EOPD (tuổi khởi phát < 50) [25], [42]. Số lượng các triệu chứng vận động cũng như thể bệnh (run chiếm ưu thế, cứng đờ - giảm vận động chiếm ưu thế hay hỗn hợp) giữa nhóm EOPD và LOPD chưa thấy có sự khác biệt rõ ràng [42]. 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 [43]. Tuy nhiên, ở một nghiên cứu Mehanna R. và cộng sự (2014) trên 593 người bệnh Parkinson, loạn trương lực chỉ gặp ở một người bệnh LOPD, không gặp ở nhóm tuổi khác [25]. 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 [25]. 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 [3].

- *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 [3], [44]. 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 [3]. 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 cưỡng 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 [45]. 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 [3].

- *Đáp ứng với thuốc điều trị*

Các nghiên cứu chỉ ra rằng, những biến chứng rối loạn vận động như loạn động hay dao động vận động liên quan tới các thuốc điều trị bệnh thường hay xuất hiện ở nhóm người bệnh EOPD hơn so với LOPD. Đồng thời, thời gian bắt đầu điều trị tới khi xuất hiện các biến chứng rối loạn vận động ở nhóm EOPD cũng ngắn hơn [41].

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

Cho tới nay, việc chẩn đoán bệnh Parkinson vẫn dựa trên tiêu chuẩn chẩn đoán lâm sàng là chủ yếu. Tiêu chuẩn chẩn đoán của Ngân hàng não bệnh Parkinson Anh Quốc (UK PDS Brain Bank Criteria) được đưa ra đầu tiên và được chấp thuận rộng rãi nhất. Tuy nhiên nó còn những hạn chế nhất định.

Năm 2015, Hội bệnh Parkinson và rối loạn vận động quốc tế (International Parkinson and Movement Disorder Society) đã đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán lâm sàng bệnh Parkinson (MDS) [24]. Tiêu chuẩn này với những ưu điểm và đang được áp dụng ngày một nhiều ở các quốc gia trên thế giới (Phụ lục 2).

Tiêu chuẩn chẩn đoán lâm sàng bệnh Parkinson (MDS) giúp tăng thêm độ đặc hiệu về chẩn đoán (chẩn đoán lâm sàng chắc chắn là bệnh Parkinson) hoặc tăng thêm độ nhạy về chẩn đoán (chẩn đoán lâm sàng rất có thể là bệnh Parkinson). Việc áp dụng chính xác tiêu chuẩn chẩn đoán lâm sàng bệnh Parkinson của MDS có giá trị cả trong thực hành y khoa thường ngày lẫn nghiên cứu y học, đồng thời giúp tránh được nhiều lãng phí đối với người bệnh Parkinson đã hội đủ tiêu chuẩn chẩn đoán. Bởi vì, theo tiêu chuẩn này thì những xét nghiệm như khảo sát hình ảnh học não bộ (CT, MRI, SPECT, PET) và những thăm dò cận lâm sàng khác là không cần thiết. Những thăm dò cận lâm sàng này sẽ chỉ được chỉ định một cách chọn lọc, phù hợp cho các hội chứng Parkinson khác sau khi có hội chẩn chuyên khoa.

Ở Việt Nam, hiện nay tiêu chuẩn này đã được triển khai rộng rãi trong thực hành lâm sàng cũng như nghiên cứu ở các đơn vị chuyên khoa thần kinh.

1.5.2 Chẩn đoán giai đoạn bệnh

Bệnh Parkinson được phân chia thành các giai đoạn khác nhau và có nhiều cách phân chia giai đoạn bệnh tùy thuộc vào từng mục đích. Hầu hết các cách phân chia đều dựa vào sự xuất hiện của các triệu chứng rối loạn vận động và cách phân loại theo Hoehn và Yahr được các nhà lâm sàng đồng thuận và sử dụng trong nhiều năm nay (Phụ lục 4) [6].

Tuy nhiên, những năm gần đây, đã có nhiều nghiên cứu đưa ra các giả thuyết chẩn đoán bệnh Parkinson ở giai đoạn sớm hơn ngay khi chưa xuất hiện triệu chứng vận động (giai đoạn tiền vận động). Các giả thuyết đó cũng dần nhận được sự đồng thuận của nhiều nhà nghiên cứu lâm sàng nhưng việc phát hiện sớm bệnh Parkinson khi chưa xuất hiện triệu chứng vận động còn gặp nhiều thách thức do sự chồng lấp triệu chứng.

1.5.3 Chẩn đoán mức độ bệnh

Fahn S. và cộng sự (1987) đã đề xướng sử dụng Thang điểm Thống nhất đánh giá bệnh Parkinson (Unified Parkinson's Disease Rating Scale - UPDRS) (phụ lục 3) để xác định các triệu chứng và đánh giá độ nặng của bệnh Parkinson, dựa trên điểm UPDRS phần III với bốn mức độ [6]. Hiện nay, phiên bản sửa đổi MDS-UPDRS đã được cải tiến và được sử dụng trong thực hành lâm sàng với 3 mức độ [46].

1.5.4 Đánh giá triệu chứng ngoài vận động

Thang điểm các triệu chứng ngoài vận động (Non Motor Syntoms Scale - NMSS) (Phụ lục 5) được phát triển vào năm 2006 để cung cấp cho các nhà lâm sàng một công cụ đánh giá các triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh Parkinson. Công cụ đã được kiểm nhận này chia các triệu chứng ngoài vận động thành 30 câu hỏi trong 9 phần. Thang điểm ước lượng sự ảnh hưởng của các triệu chứng ngoài vận động bằng cách đánh giá mỗi triệu chứng trên cả hai phương diện mức độ ảnh hưởng và tần suất xuất hiện, do đó thu tóm được toàn bộ gánh nặng của triệu chứng lên người bệnh. Đây là công cụ

lượng hóa đầu tiên có tính bao hàm toàn diện, tổng thể và thiết thực để xác định phổ rộng rãi các triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh Parkinson. Nó cung cấp một thang đo định lượng để đánh giá toàn diện các triệu chứng không thường gặp nhưng ảnh hưởng nặng nề đến người bệnh như ảo giác cũng như các triệu chứng ít nguy hiểm nhưng lại thường gặp như mệt mỏi và táo bón. NMSS được sử dụng và đánh giá có hiệu lực rộng rãi trong các nghiên cứu khắp Châu Âu, Châu Á, và Nam Mỹ, tiên phong bởi Martinez P. và Chaudhuri K.R. [47], [48].

1.5.5 Đánh giá triệu chứng trầm cảm

Triệu chứng rối loạn trầm cảm được đánh giá theo thang điểm BDI (The Beck Depression Inventory) (Phụ lục 7). Thang đo trầm cảm được xây dựng vào năm 1961, được chuẩn hóa vào năm 1969 và đăng ký bản quyền vào năm 1979. Thang điểm BDI có thể phân biệt giữa các rối loạn trầm cảm như trầm cảm chủ yếu và chứng loạn khí sắc. Thang điểm này cũng được sử dụng nhiều trong đánh giá trầm cảm ở người bệnh Parkinson [49].

1.5.6 Đánh giá triệu chứng rối loạn nhận thức

The Mini Mental State Examination – MMSE (Phụ lục 8) là thang điểm tâm thần tối thiểu, thang điểm này được Folstein xây dựng năm 1975, nhằm đánh giá chức năng nhận thức thông thường. Nó có giá trị như một trắc nghiệm để chẩn đoán, đồng thời cũng có chức năng như một thang để lượng giá tình trạng suy giảm nhận thức. Việc lượng giá chủ yếu trên các chức năng chú ý, trí nhớ ngắn hạn và dài hạn, định hướng. Hiện nay, thang đánh giá trạng thái tâm thần tối thiểu của Folstein được sử dụng rộng rãi trong lâm sàng, đặc biệt lâm sàng thần kinh và tâm thần. Hội bệnh Parkinson và rối loạn vận động (2007) khuyến cáo sử dụng thang điểm này để đánh giá rối loạn nhận thức ở người bệnh Parkinson với điểm nhỏ hơn 24 điểm được coi là có suy giảm nhận thức [50].

1.5.7 Đánh giá triệu chứng đau

Năm 2015, Chaudhuri K.R. và cộng sự lần đầu tiên xây dựng và khẳng định tính giá trị của thang đánh giá triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson, được đặt tên là thang điểm KPPS (The King's Parkinson's Disease Pain Scale) (phụ lục 6) [51]. Thang điểm có phiên bản đầu tiên bằng tiếng Anh, cho tới nay đã được dịch sang nhiều thứ tiếng khác nhau và được chứng minh có giá trị và độ tin cậy trong đánh giá triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson. Thang bao gồm 7 loại đau của với 14 mục. Đây là thang điểm được sử dụng nhiều nhất trong các nghiên cứu về đau ở người bệnh Parkinson hiện nay vì thang này bao quát toàn diện được các kiểu đau có thể gặp và cũng đánh giá được một số kiểu đau đặc hiệu ở người bệnh Parkinson như đau dao động, đau loạn trương lực. Ở Việt Nam, thang điểm này cũng bắt đầu được ứng dụng trong một số nghiên cứu cho thấy người bệnh dễ hợp tác và cho kết quả đáng tin cậy.

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)

Khoảng 5–10% bệnh Parkinson có thể được quy cho các dạng đơn gen. Các nguyên nhân khác có liên quan đến sự kết hợp giữa tính nhạy cảm di truyền phức tạp và các yếu tố môi trường. Đối với các dạng đơn gen, có một số gen được xác định theo phương thức di truyền gen trội (*SNCA*, *LRRK2*, *VPS35*) và gen lặn trên nhiễm sắc thể thường (*PRKN*, *PINK1*, *DJ1*). Bên cạnh đó, còn có di truyền liên kết X (loạn trương lực cơ-parkinson liên kết X) và kiểu hình bệnh Parkinson không điển hình hoặc phức tạp do biến thể gen *ATP13A2*, *DCTN1*, *DNAJC6*, *FBXO7*, *PLA2G6* và *SYNJ1*. Ngoài ra, phổ di truyền bệnh ngày càng đầy đủ hơn với rất nhiều gen được báo cáo gần đây như: *CHCHD2*, *LRP10*, *TMEM230*, *UQCRC1*, *VPS13C*... Trong một số trường hợp, cùng xuất hiện đồng thời các gen có tính liên kết cũng như làm

tăng tính nhạy cảm (chẳng hạn như *SNCA* và *LRRK2*), biến thể ở các gen như glucocerebrosidase (*GBA*) nằm giữa nguyên nhân đơn gen và yếu tố nhạy cảm di truyền [52].

Với sự tiến bộ của các kỹ thuật di truyền và các nghiên cứu quần thể, hơn 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 [53].

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)

- **Gen *ATP13A2* (ATPase Cation Transporting 13A2)**

Ban đầu, ATPase loại 13A2 (*ATP13A2*) đã được báo cáo liên quan đến hội chứng Kufor-Rakeb, là một dạng bệnh EOPD nghiêm trọng, di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Trên lâm sàng, người bệnh bị Kufor-Rakeb có xu hướng teo não, run, cứng cơ, loạn động, mất trí nhớ, suy giảm nhận thức, trầm cảm, đáp ứng tốt hơn với Levodopa [54]. Gen *ATP13A2* thuộc phân họ 5P của ATPase và mã hóa một lysosome protein xuyên màng được biểu hiện chủ yếu trong não [55]. Một số nghiên cứu khác nhau về các tế bào nguyên bào sợi nuôi cấy của người bị bệnh Kufor-Rakeb và các loại tế bào thiếu *ATP13A2* khác như tế bào u nguyên bào thần kinh của người xác định rằng thiếu *ATP13A2* dẫn đến sự bất ổn của màng lysosome và sau đó làm suy giảm chức năng phân giải lysosome, đây là một thành phần cơ bản của con đường kiểm soát chất lượng và số lượng ty thể trong tế bào thần kinh [56]. Những khiếm khuyết này gắn liền với sự tích tụ của α -synuclein gây bệnh và rối loạn chức năng ty thể, dẫn đến giảm sản xuất ATP và tăng mức độ ROS nội bào, góp phần làm chết tế bào thần kinh [57]. Ngoài ra, một số nghiên cứu khác đã xác định tích lũy bất thường của Mn^{2+} và Zn^{2+} trong não và dịch não tủy của người bệnh Parkinson bị ảnh hưởng với biến thể *ATP13A2* [58]. Tác giả Tan

và cộng sự (2011) thấy rằng, biểu hiện quá mức *ATP13A2* trong tế bào thần kinh nuôi cấy bị phơi nhiễm với Mn^{2+} làm giảm nồng độ Mn^{2+} nội bào và tế bào được bảo vệ khỏi quá trình gây chết tế bào theo chương trình [59]. Người ta tin rằng *ATP13A2* bảo vệ tế bào khỏi độc tính kim loại bằng cách cung cấp cân bằng nội môi của Mn^{2+} và Zn^{2+} (các yếu tố môi trường nguy cơ đáng kể trong tế bào thần kinh gây bệnh Parkinson [60], [61]).

- Gen *VPS13C* (*Vacuolar protein sorting 13C*)

Các nghiên cứu giải trình tự toàn bộ hệ gen của người bệnh Parkinson đã chứng minh sự liên quan giữa *VPS13C* với bệnh Parkinson dạng di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường khởi phát sớm [62]. *VPS13C* mã hóa cho phân tử protein là thành viên của họ *VPS13*. Hiện nay, người ta vẫn chưa biết làm thế nào mà các biến thể trên gen *VPS13C* có thể gây ra bệnh Parkinson. Tuy nhiên, các thí nghiệm *invitro* trên các mô hình tế bào người cho thấy *VPS13C* khu trú trên màng ngoài ty thể. Ngoài ra, ở các mô hình tế bào động vật đã loại bỏ *VPS13C* cho thấy có liên quan rõ rệt đến thể năng màng ty thể thấp, tăng ROS, phân mảnh ty thể, bất thường hình thái ty thể và điều chỉnh lại biểu hiện của gen *PRKN* và *PINK1* để đáp ứng với rối loạn chức năng của ty thể. Người ta tin rằng *VPS13C* liên kết với *PRKN/PINK1* tham gia vào vận chuyển chọn lọc ty thể bị hư hỏng đến lysosome [63].

- Gen *PRKN/ PARKIN* (*Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase*)

PRKN là một gen lớn với chiều dài khoảng 1,38 Mb trên nhiễm sắc thể số 6 gồm có 12 exon mã hóa cho một protein có 465 amino acid tên là *PRKN*.

Về mặt chức năng, *PRKN* đóng vai trò quan trọng trong hoạt động chia cắt, phân hủy những protein không cần thiết và những protein thừa thông qua những phân tử ubiquitin. Hiện nay, *PRKN* cũng tham gia duy trì hoạt động của ty thể, là trung tâm tạo ra năng lượng trong tế bào thông qua sự phân hủy phụ thuộc lysosome có chọn lọc (autophagy hay mitophagy) các ty thể bị mất chức

năng [53]. Các biến thể trên gen *PRKN* có liên quan đáng kể đến sự thoái hóa của các tế bào dẫn truyền thần kinh trong liềm đen của não [53], [64].

Người ta đã xác định được có khoảng 200 các loại biến thể khác nhau trên gen *PRKN*. Điều thú vị là, phần lớn các người bệnh mang biến thể trên gen *PRKN* đều có dạng sắp xếp lại exon ở dạng dị hợp tử [53], [65]. Trong đó, việc xóa exon 3 là biến thể phổ biến nhất [66]. Tới nay, đã xác định một điểm rõ ràng là biến thể ở *PRKN* có liên quan đến việc xuất hiện sớm các triệu chứng vận động, tăng phản xạ, vận động chậm (bradykinesia), loạn trương lực, run, đáp ứng tốt với liều thấp của Levodopa lúc khởi phát, và sau đó là rối loạn vận động do Levodopa, cũng như chậm tiến triển của các triệu chứng tâm thần, suy giảm trí nhớ [65], [66].

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

- Gen *LRRK2* (*Leucine-rich repeat kinase2*)

Biến thể trên gen *LRRK2* là nguyên nhân phổ biến dẫn đến bệnh Parkinson, chiếm ít nhất 4% trong số người bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường khởi phát muộn, và xuất hiện khoảng 1% trong tổng số người bệnh Parkinson không di truyền [65], [67], [68]. Người bệnh bị biến thể trên gen *LRRK2* biểu hiện phổ rộng các đặc điểm lâm sàng và kiểu hình bao gồm cứng đờ, run, suy giảm nhận thức, suy giảm trí nhớ mức độ nhẹ, giảm khứu giác, ảo giác, rối loạn giấc ngủ, hạ huyết áp thể đứng và phản ứng tốt với Levodopa [69]. Tuy vậy, một số nghiên cứu chỉ ra rằng, thể Lewy không có mặt ở người bệnh Parkinson mang các biến thể *LRRK2* [70].

- Gen *GBA* (*Gen Glucocerebrosidase*)

Gen *GBA* nằm trên nhiễm sắc thể 1(1q21) và được tạo thành từ 11 exon. Gen *GBA* mã hóa enzyme lysosomal glucocerebrosidase (GCase), giúp duy trì cân bằng nội môi. Mối liên hệ giữa gen *GBA* và bệnh Parkinson cũng

được hỗ trợ bởi các nghiên cứu bệnh học thần kinh, cho thấy rối loạn chức năng truyền dẫn thần kinh của α -synuclein và thể Lewy ở người bệnh mang biến thể đồng hợp tử và dị hợp tử của gen *GBA* [71]. Ngoài ra, các nghiên cứu sinh hóa cho thấy sự suy giảm đáng kể hoạt tính enzym glucocerebrosidase (GCase) và tăng tích lũy α -synuclein trong não người bệnh Parkinson, với những người bệnh mang biến thể gen *GBA*, GCase xúc tác sự phân hủy của glucosylceramide sphingolipid thành ceramide và glucose trong lysosome, do đó làm giảm hoạt động của enzyme, protein biến thể có thể dẫn đến suy giảm protein lysosome và tăng sự giải phóng exosome của α -synuclein và hình thành các chất độc liên quan [72]. Khoảng 5-15% người bệnh Parkinson có biến thể gen *GBA*, khiến nó trở thành yếu tố nguy cơ di truyền quan trọng nhất đối với bệnh Parkinson, hơn 300 biến thể *GBA* gây bệnh đã được xác định [65], [71], [73]. Về lâm sàng, bệnh Parkinson liên quan đến *GBA* giống hệt với bệnh Parkinson rải rác, ngoại trừ độ tuổi khởi phát sớm hơn, suy giảm nhận thức thường xuyên hơn và tiến triển nhanh hơn [65], [71].

- Gen *VPS35* (*Vacuolar Protein Sorting 35*)

Cho đến nay, mới xác định được một biến thể (D620N) trong gen *VPS35* gây ra bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường, khởi phát muộn (51-52 tuổi) ở nhiều gia đình trên toàn thế giới với phổ lâm sàng và bệnh lý tương tự như bệnh Parkinson rải rác [15]. Các dạng đa hình khác trong gen *VPS35* đã được xác định bao gồm L774M, P316S, R524W, I241M, M57I, G51S, R32S, I560T, H599R, M607V. Tuy nhiên, tất cả các biến thể này, ngoại trừ D620N, vẫn chưa thấy rõ được mối liên quan chặt chẽ với bệnh Parkinson [74]. Bên cạnh đó, biến thể D620N còn được xác định có mối liên quan với gen *LRRK2*, tuy nhiên cơ chế còn chưa thực sự rõ ràng. Tác giả Pal P. và cộng sự (2023) nghiên cứu thấy rằng, biến thể *VPS35* (D620N) gây

rối loạn lysosome và kích hoạt *LRRK2* trên bề mặt lysosomal, thúc đẩy quá trình lắp ráp phức hợp [75].

- Gen *SNCAIP* (*Synphilin -1, Alpha-Synuclein- Interactive Protein*)

SNCAIP nằm trên nhiễm sắc thể 5q23.1-23.3, chứa 10 exon. Synphilin-1 là một protein được mã hóa bởi gen *SNCAIP* của con người mà chức năng của nó vẫn chưa được hiểu đầy đủ. Tuy nhiên, nó có liên quan đến bệnh Parkinson gia đình. Synphilin-1 là thành phần chính của thể Lewy được tìm thấy trong tế bào thần kinh ở vùng đặc liềm đen của người bệnh Parkinson [76]. Các nhà nghiên cứu cho rằng, synphilin-1 thúc đẩy liên kết α -synuclein với màng túi tiếp hợp, một số nghiên cứu đã cho thấy mối liên hệ giữa quá trình methyl hóa *SNCAIP* và nguy cơ mắc bệnh Parkinson, cụ thể *SNCAIP* có thể có chức năng bảo vệ, hạn chế nguy cơ mắc bệnh Parkinson [77]. Một nghiên cứu ở Nam Phi (2011) trên 202 người bệnh Parkinson thấy rằng, có ba biến thể sai nghĩa mới (T383N, R606Q, N906H), một biến thể đã biết (E709Q) [78].

- Gen *DNAJC13* (*DNAJ Heat Shock Protein Family Member C13*)

Gần đây, biến thể *DNAJC13* được cho là có liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson. Gen *DNAJC13* có thể mang các biến thể nguy cơ và biến thể nguyên nhân hiếm gặp [79]. Mặc dù biến thể *DNAJC13* được cho là nguyên nhân gây ra bệnh Parkinson, tuy nhiên các nghiên cứu tiếp theo đã báo cáo kết quả trái ngược nhau về mối liên quan này, một số ít biến thể được tìm thấy có khả năng gây bệnh như p.N855S [80], bên cạnh đó rất nhiều nghiên cứu hầu như mới chỉ dừng lại ở mối liên hệ của biến thể trên gen này làm tăng tính nhạy cảm với bệnh Parkinson, đòi hỏi các nghiên cứu sâu, rộng hơn [81], [82].

- .Gen *EIF4G1* (*Eukaryotic Translation Initiation Factor 4 Gamma 1*)

EIF4G1 là gen khởi tạo dịch mã nhân chuẩn, mã hóa một thành phần của phức hợp khởi tạo dịch mã eIF4F, biến thể gen này gần đây đã được báo cáo là nguyên nhân có thể gây ra dạng bệnh Parkinson trội trên nhiễm sắc thể

thường, đã được xác định ở bệnh Parkinson rải rác và gia đình người bệnh Parkinson khởi phát muộn ở người da trắng [83]. Biến thể trên gen *EIF4G1* đã được xác định ở một đại gia đình người Pháp bị bệnh Parkinson dạng di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường. Các biến thể này cũng được tìm thấy trên các gia đình bị bệnh người Mỹ, Canada, Ireland, Italia và Tunisia. Về mặt lâm sàng, những người bệnh bị biến thể gen *EIF4G1* thường khởi phát muộn với các triệu chứng chứng run không đối xứng, nhịp tim chậm, cứng cơ và đáp ứng tốt với điều trị Levodopa [84]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu ở các nước Châu Á thì biến thể *EIF4G1* là nguyên nhân hiếm gặp gây ra bệnh Parkinson [85], một số nghiên cứu các quốc gia Trung Quốc, Nhật... chưa thấy được vai trò gây bệnh Parkinson của các biến thể gen này [84], [85], [86].

- Gen *PGAM5* (*Phosphoglycerate mutase 5*)

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 protein *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 [87]. 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 dopamin 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 [87].

Năm 2022, Feng L. và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu nhằm mục đích kiểm tra xem liệu *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 [88]. 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 biểu hiện triệu chứng vận động và 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 hoặc điểm RBDQ-HK [88].

- Gen *AMBRA1* (*autophagy and beclin 1 regulator 1*)

AMBRA1 là một protein tổng hợp được biểu hiện đặc biệt ở ty thể và biểu hiện của nó đã được chứng minh là gây ra hiện tượng giảm phân mạnh mẽ trong tế bào động vật có vú. Quan trọng nhất, yếu tố pro-autophagy *AMBRA1* đủ để khôi phục tình trạng nguyên bào sợi ở người bệnh Parkinson mang biến thể gen *PINK1* và *PARKIN*. *AMBRA1* có thể có các đặc tính bảo vệ

thần kinh với vai trò quan trọng trong việc hạn chế sự chết tế bào Dopaminergic do ROS gây ra để ngăn ngừa bệnh Parkinson hoặc các bệnh thoái hóa thần kinh khác liên quan đến stress oxy hóa ty thể [89]. 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 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 truyền đối với bệnh Parkinson. Biểu hiện *AMBRA1* bị ức chế bởi *MIR103A-3p*, một miRNA được điều hòa trong mô hình chuột mang bệnh Parkinson và ở người bệnh Parkinson [90]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về gen *AMBRA1* liên quan đến người bệnh Parkinson còn hạn chế.

- Gen *INPP5F* (*Inositol Polyphosphate -5-Phosphatase F*)

Nhờ nghiên cứu liên kết trên toàn bộ gen, người ta đã xác định gen mã hóa *Sac2/INPP5F*, một protein chứa miền Sac nằm trong vị trí nguy cơ gây bệnh Parkinson [91]. Nhưng cho đến nay, mối liên hệ này mới chỉ là giả thuyết, vai trò này thường được xác định cùng trong mối liên quan với các gen gây bệnh Parkinson khác (ví dụ: *SJ1/Park20*) và chủ yếu trên mô hình gây bệnh động vật [92].

- Gen *TMEM175* (*Transmembrane protein 175*)

TMEM175 thuộc họ protein xuyên màng (*TMEM*), là một thành phần của kênh K^+ lysosomal và sự thiếu hụt của nó dẫn đến suy giảm chức năng của lysosomal và ty thể [93], [94]. Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy cả hai biến thể hiếm và phổ biến của *TMEM175* đều có mối liên quan với bệnh Parkinson [95], [96]. Một nghiên cứu lớn của Trung Quốc (2022) phân tích di

truyền 3879 người bệnh Parkinson (gồm cả dạng Parkinson rải rác và EOPD) nhằm xác định vai trò di truyền của 6 gen họ protein *TMEM* liên quan đến bệnh Parkinson trong đó có *TMEM175*. Kết quả đã xác định được một số biến thể sai nghĩa *TMEM175* hiếm gặp, nhưng không tìm thấy mối liên hệ nào giữa các gen này với bệnh Parkinson. Điều này được cho là vì các biến thể phổ biến khác nhau của *TMEM175* có thể có ảnh hưởng trái ngược đến tổn thương do stress và sự tích tụ α -synuclein gây ra trong tế bào thần kinh, làm phức tạp vai trò cụ thể của *TMEM175* trong bệnh Parkinson, điều đó có thể giải thích tại sao nghiên cứu không thể tìm thấy mối liên hệ giữa *TMEM175* với bệnh Parkinson ở cấp độ gen [97], [98].

Một nghiên cứu khác trên 400 người bệnh Parkinson ở Ý (2023) nhằm xác định các thể phổ biến và hiếm gặp trong gen *TMEM175* và mối liên quan của chúng với cơ chế bệnh sinh bệnh Parkinson bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới và các phân tích liên kết. Thấy rằng, *TMEM175* được biểu hiện cao ở các tế bào thần kinh hệ Dopaminergic của vùng liềm đen và trong các tế bào thần kinh đệm (microglia) của vỏ não người. Bốn biến thể phổ biến có liên quan đến bệnh Parkinson, bao gồm hai biến thể mới rs2290402 (c.10C>T) và rs80114247 (c.T1022C, p.M341T), lần lượt nằm trong chuỗi đồng thuận Kozak và miền TM3II. Nghiên cứu phát hiện 13 biến thể bất lợi mới có tính xâm nhập cao trong gen *TMEM175* liên quan đến bệnh Parkinson. Ít nhất chín trong số các biến thể này (p.R35C, p.R183X, p.A270T, p.P308L, p.S348L, p.L405V, p.R414W, p.P427fs, p.R481W) có thể gây bệnh và sự hiện diện của biến thể gen có mối liên quan với tuổi khởi phát bệnh sớm hơn. Phân tích chức năng *Invitro* của kênh ion được mã hóa bởi gen *TMEM175* bị biến thể cho thấy sự mất kênh K^+ và giảm ái lực đối với Akt. Hơn nữa, nghiên cứu đã quan sát thấy dòng phân giải protein tự thực/lysosomal bị suy yếu và sự biểu hiện ngày càng tăng của các dấu hiệu phản ứng protein chưa được mở ra trong các nguyên bào sợi có nguồn gốc từ

người bệnh. Những dữ liệu này cho thấy biến thể gen *TMEM175* có thể góp phần vào sinh lý bệnh của bệnh Parkinson [99].

- Gen *CCDC62* (*Coiled – Coil Domain Containing 62*)

Với sự phát triển của các phương pháp xét nghiệm gen thế hệ mới và các nghiên cứu liên kết toàn bộ gen đã xác định mối liên quan giữa gen *CCDC62* với bệnh Parkinson [100], [101]. Tiếp đó là nghiên cứu trên quy mô lớn người bệnh Parkinson đã báo cáo rằng, *CCDC62* làm tăng nguy cơ mắc bệnh ở người châu Á (Hồng Kông, Nhật, Hàn Quốc) và người da trắng [102]. Biến thể của gen này đã được xác định trong các nghiên cứu trên là rs12817488 [100], [101]. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào ở chủng tộc người Việt Nam phát hiện được biến thể gây bệnh Parkinson trên gen này.

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

Việc áp dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (Next Generation Sequencing-NGS) trong các nghiên cứu cũng như chẩn đoán các bệnh di truyền ngày càng phổ biến. Tùy vào mục tiêu, NGS được sử dụng trong các nghiên cứu về bệnh di truyền có thể áp dụng việc giải trình tự toàn bộ hệ gen (Whole Genome Sequencing-WGS), giải trình tự hệ gen mã hóa (Whole Exome Sequencing-WES), giải trình tự gen đích, hay giải trình tự RNA và ChIP-Seq). Các kỹ thuật NGS có nhiều ưu điểm so với giải trình tự bằng phương pháp Sanger truyền thống. Trong một lần chạy, NGS có thể cho ra một lượng cực lớn thông tin trình tự DNA, cho phép xác định rõ ràng được các biến thể di truyền trên nhiều vùng khác nhau của hệ gen.

Với một bệnh có yếu tố di truyền phức tạp như bệnh Parkinson, việc áp dụng WES hay WGS để xác định các biến thể liên quan đến bệnh rất được quan tâm cả trong nghiên cứu cũng như chẩn đoán lâm sàng. Thực tế, các nghiên cứu di truyền thế hệ mới trong những năm gần đây đã giúp gia tăng nhanh chóng dữ liệu biến thể liên quan đến bệnh bao gồm cả những đa hình

phổ biến cũng như các biến thể hiếm gặp. Trong đó, việc quét toàn bộ hệ gen (WGS) để xác định các biến thể phổ biến với mức độ trung bình/ yếu lên tính nhạy cảm của bệnh Parkinson và giải trình tự hệ gen mã hóa (WES) để xác định các biến thể gây bệnh hiếm gặp.

Dựa trên đặc điểm là hầu hết các biến thể/biến thể gây bệnh nằm trên vùng trình tự mã hóa và phương pháp WES có khả năng phát hiện các biến thể điểm trên vùng gen mã hóa với phổ rộng và độ chính xác cao. Do đó, WES gần như thống trị thị trường nghiên cứu trong những năm gần đây. Nhiều bệnh chưa rõ nguyên nhân đã được xác định thông qua WES với hiệu quả phân tích không chênh lệch nhiều so với WGS mà chi phí lại giảm cũng như tiết kiệm thời gian hơn do chỉ tập trung vào vùng trình tự mã hóa - vùng chỉ chiếm khoảng 1% (~30 Mb) kích thước bộ gen nhưng có chứa đến 85% các biến thể gây bệnh [103]. Phương pháp WES có rất nhiều ưu điểm trong việc phát hiện các biến thể SNV/indel nhưng lại rất hạn chế trong việc phát hiện các biến thể cấu trúc, các mất đoạn/lặp đoạn lớn trong hệ gen [104]. Do đó, để khảo sát được đầy đủ các biến thể, WES thường được phối hợp thêm với phương pháp Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification - MLPA).

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

Các biến thể số lượng bản sao (Copy Number Variation: CNV), được định nghĩa là những thay đổi cấu trúc trong DNA bao gồm sự mất đoạn hoặc sao chép của các đoạn lớn hơn 1 kb so với bộ gen tham chiếu, đã được chứng minh là một cơ chế tạo ra bệnh trong các rối loạn bệnh lý thần kinh. Kích thước của CNV rất khác nhau, một số mất đoạn hoặc nhân đôi trải dài trên một số gen, trong khi những trường hợp khác chỉ kéo dài một phần giới hạn của gen hoặc làm mất một phần của gen. Việc xóa, sao chép hoặc sắp xếp lại bộ gen có thể làm mất cân bằng hoạt động của (các) gen, dẫn đến mất hoặc

tăng vật liệu di truyền. Cơ chế hình thành biến thể số lượng bản sao (CNV) chủ yếu dựa trên sự tái tổ hợp và sao chép.

Bệnh Parkinson là rối loạn thoái hóa thần kinh phổ biến với căn nguyên di truyền rất phức tạp. Nhiều phát hiện cho thấy, CNV là một trong những nguyên nhân quan trọng gây ra dạng bệnh Parkinson theo di truyền Mendel .

Phương pháp Khuếch đại đa đầu dò phụ thuộc phản ứng ghép nối (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification - MLPA) được coi là nền tảng trong việc xét nghiệm các biến thể di truyền dạng các biến thể cấu trúc, các mất đoạn/lặp đoạn lớn trong hệ gen (CNV).

Điểm mạnh của kỹ thuật này nằm ở tính linh hoạt của nó: MLPA có thể được sử dụng để phát hiện sự thay đổi số lượng bản sao từ các exon đơn lẻ đến toàn bộ gen. MLPA cũng được sử dụng để phát hiện các thay đổi methyl hóa DNA (MS-MLPA) và đủ nhạy để phân biệt những sai lệch trong các gen gây bệnh từ các giả gen cao giống nhau.

MLPA là một phương pháp có thông lượng cao, đem lại hiệu quả về chi phí và thời gian trong việc kiểm tra sự thay đổi về số lượng bản sao của các biến thể, hiện có sẵn một số lượng lớn các bộ kit hầu như bao phủ tất cả những biến thể số lượng bản sao đã biết. Là phản ứng tích hợp, một phản ứng MLPA có thể xác định thông tin tối đa đến 60 mục tiêu khác nhau thay vì 60 phản ứng độc lập nếu sử dụng PCR thông thường. MLPA có thể được thực hiện trên một số lượng lớn các mẫu đồng thời. Việc tiến hành phản ứng có thể lặp lại, dễ thực hiện và nhạy. Mỗi phản ứng MLPA chỉ cần 50 ng DNA, có thể phân biệt các trình tự khác nhau chỉ một nucleotide duy nhất và có thể phát hiện sự khác biệt về số lượng bản sao nhỏ - ví dụ: 3 so với 2 bản sao của một trình tự gen nhất định trong một mẫu DNA. Mỗi đầu dò MLPA phát hiện một trình tự gồm khoảng 60-80 nucleotide, có nghĩa là có thể phát hiện ra sự xóa bỏ hay sao chép đơn lẻ của exon.

Một số nhược điểm MLPA: các đầu dò MLPA không chỉ nhạy cảm với việc xóa hoàn toàn trình tự đích của đầu dò mà còn xác định các trường hợp xóa nhỏ, chèn và sai lệch. Khi thiết kế đầu dò MLPA, nhà sản xuất cố gắng loại trừ các trình tự SNP đã biết hoặc các đa hình khác được tìm thấy bằng cách sử dụng các công cụ tìm kiếm di truyền mới nhất. Tuy nhiên, điều này không phải lúc nào cũng khả thi do các đa hình mới liên tục được phát hiện. Do đó, việc tiến hành MLPA nên được xác nhận lại bằng một phương pháp khác, đặc biệt trong trường hợp xóa một đầu dò đơn lẻ.

MLPA là một phương pháp hiệu quả để xác định các biến thể, đặc biệt là các biến thể số lượng một đoạn trình tự đã biết. Tuy nhiên, MLPA không phải là phương pháp để sàng lọc các biến thể mới. Để bổ sung những khuyết điểm của MLPA, phương pháp giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa (WES) là một lựa chọn phù hợp cho việc tiến hành sàng lọc bệnh nhân và các đối tượng có nguy cơ ở nhiều bệnh khác nhau trong đó có bệnh Parkinson.

1.8 Tình hình các nghiên cứu trong và ngoài nước

1.8.1 Tình hình nghiên cứu trong nước

Ở Việt Nam, đã có rất nhiều nghiên cứu về lâm sàng bệnh Parkinson nói chung và cận lâm sàng. Đặc biệt, những năm gần đây triệu chứng ngoài vận động cũng đặc biệt được quan tâm nhiều hơn do ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh và điều trị còn gặp nhiều khó khăn. Tuy nhiên, nghiên cứu ở nhóm bệnh EOPD và đặc điểm di truyền bệnh Parkinson còn hạn chế. Hiện nay, các nhà lâm sàng trong nước đã tiếp cận và bắt đầu quan tâm nhiều hơn đến nhóm người bệnh EOPD, đặc biệt là đặc điểm di truyền của bệnh Parkinson để có hiểu biết sâu hơn về đặc điểm lâm sàng và cơ chế bệnh sinh di truyền của bệnh ở chủng tộc người Việt Nam, thể hiện qua một số nghiên cứu sau:

- *Nghiên cứu lâm sàng*

Năm 2021, Đặng Thị Huyền Thương và cộng sự nghiên cứu cắt ngang trên 89 người bệnh EOPD (tuổi khởi phát trước 50) về tần suất, đặc điểm và các yếu tố liên quan triệu chứng đau theo thang điểm KPPS. Thấy rằng, đau là triệu chứng phổ biến ở người bệnh EOPD. Các rối loạn về giấc ngủ và sự mệt mỏi liên quan đến độ nặng của đau [16].

Năm 2021, Trần Ngọc Tài và cộng sự nghiên cứu về sự ảnh hưởng của các triệu chứng ngoài vận động đến chất lượng cuộc sống và sức khỏe ở 89 người bệnh EOPD (tuổi khởi phát từ 20-40), thấy rằng các triệu chứng ngoài vận động liên quan đến rối loạn giấc ngủ/mệt mỏi, tâm trạng/nhận thức và sự chú ý/trí nhớ tác động tiêu cực đến HRQoL ở người bệnh mắc EOPD [17].

Năm 2023, Lê Thị Thúy An và cộng sự tiến hành nghiên cứu ở 100 người bệnh EOPD (tuổi khởi phát dưới 50), sử dụng thang điểm MDS-UPDRS phần III để xác định độ nặng của bệnh EOPD và xác định mối tương quan giữa điểm số MDS-UPDRS và điểm Hoehn–Yahr với bệnh EOPD. Nghiên cứu thấy rằng, có mối liên quan đáng kể giữa độ nặng thang điểm MDS - UPDRS phần III và thời gian mắc bệnh. Tuy nhiên, mục tiêu nghiên cứu chủ yếu tập trung triệu chứng vận động và chưa thấy đề cập triệu chứng ngoài vận động ở nhóm EOPD [18].

- *Một số nghiên cứu gen ở người bệnh Parkinson*

Năm 2003, Nhữ Đình Sơn nghiên cứu gen SNCA ở người bệnh Parkinson nói chung [19].

Năm 2017, Hồ Trường Giang và cộng sự thực hiện nghiên cứu về biến đổi gen DJ-1 ở 30 người bệnh Parkinson rải rác [20].

Năm 2021, Tô Thị Thu Hương và Nguyễn Văn Liệu đã tiến hành nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và biến thể gen trên 30 người bệnh EOPD (tuổi khởi phát dưới 50), thấy rằng có 18 người bệnh (56,3%) mang biến thể: GBA (21.9%), GIGYF2 (15,6%), EIF4G1 (12,5%) [21].

Năm 2022, Trần Tín Nghĩa và cộng sự nghiên cứu xác định biến thể gen *SNCA*, *PARK2*, *PARK7* và *LRRK2* trên 50 người bệnh Parkinson. Kết quả cho thấy tỷ lệ biến thể lần lượt là *SNCA* (4,0%), *PARK2* (8,0%), *PARK7* (2,0%) và *LRRK2* (6,0%), không có biến thể 80,0% [23].

Năm 2022, Đỗ Minh Đức và cộng sự tiến hành nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và di truyền trên 20 gen ở 83 người bệnh Parkinson khởi phát trước 50 tuổi, phát hiện 37/83 người bệnh mang những thay đổi di truyền, với 24 biến thể gây bệnh/có khả năng gây bệnh/nguy cơ và 25 biến thể có ý nghĩa không chắc chắn. Các biến thể gây bệnh/có khả năng gây bệnh/nguy cơ chủ yếu được phát hiện ở *LRRK2*, *PRKN* và *GBA*, trong khi các biến thể có ý nghĩa không chắc chắn được xác định ở 12 gen khác nhau đã được nghiên cứu. Sự thay đổi di truyền phổ biến nhất là *LRRK2* c.4883G>C (p.Arg1628Pro), và người bệnh Parkinson mang biến thể này được tìm thấy có kiểu hình riêng biệt. Những người tham gia mang các biến thể gây bệnh/có khả năng gây bệnh/nguy cơ có tỷ lệ tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson cao hơn đáng kể [22].

1.8.2 Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Trong những gần đây, sự phát triển của công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới đã thúc đẩy các nhà khoa học trên thế giới tập trung nghiên cứu và tiếp cận để tìm hiểu sâu rộng hơn về cơ chế di truyền phức tạp ở bệnh Parkinson, trong đó đối tượng người bệnh EOPD cũng được quan tâm hơn vì chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố di truyền nhiều hơn. Sau đây là một số nghiên cứu ở bệnh EOPD:

- **Các nghiên cứu về lâm sàng bệnh EOPD**

Năm 2014, Mehanna R. và cộng sự đã chia nhóm người bệnh Parkinson theo tuổi khởi phát (khởi phát sớm < 50 và muộn >70 tuổi) và thấy người bệnh EOPD có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson hay gặp hơn và thời gian sống sót lâu hơn. Run là triệu chứng ban đầu của nhóm EOPD. Trầm cảm gặp

thường xuyên hơn ở nhóm EOPD. Tần suất điều trị loạn động hoặc loạn trương lực liên quan đến điều trị giảm khi theo tuổi khởi phát tăng [25].

Năm 2016, Ferguson L.W. và cộng sự tiến hành nghiên cứu so sánh đặc điểm lâm sàng của người bệnh EOPD và LOPD (bệnh Parkinson được chẩn đoán bằng mô bệnh học) cho kết luận bệnh EOPD tiến triển chậm hơn, thể hiện thời gian để tới giai đoạn III của bệnh theo Hoehn và Yahr kéo dài hơn [105].

Năm 2019, nghiên cứu ở Nhật trên 131 người bệnh EOPD mới được chẩn đoán (tuổi khởi phát 21-50 và tuổi trung bình là 44,2 tuổi) cho thấy các bệnh đi kèm phổ biến nhất là trầm cảm (23,7%), tăng huyết áp (23,7%) và mất ngủ (22,9%) [106].

Năm 2020, Schirinzi T. và cộng sự phân tích so sánh một số dấu ấn sinh học trong dịch não tủy và một số đặc điểm lâm sàng của người bệnh EOPD và LOPD cho thấy nồng độ các chất trong dịch não tủy gồm lactate, 42-amyloid- β peptide, total và 181-phosphorylated tau; axit uric huyết tương thấp hơn ở nhóm EOPD và mức độ các triệu chứng ngoài vận động cũng nhẹ hơn [107].

- *Một số nghiên cứu về di truyền ở người bệnh Parkinson*

Năm 2019, một nghiên cứu lớn ở Anh trên 2262 người bệnh Parkinson (424 người bệnh EOPD và 1799 LOPD) đã xác định một cách toàn diện các biến thể trên các gen *PRKN*, *PINK1*, *LRRK2* và *SNCA* bằng cách sử dụng giải trình tự WES, kỹ thuật MLPA và giải trình tự Sanger. Kết quả cho thấy trong số tất cả các người bệnh EOPD, có 3,3% mang biến thể ở cả 2 alen (biallelic) ở gen *PRKN* hoặc *PINK1*, biến thể gen trội và biến thể lặn phổ biến như nhau. Tuy nhiên, các tác giả nhận thấy rằng người mang gen biến thể *PRKN* và *PINK1* có các đặc điểm lâm sàng khác biệt so với người không mang gen khởi phát trẻ, với nhiều triệu chứng rối loạn tư thế hơn khi chẩn đoán và ít suy giảm nhận thức hơn, sau khi điều chỉnh theo tuổi và thời gian mắc bệnh [108].

Năm 2019, nghiên cứu ở Hàn Quốc trên 70 người bệnh EOPD (phân tích 12 gen dựa trên giải trình tự đa gen và có sử dụng phương pháp MLPA) cho thấy: 20 biến thể hiếm trên các gen *SNCA*, *PRKN*, *LRRK2*, *PINK1*, *DJ1*, *FBXO7*, *HTRA2*, *EIG4G1* ở 20 người bệnh. Hai biến thể gây bệnh (*SNCA* hai người bệnh, *DJ1* ở một người bệnh) và 7 biến thể có khả năng gây bệnh (*SNCA*, *LRRK2*, *FBXO7* và 2 ở *PINK1* và *PRKN*) từ 7 người bệnh [109].

Năm 2020, nghiên cứu Tây Ban Nha phân tích 17 gen gồm *SNCA*, *LRRK2*, *PINK1*, *PRKN*, *ATP13A2*, *FBXO7*, *VPS35*, *DJ1*, *PLA2G6*, *EIF4G1*, *DNAJC6*, *HTRA2*, *SMPD1*, *SYNJ1*, *UCHL1*, *GIGYF2* và *GBA* thì thấy 26/117 người bệnh (22,22%) mang các biến thể có khả năng gây bệnh ở *PRKN*, *LRRK2*, *PINK1* hoặc *GBA*. Gen thường xuyên bị biến thể nhất là *PRKN*. Sự đồng xuất hiện của các biến thể gây bệnh liên quan đến hai gen đã được quan sát thấy trong *ATP13A2* và *PARK2*, cũng như gen *LRRK2* và *GIGYF2* [110].

Năm 2020, ở Trung Quốc, khi phân tích 23 gen liên quan tới bệnh Parkinson ở 1242 người bệnh EOPD (242 người bệnh Parkinson di truyền trội trên NST thường, và 192 người bệnh Parkinson di truyền lặn trên NST thường) thì thấy 132/167 (79%) người bệnh có biến thể, trong đó EOPD có 4,59%. *PRKN* là gen biến thể thường xuyên nhất (83, 4,95%) và là bằng chứng đầu tiên về sự sao chép *SNCA* và biến thể *LRRK2* p.N1437D [12].

Năm 2020, nghiên cứu khác ở Trung Quốc gồm 240 người bệnh EOPD trong đó 47 người có yếu tố gia đình (tuổi khởi phát <50 tuổi). Tổng cộng, 18 người bệnh (7,5%) chứa các biến thể gây bệnh hoặc có khả năng gây bệnh trong các gen bệnh Parkinson đã biết. Trong số các biến thể này, các biến thể ở *PRKN* và *PINK1* là nguyên nhân gây ra 4,2% các trường hợp, và các biến thể gây bệnh hiếm gặp ở *LRRK2* (1,7%) cũng có vẻ là nguyên nhân tương đối phổ biến của EOPD. Đáng chú ý, 7,5% người bệnh có các biến thể nguy cơ ở *LRRK2* hoặc *GBA*, cũng nên được xem xét đối với EOPD. Tuy nhiên, 41 người bệnh (17,1%) có các biến thể hiếm gặp không rõ ý nghĩa [111].

Năm 2022, nghiên cứu phân tích di truyền người bệnh EOPD ở miền đông Trung Quốc thấy rằng, 14 (9,03%) người bệnh được phát hiện với các biến thể gây bệnh phân bố trong bảy gen. Biến thể thường gặp nhất xảy ra ở *PRKN* (7/155, 4,52%), tiếp theo là *LRRK2* (2/155, 1,29%), *SNCA*, *CHCHD2*, *TMEM230*, *DNAJC13* và *PLA2G6* (lần lượt là 1/155, 0,64%). Biến thể sắp xếp lại exon chiếm 57,9% (11/19) của tất cả các biến thể trong *PRKN*. Bốn biến thể mới đã được phát hiện: c.14T>C (p.M5T) trong *SNCA*, c.297C>A (p.Y99X) trong *CHCHD2*, c.2578C>T (p.R860C) ở *DNAJC13* và c.4C>T (p.Q2X) ở *TMEM230*. Đã tìm thấy trường hợp đầu tiên của *LRRK2* c.6055G > A (p.G2019S) biến thể trong dân số Trung Quốc.

Như vậy, trong những năm gần đây cùng với sự phát triển công nghệ giải trình tự gen, các nhà nghiên cứu trên thế giới đã tập trung tiếp cận toàn diện hơn về nguyên nhân di truyền ở bệnh Parkinson, vấn đề này được thể hiện ở việc gia tăng các biến thể gây bệnh và biến thể hiếm. Ở Việt Nam, trong khoảng hai thập kỷ gần đây, số lượng các nghiên cứu về di truyền cũng như về lâm sàng người bệnh EOPD ngày càng phong phú hơn, tuy nhiên vấn đề thiếu dữ liệu di truyền bệnh Parkinson của dân số người Việt Nam đòi hỏi việc nghiên cứu di truyền bệnh Parkinson là thực sự cần thiết.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu tiến cứu, mô tả cắt ngang, có phân tích.

2.2 Đối tượng nghiên cứu, thời gian, địa điểm thực hiện

Người bệnh Parkinson có tuổi khởi phát ≤ 50 , được khám và chẩn đoán bệnh bởi bác sĩ chuyên khoa thần kinh, điều trị nội và ngoại trú tại Bệnh viện Quân y 103, Bệnh viện Đại học Y dược 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 (phụ lục 2) [24].

- 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:

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)}{d^2}$$

Với Z là hệ số tin cậy; α là mức tin cậy; p là tỷ lệ ước đoán; d là sai số tuyệt đối

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 $d=0,07$ [110]. 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 (100 mẫu) nên số lượng mẫu xét nghiệm di truyền sẽ lấy ngẫu nhiên theo thứ tự các mẫu được thu thập sớm hơn đến khi đủ 100 mẫu nên tiêu chí giống như các mẫu không được xét nghiệm di truyền. Trong quá trình xử lý phân tích di truyền 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 không sử dụng nhóm chứng.

2.4 Thiết bị, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu

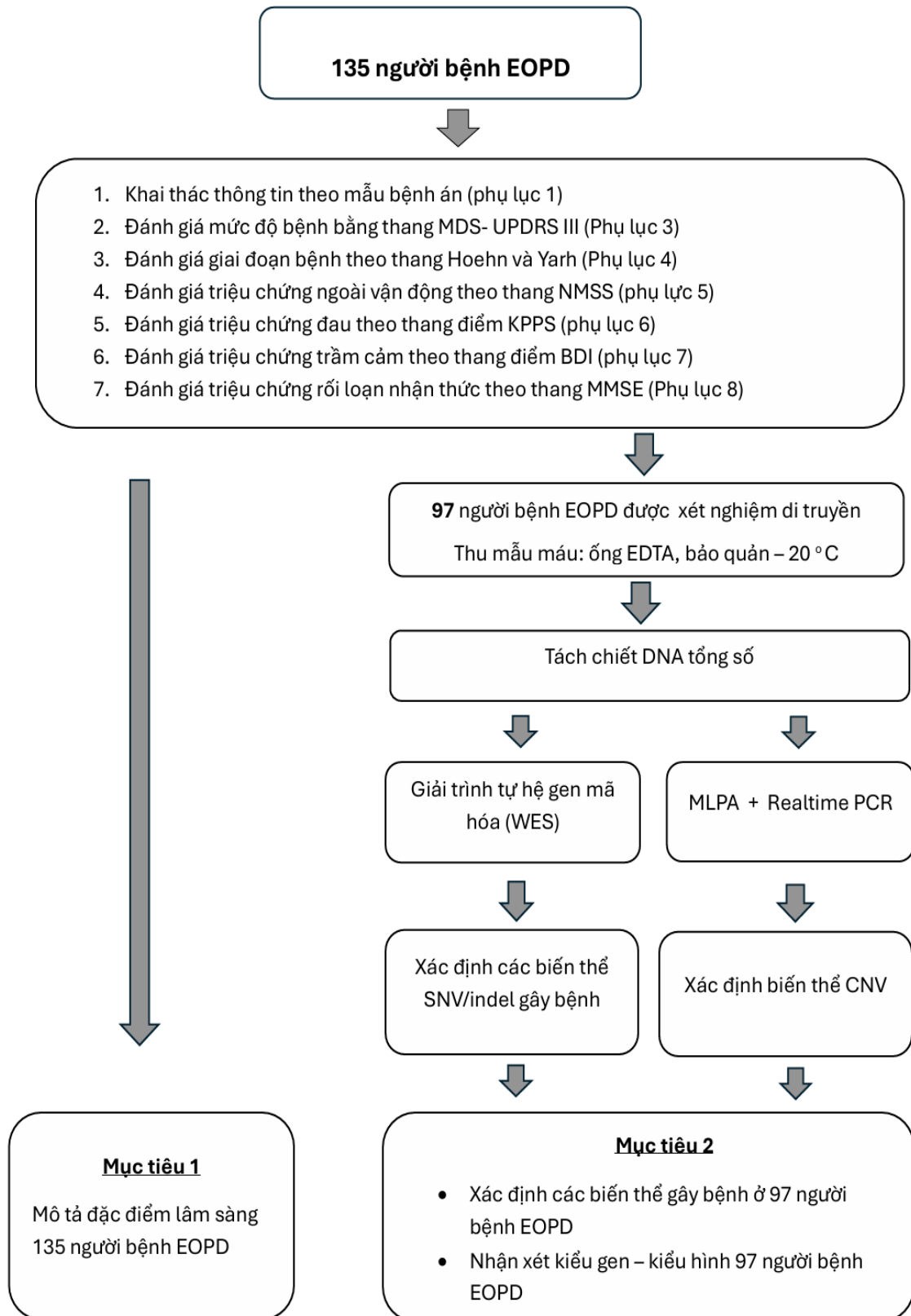
Các máy móc, thiết bị phục vụ cho quá trình xét nghiệm Exome thuộc Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các thiết bị sử dụng chính bao gồm: máy giải trình tự gen thế hệ mới NextSeq 500 (Illumina, Mỹ), máy giải trình tự gen ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Mỹ), máy PCR Mastercycler pro S (Đức); máy realtime PCR Light Cycle 96 (Roche, Thụy Sĩ), máy điện di (Bio-Rad); máy soi gel và chụp ảnh tự động DigiDoc-It® Imaging System của

Ultra-violet production (Mỹ); máy cô quay chân không-SpeedVac (Eppendorf, Đức), máy đo quang phổ (UV-Vis BioSpectrometer Basic, Đức); máy đo huỳnh quang Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Mỹ); máy Covaris M220 Focusedultrasonicator (Covaris, Mỹ), máy spindown (Wealtec, Mỹ), tủ đông -20 độ C (Sanaky, Trung Quốc), cân kỹ thuật (Ohaus, Mỹ), tủ mát có ngăn đông (Electrolux, Thụy Điển), máy ly tâm (Eppendorf, Đức) và máy ly tâm lạnh đa năng (5810R-Đức).

Các dụng cụ thí nghiệm được sử dụng bao gồm: ống chứa máu EDTA-K2 (Việt Nam), micropipette đơn kênh và đa kênh (Eppendorf, Đức), stepper pipette (Eppendorf, Đức), combitips dùng cho stepper pipette (Eppendorf, Đức), ống eppendorf đựng mẫu thể tích 1,5ml (Corning, Mỹ), ống ly tâm falcon thể tích 15ml-50ml (Biologix, Mỹ), ống PCR 0,2ml (QSP), đĩa chạy PCR 96 giếng (Biologix-Mỹ), đĩa chạy real-time PCR 96 giếng (Roche, Thụy Sĩ), đĩa giải trình tự 96 giếng (ABI-Mỹ), đĩa tinh sạch sản phẩm PCR 96 giếng (Merck-Milipore, Mỹ).

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 (Phụ lục 2) và thu thập thông tin tiền sử, bệnh sử, khám bệnh theo một mẫu bệnh án thống nhất (Phụ lục 1).

+ Đánh giá mức độ bệnh theo thang điểm thống nhất đánh giá bệnh Parkinson (Unified Parkinson's Disease Rating Scale – UPDRS III) phiên bản MDS (Phụ lục 3). Triệu chứng rối loạn vận động được đánh giá dựa theo các mục từ 18 tới 31 của thang này gồm 3 mức độ: nhẹ (1-32 điểm), trung bình (33-58 điểm), nặng (≥ 59 điểm) [6], [46].

+ Giai đoạn bệnh được phân loại theo Hoehn và Yahr (Hoehn và Yahr) (Phụ lục 4) gồm 5 giai đoạn. Giai đoạn 1: biểu hiện thương tổn một bên cơ thể; Giai đoạn 2: thương tổn cả hai bên, nhưng chưa có rối loạn thăng bằng; Giai đoạn 3: thương tổn hai bên, từ nhẹ đến vừa, có một vài rối loạn về tư thế dáng bộ, sinh hoạt vẫn bình thường. Giai đoạn 4: bị tàn tật, tuy nhiên vẫn có thể đi lại được hay đứng dậy không cần sự giúp đỡ. Giai đoạn 5: phải sử dụng xe lăn hoặc nằm liệt giường nếu không có người giúp đỡ.

+ Đánh giá triệu chứng ngoài vận động ở người bệnh Parkinson theo thang điểm NMSS (Non - Motor Syndroms Scale) (phụ lục 5). Thang điểm NMSS gồm 30 mục đánh giá 9 khía cạnh: tim mạch (2 mục), giấc ngủ/mệt mỏi (4 mục), tâm trạng/nhận thức (6 mục), vấn đề tri giác/ảo giác (3 mục), sự chú ý/ghi nhớ (3 mục), đường tiêu hóa (3 mục), tiết niệu (3 mục), chức năng tình dục (2 mục), các triệu chứng khác (4 mục). Mỗi mục được đánh giá về mức độ nặng: 0=không bị, 1=nhẹ, 2=trung bình, 3=nặng và tần xuất xuất hiện: 1=hiếm khi (dưới 1 lần/tuần), 2=thỉnh thoảng (1 lần/tuần), 3=thường xuyên (vài lần /tuần), 4 = rất thường xuyên (suốt ngày/suốt thời gian). Sau đó, nhân số điểm mức độ nặng với tần xuất được điểm của từng mục (từ 0 đến 12). Tổng điểm của triệu chứng ngoài vận động trong khoảng từ 0 đến 360 điểm [112].

+ Đánh giá triệu chứng rối loạn nhận thức theo thang MMSE (The Mini - Mental State Examination) (Phụ lục 9): thang gồm 7 mục với tổng điểm 30.

Mục 1 đánh giá khả năng định hướng không gian và thời gian (10 điểm). Mục 2 đánh giá sự ghi nhận (3 điểm). Mục 3 đánh giá sự chú ý và khả năng tính toán (5 điểm). Mục 4 đánh giá trí nhớ gần (3 điểm). Mục 5 đánh giá ngôn ngữ (3 điểm). Mục 6 đánh giá chức năng thực hiện các hoạt động kết hợp (5 điểm). Mục 7 đánh giá chức năng thị giác (1 điểm). Đánh giá: không suy giảm nhận thức (≥ 24 điểm), suy giảm nhận thức nhẹ (20-23 điểm), suy giảm nhận thức vừa (14-19 điểm), suy giảm nhận thức nặng (0-13 điểm).

+ Đánh giá triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson theo thang điểm KPPS (King's Parkinson's Disease Pain Scale) (Phụ lục 6). Thang điểm này bao gồm 14 mục, đánh giá 7 khía cạnh khác nhau: đau cơ xương khớp (1 mục), đau mạn tính (2 mục), sự liên quan đến đau (3 mục), đau về đêm (2 mục), đau vùng hàm mặt (3 mục), biến đổi đổi màu, phù nề/sưng (2 mục), đau rễ thần kinh (1 mục). Mỗi khía cạnh sẽ đánh giá mức độ nặng (từ không đau (0) đến nặng (3) và tần suất (từ không bao giờ (0) đến rất thường xuyên (4)).

+ Đánh giá triệu chứng rối loạn trầm cảm theo thang điểm BDI (The Beck Depression Inventory) (Phụ lục 7). Thang điểm này có 21 đề mục, mỗi đề mục có một số câu hỏi, điểm mỗi đề mục là 1 đến 3, tối đa là 63 điểm, tối thiểu là 0 điểm. Dưới 14 điểm: không trầm cảm, trên 14 điểm: có trầm cảm. Trong đó mức độ nhẹ (14 – 19), mức độ vừa (20 – 29), mức độ nặng (≥ 30).

+ Đánh giá thể bệnh lâm sàng theo công thức: điểm cho run được tính bằng điểm mục 20 và 21 ở thang UPDRS: run khi nghỉ ở đầu và từng chi (năm mục), run tư thế của tay phải và trái (hai mục). Điểm Cứng đờ và giảm vận động được tính bằng điểm 12 mục gồm ở cổ và từng chi (năm mục), vận động bàn tay (một mục), gõ ngón tay (một mục), đứng lên từ ghế (một mục), tư thế (một mục), dáng đi (một mục), tư thế không ổn định (một mục) và giảm vận động (một mục). Mỗi mục được cho điểm từ 0 đến 4 với 0 cho không có triệu chứng hoặc hoạt động bình thường và 4 biểu thị sự hiện diện đáng kể của triệu chứng hoặc suy giảm. Giá trị trung bình của điểm run và cứng đờ-

giảm vận động được tính và sau đó xác định tỷ lệ (điểm run trung bình/điểm cứng đờ - giảm vận động trung bình). Nếu điểm cứng đờ - giảm vận động ít nhất gấp 2 lần điểm run thì phân loại thể bệnh cứng đờ - giảm vận động ưu thế, nếu điểm run ít nhất gấp 2 lần điểm cứng đờ - giảm vận động thì phân loại thể run ưu thế; còn lại là thể hỗn hợp [113].

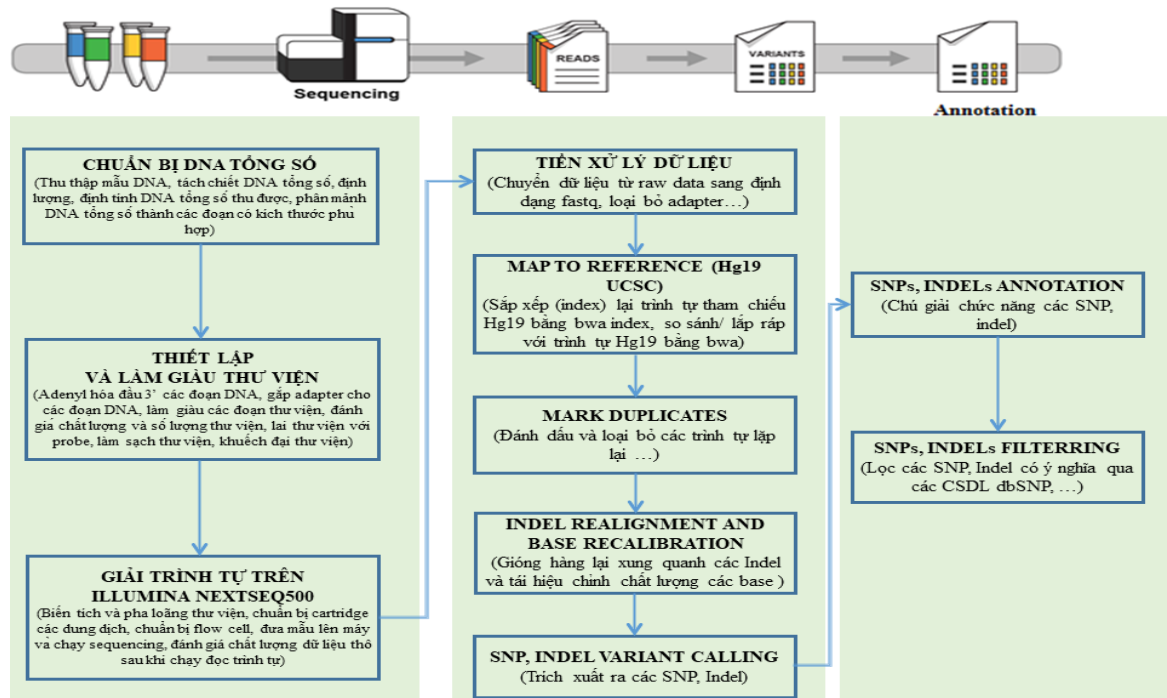
2.5.2 Xét nghiệm di truyền ở bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm

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

Lấy 2 ml máu tĩnh mạch ở mỗi đối tượng nghiên cứu cho vào ống máu tiêu chuẩn chứa EDTA. Các ống mẫu máu được đánh số theo quy định (PKS1, PKS2...). Lưu trữ ở -20°C cho đến khi sử dụng.

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

Tổng thể các bước thí nghiệm và phân tích dữ liệu WES được thực hiện theo sơ đồ nghiên cứu dưới đây:



Hình 2.1. Sơ đồ chi tiết các bước phân tích hệ gen mã hóa (WES)

- *Tách chiết DNA tổng số từ mẫu máu*

Các mẫu sau khi tiếp nhận đã được mã hóa sau đó tách chiết DNA tổng số bằng Exgene™ Blood SV mini Kit (GeneAll, Hàn Quốc) với quy trình như sau:

Chuẩn bị 20 µl proteinase K (20 mg/ml) trong ống Eppendorf 1,5 ml. Bổ sung 200 µl máu, sau đó bổ sung là 20 µl RNase (20 mg/ml). Hỗn hợp được trộn đều bằng vortex, spin nhanh và ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 phút. Thêm 200 µl đệm BL vào hỗn hợp và trộn đều, hỗn hợp được ủ ở 56°C trong 10 phút. Bổ sung 200 µl ethanol 100% và trộn đều hỗn hợp, ly tâm nhẹ sau đó chuyển hỗn hợp lên cột tách chiết đặt trong ống thu và ly tâm với tốc độ 8000 rpm trong 60 giây. Chuyển cột sang ống thu mới, thêm 600 µl đệm BW và ly tâm ở 8000 rpm trong 60 giây. Tiếp tục chuyển cột sang ống thu mới, bổ sung thêm 700 µl đệm TW và ly tâm 8000 rpm trong 60 giây. Sau đó đổ bỏ dịch trong ống thu, đặt lại cột vào ống thu và tiếp tục ly tâm 7000 rpm trong 2 phút để làm khô cột.

Chuyển cột sang ống Eppendorf 1,5 ml mới. Thêm 70 µl đệm TE ở đã ủ 56°C vào đáy cột, để cho đệm thấm đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong 3 phút. Tiếp tục ly tâm ở 10.000 rpm trong 1 phút để thu mẫu. DNA lúc này thu được hòa tan trong đệm TE sau khi đi qua cột ở bước ly tâm cuối cùng.

DNA tổng số thu được đem kiểm tra bằng điện di trên Agrose 0,8% và đo nồng độ, sau đó đem lưu trữ ở -20°C.

- *Xác định nồng độ DNA tổng số*

DNA tổng số tách từ mẫu máu được kiểm tra bằng điện di và sau đó nồng độ DNA mạch đôi được kiểm tra bằng bộ kit Qubit dsDNA HS Assay (LifeTechnologies, Mỹ). Chuẩn bị dung dịch Qubit working bằng cách pha loãng thuốc thử Qubit dsDNA HS Reagent trong Qubit dsDNA HS Buffer với tỷ lệ 1:200. Thê tích dung dịch Qubit working được sử dụng cho các mẫu chuẩn là 190 µl và các mẫu DNA tổng số là 198 µl, tổng thể tích của mỗi ống chứa mẫu chuẩn/DNA tổng số đều là 200 µl. Các ống mẫu được trộn đều và ủ

trong tối, nhiệt độ phòng 2 phút. Nồng độ DNA tổng số được đo bởi máy Qubit 2.0 Fluorometer. Từ đó, máy đo sẽ tính toán nồng độ dsDNA dựa trên nồng độ của đường chuẩn được xây dựng bởi 2 mẫu chuẩn và số lần pha loãng của DNA tổng số.

- *Thiết lập thư viện DNA*

Quá trình thiết lập và làm giàu thư viện exome được thực hiện dựa trên bộ kit Truseq exome tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các bước chính để thiết lập thư viện DNA tổng số gồm: (1) Phân mảnh DNA tổng số sử dụng hệ thống máy Covaris M220 Focused-ultrasonicator (Covaris, Mỹ); (2) Sửa chữa điểm kết thúc và lựa chọn kích thước thư viện; (3) Gắn nucleotide A vào đầu 3' của các đoạn DNA; (4) Gắn các adapters với các đoạn DNA; (5) Làm giàu các phân đoạn; (6) Kiểm tra thư viện; (7) Lai với các đoạn dò; (8) Thu giữ các đầu dò đã được lai (Capture Hybridized Probes); (9) Tiến hành quá trình lai lần 2; (10) Tiến hành thu giữ các đầu dò đã được lai lần 2; (11) Tinh sạch thư viện; (12) Khuếch đại thư viện đã được làm giàu; (13) Tinh sạch thư viện đã được làm giàu sau khi khuếch đại; (14) Đánh giá thư viện.

- *Giải trình tự thư viện DNA đã làm giàu trên máy NextSeq 500*

Quá trình giải trình tự được thực hiện trên máy NextSeq 500 (Illumina, Mỹ) sử dụng bộ kit NextSeq v2.5 Reagent theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Quy trình gồm các bước chính sau: (1) Chuẩn bị Reagent Cartridge, (2) Chuẩn bị Flow cell; (3) Biến tính và pha loãng thư viện; (4) Tra thư viện vào Reagent Cartridge; (5) Cài đặt chu trình và tiến hành giải trình tự.

- *Phân tích dữ liệu WES*

Tiền xử lý dữ liệu, lắp ráp với trình tự chuẩn hệ gen người (Processing data): Sử dụng một số phần mềm để đánh giá chất lượng dữ liệu và loại bỏ những dữ liệu chất lượng thấp hoặc không phù hợp với nhu cầu phân tích (FastQC, phiên bản 0.12.1). Các đoạn đọc được sắp xếp và so sánh với trình tự tham chiếu hg19/GRCh37 nhờ sử dụng công cụ BWA.v0.7.12 [114]. Đồng thời, sử dụng công cụ Picard để đánh dấu các đoạn lặp.

Xác định biến thể (Variant Calling): Sử dụng tập hợp các công cụ phân tích hệ gen (GATK) để phát hiện các biến đổi đơn nucleotide (SNVs) và các thêm/mất đoạn ngắn (Indels). Toàn bộ các biến thể với độ bao phủ dưới 20x và các điểm hoặc chèn/mất đoạn nằm ngoài phạm vi 10bp tính từ đầu mút exon cũng bị loại bỏ. Sau cùng, các biến thể được lọc qua các cơ sở dữ liệu bao gồm 1000G, dbSNP và gnomAD. Tất cả các biến thể có tần số lớn hơn 1% sẽ được loại bỏ, chiến lược phân tích trên các gen liên quan đến bệnh Parkinson và mở rộng với gen thuộc nhóm bệnh thoái hóa thần kinh trung ương.

Chú giải biến thể và các phân tích chuyên sâu (Downstream Analysis): sử dụng chương trình ANNOVAR để chú giải các biến thể [115]. Các chú giải được đưa ra bởi ANNOVAR bao gồm danh sách các biến thể phát hiện được với các trường thông tin về nhiễm sắc thể, vị trí biến đổi trên nhiễm sắc thể, kiểu biến đổi, tần số allele, được báo cáo trong dbSNP, ClinVar, điểm và dự đoán ảnh hưởng trên các công cụ như SIFT/PolyPhen/CADD/LRT/Mutation Taster/Mutation Assessor/FATHMM/MetaSVM/MetaR...

- *Tiêu chí đánh giá đảm bảo chất lượng quy trình giải trình tự gen (WES)*

Bước tách chiết, tinh sạch DNA tổng số đóng một vai trò quan trọng đảm bảo cho quy trình thành công. Do đó số lượng và chất lượng DNA phải đảm bảo, cụ thể đối với kỹ thuật WES, lượng DNA cần thiết tối thiểu là 1 mg có tỷ lệ OD260/280 dao động từ 1,8-2,0, DNA ít bị đứt gãy.

Kỹ thuật NGS nói chung trong đó có WES, chiều dài mỗi lượt đọc tối đa được từ 150 – 300 nucleotide (đối với kỹ thuật sequence by synthesis). Do đó, DNA tổng số ban đầu cần được phân mảnh thành các đoạn có kích thước từ 300 - 500 nucleotide trước khi tiến hành làm giàu và đọc trình tự. Đây là công đoạn quan trọng, vì vậy cần phải phân mảnh làm sao để thu được sản phẩm tập trung ở khu vực có kích thước từ 300-500 nucleotide >80%.

Sau khi đọc trình tự, dữ liệu thô cần phải đạt được các tiêu chí sau mới đảm bảo quá trình phân tích hiệu quả. WES phục vụ xác định các biến thể

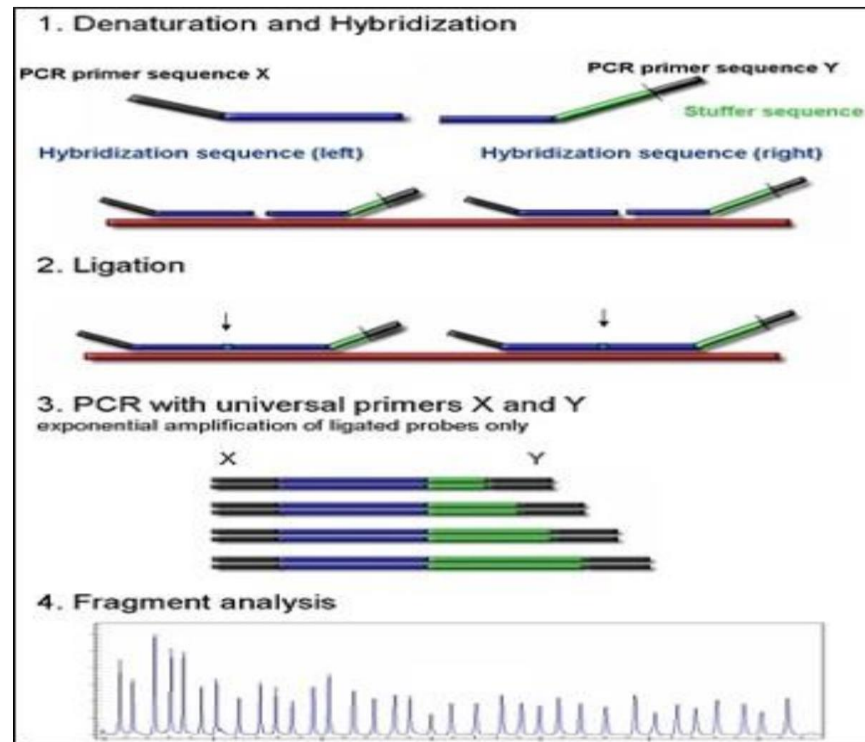
hiếm số lần đọc trung bình của mỗi nucleotide là 100, trong khi đó số lần đọc tối thiểu của mỗi nucleotide phải đạt từ 20 lần trở lên. Ngoài ra, chỉ số Q30 (số lỗi trên 1000 nucleotide) cần phải lớn 90%.

Đối với quy trình WES, các bước phân tích dữ liệu bằng các công cụ tin sinh vô cùng quan trọng. Vì dữ liệu thô thu được là rất lớn, các thông số của các phần mềm giúp thu được kết quả chính xác. Để đảm bảo các biến thể là chính xác, tỷ lệ dương tính giả của các biến thể phải ở ngưỡng dưới 5%.

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*)

Để tiến hành phản ứng MLPA trên các mẫu xét nghiệm của người bệnh Parkinson, chúng tôi sử dụng bộ kit hỗn hợp đầu dò SALSA MLPA Parkinson P051 và P052 (MRC-Holland, Amsterdam, Hà Lan) (chuyên dùng trong các phân tích chẩn đoán và nghiên cứu *in vitro* giúp phát hiện việc mất hoặc lặp đoạn trên các gene *SNCA*, *PARK2*, *UCHL1*, *PINK1*, *PARK7*, *ATP13A2*, *LRRK2*, *GCH1* ở người với sự xuất hiện của hai biến thể điểm, A30p trong gene *SNCA* và G2019S trong gene *LRRK2*) để xác định nguyên nhân tiềm năng và chẩn đoán lâm sàng cho bệnh Parkinson. Các đầu dò của bộ kit được thiết kế đặc hiệu cho việc lai và khuếch đại một số exon của các gen *PARK7* (1 đầu dò trên exon 7), *ATP13A2* (1 đầu dò trên exon 29), *PINK1* (1 đầu dò trên exon 8), *UCHL1* (1 đầu dò trên exon 9), *SNCA* (1 đầu dò trên exon 6), *PARK2* (1 đầu dò trên exon 12), *LRRK2* (1 đầu dò trên exon 51) và *GCH1* (1 đầu dò trên exon 6). Mỗi đầu dò là một cặp oligonucleotide và mỗi oligo sẽ bắt cặp bổ sung với trình tự trên DNA đích, khi nào cả 2 oligo của một đầu dò đã được lai với trình tự đích thì các oligo này sẽ được ghép nối (ligate) với nhau và trở thành một đầu dò hoàn chỉnh. Mỗi một đầu dò có một chiều dài khác nhau, do đó tạo phản ứng khuếch đại sử dụng mỗi có đánh dấu huỳnh quang sẽ tạo nên các sản phẩm với kích thước khác nhau và được phân tách bằng điện di mao quản trên máy giải trình tự tự động, sử dụng ứng dụng phân tách đoạn.

- *Thực hiện phản ứng MLPA*



Hình 2.2. Các bước thực hiện phản ứng MLPA

Để chuẩn bị cho phản ứng MLPA, DNA tổng số được pha loãng về nồng độ 10ng/μl trong đệm TE. 50ng DNA tổng số với thể tích 5μl được sử dụng cho phản ứng MLPA. Các bước phản ứng MLPA được tiến hành trong 2 ngày:

**Ngày thứ nhất:*

Thêm 5 μl DNA tổng số (50 ng) vào mỗi ống PCR 0.2ml và thực hiện biến tính trên máy PCR trong 5 phút ở 98°C, làm lạnh mẫu xuống 25°C và đưa mẫu ra khỏi máy PCR. Trong bước tiếp theo, hỗn hợp phản ứng lai được chuẩn bị bao gồm các thành phần sau: 1,5 μl MLPA buffer và 1,5 μl probemix. Hỗn hợp được trộn đều bằng pipette hoặc vortex, sau đó thêm 3 μl hỗn hợp phản ứng lai vào mỗi mẫu DNA đã biến tính trước đó tại nhiệt độ phòng. Tiếp tục chu trình nhiệt như sau: ủ trong 1 phút ở 95°C, sau đó ủ 16-20 giờ ở 60°C.

**Ngày thứ hai:*

Chuẩn bị hỗn hợp cho mỗi phản ứng ghép nối bao gồm: 25 μ l nước khử ion, 3 μ l Ligase Buffer A, 3 μ l Ligase Buffer B và 1 μ l Ligase 65 enzyme. Sau khi lai các mẫu DNA đã biến tính với hỗn hợp các đầu dò, hạ chu trình nhiệt xuống 54°C và giữ đĩa phản ứng ở nhiệt độ này. Tiến hành thêm thêm 32 μ l hỗn hợp ligase 65 vào mỗi ống mẫu và trộn đều. Chu trình nhiệt được tiếp tục như sau: ủ 15 phút ở 54°C (ghép nối hai phần của mỗi cặp đầu dò), ủ 5 phút ở 98°C (bất hoạt enzyme ligase 65), dừng ở 20°C. Lúc này các ống mẫu có thể được lấy ra khỏi máy PCR.

Phản ứng PCR: Vortex Salsa PCR primer mix. Làm ấm Polymerase trong tay 10 giây để giảm độ nhớt. Chuẩn bị hỗn hợp cho mỗi phản ứng khuếch đại các đầu dò đã ghép nối như sau: 7,5 μ l nước khử ion, 2 μ l Salsa PCR primer, 0,5 μ l Salsa polymerase. Thêm 10 μ l hỗn hợp chứa polymerase vào mỗi ống mẫu và tiếp tục chu trình nhiệt như sau: 35 chu kỳ x (95°C: 30 giây, 60°C: 30 giây, 72°C: 60 giây); 72°C: 10 phút; dừng ở 15°C. Sản phẩm PCR được lưu ở 4°C (1 tuần) hoặc -25°C (lưu giữ lâu dài), bọc trong giấy bạc hoặc hộp tối và tránh ánh sáng.

- *Điện di mao quản phân tách đoạn*

Trong bước này, 0,7 μ l sản phẩm PCR được sử dụng để điện di mao quản nhằm phân tách các phân đoạn đã được khuếch đại theo kích thước. Hỗn hợp được chuẩn bị trên đĩa phản ứng như sau: 0,7 μ l sản phẩm PCR, 0,2 μ l GeneScan LIZ (GS500) và 9 μ l HiDi formamide. Sau đó, đĩa phản ứng được làm nóng ở 86°C trong 3 phút, tiếp tục làm lạnh xuống 4°C trong 2 phút. Lúc này, hỗn hợp đã sẵn sàng cho điện di mao quản với các thông số điện di được thiết lập như bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thông số điện di mao quản trên máy 3500

Thiết bị	Mao quản	Cài đặt
ABI-3500	8 mao quản 50 cm	Run module: Fragment analysis Injection voltage: 1.6kV Injection time: 15sec Run voltage: 15kV Run time: 1800s Oven temperature: 60oC Polymer: POP 7

Các thông số trên được cài đặt cho ứng dụng Fragment

- *Phân tích kết quả bằng phần mềm Coffalyzer*

Sau khi chạy điện di mao quản trên máy ABI 3500, dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Coffalyzer. Phần mềm này được cung cấp tại trang chủ của hãng MRC. Tín hiệu huỳnh quang được xác định bởi điện di mao quản không được sử dụng để trực tiếp tính toán số bản sao, do tín hiệu huỳnh quang này còn bị ảnh hưởng bởi nhiều biến số. Đầu tiên, giá trị tín hiệu huỳnh quang của mỗi đầu dò sẽ được chuẩn hóa trong mỗi mẫu. Sau đó, các mẫu khác nhau sẽ được so sánh với nhau để xác định mẫu nào có số bản sao thay đổi bất thường. Quá trình chuẩn hóa của MLPA bao gồm 2 bước: chuẩn hóa trong 1 mẫu-intrasample normalization (so sánh các đỉnh tín hiệu của các đầu dò khác nhau trong cùng một mẫu) và chuẩn hóa giữa các mẫu-intersample normalization (so sánh các đỉnh tín hiệu của mỗi đầu dò tương ứng giữa các mẫu khác nhau). Những cá thể có số bản sao bình thường (2 bản sao) thì giá trị tỷ lệ nằm trong khoảng 0,8-1,2. Những cá thể chỉ có 1 bản sao thì giá trị tỷ lệ khoảng 0,65, ngược lại tỷ lệ này ở những cá thể có nhiều hơn 2 bản sao (3 hoặc 4 bản sao) sẽ lớn hơn 1,3. Còn đối với những cá thể không mang bản sao nào của vùng gen quan tâm, tỷ lệ này sẽ là 0. Tỷ lệ cuối cùng này còn được gọi là Dosage Quotient (DQ). Phần mềm Coffalyzer sẽ tính toán giá trị DQ cho từng đầu dò và đưa ra kết quả cuối cùng (Bảng 2.2). Kết quả phân tích là đáng tin cậy khi độ lệch chuẩn (standard deviation) của mỗi đầu dò của mẫu

đối chứng nhỏ (<10%), các đầu dò cho tín hiệu đồng thời tăng hoặc giảm tại các exon liên kề nhau (thể hiện mất/lặp đoạn nhiều exon liên nhau). Ngược lại, kết quả phân tích không đáng tin cậy khi các đầu dò bổ sung với các exon không liên kề cho tín hiệu tăng hoặc giảm.

Bảng 2.2 Mối liên hệ giữa giá trị DQ và số bản sao của mẫu nghiên cứu

Phân bố giá trị DQ	Số bản sao	Chú thích
DQ = 0	0	Mất đoạn đồng hợp tử
0,4 < DQ < 0,65	2=> 1	Mất đoạn dị hợp tử
0,8 < DQ < 1,2	2	Bình thường
1,3 < DQ < 1,65	2=> 3	Lặp đoạn dị hợp tử
1,75 < DQ < 2,15	2=> 4	
Giá trị khác	Kết quả không rõ ràng	

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. Phản ứng real-time PCR được thực hiện sử dụng hóa chất Luna Universal qPCR Master Mix (NEB). Các cặp mồi được thiết kế nhằm định lượng số bản sao của exon 3, exon 4 và exon 5 của *PRKN* (Bảng 2.3) Sau khi kiểm tra tính đặc hiệu, các mồi được đặt tổng hợp nhân tạo bởi công ty PHUSA Biochem (Cần Thơ, Việt Nam). Gen *RPPH1* được sử dụng làm gen tham chiếu, mẫu đối chứng được sử dụng là mẫu mà trước đó được xác định là có số bản sao bình thường từ dữ liệu MLPA. Phản ứng real-time PCR được thực hiện trên đĩa phản ứng với tổng thể tích 10μl bao gồm các thành phần sau: 20 ng DNA tổng số (2 μl), 5μl Luna Universal qPCR Mastermix-2X (NEB), 0,25 μl mỗi mồi (10 pmole/μl), 2,5 μl nước khử ion. Đĩa phản ứng được đưa vào máy LightCycle 96 với bước biến tính ban đầu ở 95°C trong 1 phút, sau đó là 45 chu kỳ: biến tính ở 95°C trong 15 giây, kéo dài ở 60°C trong 30 giây. Số bản sao của mỗi exon sau đó được so sánh với gen tham chiếu thông qua công thức: $\Delta\Delta C_t = [C_t \text{ RPPH1 (mẫu đối chứng)} - C_t \text{ (mẫu đối chứng)}] - [C_t \text{ RPPH1 (mẫu nghiên cứu)} - C_t \text{ (mẫu nghiên cứu)}]$.

Từ đó, số bản sao của mỗi exon được tính toán dựa trên giá trị $2^{-\Delta\Delta C_t}$ như sau: 2 bản sao ($0,8 < 2^{-\Delta\Delta C_t} < 1,2$), 1 bản sao ($0,4 < 2^{-\Delta\Delta C_t} < 0,7$) và 3 bản sao ($1,3 < 2^{-\Delta\Delta C_t} < 1,7$).

Bảng 2.3. Trình tự môi cho phản ứng real-time PCR

Gen		Trình tự môi	Kích thước lý thuyết (bp)
<i>RPPH1</i>		F: 5'-GAGGTGAGTTCCCAGAGAACG-3' (*) R: 5'-TTCGCTGGCCGTGAGTCTGTTC-3' (*)	134
<i>PRKN</i>	Exon 3	F: 5'-ACCTGGATCAGCAGAGCATT-3' R: 5'-CCAGCCCCACAGAGTCTC-3'	180
	Exon 4	F: 5'-CTGTACCCTGAGTTTTCCCG-3' R: 5'-TTCTTGTCTCAATTAGATGCAGC-3'	142
	Exon 5	F: 5'-AAAGGGTCCATCTTGCTGG-3' R: 5'-CTTACTGCACTAGTCCCAGG-3'	93

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

Trong nghiên cứu này, các phân tích dự đoán *in silico* 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 [116], [117], [118]. Theo các tiêu chí mặc định được hỗ trợ bởi các chương trình. Chúng tôi đã sử dụng phần mềm HOPE (<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope>) để đánh giá ảnh hưởng của các biến thể lên cấu trúc 3D của protein [119]. 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) và PDgene [91], [120], [121], [122],

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

Bảng 2.4. Các loại biến số trong nghiên cứu

Tên biến số	Loại biến số	Giá trị
Các biến về đặc điểm chung của mẫu (biến số độc lập)		
Giới	Định tính	Nam, nữ
Tuổi tại thời điểm nghiên cứu	Định lượng	Năm
Tuổi khởi bệnh	Định lượng	Năm
Thời gian mắc bệnh	Định lượng	Năm
Tiền sử gia đình	Định tính	Có/Không
Các biến về đặc điểm bệnh Parkinson		
Phân độ Hoehn - Yahr	Định lượng	0; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5
	Định tính	<2, ≥ 2
Điểm MDS - UPDRS phần III	Định lượng	Điểm
Điểm MMSE	Định lượng	Điểm
Điểm NMSS	Định lượng	Điểm
Điểm BDI	Định lượng	Điểm
Điểm KPPS	Định lượng	Điểm
Thể bệnh	Định tính	Tên thể bệnh

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 phần III

- 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.

- Mọi 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.

- Mọi 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.

- Về hệ số tương quan Pearson [123]

Bảng 2.5. Hệ số tương quan Pearson

Hệ số tương quan $ r $	Ý nghĩa mức tương quan
$> 0,9$	Gần như hoàn toàn
$0,7 - 0,9$	Rất cao
$0,5 - 0,7$	Cao/ Chặt chẽ
$0,3 - 0,5$	Trung bình
$0,1 - 0,3$	Thấp
$< 0,1$	Không đáng kể

**Nguồn: Hori N. và cộng sự (2009) [123]*

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.

Đây là nghiên cứu quan sát, mô tả, không ảnh hưởng lên sức khỏe cũng như chẩn đoán và điều trị của người tham gia. Các thông tin thu thập của người bệnh là sẵn có, quy trình thăm khám đúng như thông thường.

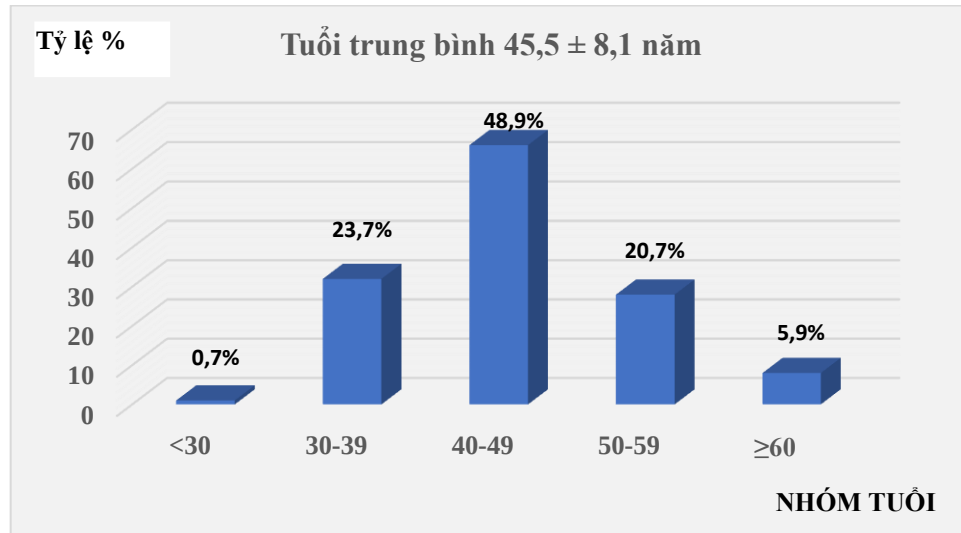
Thông tin cá nhân người bệnh và thân nhân người bệnh sẽ được giữ bí mật tuyệt đối và không dùng cho các mục đích khác. Người bệnh được giải thích rõ ràng về qui trình thực hiện và chỉ lấy mẫu khi người bệnh đồng ý tự nguyện tham gia nghiên cứu (kí xác nhận vào bản thông tin).

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

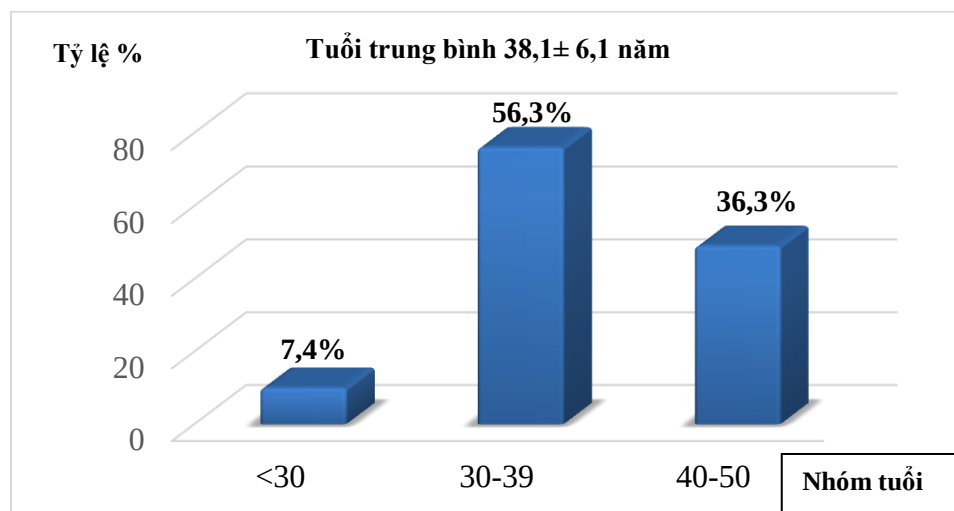
3.1.1.1 Phân bố người bệnh EOPD theo nhóm tuổi tại thời điểm nghiên cứu



Biểu đồ 3.1. Phân bố người bệnh theo nhóm tuổi tại thời điểm nghiên cứu (n=135)

Tuổi trung bình của 135 người bệnh EOPD là 45,5. Nhóm tuổi 40-49 chiếm tỷ lệ cao nhất (48,9%). Có 1 người bệnh dưới 30 tuổi chiếm 0,7%.

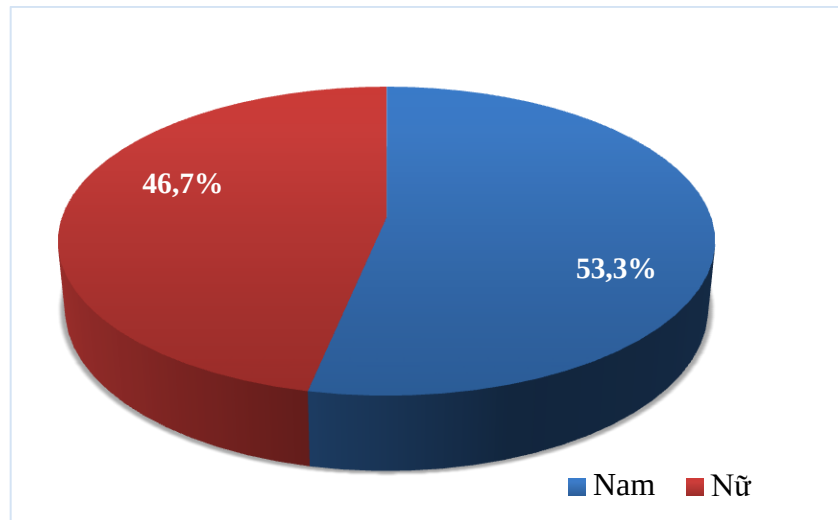
3.1.1.2 Phân bố người bệnh EOPD theo nhóm tuổi khởi phát



Biểu đồ 3.2. Phân bố người bệnh theo nhóm tuổi khởi phát (n=135)

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

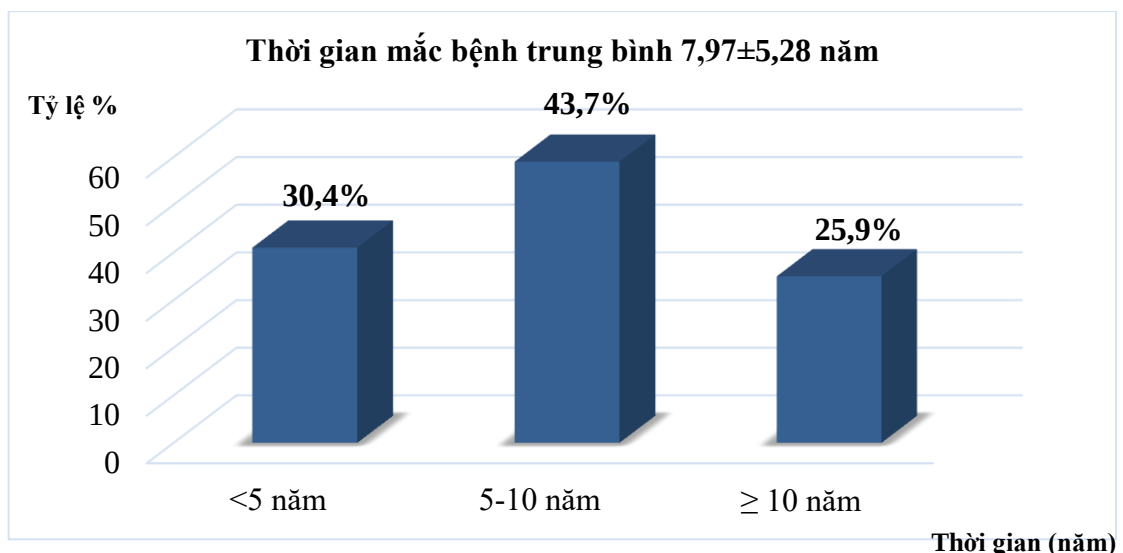
3.1.1.3 Phân bố người bệnh EOPD theo giới



Biểu đồ 3.3. Phân bố người bệnh EOPD theo giới

Nghiên cứu thấy rằng, nam giới có tỷ lệ mắc cao hơn nữ giới tương ứng là 53,3% và 46,7%, tỷ lệ nam/nữ = 1,14/1.

3.1.1.4 Phân bố người bệnh EOPD theo thời gian mắc bệnh



Biểu đồ 3.4. Phân bố người bệnh theo thời gian mắc bệnh (n=135)

Có tới hơn 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.

Bảng 3.1. Phân bố người bệnh EOPD theo trình độ học vấn

Trình độ học vấn	Số lượng (n=135)	Tỷ lệ (%)
Không đi học	1	0,7
Cấp 1	13	9,6
Cấp 2	48	35,6
Cấp 3	32	23,7
Trung học, cao đẳng	11	8,1
Đại học	27	20
Trên đại học	3	2,2

Ở tất cả các mức trình độ học vấn đều có người bệnh mắc EOPD, trong đó trình độ cấp 2 và cấp 3 chiếm tỷ lệ cao hơn lần lượt là 35,6% và 23,7%. Có duy nhất một người bệnh không đi học chiếm 0,7%.

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

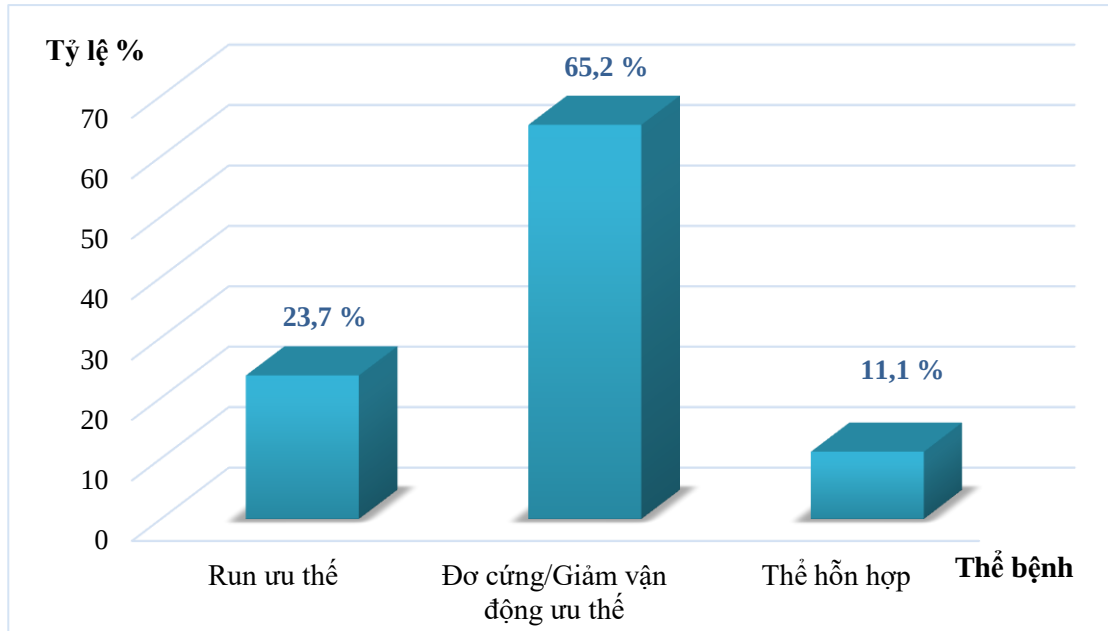
Bảng 3.2. Đặc điểm triệu chứng vận động của người bệnh EOPD tại thời điểm khi khởi phát bệnh và khi nghiên cứu

Triệu chứng rối loạn vận động	Khi khởi phát bệnh		Thời điểm nghiên cứu	
	Số lượng	Tỷ lệ	Số lượng	Tỷ lệ
	(n)	(n/135, %)	(n)	(n/135, %)
Run	98	72,6	116	85,9
Giảm vận động	82	60,7	132	97,8
Cứng đờ	69	51,1	126	93,3
Rối loạn tư thế	7	5,2	47	34,8
Loạn trương lực cơ	4	3,0	23	17

Tại thời điểm khởi phát bệnh Parkinson, triệu chứng run xuất hiện với tỷ lệ lớn nhất (98/135, 72,6%) và loạn trương lực cơ chỉ xuất hiện ở 4 người bệnh (3%). **Tại thời điểm nghiên cứu, tỷ lệ các triệu chứng vận động đều tăng lên**

trong đó 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



Biểu đồ 3.5. Phân bố người bệnh EOPD theo thể bệnh

Nghiên cứu về triệu chứng rối loạn vận động thấy rằng, 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 (Thang MDS - UPDRS phần III)

Bảng 3.3. Phân bố người bệnh EOPD theo mức độ bệnh
(Thang MDS-UPDRS phần III)

Mức độ bệnh (MDS- UPDRS III)	Số lượng (n = 135)	Tỷ lệ (%)
Nhẹ (1-32 điểm)	79	58,5
Trung bình (33-58 điểm)	45	33,3
Nặng (≥ 59 điểm)	11	8,1
Điểm UPDRS trung bình	33,38 $\pm$ 17,62	

Trong nghiên cứu, tính theo thang điểm MDS-UPDRS III thấy rằng 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-UPDRS trung bình là 33,38 ($\pm 17,62$).

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

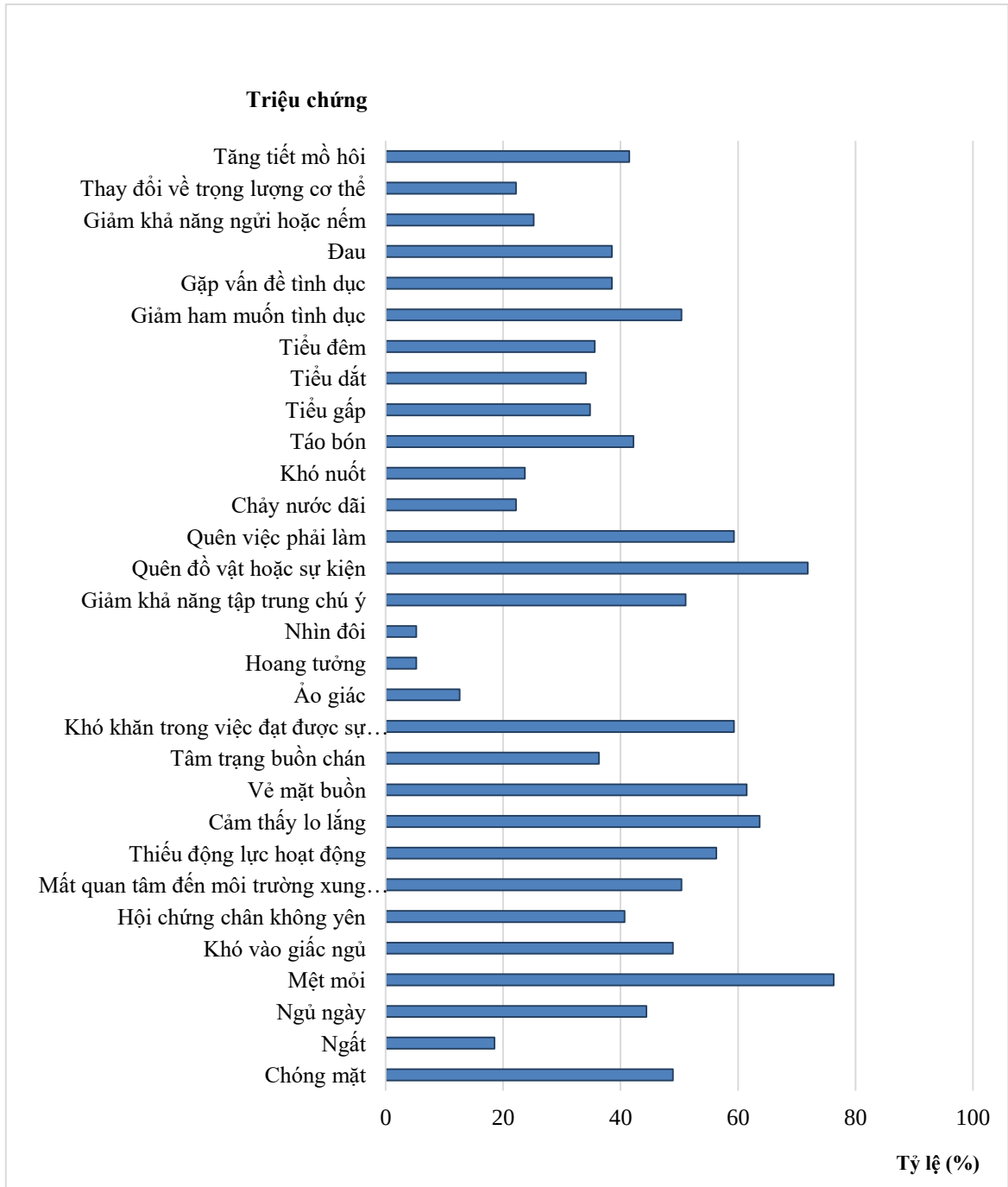
Bảng 3.4. Phân bố người bệnh theo giai đoạn bệnh (Theo Hoehn và Yahr)

Giai đoạn bệnh (Hoehn và Yahr)		Số lượng (n = 135)	Tỷ lệ (%)
Giai đoạn sớm	Giai đoạn Hoehn và Yahr 1	10	7,4
	Giai đoạn Hoehn và Yahr 2	76	56,3
Giai đoạn muộn	Giai đoạn Hoehn và Yahr 3	43	31,9
	Giai đoạn Hoehn và Yahr 4	5	3,7
	Giai đoạn Hoehn và Yahr 5	1	0,7
Điểm Hoehn và Yahr trung bình		2,3 $\pm$ 0,7	

Tính theo thang điểm 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



Biểu đồ 3.6. Tỷ lệ các triệu chứng ngoài vận động theo thang điểm NMSS ở người bệnh EOPD

Bảng trên cho thấy, triệu chứng ngoài vận động hay gặp nhất là “Mệt mỏi” (76,3%), tiếp đến là triệu chứng “Quên đồ vật hoặc sự kiện” (71,9%), “Về mặt buồn” (61,5%). Ngoài ra có khoảng một nửa người bệnh EOPD xuất hiện các triệu chứng “Quyên việc phải làm” (59,3%), “Khó khăn trong việc đạt được sự thoải mái” (59,3%), “Thiếu động lực hoạt động” (56,3%), “Giảm khả năng tập trung chú ý” (51,1%), “Mất quan tâm đến môi trường xung quanh” (50,4%), “Giảm ham muốn tình dục” (50,4%). Triệu chứng “Ảo giác”, Hoang tưởng”, “Nhìn đôi” gặp với tỷ lệ ít nhất lần lượt là 12,6%, 5,2% và 5,2%.

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

Bảng 3.5. Đặc điểm các triệu chứng ngoài vận động của người bệnh EOPD theo thang điểm NMSS

Triệu chứng ngoài vận động (NMSS)	Số lượng (n = 135)	Tỷ lệ (%)	Điểm NMSS trung bình	Điểm NMSS lý thuyết
Triệu chứng tim mạch	89	65,9	3,0 ± 3,74	0-24
Mất ngủ/mệt mỏi	123	91,1	10,29 ± 8,76	0-48
Tâm trạng/nhận thức	117	86,7	14,29 ± 16,14	0-72
Tri giác/ảo giác	21	15,6	0,83 ± 3,05	0-36
Sự chú ý/ghi nhớ	110	81,5	7,07 ± 7,38	0-36
Triệu chứng đường tiêu hóa	77	57	4,30±7,13	0-36
Triệu chứng tiết niệu	77	57	5,61±8,87	0-36
Chức năng tình dục	70	51,9	4,13±6,69	0-24
Các triệu chứng khác	92	68,1	-	0-48
Điểm NMSS trung bình		55,05 ± 49,14		0-360

Ở nghiên cứu này, có 91,1% người bệnh có các triệu chứng ngoài vận động (ít nhất 1 triệu chứng). Về tỷ lệ mắc các triệu chứng ngoài vận động thì 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 thì 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

Bảng 3.6. Mối tương quan giữa triệu chứng ngoài vận động (điểm NMSS) với một số đặc điểm lâm sàng ở người bệnh EOPD

Đặc điểm lâm sàng	Điểm triệu chứng ngoài vận động (NMSS)	
	r	p
Tuổi	0,359*	<0,001
Thời gian mắc bệnh	0,304*	<0,001
Mức độ bệnh (Điểm MDS-UPDRS)	0,470*	<0,001
Giai đoạn bệnh (Điểm Hoehn và Yahr)	0,293**	0,001
Đau (Điểm KPPS)	0,679*	<0,001
Trầm cảm (Điểm BDI)	0,597*	<0,001
Suy giảm nhận thức (Điểm MMSE)	-0,589*	<0,001

* Tương quan Pearson

** Tương quan Spearman's

Nghiên cứu cho thấy, triệu chứng ngoài vận động (điểm NMSS) có mối tương quan thuận với tuổi khởi phát bệnh, thời gian mắc bệnh, mức độ bệnh (điểm MDS-UPDRS), giai đoạn bệnh (điểm Hoehn và Yahr), đau (điểm KPPS), tình trạng suy giảm nhận thức (tương quan nghịch với điểm MMSE) và trầm cảm (điểm BDI). Trong đó, triệu chứng ngoài vận động có mối tương quan thuận mức độ mạnh với đau (điểm KPPS), trầm cảm (điểm BDI) và tình trạng rối loạn nhận thức, tương quan thuận mức độ trung bình với tuổi khởi phát bệnh, thời gian mắc bệnh, mức độ bệnh, giai đoạn bệnh, cường độ đau. (Khi đánh giá tương quan giữa điểm NMSS với triệu chứng suy giảm nhận thức: điểm MMSE, điểm phần triệu chứng suy giảm nhận thức trong thang NMSS sẽ không được tính).

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

Bảng 3.7. Mối liên quan giữa triệu chứng ngoài vận động (thang NMSS) theo mức độ bệnh (MDS- UPDRS phần III)

Triệu chứng ngoài vận động theo thang điểm NMSS (n,%)	Mức độ bệnh theo MDS - UPDRS III (n=135)			
	Nhẹ (n=79)	Trung bình và nặng (n=56)	OR (KTC95%)	p
Tim mạch	46 (58,2)	43 (76,3)	2,37 (1,10 – 5,09)	0,025
Ngủ/mệt mỏi	67 (84,8)	56 (100)	1,84 (1,56 – 2,16)	0,002
Tâm trạng/nhận thức	65 (82,3)	52 (92,9)	2,8 (0,87 – 9,02)	0,075
Tri giác/ảo giác	7 (8,9)	14 (25)	3,43 (1,28 – 9,17)	0,011
Sự chú ý/ghi nhớ	63 (79,7)	47 (83,9)	1,33 (0,54 – 3,26)	0,538
Đường tiêu hóa	36 (45,6)	41 (73,2)	3,26 (1,56 – 6,86)	0,001
Tiết niệu	38 (48,1)	39 (69,6)	2,48 (1,20 – 5,09)	0,013
Chức năng tình dục	37 (46,8)	33 (58,9)	1,63 (0,82 – 3,25)	0,166
Các triệu chứng khác	50 (63,3)	42 (75)	1,74 (0,82 – 3,71)	0,150

*: Chi-Square test

Khi phân tích mối liên quan giữa các nhóm triệu chứng ngoài vận động và mức độ bệnh thì thấy 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

Bảng 3.8. Tỷ lệ các loại đau theo thang điểm KPPS

Các loại đau	Số lượng (n=107)	Tỷ lệ (%)
Đau cơ xương	75	70,1
Đau mãn tính	45	42,1
Đau dao động	37	34,6
Đau về đêm	47	43,9
Đau hàm mặt	18	16,8
Biến đổi sắc tố da; phù/ sưng đau	24	22,4
Đau kiểu rề thần kinh	46	43,0

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 rề 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%.

Bảng 3.9. Đặc điểm các loại đau theo thang điểm KPPS

Các loại đau N (%)	Giới		<i>p</i>	Giai đoạn Hoehn và Yahr		<i>p</i>	Tuổi khởi phát		<i>p</i>
	Nam n = 56	Nữ n = 51		1 - 2 n=65	3-4-5 n= 42		(≤40) n = 78	(> 40) n = 29	
Đau cơ xương khớp	38 (67,9)	37 (72,5)	0,597	46 (70,8)	29 (69)	0,849	53 (67,9)	22 (75,9)	0,427
Đau mạn tính	20 (35,7)	25 (49)	0,164	28 (43,1)	17 (40,5)	0,790	30 (38,5)	15 (51,7)	0,217
Đau dao động	20 (35,7)	17 (33,3)	0,796	17 (26,2)	20 (47,6)	0,023	25 (32,1)	12 (41,4)	0,367
Đau về đêm	25 (44,6)	22 (43,1)	0,875	24 (36,9)	23 (54,8)	0,069	32 (41)	15 (51,7)	0,322
Đau vùng hàm mặt	10 (17,9)	8 (15,7)	0,764	7 (10,8)	11 (26,2)	0,037	11 (14,1)	7 (24,1)	0,217
Biến đổi sắc tố da; phù/ sưng đau	11 (19,6)	13 (25,5)	0,469	13 (20)	11 (26,2)	0,453	16 (20,5)	8 (27,6)	0,436
Đau kiểu rễ thần kinh	24 (42,9)	22 (43,1)	0,977	24 (36,9)	22 (52,4)	0,115	34 (43,6)	12 (41,4)	0,837
Số lượng các loại đau									
1	15 (26,8)	12 (23,5)	0,097	21 (32,3)	6 (14,3)	0,143	21 (26,9)	6 (20,7)	0,099
2	15 (26,8)	16 (31,4)		19 (29,2)	12 (28,6)		22 (28,2)	9 (31)	
3	15 (26,8)	9 (17,6)		13 (20)	11 (26,2)		20 (25,6)	4 (13,8)	
> 3	11 (19,6)	14 (27,5)		12 (18,5)	13 (31)		15 (19,2)	10 (34,5)	

Pearson Chi-Square

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 3/4 (74,8%) người bệnh có từ 2 loại đau trở lên và chỉ có 1/4 (25,2%) người bệnh ghi nhận có duy nhất một loại đau. Số lượng các loại đau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa giới nam và nữ, giữa giai đoạn bệnh sớm và muộn và giữa nhóm khởi phát trên 40 tuổi và từ 40 tuổi trở xuống.

Bảng 3.10. Đặc điểm mức độ đau tính theo thang điểm KPPS (n = 107)

Kiểu đau	Điểm KPPS (n = 107)	Giới		p	Giai đoạn Hoehn và Yahr		p	Tuổi khởi phát		p
		Nam (n = 56)	Nữ (n = 51)		1 - 2 (n=65)	3-4-5 (n= 42)		(≤40) n = 78	(> 40) n = 29	
Đau cơ xương khớp	3,8 ± 3,6	3,7 ± 3,8	3,9 ± 3,7	0,820	3,6 ± 3,7	4,0 ± 3,9	0,659	3,6 ± 3,8	4,3 ± 3,6	0,403
Đau mạn tính	2,3 ± 3,7	2,0 ± 3,3	2,6 ± 4,0	0,377	2,2 ± 3,5	2,4 ± 3,9	0,770	2,0 ± 3,4	3,0 ± 4,2	0,206
Đau dao động	3,0 ± 6,1	3,4 ± 6,6	2,5 ± 5,5	0,478	1,9 ± 5,0	4,7 ± 7,3	0,018	2,8 ± 5,8	3,5 ± 7,0	0,589
Đau về đêm	3,1 ± 4,9	3,2 ± 5,4	2,9 ± 4,2	0,727	2,5 ± 4,4	4,0 ± 5,5	0,124	2,7 ± 4,5	4,0 ± 5,7	0,232
Đau vùng hàm mặt	1,0 ± 2,9	1,1 ± 3,2	0,8 ± 2,7	0,600	0,6 ± 2,2	1,6 ± 3,7	0,097	0,8 ± 2,7	1,4 ± 3,5	0,321
Sự biến đổi sắc tố da; phù/sưng đau	1.1. ± 2,8	1,0 ± 2,5	1,1 ± 3,2	0,884	0,8 ± 2,6	1,5 ± 3,1	0,243	0,9 ± 2,2	1,5 ± 4,0	0,303
Đau kiểu rề thần kinh	1,7 ± 2,9	1,8 ± 3,0	1,7 ± 2,9	0,911	1,2 ± 2,2	2,5 ± 3,7	0,026	1,7 ± 2,8	1,9 ± 3,3	0,706
Tổng điểm KPPS	15,9 ± 17,3	16,2 ± 18,2	15,5 ± 16,4	0,844	12,8 ± 14,3	20,6 ± 20,5	0,023	14,5 ± 14,5	19,7 ± 23,2	0,168

Pearson Chi-Square

Khi phân tích đặc điểm mức độ đau theo giới tính, giai đoạn bệnh (tính theo Hoehn và Yahr) và theo tuổi khởi phát bệnh, bảng trên cho thấy kiểu “đau dao động”, “đau kiểu rề 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 ($p < 0,05$); chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về cường độ đau giữa giới nam và nữ, giữa nhóm người bệnh ở giai đoạn sớm và muộn (Hoehn và Yahr), giữa nhóm người bệnh phát trên 40 tuổi và từ 40 tuổi trở xuống.

Bảng 3.11. 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)

Biến	B (SE)	KTC 95%	Beta	t	p
Tuổi khi khám (năm)	-0,535 (0,240)	(-1,01; -0,059)	-0.259	-2.225	0,028
Tuổi khởi phát (năm)	0,362 (0,294)	(-0,220; 0,944)	0,132	1.232	0,220
Tổng điểm UPDRS III	-0,068 (0,064)	(-0,195; 0,060)	-0.089	-1.050	0,296
Hoehn - Yahr	2.040 (2.509)	(-2,929; 7,008)	0,059	0,813	0,418
Trầm cảm (điểm BDI)	0,305 (0,128)	(0,052; 0,558)	0,207	2.389	0,018
Triệu chứng tim mạch bao gồm cả té ngã	0,607 (0,492)	(-0.366; 1.580)	0,134	1.235	0,219
Ngủ / mệt mỏi	0,344 (0,224)	(-0,099; 0,786)	0,179	1.537	0,127
Tri giác / ảo giác	0,986 (0,456)	(0,083; 1,889)	0,189	2.161	0,033
Chú ý / trí nhớ	-0.104 (0,229)	(-0,558; 0,350)	-0.046	-0,454	0,651
Đường tiêu hóa	0,232 (0,465)	(-0,689; 1,153)	0,099	0,499	0,619
Tiết niệu	0,076 (0,172)	(-0,265; 0,418)	0,041	0,443	0,658
Chức năng tình dục	0,630 (0,276)	(0,084; 1,176)	0,236	2.286	0,024
Triệu chứng khác (trừ câu 27)	0,213 (0,350)	(-0,480; 0,905)	0,069	0,607	0,545
Rối loạn thần kinh thực vật (câu hỏi NMSS 1, 2, 19–24, 26, 29–30).	0,132 (0,345)	(-0,551; 0,815)	0,112	0,382	0,703
Tổng điểm NMSS (ngoại trừ câu hỏi 27)	0,010 (0,100)	(-0,189; 0,209)	0,030	0,103	0,918

B: Hệ số hồi quy chưa chuẩn hóa; SE: sai số; KTC 95%: Khoảng tin cậy 95%; Beta: Hệ số hồi quy chuẩn hóa. VIF (Variance Inflation Factor): Hệ số phóng đại phương sai

Khi phân tích mục “Tâm trạng/nhận thức” cho thấy có đa cộng tuyến với trầm cảm ($VIF > 5$), do đó mục triệu chứng này bị loại khỏi phân tích đa biến. Ngoài ra, câu hỏi 27 trong nhóm “triệu chứng khác” đã bị loại khỏi phân tích đa biến, vì câu hỏi này liên quan tới triệu chứng đau. Phân tích hồi quy tuyến tính đa biến 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 ($p=0,024$).

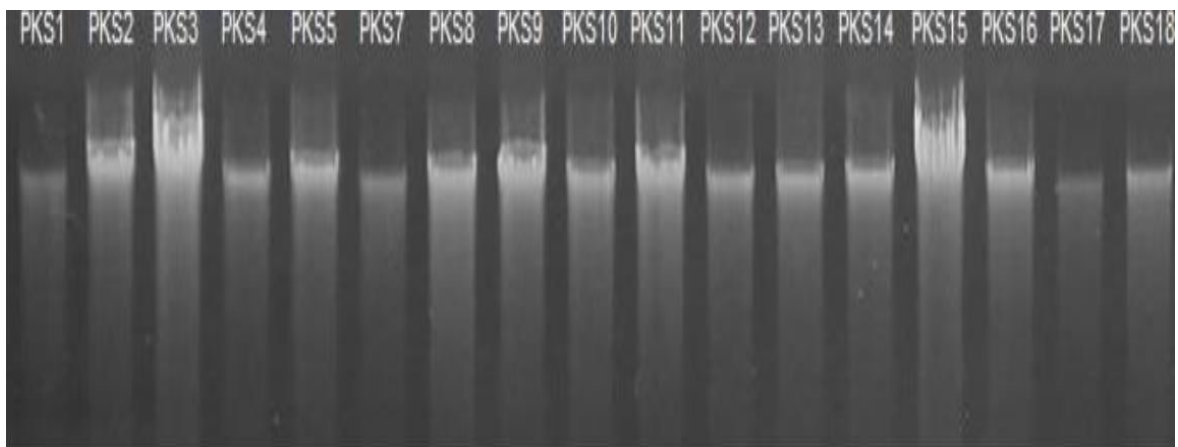
3.2 Xét nghiệm di truyền xác định biến thể gây bệnh Parkinson khởi phát sớm

3.2.1. Tách chiết DNA tổng số

Toàn bộ mẫu máu của 97 người bệnh thực hiện xét nghiệm di truyền trong nghiên cứu được sử dụng để tách chiết DNA tổng số. Các mẫu DNA thu được sau đó đã được tiến hành kiểm tra chất lượng và định lượng. Các kết quả kiểm tra sau đó cho thấy, DNA tổng số của các mẫu đã tách chiết đều đạt yêu cầu để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

- *Kết quả tách chiết và định tính DNA tổng số*

Các mẫu DNA sau khi được tách chiết, được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%. Hình ảnh điện di thu được cho thấy chúng tôi đã thu được DNA tổng số tương đối hoàn chỉnh và ít bị đứt gãy (Hình 3.1).



Hình 3.1. Điện di đồ DNA tổng số trên gel agarose 0,8% một số mẫu đại diện.

* Nguồn: Người bệnh Parkinson PKS1, PKS2, PKS3, PKS4, PKS5, PKS7, PKS8, PKS9, PKS10, PKS11, PKS12, PKS13, PKS14, PKS15, PKS16, PKS17, PKS18

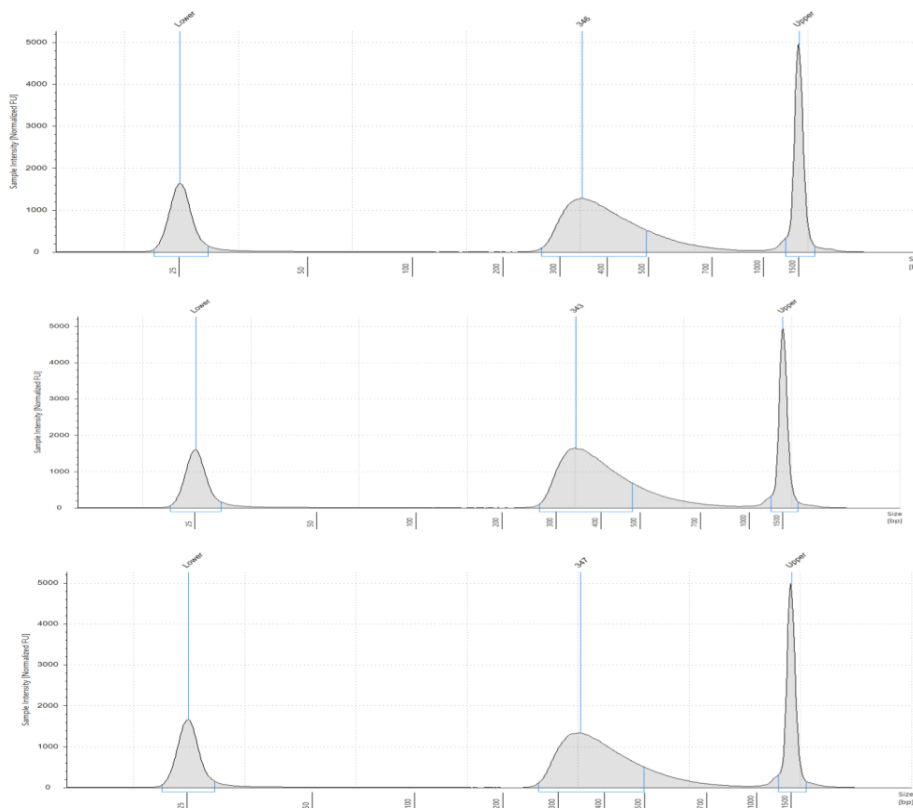
- *Kết quả định lượng DNA tổng số*

Chất lượng DNA được kiểm tra bằng phương pháp quang phổ cho thấy các mẫu có độ tinh sạch cao với tỷ lệ OD (A_{260}/A_{280}) nằm trong khoảng 1,81 đến 1,9. Sau đó, DNA được định lượng bằng kit Qubit Fluorometer HS (High sensitive) DNA cho kết quả trong đảm bảo đủ hàm lượng và đáp ứng yêu cầu về chất lượng để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo (Phụ lục 9).

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

- *Thiết lập thư viện, làm giàu và đánh giá thư viện*

Thư viện DNA của các mẫu nghiên cứu được thiết lập, làm giàu và tinh sạch. Các thư viện DNA sau đó được tiến hành kiểm tra, đánh giá bằng Realtime PCR, Bioanalyzer và Qbit, kết quả cho thấy chất lượng thư viện DNA đủ điều kiện để phục vụ giải trình tự toàn bộ exome. Kết quả phân tích chất lượng các thư viện DNA cho thấy, các thư viện đạt đủ lượng DNA cần thiết cho các bước tiếp theo, kích thước trung bình của các đoạn DNA vào khoảng 350 bp và nằm trong khoảng đạt chuẩn là từ 300 đến 450 bp. Chi tiết thông số của 10 thư viện đại diện được tổng hợp (phụ lục 10) và Hình 3.2. Các thông số đầu ra xác nhận chất lượng thư viện “Đạt” đủ tiêu chuẩn để phục vụ cho các bước nghiên cứu và phân tích về sau.



Hình 3.2. Ảnh điện di phân tách đoạn thư viện DNA

* Nguồn: Người bệnh PKS1, PKS2, PKS3

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

Sau khi thiết lập thư viện, làm giàu và đánh giá thư viện, với các thư viện đảm bảo chất lượng, chúng tôi tiến hành giải trình tự WES. Kết quả dữ liệu giải trình tự thô cho thấy hàng tỷ base đã được đọc trên mỗi mẫu, với số lượng trung bình vào khoảng hơn 7 tỷ base/mẫu và số lần đọc trung bình tới hơn 50 triệu. Độ chính xác của từng nucleotide được đánh giá bằng điểm chất lượng Phred với số Q càng cao biểu thị độ chính xác càng cao hơn (ví dụ Q20 tương đương với khả năng xảy ra lỗi nhỏ hơn 1/100, Q30 tương đương với khả năng xảy ra lỗi nhỏ hơn 1/1000). Kết quả đọc dữ liệu thô của các mẫu người bệnh cho thấy độ chính xác của phép đọc rất cao với Q30 trung bình là 94% (từ 92,35% - 95,68%), còn Q20 trung bình là 97,88% trong dải từ 97,1% đến 98,67%. Kết quả này đảm bảo dữ liệu đáp ứng đủ chất lượng và độ tin cậy để tiến hành các phân tích tiếp theo (Phụ lục 11).

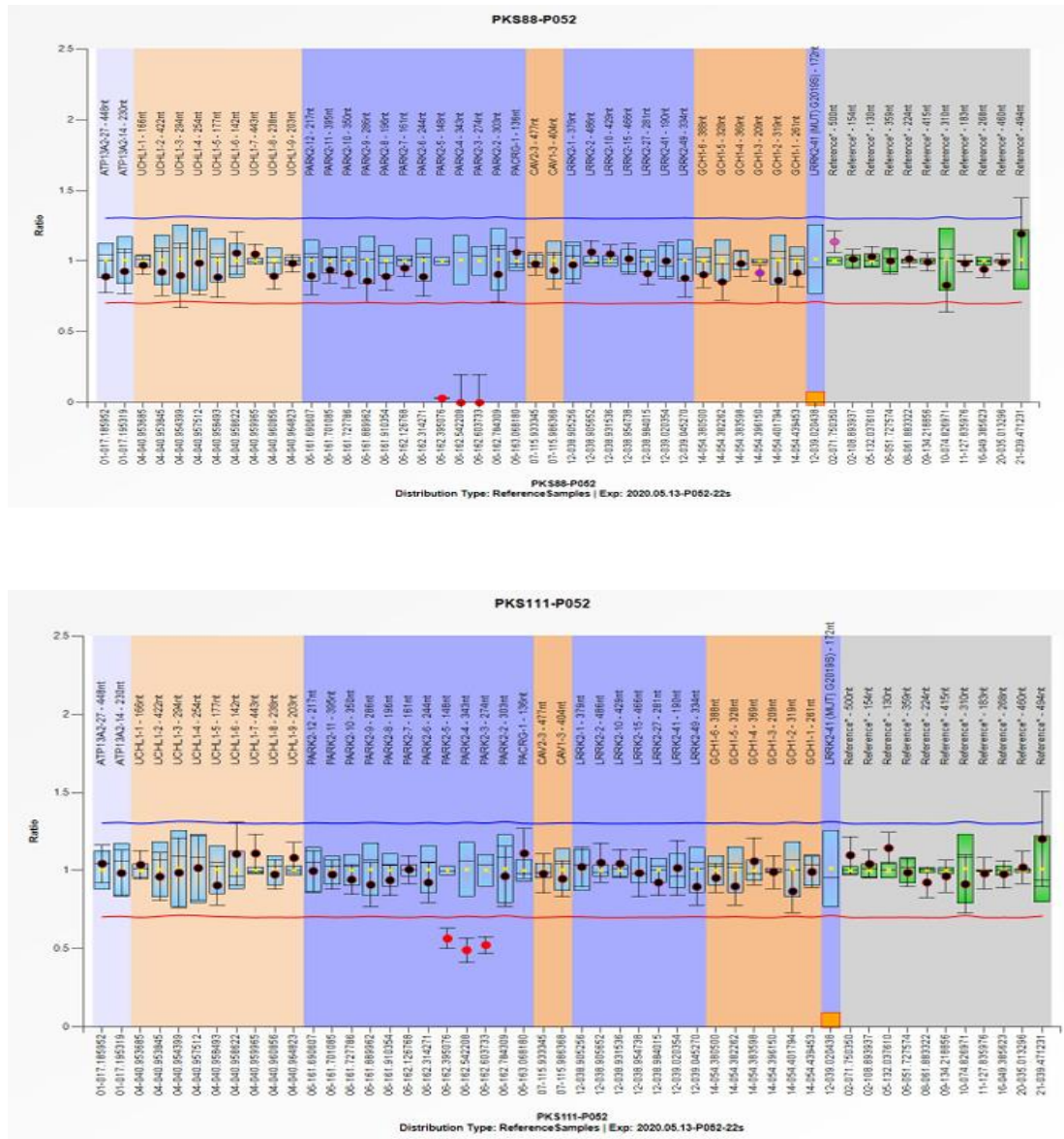
3.2.4. Xác định các biến thể SNV liên quan đến bệnh Parkinson từ quy trình Giải trình tự hệ gen mã hóa (WES)

Dựa trên bộ dữ liệu WES đã được phân tích, kết quả cho thấy, 58/97 mẫu người bệnh EOPD có mang biến thể SNV nằm trên 24 gen liên quan đến bệnh Parkinson (Phụ lục12) và một số các biến thể thuộc các gen mới có liên quan đến bệnh Parkinson.

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

Toàn bộ 97 mẫu người bệnh Parkinson đã được xác định các CNV bằng kỹ thuật MLPA. Kết quả cho thấy, bất thường dạng CNV trên gen *PRKN* ở 5 mẫu người bệnh Parkinson (PKS53, PKS54, PKS55, PKS88, PKS111).

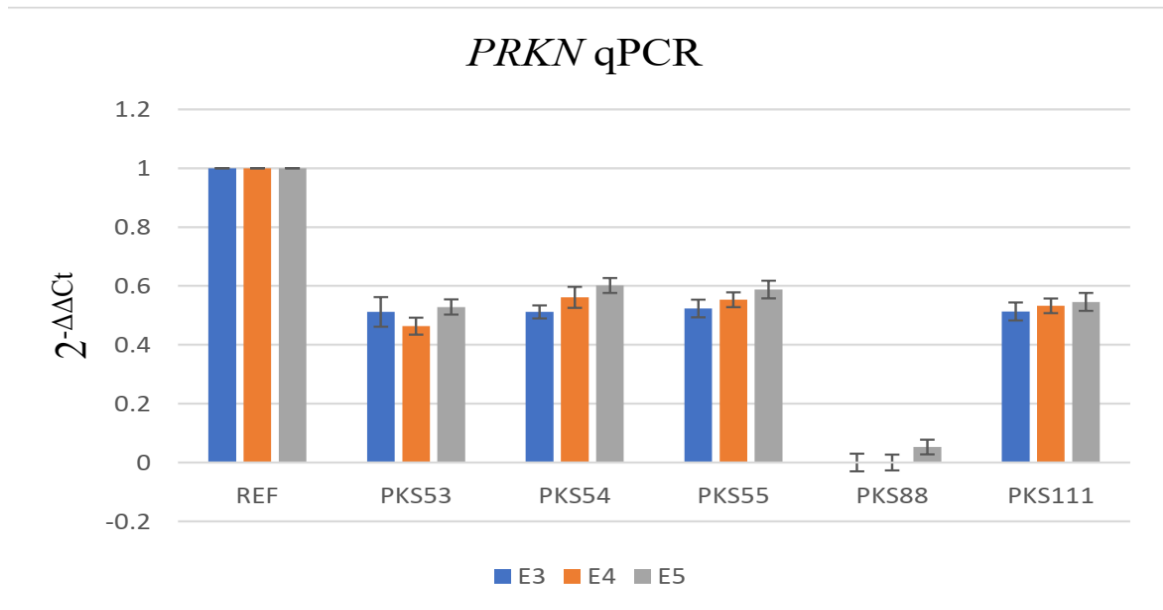
Ở mẫu người bệnh PKS53, PKS54, PKS55, PKS111 đã xác định được mất đoạn từ exon3-5del dạng dị hợp tử trên gen *PRKN*. Bên cạnh đó, nghiên cứu thấy mất đoạn các exon3-5del ở cả 2 allele trên mẫu PKS88.



Hình 3.3. Kết quả phân tích MLPA của người bệnh Parkinson

**Nguồn: Người bệnh PKS88 và PKS111*

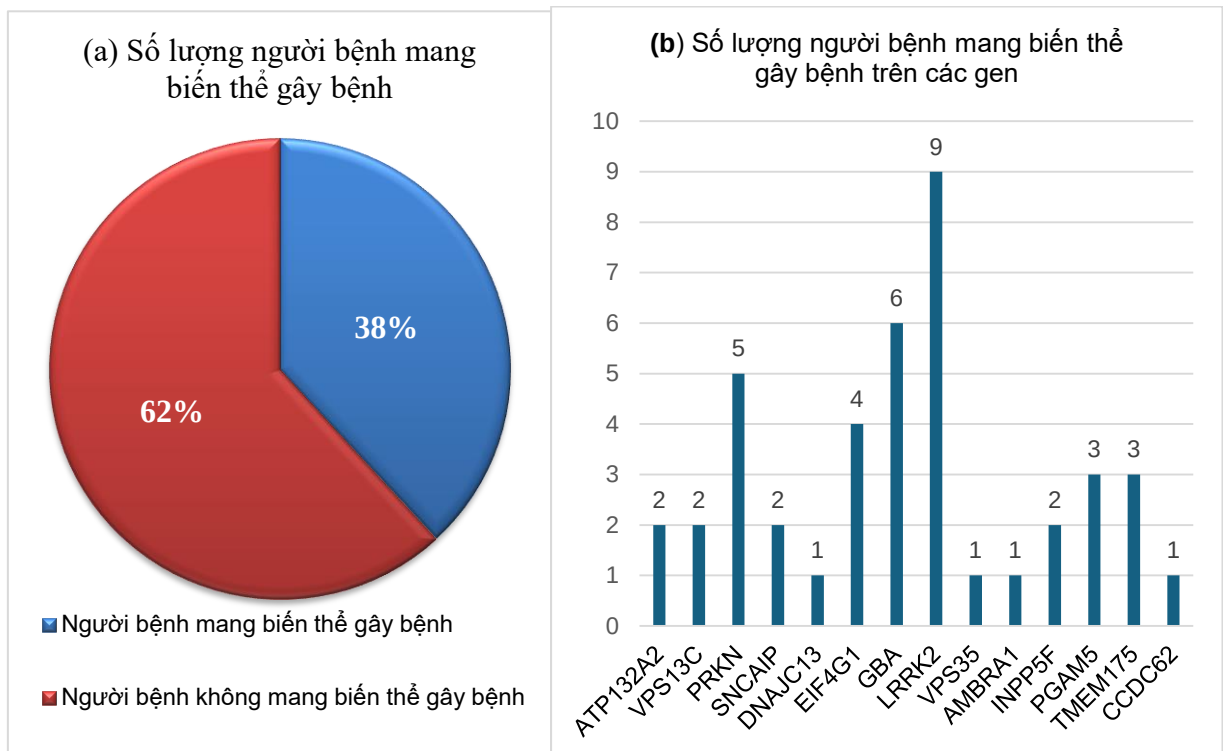
Phương pháp real-time PCR sử dụng các mồi đặc hiệu cho exon 3, exon 4 và exon 5 của *PRKN* được thực hiện nhằm kiểm tra lại hiện tượng mất bản sao *PRKN* ở 5 mẫu PKS53, PKS54, PKS55 và PKS88 và PKS111. Trong nghiên cứu này, mẫu đối chứng được sử dụng là các mẫu có 2 bản sao của *PRKN* đã được xác định bằng phương pháp MLPA. Kết quả real-time PCR thu được tương đồng 100% với dữ liệu của MLPA (Hình 3.4).



Hình 3.4. Kết quả Real-time PCR kiểm tra mất số bản sao của gen *PRKN*

*Nguồn: Người bệnh PKS53, PKS54, PKS55, PKS88 và PKS111

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



Biểu đồ 3.7. Số lượng người bệnh mang biến thể gây bệnh trong các gen gây bệnh Parkinson khởi phát sớm

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 (*ATP132A2*, *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)

3.2.6.1 Đặc điểm các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường ở nhóm EOPD (AR)

Bảng 3.12. Các biến thể SNV/indel gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường ở nhóm EOPD

Người bệnh	Gen (Transcript)	Exon	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Tần số		Dự đoán <i>In silico</i>			Kiểu gen	Kiểu di truyền
				1000g	ExAC	SIFT (score)	Polyphen2 (score)	CADD		
PKS11	ATP132A2 (NM_001141974)	Exon20	c.C2183T (p.T728M)	2.40E-03	4.00E-04	D (0,034)	D (0,989)	25,9	het	AR
		Exon14	c.G1331A (p.R444Q)	.	2.48E-05	T (0,146)	P (0,479)	22,6	het	AR
PKS25	ATP132A2 (NM_001141973)	Exon20	c.C2183T (p.T728M)	2.40E-03	4.00E-04	D (0,034)	D (0,989)	25,9	het	AR
		Exon9	c.G730A (p.A244T)	5.99E-04	4.00E-04	T (0,256)	B (0,095)	20,5	het	AR
PKS04	VPS13C (NM_017684)	Exon82	c.G10955A (p.G3652D)	7.99E-04	2.00E-04	D (0,013)	B (0,196)	22,8	het	AR
		Exon49	c.C5999G (p.A2000G)	2.00E-03	3.00E-04	D (0)	P (0,868)	26,7	het	AR
PKS59	VPS13C (NM_017684)	Exon65	c.C9077T (p.A3026V)	.	1.65E-05	T (0,089)	P (0,864)	23,6	het	AR
		Exon61	c.T8563C (p.W2855R)	.	2.52E-05	D (0)	D (1)	31	het	AR

(.) Không có thông tin. Chữ viết tắt: 1000g, Cơ sở dữ liệu 1000 genome; gnomAD, Cơ sở dữ liệu tổng hợp bộ gen; A/D, gây bệnh; B/N/T, lành tính/trung tính;

P: có thể gây hại; hom, đồng hợp tử; het, dị hợp tử; AR, di truyền lặn.

Gen *ATP13A2*

Đối với bệnh Parkinson, *ATP13A2* được chứng minh là di truyền theo mô hình đồng hợp lặn trên nhiễm sắc thể thường. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định được hai người bệnh mang biến thể dạng compound heterozygous trên gen *ATP13A2* lần lượt là PKS11 (c.C2183T/c.G1331A) và PKS25 (c.C2183T/ c.G730A) và được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng.

Gen *VPS13C*

Hai người bệnh PKS04 và PKS59 mang biến thể dạng compound heterozygous trên gen *VPS13C* lần lượt là (c.C5999G/c.G10955A) và (c.T8563C/c.C9077T). Biến thể c.C5999G (p.A2000G) trên exon49 và c.G10955A (p.G3652D) trên exon82 ở mẫu PKS04 đều nằm trên vùng bảo thủ ở nhóm động vật có vú và có tần số xuất hiện rất hiếm trong cơ sở dữ liệu 1000 genome với tần số tương ứng là 0,002 và 0,0008. Đối với người bệnh PKS59, hai biến thể c.T8563C (p.W2855R) trên exon61 và c.C9077T (p.A3026V) trên exon65 đều được dự đoán là có khả năng gây bệnh bằng các công cụ dự đoán tin sinh. Cả hai biến thể này đều nằm trên vùng bảo thủ và mới chỉ xuất hiện với tần số lần lượt là $1,9 \times 10^{-5}$ và $1,8 \times 10^{-5}$ trên cơ sở dữ liệu Gnomd, trong khi đó không xuất hiện trong cơ sở dữ liệu 1000 genome.

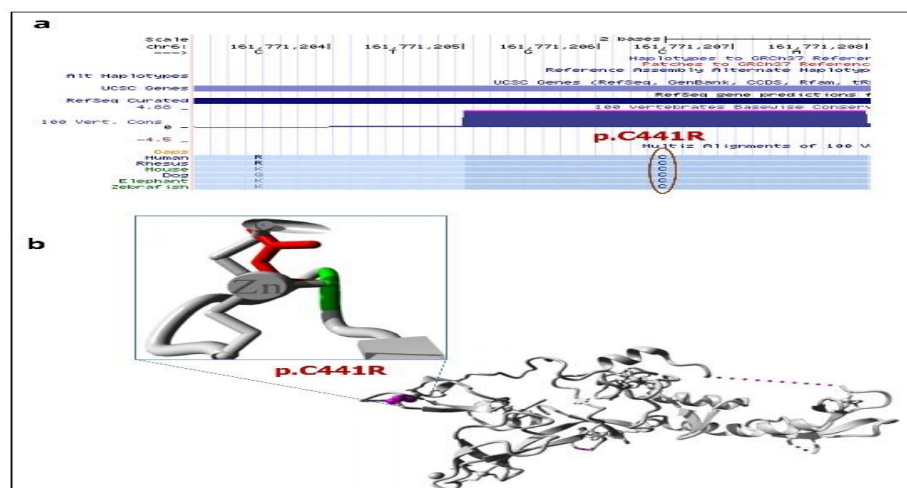
Bảng 3.13. Biểu thể SNV kết hợp CNV gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD

Người bệnh	Gen	Biểu thể	Tần số		ID (dbSNP/HGMD)	Dự đoán <i>Insilico</i>			Hợp tử	Kiểu di truyền
			1000g	ExAC		SIFT (score)	Polyphen2 (score)	CADD		
PKS53	PRKN	c.T874C (p.C441R)	.		rs778305273	D (0.034)	D (0.989)	25,9	het	AR
		exon3-5del			3246180	T (0.146)	P (0.479)	22,6	het	AR
PKS54	PRKN	c.T874C (p.C441R)	.		rs778305273	D (0.034)	D (0.989)	25,9	het	AR
		exon3-5del			3246180	T (0.256)	B (0.095)	20,5	het	AR
PKS55	PRKN	c.T874C (p.C441R)	.		rs778305273	D (0.034)	D (0.989)	25,9	het	AR
		exon3-5del			3246180	T (0.256)	B (0.195)	20,5	het	AR
PKS88	PRKN	exon3-5del			3246180	.	.	.	home	AR
PKS111	PRKN	c.T874C (p.C441R)	.		rs778305273	T (0.089)	P (0.864)	23,6	het	AR
		exon3-5del			3246180	D (0)	D (1)	31	het	AR

(.) Không có thông tin. Chữ viết tắt: 1000g, Cơ sở dữ liệu 1000 genome; gnomAD, Cơ sở dữ liệu tổng hợp bộ gen; A/D, gây bệnh; B/N/T, lành tính/trung tính;

P: có thể gây hại; hom, đồng hợp tử; het, dị hợp tử; AR, di truyền lặn.

Ba người bệnh là chị em ruột (PKS52, PKS53, PKS54) và một người bệnh (PKS111) mang biến thể dạng dị hợp tử phức với một biến thể điểm c.T874C và một biến thể mất 3 exon từ exon3-exon5. Biến thể dị hợp tử p.C441R không trong cơ sở dữ liệu 1000 bộ gen. Nó được trình bày ở Đông Á của cơ sở dữ liệu gnomAD với tần suất chỉ là $7,08 \times 10^{-4}$. Sự thay đổi p.C441R được dự đoán bởi SIFT là có ảnh hưởng đến chức năng của phân tử protein (score=0), PolyPhen-2 (score=0,997) và MutationTaster (score=1). Tác động của biến thể lên cấu trúc phân tử của PRKN được xác định bởi phần mềm HOPE. Kết quả cho thấy rằng sự khác biệt về kích thước giữa kiểu hoang dại và kiểu biến thể có thể làm xáo trộn sự tương tác với Zn^{++} (Hình 3.5). Biến thể c.T874C (p.C441R) nằm trên domain RING2 của protein Parkin và được dự đoán là "gây bệnh" bởi tất cả các công cụ dự đoán chức năng. Biến thể dị hợp tử p.C441R kết hợp với dị hợp tử mất đoạn của exon 3, exon 4 và exon 5 để hình thành một dạng dị hợp tử hợp phức gây ra EOPD di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Một người bệnh (PKS88) mang biến thể dạng đồng hợp tử mất 3 exon (E3-E5) trên cả 2 allele.



Hình 3.5. Ảnh hưởng của biến thể p.C441R của gen PRKN

* Nguồn: Người bệnh PKS53, PKS54, PKS55, PKS111

- Vùng trình tự bảo thủ của p.C441R (a);
- Cấu trúc 3D tổng thể của phân tử Parkin (b).
- Màu của protein là xám, mạch bên của phần dư biến thể là những quả bóng nhỏ màu đỏ tươi. Các mạch bên của cả wildtype và phần còn lại của biến thể được hiển thị có màu xanh lục và đỏ tương ứng.

3.2.6.2 Các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD (AD)

Bảng 3.14. Các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD

STT	Người bệnh	Gen (Transcript)	Exon	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Tần số		Dự đoán <i>Insilico</i>			Hợp tử	Kiểu di truyền
					1000g	ExAC	SIFT (score)	Polyphe n2 (score)	CADD		
1	PKS18	<i>SNCAIP</i> (NM_001308105)	Exon3	c.A190T (p.T64S)	2,40E-03	8.26E-05	D (0)	D (0.998)	23,2	het	AD
2	PKS90	<i>SNCAIP</i> (NM_001242935)	Exon4	c.G181A (p.A61T)	.	2.56E-05	D (0.001)	D (1)	32	het	AD
3	PKS102	<i>DNAJC13</i> (NM_015268)	Exon	c.G4145A (p.R1382H)	5.99E-04	9.21E-05	D (0.002)	D (1)	34	het	AD
		<i>EIF4G1</i> (NM_004953)	Exon	c.A3400G (p.M1134V)	9.98E-04	2.00E-04	D (0.004)	P (0.826)	26,3	het	AD
4	PKS21	<i>EIF4G1</i> (NM_004953)	Exon20	c.A3400G (p.M1134V)	9.98E-04	2.00E-04	D (0.004)	P (0.826)	26,3	het	AD
5	PKS72	<i>EIF4G1</i> (NM_004953)	Exon20	c.A3400G (p.M1134V)	9.98E-04	2.00E-04	D (0.004)	P (0.826)	26,3	het	AD
6	PKS95	<i>EIF4G1</i> (NM_004953)	Exon8	c.G3400A (p.R545Q)	.	.	D (0.042)	D (0.999)	25	het	AD
7	PKS02	<i>GBA</i> (NM_001171812)	Exon3	c.G170A (p.C57Y)	.	.	D (0.003)	D (1)	27,3	het	AD
8	PKS110	<i>GBA</i> (NM_001171812)	Exon6	c.G667T (p.E223X)	.	.	.	.	36	het	AD
9	PKS69	<i>GBA</i> (NM_001171812)	Splicing	c.115+1G>A	3.99E-04	1.00E-04	.	.	25	het	AD
10	PKS83	<i>GBA</i> (NM_001171812)	Splicing	c.115+1G>A	3.99E-04	1.00E-04	.	.	25	het	AD
11	PKS92	<i>GBA</i> (NM_001171812)	Splicing	c.115+1G>A	3.99E-04	1.00E-04	.	.	25	het	AD
12	PKS98	<i>GBA</i>	Splicing	c.115+1G>A	3.99E-04	1.00E-04	.	.	25	het	AD

		(NM_001171812)									
13	PKS5	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
14	PKS28	LRRK2 (NM-198578)	Exon11	c.C1256T (p.A419V)	0.001398	0.0005	D (0.027)	P (0.94)	24,3	het	AD
15	PKS31	LRRK2 (NM-198578)	Exon19	c.C2264T (p.P755L)	0.001597	0.0007	T (0.347)	P (0.647)	25,1	het	AD
16	PKS34	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
17	PKS37	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
18	PKS48	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
		VPS35 (NM_018206)	Exon15	c.T2035C (p.S679P)	2.00E-04	1.65E-05	D (0.022)	D (1)	27,2	het	AD
19	PKS63	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
20	PKS64	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD
21	PKS73	LRRK2	Exon34	c.G4883C (p.R1268P)	0.00639	0.0017	D (0.04)	D (0.996)	27,8	het	AD

(.) Không có thông tin. Chữ viết tắt: 1000g, Cơ sở dữ liệu 1000 genome; gnomAD, Cơ sở dữ liệu tổng hợp bộ gen;

A/D, gây bệnh; B/N/T, lành tính/trung tính; P: có thể gây hại; hom, đồng hợp tử; het, dị hợp tử; AD, di truyền trội; AR, di truyền lặn.

Gen *SNCAIP*

Có 2 người bệnh mang biến thể dị hợp tử trên gen này là PKS18 mang biến thể c.A190T (p.T64S) và PKS90 mang biến thể c.G181A (p.A61T). Các biến thể này đều được dự đoán gây bệnh trên các cơ sở dữ liệu.

Gen *EIF4G1*

Có bốn người bệnh đã xác định được biến thể dị hợp tử trên gen *EIF4G1*. Trong đó, ba người bệnh PKS21, PKS72 và PKS102 mang cùng biến thể c.A3400G (p.M1134V). Riêng người bệnh PKS102 mang 2 biến thể dị hợp tử trên 2 gen là c.A3400G (p.M1134V) trên gen *EIF4G1* và c.G4145A (p.R1382H) trên gen *DNAJC13* được khẳng định gây bệnh trên công cụ dự đoán chức năng.

Người bệnh PKS95 mang biến thể sai nghĩa c.G1634A (p.R545Q), được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng. Đồng thời người bệnh này cũng mang cả biến thể c.C725T (p.S242F) trên gen *INPP5F*, được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng.

Gen *GBA*

Có 6 (6/97, 6,2%) người bệnh đã xác định được các biến thể dạng hợp tử trên gen *GBA*. Trong đó, bốn người bệnh (PKS69, PKS83, PKS92 và PKS98) mang biến thể c.115+1G>A. Đây là biến thể điểm sai lệch quá trình cắt intron của phân tử mRNA.

Hai người bệnh mang biến thể mới là c.G170 (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 *in silico* nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu nào..

Gen *VPS35*

Nghiên cứu xác định được một người bệnh PKS48 mang biến thể dị hợp tử c.T2035C (p.S679P) trên gen *VPS35* được dự đoán gây bệnh trên các

công cụ dự đoán. Đồng thời người bệnh này cũng mang biến thể gây bệnh c.G4883C (p.R1268P) trên gen *LRRK2*.

Gen *LRRK2*

Có 9/97 (9,3%) người bệnh mang biến thể gây bệnh trên gen *LRRK2*. Trong số này, bảy người bệnh mang cùng một biến thể c.G4883C p.R1268P. Trên cơ sở dữ liệu 1000 genome biến thể này có tần số xuất hiện là 0,0063 còn trên cơ sở dữ liệu ExAC biến thể này có tần số là 0,0017. Biến thể c.G4883C nằm trong vùng rất bảo thủ của protein *LRRK2*. Sự thay đổi từ R->P làm thay đổi điện tích giữa *LRRK2* bình thường và loại bị biến thể. Biến thể c.C1256T (p.A419V) được tìm thấy trên người bệnh PKS28 và biến thể c.C2264T (p.P755L) trên mẫu PKS31. Các biến thể này đều được khẳng định gây bệnh trên các công cụ tin sinh.

3.2.6.3 Các biến thể gây bệnh Parkinson chưa xác định được kiểu di truyền trong nhóm EOPD

Bảng 3.15. Các biến thể trên các gen hiếm gặp gây bệnh Parkinson chưa xác định được kiểu di truyền

STT	Người bệnh	Gen (Transcript)	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Tần số		Dự đoán <i>Insilico</i>			Hợp tử	Kiểu di truyền
				1000g	ExAC	SIFT (score)	Polyphen2 (score)	CADD		
1	PKS68	AMBRA1 (NM_001300731)	c.G2044A (p.E682K)	.	.	D (0.001)	P (0.953)	31	het	Unkown
2	PKS66	TH (NM_000360)	c.C56G (p.S19C)	.	1.67E-05	D (0)	D (1)	26,2	het	Unknow
3	PKS104	INPP5F (NM_001243194)	c.A599C (p.E200A)	.	.	D (0.017)	D (0.981)	23,9	het	Unkown
4	PKS95	INPP5F/ EIF4G1 (NM_001243194)	c.C725T (p.S242F)	3.99E-04	2.00E-04	D (0.014)	D (0.998)	27,4	het	Unkown
5	PKS46	PGAM5 (NM_001170543)	c.C304T (p.L102F)	.	.	D (0.024)	D (0.998)	25,7	het	Unkown
6	PKS82	PGAM5 (NM_001170543)	c.586-1G>A	.	.			26,6	het	Unkown
7	PKS106	PGAM5 (NM_001170543)	c.C304T (p.L102F)	.	.	D (0.024)	D (0.998)	25,7	het	Unkown
8	PKS31	TMEM175 / LRRK2 (NM_001297424)	c.A526G (p.K176E)	3.99E-04	6.64E-05	D (0.021)	D (0.999)	25,1	het	Unkown
9	PKS34	TMEM175/LRRK2 (NM_001297424)	c.A526G (p.K176E)	3.99E-04	6.64E-05	D (0.021)	D (0.999)	25,1	het	Unkown
10	PKS89	TMEM175 (NM_001297424)	c.A526G (p.K176E)	3.99E-04	6.64E-05	D (0.021)	D (0.999)	25,1	het	Unkown
11	PKS78	CCDC62 (NM_201435)	c.G788A (p.R263K)	.	8.26E-06	D (0.027)	D (1)	24,7	het	Unkown

(.) Không có thông tin. Chữ viết tắt: 1000g, Cơ sở dữ liệu 1000 genome; gnomAD, Cơ sở dữ liệu tổng hợp bộ gen; A/D, gây bệnh; B/N/T, lành tính/trung tính;
P: có thể gây hại; hom, đồng hợp tử; het, dị hợp tử; Unknown: chưa rõ kiểu di truyền.

Gen *AMBRA1*

Một người bệnh PKS68 được xác định mang biến thể c.G2044A (p.E682K), 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.

Gen *INPP5F*

Nghiên cứu đã xác định được 2 người bệnh mang biến thể trên gen *INPP5F*, trong đó người bệnh PKS104 mang biến thể c.A599C (p.E200A) được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* với CADD 23.9 nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC. Người bệnh PKS95 mang biến thể c.C725T (p.S242F) đã được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* với CADD 27.4 và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC, đồng thời mang biến thể sai nghĩa c.G1634A (p.R545Q) di truyền trội trên gen *EIF4G1*, được dự đoán gây bệnh. Tuy nhiên, cả hai biến thể trên gen *INPP5F* ở hai người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền.

Gen *PGAM5*

Chúng tôi 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 25.7, người bệnh PKS82 mang biến thể c.586-1G>A với CADD 26.6. Các biến thể trên đều được dự đoán gây bệnh trên công cụ dự đoán chức 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.

Gen *TMEM175*

Chúng tôi xác định được 3 người bệnh (PKS31, PKS34, PKS89) mang cùng một biến thể c.A526G (p.K176E) trên gen *TMEM175*, biến thể này đã

được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC. Tuy nhiên, biến thể ở ba người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền. Trong đó, hai người bệnh này cũng được xác định mang biến thể nguyên nhân c.C2264T (p.P755L) (PKS31) và c.G4883C (p.R1268P) (PKS34) trên gen *LRRK2*.

Gen *CCDC62*

Một người bệnh PKS78 mang biến thể gây bệnh trên gen *CCDC62* là c.G778A (p.R263K), biến thể được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu ExAC nhưng chưa được công bố trên cơ sở dữ liệu 1000g. Tuy nhiên, biến thể người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền.

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

3.2.7.1 Nhận xét đặc điểm giữa nhóm EOPD mang biến thể gây bệnh và nhóm EOPD không mang biến thể gây bệnh

Bảng 3.16. Nhận xét đặc điểm chung giữa nhóm EOPD mang biến thể gây bệnh và nhóm EOPD không mang biến thể gây bệnh

Đặc điểm lâm sàng	Nhóm mang biến thể gây bệnh (n=37)	Nhóm không mang biến thể gây bệnh (n=60)	Tổng EOPD (n=97)	p
Đặc điểm chung				
Tuổi khởi phát (năm)	34,97 ± 5,68	37,52 ± 5,74	36,55 ± 5,82	0,036 *
Giới tính N (%)				
Nam	18 (48,6)	31 (51,7)	49 (50,5)	0,773
Nữ	19 (51,46)	29 (48,3)	48 (49,5)	
Tuổi tại thời điểm khám (năm)	41,73 ± 6,80	45,45 ± 7,63	44,03 ± 7,51	0,017 *
Thời gian mắc bệnh (năm)	7,24 ± 4,21	8,32 ± 5,39	7,91 ± 4,98	0,304
Tiền sử gia đình (N,%)				
Có	11 (29,7)	7 (11,7)	18 (18,6)	0,026**
Không	26 (70,3)	53 (88,3)	79 (81,4)	

T-Test ; Pearson Chi-Square

Khi so sánh đặc điểm chung 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 $p < 0,05$. 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 $p = 0,026$.

Bảng 3.17. Nhận xét đặc điểm lâm sàng giữa nhóm EOPD mang biến thể gây bệnh và nhóm EOPD không mang biến thể gây bệnh

Đặc điểm lâm sàng	Nhóm mang biến thể gây bệnh (n=37)	Nhóm không mang biến thể gây bệnh (n=60)	Tổng EOPD (n=97)	p
Triệu chứng vận động				
UPDRS phần III	29,70 ± 12,13	32,52 ± 18,63	31,44 ± 16,45	0,416
Giai đoạn bệnh (Hoehn và Yahr) N (%)				
GĐ 1-2	22 (59,5)	39 (65,0)	61 (62,9)	0,583
GĐ 3-4-5	15 (40,5)	21 (35,0)	36 (311,7)	
Thể bệnh N (%)				
Ưu thể cứng	25 (67,6)	38 (63,3)	63 (64,9)	0,289
Ưu thể run	11 (29,7)	15 (25,0)	26 (26,8)	
Thể hỗn hợp	1 (2,7)	7 (11,7)	8 (8,2)	
Triệu chứng ngoài vận động				
Điểm trung bình NMSS	44,54 ± 32,32	48,80 ± 40,07	47,1 ± 37,1	0,586
Điểm trung bình MMSE	27,65 ± 3,38	27,40 ± 2,93	27,49 ± 3,09	0,703
Có suy giảm nhận thức N (%)	2 (5,4)	4 (6,7)	6 (6,2)	0,802
Điểm trung bình BECK	16,92 ± 10,11	16,12 ± 9,71	16,42 ± 9,82	0,422
Có rối loạn trầm cảm N (%)	23 (62,2)	32 (53,3)	55 (56,7)	0,394
Có rối loạn khứu giác N (%)	10 (27,0)	14 (23,3)	24 (24,7)	0,682

T-Test ; Pearson Chi-Square

Tuy nhiên, so sánh kiểu hình lâm sàng giữa nhóm mang biến thể gây bệnh và nhóm không mang các biến thể gây bệnh chưa thấy sự khác biệt về giới, các triệu chứng vận động và ngoài vận động giữa hai nhóm.

3.2.7.2 Kiểu gen - kiểu hình nhóm mang biến thể gây bệnh Parkinson khởi phát sớm di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường

Bảng 3.18. Đặc điểm kiểu hình của người bệnh mang biến thể SNV/indel gây bệnh Parkinson di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường

Người bệnh	Gen	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Giới	Tuổi khởi phát Bệnh	Thời gian mắc bệnh	Tiền sử gia đình	Tiến triển bệnh	Giai đoạn Hoehn và Yahr	Điểm UPDRS (III)	Điểm MMSE	Điểm BDI	Loạn trương lực cơ	Loạn động	Rối loạn khứu giác
PKS11	ATP13A2	c.C2183T (p.T728M)	Nữ	44	10	C	Chậm	3	67	28	28	K	C	K
		c.G1331A (p.R444Q)												
PKS25	ATP13A2	c.C2183T (p.T728M)	Nữ	40	4	K	Chậm	2	19	24	16	K	K	K
		c.G730A (p.A244T)												
PKS04	VPS13C	c.G10955A (p.G3652D)	Nam	48	4	K	Chậm	2	36	27	27	K	K	C
		c.C5999G (p.A2000G)												
PKS59	VPS13C	c.C9077T (p.A3026V)	Nữ	39	5	K	Chậm	2	20	27	12	K	K	K
		c.T8563C (p.W2855R)												

K: không có triệu chứng. C: có triệu chứng

Gen *ATP13A2*

Hai người bệnh này đều là nữ, trong đó người bệnh PKS11 có tiền sử gia đình. Đặc điểm triệu chứng vận động và ngoài vận động không có điểm khác biệt.

Gen *VPS13C*

Hai người bệnh đều không có tiền sử gia đình và không có suy giảm nhận thức tại thời điểm khám. Người bệnh PKS04 có triệu chứng rối loạn trầm cảm và rối loạn khứu giác.

Bảng 3.19. Đặc điểm kiểu hình của người bệnh mang biến thể SNV kết hợp CNV gây bệnh Parkinson theo kiểu di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trong nhóm EOPD

Người bệnh	Gen	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Gới	Tuổi khởi phát Bệnh	Thời gian mắc bệnh	Tiền sử gia đình	Tiến triển bệnh	Giai đoạn H&Y	Mức độ bệnh	Rối loạn nhận thức MMSE	Trầm cảm (BDI)	Loạn trương lực cơ	Loạn động	Rối loạn khứu giác
PKS53	PRKN	c.T874C (p.C441R)	Nữ	28	10	C	Chậm	3	18	24	7	K	C	K
		exon3-5del												
PKS54	PRKN	c.T874C (p.C441R)	Nữ	26	6	C	Chậm	3	24	26	10	K	K	K
		exon3-5del												
PKS55	PRKN	c.T874C (p.C441R)	Nữ	31	4	C	Chậm	3	27	29	17	K	K	K
		exon3-5del												
PKS88	PRKN	exon3-5del	Nữ	30	5	C	Chậm	2	27	28	17	K	K	K
PKS111	PRKN	c.T874C (p.C441R)	Nữ	24	10	C	Chậm	2	17	30	10	K	C	K
		exon3-4del												

K: không có triệu chứng. C: có triệu chứng

Các trường hợp mang biến thể trên gen *PRKN* trong nghiên cứu đều khởi phát khi tuổi còn rất trẻ (24, 26, 28, 30 và 31 tuổi) và đều có yếu tố gia đình, trong đó có 3 chị em ruột là PKS53, PKS54, PKS55.

Nhìn chung, cả 5 người bệnh đều tiến triển nhanh các triệu chứng vận động nhưng đều chưa thấy biểu hiện của suy giảm nhận thức, 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.

Bảng 3.20. Đặc điểm kiểu hình của các biến thể gây bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường

[illegible]

Bảng 3.21. Đặc điểm kiểu hình của các biến thể gây bệnh Parkinson của gen *LRRK2*

[illegible]

Gen *SNCAIP*

Hai người bệnh mang biến thể trên gen này đều không có tiền sử gia đình, tuổi khởi phát bệnh khá trẻ là 37 tuổi (PKS18) và 28 tuổi (PKS90), tiến triển bệnh chậm với thời gian mang bệnh của người bệnh PKS18 (10 năm, giai đoạn 2, MDS-UPDRS mức độ nhẹ) và PKS90 (6 năm, giai đoạn 2, MDS-UPDRS mức độ nhẹ), cả hai người bệnh đều có rối loạn trầm cảm nhưng chỉ có người bệnh PKS18 có suy giảm nhận thức và loạn động.

Gen *EIF4G1*

Có bốn người bệnh đã xác định được biến thể dị hợp tử trên gen *EIF4G1*.

Cả 4 người bệnh đều không có tiền sử gia đình bị bệnh Parkinson, tuổi khởi phát ≤ 40 tuổi, không có biểu hiện suy giảm nhận thức mặc dù người bệnh mang biến thể mới PKS95 bị bệnh được 18 năm. Đồng thời, người bệnh PKS95 cũng có triệu chứng loạn trương lực cơ và loạn động sau điều trị. Có 2 trong 4 người bệnh có biểu hiện rối loạn khứu giác là PKS72 và PKS95.

Gen *GBA*

Có 6 (6/97, 6,2%) người bệnh đã xác định được các biến thể dạng hợp tử trên gen *GBA*. Cả bốn người bệnh đều khởi phát tuổi rất trẻ (dưới 35 tuổi), có một người bệnh PKS69 có tiền sử gia đình, bị bệnh 13 năm, có biểu hiện loạn trương lực cơ, loạn động sau điều trị, rối loạn khứu giác và rối loạn trầm cảm mức độ nặng nhưng không có suy giảm nhận thức. Ba người bệnh còn lại (PKS83, PKS92 và PKS98) đều không có tiền sử gia đình và phổ các triệu chứng tương tự nhau.

Hai người bệnh mang biến thể mới là c.G170 (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, chỉ có người bệnh PKS02 có tiền sử gia đình, mang bệnh 12 năm, ở giai đoạn 3 của bệnh và có các triệu chứng loạn động, loạn trương lực cơ, rối loạn khứu giác.

Gen *VPS35*

Nghiên cứu xác định được một người bệnh PKS48 mang biến thể dị hợp tử c.T2035C (p.S679P) trên gen *VPS35* được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán. Đồng thời người bệnh này cũng mang biến thể gây bệnh c.G4883C (p.R1268P) trên gen *LRRK2*. Người bệnh này khởi phát bệnh 40 tuổi, không có tiền sử gia đình, tiến triển bệnh nhanh với thời gian mang bệnh 6 năm và điểm UPDRS là 47, có biểu hiện trầm cảm nhưng chưa có triệu chứng suy giảm nhận thức loạn động, không có rối loạn khứu giác.

Gen *LRRK2*

Có 9/97 (9,3%) người bệnh mang biến thể gây bệnh trên gen *LRRK2*. Về kiểu hình, tuổi khởi phát bệnh của cả 9 người bệnh đều dưới 40, có 3 người bệnh có tiền sử gia đình (PKS63, PKS64 và PKS73). Những người bệnh này có thời gian mang bệnh kéo dài từ 6 đến 17 năm đều có đầy đủ các triệu chứng vận động, trong đó có 6 người bệnh đã có biểu hiện loạn động sau điều trị nhưng chỉ có 3/9 người bệnh có biểu hiện trầm cảm và 3/9 người bệnh có triệu chứng rối loạn khứu, không có người bệnh nào có biểu hiện suy giảm nhận thức.

Bảng 3.22. Đặc điểm kiểu hình các biến thể trên các gen hiếm gặp gây bệnh Parkinson chưa xác định được kiểu di truyền

Người bệnh	Gen	Biến thể (cDNA change/ AA change)	Gới	Tuổi khởi phát Bệnh	Thời gian mắc bệnh	Tiền sử gia đình	Tiến triển bệnh	Giai đoạn Hoehn và Yahr	Điểm UPDRS (III)	Điểm MMSE	Điểm BDI	Loạn trương lực cơ	Loạn động	Rối loạn khứu giác
PKS68	<i>AMBRA1</i>	c.G2044A (p.E682K)	Nữ	36	5	K	Chậm	2	36	29	23	K	K	K
PKS66	<i>TH</i>	c.C56G (p.S19C)	Nam	37	5	K	Chậm	2	37	27	9	K	K	K
PKS104	<i>INPP5F</i>	c.A599C (p.E200A)	Nam	37	9	K	Chậm	2	35	26	8	K	K	C
PKS95	<i>INPP5F/EIF4G1</i>	c.C725T (p.S242F)	Nam	31	18	K	Chậm	3	20	28	3	C	C	C
PKS46	<i>PGAM5</i>	c.C304T (p.L102F)	Nam	28	8	K	Chậm	2	25	28	3	K	K	K
PKS82	<i>PGAM5</i>	c.586-1G>A	Nữ	37	10	K	Chậm	3	23	28	0	C	C	K
PKS106	<i>PGAM5</i>	c.C304T (p.L102F)	Nam	40	3	K	Chậm	2	36	30	28	K	K	K
PKS31	<i>TMEM175/LRRK2</i>	c.A526G (p.K176E)	Nam	35	11	K	Chậm	3	25	28	34	K	C	C
PKS34	<i>TMEM175/LRRK2</i>	c.A526G (p.K176E)	Nữ	33	8	K	Chậm	2	33	27	19	K	C	K
PKS89	<i>TMEM175</i>	c.A526G (p.K176E)	Nam	36	1	K	Chậm	1	16	29	25	K	K	K
PKS78	<i>CCDC62</i>	c.G788A (p.R263K)	Nam	47	2	K	Chậm	2	13	30	0	K	K	C

Gen *AMBRA1*

Một người bệnh PKS68 được xác định mang biến thể c.G2044A (p.E682K), được dự đoán gây bệnh trên công cụ dự đoán chức năng *Insilico*. Người bệnh khởi phát bệnh khi 36 tuổi với thời gian mắc bệnh 5 năm và giai đoạn 2 của bệnh tại thời điểm khám, không có tiền sử gia đình. Người bệnh chưa có biểu hiện rối loạn nhận thức nhưng có biểu hiện rối loạn trầm cảm.

Gen *INPP5F*

Nghiên cứu đã xác định được 2 người bệnh mang biến thể trên gen *INPP5F*, trong đó người bệnh PKS104 mang biến thể c.A599C (p.E200A) được và người bệnh PKS95 mang biến thể c.C725T (p.S242F). Tuy nhiên, cả hai biến thể trên gen *INPP5F* ở hai người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền. Kiểu hình của hai người bệnh đều khởi phát dưới 40 tuổi, không có yếu tố gia đình. Người bệnh PKS95 và PKS104 có thời gian mắc bệnh dài lần lượt 18 năm (PKS95) và 9 năm (PKS104), tiến triển bệnh chậm (giai đoạn bệnh 3 và 2), không có rối loạn nhận thức và trầm cảm nhưng đều có rối loạn khứu giác.

Gen *PGAM5*

Nghiên cứu xác định 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 25.7, người bệnh PKS82 mang biến thể c.586-1G>A. 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.

Gen *TMEM175*

Chúng tôi xác định được 3 người bệnh (PKS31, PKS34, PKS89) mang cùng một biến thể c.A526G (p.K176E) trên gen *TMEM175*. Trong đó, hai người bệnh này cũng được xác định mang biến thể nguyên nhân c.C2264T (p.P755L) (PKS31) và c.G4883C (p.R1268P) (PKS34) trên gen *LRRK2*. Về kiểu hình, cả ba người bệnh đều khởi phát dưới 40 tuổi, không có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson, không bị suy giảm nhận thức nhưng cả ba người đều có biểu hiện rối loạn trầm cảm. Hai người bệnh PKS31 và PKS34 có thời gian mang bệnh dài lần lượt là 11 và năm và có biểu hiện loạn động sau điều trị.

Gen *CCDC62*

Một người bệnh PKS78 mang biến thể gây bệnh trên gen *CCDC62* là c.G778A (p.R263K). Người bệnh này khởi phát bệnh 47 tuổi, không có tiền sử gia đình, với triệu chứng run, cứng cơ, giảm động. Tại thời điểm khám sau hai năm của bệnh đang ở giai đoạn 2 (Hoehn và Yahr), không có triệu chứng trầm cảm và rối loạn nhận thức nhưng có rối loạn chức năng sinh dục, rối loạn khứu giác.

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

* Tuổi khởi phát và tuổi tại thời điểm khám

Bệnh Parkinson có cơ chế gây bệnh phức tạp, trong đó tuổi cao là yếu tố nguy cơ lớn nhất; cùng với đó là yếu tố môi trường và di truyền cũng ảnh hưởng đến nguy cơ và sự tiến triển của bệnh. Khoảng 5%–10% người bệnh phát triển bệnh Parkinson sớm và biểu hiện đặc điểm lâm sàng có nhiều điểm khác so với bệnh Parkinson ở người cao tuổi [25]. Do đó, bệnh Parkinson được chia thành bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD) và bệnh Parkinson khởi phát muộn (LOPD) theo độ tuổi khởi phát. Không có tiêu chuẩn quốc tế thống nhất để xác định độ tuổi khởi phát EOPD. Tuy nhiên, mốc tuổi khởi phát có tác động đáng kể đến mối liên quan giữa tỷ lệ biến thể gen với bệnh Parkinson. Lấy gen *PRKN* làm ví dụ, một số nghiên cứu ở Châu Âu xác định tuổi khởi phát EOPD ở tuổi 45 cho thấy hơn 15% người bệnh EOPD rải rác mang biến thể gây bệnh ở gen tuổi *PRKN* trong khi một nghiên cứu của Trung Quốc xác định khởi phát EOPD ở tuổi 50 chỉ tìm thấy 2,66% người bệnh EOPD rải rác có những biến thể như vậy [12], [124], [125]. Hiện tại, hầu hết các nghiên cứu đều xác định độ tuổi khởi phát EOPD là 50 tuổi vì một số lý do sau [9]:

- Có sự khác biệt có ý nghĩa rõ rệt về triệu chứng rối loạn vận động và ngoài vận động giữa người bệnh Parkinson có tuổi khởi phát sau và trước 50.
- Một số dấu ấn sinh học ở dịch não tủy như Lactat và Tau protein ở nhóm người bệnh khởi phát từ 50 tuổi trở xuống thấp hơn có ý nghĩa so với người bệnh khởi phát trên 50 tuổi.
- Sự thay đổi nồng độ hormone estrogen, một chất có vai trò bảo vệ trong bệnh Parkinson, cũng được ghi nhận rõ ràng giữa đối tượng trên và dưới 50 tuổi.

- Những ảnh hưởng tới nghề nghiệp và đời sống xã hội ở những người bệnh khởi phát trên và dưới 50 tuổi cũng có nhiều điểm khác biệt quan trọng.

- Ngoài ra, một tỷ lệ đáng kể những người mắc bệnh Parkinson khởi phát từ 50 tuổi trở xuống mang biến thể gen có thể xác định được liên quan đến căn bệnh này.

- Trong thực hành nhiều quốc gia cũng đã chọn mốc tuổi 50 để phân biệt người bệnh Parkinson khởi phát sớm và muộn.

- Hơn nữa, giới hạn độ tuổi này được sự đồng thuận quốc tế ủng hộ, như được nhấn mạnh trong tài liệu tham khảo của Mehanna R. và cộng sự, trong đó nhấn mạnh tầm quan trọng của sự khác biệt này trong việc hướng dẫn các nỗ lực nghiên cứu và lâm sàng.

Như vậy, theo những đồng thuận trên, nghiên cứu này cũng sử dụng mốc 50 tuổi làm ranh giới xác định chọn người bệnh EOPD để tìm hiểu đặc điểm lâm sàng của nhóm EOPD đồng thời làm tăng khả năng phát hiện biến thể gây bệnh trong nhóm nghiên cứu.

Trong nghiên cứu, tuổi trung bình của 135 người bệnh là $45,5 \pm 8,1$ năm, tuổi khởi phát bệnh trung bình là $38,1 \pm 6,1$ năm (24-50). Theo tiêu chuẩn chọn người bệnh, chỉ những người bệnh có độ tuổi khởi phát từ 21 tới 50 mới được tuyển vào nghiên cứu, do đó giới hạn trên của tuổi là 50. Người bệnh khởi phát trẻ nhất ở nghiên cứu này là ở độ tuổi 24. Điều này cho thấy, bệnh Parkinson có thể khởi phát ở những người rất trẻ, khác với quan niệm thông thường là bệnh Parkinson là một bệnh của người cao tuổi. Điềm lại y văn, một nghiên cứu gần đây ở Việt Nam trên 89 người bệnh EOPD thì tuổi trung bình của các đối tượng nghiên cứu là $42,15 \pm 5,84$ năm, tuổi khởi phát bệnh trung bình là $35,46 \pm 3,96$ năm (24-40 tuổi) [17]. Một nghiên cứu ở Anh quốc trên 2262 người bệnh Parkinson cho thấy tuổi trung bình của 424 người bệnh EOPD tại thời điểm khám và tuổi khởi phát bệnh lần lượt là $48,8 \pm 6,2$ và $43,7 \pm 5,6$ năm [108]. Kết quả một nghiên cứu khác ở Trung Quốc trên 1242

người bệnh EOPD thấy rằng tuổi trung bình của các đối tượng nghiên cứu là $50,1 \pm 7,7$ năm, tuổi khởi phát bệnh trung bình là $43,6 \pm 6,4$ năm [12]. Khi phân tích sâu hơn thấy rằng, ở nghiên cứu của chúng tôi, người bệnh ở nhóm tuổi 30-39 chiếm cao nhất với hơn một nửa tổng số người bệnh (56,3%), kết quả này cũng tương tự như ở nghiên cứu của Schrag A. và cộng sự (có 73% người bệnh có tuổi khởi phát từ 30-40) [126].

** Giới tính*

Qua nghiên cứu nhận thấy, tỷ lệ nam giới mắc bệnh cao hơn nữ giới (nam 53,3%). Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước trước đó cũng có nhận xét tương đồng với quan sát của chúng tôi [12], [16]. Đồng thời, ở quần thể người bệnh Parkinson nói chung cũng ghi nhận nam giới thường có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn nữ giới [12], [108].

** Thời gian mắc bệnh*

Thời gian mắc bệnh trung bình của 135 đối tượng nghiên cứu là $7,97 \pm 5,28$ năm, trong đó người bệnh có thời gian mang bệnh trên 5 năm chiếm khoảng 2/3 tổng số người bệnh EOPD (69,6%) và người bệnh có thời gian mắc bệnh dài nhất là 23 năm. Khi so với nhóm bị LOPD (tuổi khởi phát > 50 tuổi), các nghiên cứu nhận thấy rằng nhóm người bệnh EOPD thường có thời gian mắc bệnh dài hơn, có nghiên cứu ghi nhận người bệnh có thời gian mắc bệnh lên tới 43 năm [105], [126], [127]. Thời gian mắc bệnh kéo dài ở nhóm người bệnh đang trong độ tuổi lao động gây ảnh hưởng xấu tới chất lượng cuộc sống và hoạt động nghề nghiệp sẽ trở thành một gánh nặng kinh tế-xã hội cho mỗi quốc gia [3], [17]. Do đó, đây là một vấn đề cần được quan tâm và có những giải pháp thích hợp [3].

** Trình độ học vấn nhóm nghiên cứu*

Nghiên cứu cho thấy các người bệnh EOPD có trình độ học vấn chủ yếu là cấp trung học (59,3%) trong đó trung học cơ sở chiếm nhiều nhất (35,6%), tiếp theo là trình độ trung học phổ thông với tỷ lệ (23,7%), người

bệnh có trình độ đại học chiếm 20%. Người bệnh ở các trình độ khác như trung cấp, cao đẳng hay sau đại học hoặc không đi học cũng gặp với những tỷ lệ nhỏ (Bảng 3.1). Như vậy, EOPD có thể gặp ở mọi đối tượng không phân biệt trình độ học vấn.

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

Nghiên cứu tập trung khảo sát triệu chứng rối loạn vận động đặc trưng cho bệnh Parkinson gồm: run, cứng đờ, giảm vận động, rối loạn tư thế và loạn trương lực vì đây là những triệu chứng có ý nghĩa chẩn đoán và thường ảnh hưởng nhiều tới sinh hoạt, lao động và chất lượng cuộc sống người bệnh.

Tại thời điểm khởi phát, qua khảo sát nhận thấy triệu chứng run gặp 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%). Một công bố trước đó 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 [25]. Một nghiên cứu với cỡ mẫu nhỏ hơn trước đó cũng cho kết quả tương tự với run là triệu chứng khởi phát gặp nhiều nhất [128]. 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 [25]. 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% [43].

Ở nghiên cứu này, nhóm người bệnh LOPD không được tuyển chọn nên không có sự so sánh các triệu chứng giữa hai nhóm với nhau. Nhưng các nghiên cứu khác đều nhận thấy có bảng lâm sàng về rối loạn vận động khác biệt rõ rệt giữa hai nhóm đối tượng này. Trong đó, người bệnh EOPD thường có thể bệnh cứng đờ chiếm ưu thế hơn và loạn trương lực là triệu chứng khởi phát hay gặp hơn [1], [10], [13].

Nghiên cứu nhận thấy, theo diễn tiến của bệnh tỷ lệ những triệu chứng này tăng lên rõ rệt. Cụ thể, tại thời điểm nghiên cứu triệu chứng giảm vận động chiếm tỷ lệ cao nhất (97,8%), sau đó là triệu chứng cứng đờ (93,3%), run (85,9%), rối loạn tư thế (34,8%), loạn trương lực (17%). Điều này cũng dễ hiểu bởi vì bệnh Parkinson là một bệnh thoái hóa tiến triển của não cho tới nay có nhiều phương pháp điều trị được áp dụng nhưng vẫn không làm thay đổi được sự tiến triển của bệnh. Theo thời gian các triệu chứng xuất hiện nhiều hơn và nặng hơn so với lúc khởi phát.

Trong nghiên cứu này, tính theo thang điểm MDS-UPDRS, 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-UPDRS 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 [129]. 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 [43], [128], [130].

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

Triệu chứng ngoài vận động đã được xác định là một đặc điểm lâm sàng xuất hiện ở mọi giai đoạn của bệnh Parkinson, thậm chí xuất hiện trước nhiều năm so với các triệu chứng rối loạn vận động [3]. Các triệu chứng này rất đa dạng, phản ánh rối loạn chức năng ở ngoài hệ Dopaminergic thường không được phát hiện và điều trị kịp thời [131]. Triệu chứng ngoài vận động ngày càng được nghiên cứu nhiều hơn vì nó ảnh hưởng tới quá trình điều trị nói chung, tới các hoạt động sống, nghề nghiệp và chất lượng cuộc sống của người bệnh, đặc biệt ở nhóm EOPD vì có thời gian mang bệnh kéo dài [3], [17].

**** 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 của tác giả 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. Trong đó, người bệnh có từ 1 tới 10 triệu chứng chiếm 61/101 (60,4%), từ 11-20 triệu chứng chiếm 29/101 (28,7%) và từ 21 triệu chứng trở lên chiếm 2/101 (1,9%) [132]. Triệu chứng ngoài vận động được báo cáo gặp với tỷ lệ ít hơn ở một nghiên cứu ở Trung Quốc

(2013) trên nhóm người bệnh khởi phát sớm (có tuổi khởi phát <45) với 69,2% người bệnh có ít nhất 01 triệu chứng ngoài vận động [133]. Theo kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Ngọc Tài và cộng sự (2021) trên 89 người bệnh Parkinson khởi phát ở độ tuổi từ 21- 40 thấy rằng, người bệnh có trung bình $10,17 \pm 4,74$ triệu chứng ngoài vận động [17].

** 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%). Nhóm triệu chứng “Tâm trạng/ Nhận thức”, “Sự chú ý/ trí nhớ”, “Triệu chứng khác”, “Tim mạch”, “Tiêu hóa”, “Tiết niệu”, “Sinh dục” cũng chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 86,7%; 81,5%; 68,1%; 65,9%; 57%; 57% và 51,9%. 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%), tiếp đến là nhóm “Tâm trạng/ Nhận thức”, “Sự chú ý/ trí nhớ” với tỷ lệ lần lượt là 83,1% và 82%. Nhóm triệu chứng “Tim mạch”, “Tiêu hóa”, “Tiết niệu”, “Sinh dục” chiếm tỷ lệ lần lượt là 62,9%; 49,4%; 57,3% và 40,4% [16]. 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 tác giả 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 [132]. Hay ở một nghiên cứu trên 84 người bệnh EOPD ở Hàn Quốc (2011) (tuổi khởi phát < 50) thấy có 66,7% rối loạn thần kinh tự chủ (rối loạn tiểu tiện 32,1%; rối loạn đường tiêu hóa 29,8%; rối loạn tim mạch 40,5%; tăng tiết mồ hôi 10,7%); rối loạn giấc ngủ 76,2%; rối loạn tâm thần, hành vi 47,6% (lo lắng, kích động, lãnh đạm 13,1%; trầm cảm 40,5%; hoang tưởng ảo giác 9,5%); rối loạn hành vi lặp lại và kiểm soát xung động 23,8% (mua sắm quá mức 10,7%; ăn quá mức 9,5%; tình dục quá mức 9,5%; cờ bạc bệnh lý 7,1% và hành vi lặp lại 10,7%) [134]. 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 [135]. 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 [3]).

Ở nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng nhóm triệu chứng “Mất ngủ/mệt mỏi”, “Vấn đề tri giác/ảo giác”, “Đường tiêu hóa”, “Tiết niệu” và “Các triệu chứng khác” có tỷ lệ mắc cao hơn và mức độ nặng hơn ở giai đoạn bệnh nặng hơn. Điều này có thể sẽ là trở ngại trong quá trình chăm sóc, điều trị và ảnh hưởng tới chất lượng cuộc sống người bệnh nặng nề hơn. Do đó, việc phát hiện, chẩn đoán kịp thời các triệu chứng ngoài vận động ngay từ giai đoạn nhẹ/sớm của bệnh là rất quan trọng để có biện pháp can thiệp phù hợp nhằm giảm thiểu mức độ ảnh hưởng của triệu chứng ngoài vận động lên người bệnh, cho dù điều này vẫn còn là trở ngại đối với các nhà lâm sàng [3].

**Mối tương quan giữa triệu chứng ngoài vận động và các đặc điểm lâm sàng khác*

Khi phân tích mối tương quan giữa triệu chứng ngoài vận động (tính theo thang điểm NMSS) với một số đặc điểm lâm sàng khác chúng tôi thấy triệu chứng ngoài vận động có mối tương quan thuận mức độ mạnh với đau, mức độ trung bình với tuổi khởi phát bệnh, thời gian mắc bệnh, mức độ bệnh, giai đoạn bệnh, mức độ trầm cảm tình trạng suy giảm nhận thức và mức độ trầm cảm. Cho tới nay có rất ít nghiên cứu đề cập tới mối liên quan giữa triệu chứng ngoài vận động và vận động ở người bệnh Parkinson, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về các triệu chứng ngoài vận động [131]. Ở người bệnh EOPD, nghiên cứu chưa ghi nhận có tài liệu nào đề cập tới vấn đề này. Với người bệnh Parkinson nói chung, tác giả Ba F. và cộng sự (2016) thấy rằng, thời gian mắc bệnh lâu hơn, mức độ bệnh nặng hơn (điểm MDS-UPDRS cao hơn), giai đoạn bệnh muộn hơn (điểm Hoehn và Yahr cao hơn) có mối tương quan thuận với điểm NMSS [131]. Kết quả này cũng tương tự thấy ở nhóm người bệnh EOPD như trong nghiên cứu chúng tôi và cũng tương đồng với nghiên cứu của tác giả Deng X. và cộng sự (2015) trên 432 người bệnh Parkinson với nhận định rằng, những người bệnh thuộc nhóm rối loạn tư thế và dáng đi thì thường có nhiều các triệu chứng ngoài vận động và mức độ các triệu chứng nặng nề hơn [136]. Đồng thời, rối loạn chức năng tình dục là yếu tố tiên lượng độc lập của thể bệnh lâm sàng có rối loạn tư thế và dáng đi [136].

Ở nghiên cứu này, điểm MMSE càng cao thì điểm NMSS càng thấp, điều đó có nghĩa là mức độ suy giảm nhận thức càng nhẹ thì điểm NMSS càng thấp. Điều này có thể lý giải do theo thời gian tiến triển của bệnh khi tổn thương lan tới vùng vỏ não (chi phối chức năng nhận thức) thì khi đó các trung khu thần kinh cả hệ Dopaminergic và ngoài Dopaminergic chi phối cho các chức năng khác thực tế đã bị tổn thương trước. Đồng thời các triệu chứng này thường có chung cơ chế bệnh học.

** Triệu chứng đau ở người bệnh EOPD*

Trong các triệu chứng ngoài vận động, nghiên cứu mong muốn đi sâu phân tích triệu chứng đau vì đây là triệu chứng xuất hiện với tỷ lệ cao ở những người bệnh Parkinson chung nhưng chưa được đề ý nghiên cứu đặc biệt ở người bệnh EOPD [137]. Đồng thời, triệu chứng này đã được chứng minh làm nặng hơn các triệu chứng rối loạn vận động [138] và một số triệu chứng ngoài vận động khác [139]. Bên cạnh đó, các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, triệu chứng đau có ảnh hưởng xấu tới chất lượng cuộc sống và quá trình điều trị của người bệnh Parkinson [137]. Đề tài sử dụng thang điểm đánh giá triệu chứng đau KPPS, đây là một thang điểm có nhiều ưu điểm và đã được chứng minh tính đặc hiệu cho khảo sát triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson và đang được khuyến cáo sử dụng trong các nghiên cứu đánh giá tình trạng đau ở những người bệnh này. Trong nghiên cứu này, dựa trên dữ liệu của 135 người bệnh mắc bệnh EOPD, tỷ lệ người bệnh có triệu chứng đau là 107/137 (79,3%). Phát hiện này tương tự như trong một báo cáo trước đây của Allen N.E. và cộng sự (2016) [138]. Trong các tài liệu, chúng tôi thấy rằng tỷ lệ đau ở người bệnh Parkinson rất đa dạng, nguyên nhân được cho là do sự khác nhau về thiết kế nghiên cứu và các công cụ đánh giá triệu chứng đau sử dụng hoặc đánh giá các loại đau khác nhau, ở giai đoạn bệnh khác nhau và có các bệnh đồng mắc khác nhau. Trong một số báo cáo trước đây, tỷ lệ đau cao hơn trong nghiên cứu của chúng tôi, ví dụ nghiên cứu ở Vương quốc Anh về Parkinson năm 1957, đau đã được báo cáo ở 85% người tham gia [140]. Thậm chí còn cao hơn trong một công bố của Ghosh P. (88%) hoặc Buhmann C. (95,4%) [139], [141]. Ngược lại, trong một số nghiên cứu khác, tần suất đau thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, các triệu chứng đau được ghi nhận lần lượt ở 47,9%; 52,1% và 70% người bệnh bị Parkinson ở nghiên cứu của Mao C. J., Behari M. và cộng sự và trong nghiên cứu của Agrawal A.K.[142], [143], [144]. Trong một nghiên cứu ở Nhật Bản trên 1453 người bệnh Parkinson với 711 EOPD (khởi phát tuổi

trước 60), chỉ 25% người bệnh EOPD báo cáo các triệu chứng đau, tỷ lệ này thấp hơn 3 lần so với nghiên cứu của chúng tôi, có lẽ vì định nghĩa đau ở đây chỉ bao gồm đau cần điều trị (không sử dụng thang điểm KPPS) và loại trừ các kết quả đau do tim mạch, hô hấp, ổ bụng và gãy xương.

Bảng 4.1. Tỷ lệ đau ở một số nghiên cứu trên thế giới

Tác giả	Thời gian	Tên nghiên cứu	Thiết kế nghiên cứu	Thế bệnh Parkinson	Thang điểm đánh giá	Tỷ lệ đau
Agrawal A.K. và cộng sự [144]	2021	Các yếu tố dự đoán mức độ trầm trọng của triệu chứng đau và tác động của nó đến chất lượng cuộc sống ở người bệnh mắc bệnh Parkinson.	Nghiên cứu tiến cứu	119 người bệnh Parkinson chung	KPPS	70%
Ghosh P. và cộng sự [139]	2020	Một nghiên cứu đa trung tâm về cơn đau ở bệnh Parkinson và mối liên quan với các triệu chứng ngoài vận động khác.	Nghiên cứu tiến cứu	167 người bệnh Parkinson chung	Bảng liệt kê cơn đau ngắn và thang KPPS	88,6%
Behari M. và cộng sự [143]	2020	Đánh giá triệu chứng đau ở người bệnh Parkinson Ấn Độ bằng thang đánh giá triệu chứng đau KPPS.	Nghiên cứu tiến cứu	119 người bệnh Parkinson chung	KPPS	52,1%
Silverdale M. A. và cộng sự [140]	2018	Nghiên cứu đặc điểm triệu chứng đau ở 1957 người bệnh Parkinson giai đoạn sớm và trung bình.	Nghiên cứu tiến cứu	1957 người bệnh Parkinson chung	Câu hỏi ngắn McGill Pain, Thang đo trực quan và thang KPPS	85%
Buhmann	2017	Cơn đau ở bệnh	Nghiên cứu	181 người	Bảng câu hỏi về	95,4%

C. và cộng sự [141]		Parkinson: một nghiên cứu cắt ngang về tỷ lệ xuất hiện, đặc điểm và liệu pháp điều trị.	cứu tiên cứu	bệnh Parkinson chung	con đau của người Đức và bảng con đau tự phát triển bệnh Parkinson	
Mao C. J. và cộng sự [142]	2015	Người bệnh Parkinson xuất hiện kèm con đau sẽ có các triệu chứng ngoài vận động nghiêm trọng hơn.	Nghiên cứu tiến cứu	142 người bệnh Parkinson chung	Visual Analogue Scale	47,9%
Yoritaka A. và cộng sự [145]	2013	Các triệu chứng vận động và ngoài vận động ở 1453 người bệnh Parkinson: tỷ lệ xuất hiện và yếu tố nguy cơ, hội chứng Parkinson và các rối loạn liên quan.	Nghiên cứu hồi cứu	1453 người bệnh Parkinson (711 EOPD)	Đau được xác định và cần điều trị gồm các cơn đau liên quan đến mệt mỏi, loại trừ đau liên quan đến gãy xương, nhồi máu cơ tim, các bệnh về hô hấp và bụng.	25%

Liên quan đến các thể đau, phù hợp với kết quả của đề tài, một số nghiên cứu khác cũng đã ghi nhận: đau cơ xương khớp (70,1%) là phổ biến nhất [140], [146], [139], [40], [147]. Tiếp theo là triệu chứng “đau về đêm” (43,9%), đau kiểu rề thần kinh (43,0%), trong khi đau vùng hàm mặt ít gặp nhất (16,8%), điều này tương tự như báo cáo trong một nghiên cứu ở Ấn Độ, cũng áp dụng KPPS trong đánh giá triệu chứng đau, nguyên nhân đôi khi có thể do bất động vì cứng đơ và mất vận động [143], [40]. Người bệnh bị đau cơ xương khớp có chất lượng cuộc sống liên quan đến sức khỏe kém hơn đáng kể so với người bệnh không bị đau [148], [149]. Khi phân tích sâu hơn, chúng tôi không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ và mức độ của tất cả các loại đau giữa hai giới (nam/nữ) cũng như giữa hai nhóm

người bệnh trên và dưới 40 tuổi. Kết quả này có thể cho thấy rằng, tất cả các kiểu đau không bị ảnh hưởng bởi giới tính và độ tuổi khởi phát ở nhóm EOPD. So sánh nhóm người bệnh ở giai đoạn bệnh tiến triển (Hoehn và Yahr 3, 4, 5) với những người bệnh ở giai đoạn sớm (Hoehn và Yahr 1 và 2) cho thấy, tỷ lệ xuất hiện triệu chứng và mức độ “đau dao động” và “đau kiểu rẽ thần kinh” cao hơn, nhưng không có sự khác biệt đáng kể của những người bệnh nhóm đau khác. Phát hiện này cho thấy rằng “đau dao động” và “đau kiểu rẽ thần kinh” có xu hướng xảy ra và trầm trọng hơn ở giai đoạn nặng, tương tự như kết quả được công bố gần đây [39]. Vì triệu chứng “đau về đêm” và đau do “phù nề/sung” chưa bao giờ được đánh giá bằng bất kỳ thang điểm nào khác ngoài KPPS, nên việc so sánh các kiểu đau này trong các nghiên cứu khác bằng cách sử dụng các công cụ đánh giá đau khác nhau là không khả thi. Về mức độ đau, kết quả điểm KPPS trung bình hiện tại là 7 (phạm vi: 1-16) và 70/107 (72,0%) ghi nhận đau mức độ vừa đến nặng, cao hơn so với các nghiên cứu trước đây với tỷ lệ phổ biến từ 42% - 48,7% [138], [140]. Sự khác biệt với nghiên cứu của chúng tôi một phần có thể được giải thích bởi độ tuổi khởi phát và công cụ đánh giá đau khác nhau vì đối tượng của họ là người bệnh Parkinson vô căn và của chúng tôi là người bệnh EOPD và KPPS đã được áp dụng trong nghiên cứu của chúng tôi, nhưng các công cụ khác đã được sử dụng trong các nghiên cứu khác.

** Mọi liên quan giữa triệu chứng đau với các triệu chứng khác*

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong số những người bệnh EOPD, điểm MDS-UPDRS phần III cao hơn, giai đoạn Hoehn và Yahr tiến triển và điểm NMSS cao hơn có mối tương quan thuận với điểm KPPS cao hơn (cường độ đau mạnh hơn). Tuy nhiên, các đồng biến này không đạt được ý nghĩa thống kê trong phân tích hồi quy đa biến. Phân tích hồi quy đa biến đã chỉ ra rằng mức độ nặng của triệu chứng đau, được đo bằng điểm KPPS, có mối tương quan độc lập với tuổi, mức độ trầm cảm, rối loạn nhận thức/ảo giác và rối

loạn chức năng tình dục. Mối liên quan giữa triệu chứng đau với trầm cảm ở người bệnh Parkinson nói chung đã được xác định ở nhiều nghiên cứu trước đó [138], [141], [147], [40]. Ở người bệnh Parkinson nói chung cho thấy, triệu chứng đau liên quan tới chất lượng cuộc sống kém hơn, mức độ bệnh nặng hơn được đánh giá bằng thang điểm MDS-UPDRS và Hoehn và Yahr, mức độ mất ngủ/ mệt mỏi nhiều hơn (điểm NMSS cho phân nhóm cao hơn) [139], [142], [150], [151], [152] [153], [154]. Tuy nhiên, một số triệu chứng ngoài vận động như ảo giác và rối loạn chức năng tình dục hiếm khi được kết hợp cùng với mức độ đau trong một đánh giá chuẩn. MDS-UPDRS, một thang điểm đánh giá mức độ bệnh Parkinson được chuẩn hóa, thường được sử dụng để đánh giá ảo giác nhưng không đánh giá rối loạn chức năng tình dục cũng như đau. Mối tương tác tiềm ẩn giữa triệu chứng đau, trầm cảm và rối loạn chức năng tình dục rất phức tạp và mối quan hệ chính xác vẫn chưa được hiểu rõ ràng. Một số cơ chế sinh lý bệnh được đề xuất có thể giải thích cho mối liên quan này. Từ góc độ dịch tễ học, oxytocin trung ương, một loại hormone sinh dục, có tác dụng lên hệ thống điều hòa giảm đau, các triệu chứng liên quan đến đau trong bệnh Parkinson và tác dụng giảm đau [155], [156]. Ngoài ra, người ta thấy nồng độ testosterone giảm trong bệnh Parkinson và có liên quan đến các triệu chứng ngoài vận động bao gồm đau [157]. Cuối cùng, hoạt động tình dục tích cực mang lại nhiều lợi ích và có liên quan đến cải thiện các triệu chứng ngoài vận động tốt hơn [158]. Do đó, cần có những nghiên cứu sâu hơn để làm rõ mối liên quan giữa triệu chứng đau, trầm cảm và rối loạn chức năng tình dục ở người bệnh Parkinson. Điều đặc biệt quan tâm là những người bệnh EOPD có thể gặp những tác động nặng nề nhất đến chất lượng cuộc sống khi họ vẫn đang ở trong những năm làm việc hiệu quả nhất của cuộc đời [3], [159].

4.1.4 Nhận xét một số đặc điểm khác biệt về lâm sàng giữa người bệnh Parkinson khởi phát sớm trong nghiên cứu với người bệnh Parkinson khởi phát muộn ở một số nghiên cứu khác

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 [25]. 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. Triệu chứng cứng đờ cũng là một triệu chứng biểu hiện thường xuyên hơn ở nhóm EOPD (tuổi khởi phát < 50) [25], [42]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng nhận thấy ở cả thời điểm khởi phát và thời điểm tiến triển của bệnh thì bộ ba triệu chứng run (72,6%; 85,9%); giảm vận động (60,7%; 97,8%) và cứng đờ (51,1% và 93,3%) đều chiếm tỷ lệ cao trong khi dáng đi không ổn định lại chiếm tỷ lệ thấp hơn (5,2% và 34,8%). Triệu chứng run lúc khởi phát chiếm 72,6% cũng tương tự như nhóm LOPD (70,1%) của Mehanna R. và cộng sự (2014) [25]. 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 [43]. Triệu chứng loạn trương lực trong nghiên cứu của chúng tôi cũng có tỷ lệ lúc khởi phát là 3% và tăng lên 17% vào giai đoạn tiến triển, cao hơn so với nhóm LOPD (3%) trong nghiên cứu của tác giả Willis W. A. và cộng sự (2013) [43]. Tuy nhiên, nghiên cứu tác giả Mehanna R. và cộng sự (2014)

trên 593 người bệnh Parkinson, loạn trương lực chỉ gặp ở một người bệnh LOPD, không gặp ở nhóm tuổi khác [25].

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) [25]. Nghiên cứu này nhận thấy, có tới hơn 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. Tuy nhiên, tính theo thang điểm Hoehn và Yahr, người bệnh ở giai đoạn sớm của bệnh lại chiếm tỷ lệ chủ yếu (63,7%) và người bệnh ở giai đoạn muộn của bệnh chiếm tỷ lệ khoảng 1/3 (36,3%). Điểm Hoehn và Yahr trung bình của người bệnh trong nhóm nghiên cứu EOPD là 2,3. Trong đó, có những người bệnh mắc bệnh trên 10 năm nhưng chỉ ở giai đoạn bệnh 2 và 3 theo Hoehn và Yahr, điều này mặc dù chưa đủ chứng cứ khoa học để đánh giá EOPD tiến triển chậm hơn LOPD nhưng cũng cho chúng ta một số những nhận định về sự tiến triển chậm ở một số cá nhân người bệnh EOPD.

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

Trong những năm gần đây, sự phát triển của công nghệ giải trình tự thế hệ mới đã cho phép các nghiên cứu di truyền một cách toàn diện hơn về nhiều tình trạng gây bệnh. Với đặc điểm là bệnh lý có nguyên nhân gây bệnh phức tạp, giao thoa nhiều yếu tố và chưa rõ ràng thì việc phân tích phổ các gen liên quan tới bệnh Parkinson ở các dân tộc khác nhau ngày càng quan trọng đối với sự hiểu biết về cơ chế di truyền của bệnh. Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về các gen gây bệnh Parkinson đơn lẻ như Nhữ Đình Sơn (2003) nghiên cứu về gen *SNCA* ở người bệnh Parkinson [19]. Năm 2017, tác giả Hồ Trường Giang và cộng sự thực hiện nghiên cứu về biến đổi gen *DJ-1* ở 30 người bệnh Parkinson rải rác [20]. Tác giả Đỗ Minh Đức và cộng sự (2022)

tiến hành nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và di truyền trên 20 gen ở 83 người bệnh Parkinson có tuổi khởi phát ≤ 50 [22].

Nghiên cứu này 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 [10], [11]. Tỷ lệ của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của tác giả Đỗ Minh Đức và cộng sự (2022) với số lượng biến thể gây bệnh/nguy cơ là 27,6% (24/87), điều này có thể do nghiên cứu của chúng tôi mở rộng xét nghiệm toàn bộ exome nên rà soát cả những gen hiếm gặp của người bệnh còn nghiên cứu của tác giả Đỗ Minh Đức và cộng sự (2022) thực hiện nghiên cứu panel trên 20 gen liên quan đến bệnh Parkinson [22]. 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 [12]. 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 [160].

Xem xét về kiểu hình lâm sàng của nhóm người bệnh được sàng lọc di truyền (Bảng 3.16), chúng tôi thấy rằng, giữa nhóm mang biến thể gây bệnh và nhóm không mang biến thể gây bệnh cũng có một số sự khác biệt về đặc điểm chung. Đầu tiên, tuổi khởi phát và tuổi tại thời điểm khám là điều được các nhà nghiên cứu đặc biệt quan tâm bởi rất nhiều các nghiên cứu đều đồng thuận

rằng, tuổi khởi phát càng sớm thì khả năng phát hiện biến thể di truyền càng cao [12], [66], [161], [162]. 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) [161]. 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. Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng vận động và ngoài vận động giữa hai nhóm này (Bảng 3.17).

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

Nghiên cứu xác định được 3 gen thuộc nhóm các gen đã được báo cáo di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường ở bệnh Parkinson là *ATP13A2*, *VPS35* và *PRKN* [12], [52]. Trong đó, số người bệnh mang biến thể gây bệnh trên gen *PRKN* là phổ biến nhất với 4 người bệnh, 2 người bệnh mang biến thể trên gen *ATP13A2* và 2 người bệnh mang biến thể trên gen *VPS35*.

- **Gen *ATP13A2***

Ban đầu, ATPase loại 13A2 (*ATP13A2*) đã được báo cáo liên quan đến hội chứng Kufor-Rakeb, là một dạng bệnh EOPD nghiêm trọng, di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Trên lâm sàng, người bệnh bị Kufor-Rakeb có xu hướng teo não, run, cứng cơ, loạn động, mất trí nhớ, suy giảm nhận thức, trầm cảm, đáp ứng tốt hơn với Levodopa [54]. Gen *ATP13A2* thuộc phân họ 5P của ATPase và mã hóa một lysosome protein xuyên màng được biểu hiện chủ yếu trong não [55]. Một số nghiên cứu khác nhau về các tế bào nguyên bào sợi nuôi cấy của người bệnh Kufor-Rakeb và các loại tế bào thiếu *ATP13A2* khác

như tế bào u nguyên bào thần kinh của người xác định rằng thiếu *ATP13A2* dẫn đến sự bất ổn của màng lysosome và sau đó làm suy giảm chức năng phân giải lysosome, đây là một thành phần cơ bản của con đường kiểm soát chất lượng và số lượng ty thể trong tế bào thần kinh [56]. Những khiếm khuyết này gắn liền với sự tích tụ của α -synuclein gây bệnh và rối loạn chức năng ty thể, dẫn đến giảm sản xuất ATP và tăng mức độ ROS nội bào, góp phần làm chết tế bào thần kinh [57]. Ngoài ra, một số nghiên cứu khác đã xác định tích lũy bất thường của mangan (Mn^{2+} và kẽm Zn^{2+}) trong não và dịch não tủy của người bệnh Parkinson bị ảnh hưởng với biến thể *ATP13A2* [58]. Tan J. và cộng sự (2011) thấy rằng biểu hiện quá mức *ATP13A2* trong tế bào thần kinh nuôi cấy bị phơi nhiễm với Mn^{2+} làm giảm nồng độ Mn^{2+} nội bào và tế bào được bảo vệ khỏi quá trình gây chết tế bào theo chương trình [59]. Người ta tin rằng *ATP13A2* bảo vệ tế bào khỏi độc tính kim loại bằng cách cung cấp cân bằng nội môi của Mn^{2+} và Zn^{2+} (các yếu tố môi trường nguy cơ đáng kể cho bệnh Parkinson) trong tế bào thần kinh [60], [61].

Trong nghiên cứu này, xác định được hai người bệnh mang biến thể dạng compound heterozygous trên gen *ATP13A2* lần lượt là PKS11 (c.C2183T/ c.G1331A) và PKS25 (c.C2183T/c.G730A) và được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng. Hai người bệnh này đều là nữ, trong đó người bệnh PKS11 có tiền sử gia đình. Đặc điểm triệu chứng vận động và ngoài vận động không có điểm khác biệt.

- **Gen *VPS13C***

Các nghiên cứu giải trình tự toàn bộ hệ gen của người bệnh Parkinson đã chứng minh sự liên quan giữa *VPS13C* với Parkinson dạng di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường khởi phát sớm [62]. *VPS13C* mã hóa cho phân tử protein là thành viên của họ *VPS13*. Hiện nay, người ta vẫn chưa biết làm thế nào mà các biến thể trên gen *VPS13C* có thể gây ra bệnh Parkinson. Tuy nhiên, các thí nghiệm in vitro trên các mô hình tế bào người cho thấy *VPS13C* khu trú trên

màng ngoài ty thể. Ngoài ra, ở các mô hình tế bào động vật đã loại bỏ *VPS13C* cho thấy có liên quan rõ rệt đến thể năng màng ty thể thấp, tăng ROS, phân mảnh ty thể, bất thường hình thái ty thể và điều chỉnh lại biểu hiện của gen *PRKN* và *PINK1* để đáp ứng với rối loạn chức năng của ty thể. Người ta tin rằng *VPS13C* hợp tác với *PRKN/PINK1* và tham gia vào vận chuyển chọn lọc ty thể bị hư hỏng đến lysosome [63]. Trên thực tế, các nghiên cứu đã đề xuất rằng biến thể gen *VPS13C* có thể dẫn đến tăng lượng ROS và ty thể bị rối loạn chức năng và cuối cùng gây ra cái chết tế bào thần kinh.

Hai người bệnh mang biến thể dạng compound heterozygous trên gen *VPS13C* lần lượt là (c.C5999G/c.G10955A) và (c.T8563C/c.C9077T). Biến thể c.C5999G (p.A2000G) exon49 và c.G10955A (p.G3652D) exon82 ở mẫu PKS04 đều nằm trên vùng bảo thủ ở nhóm động vật có vú và có tần số xuất hiện rất hiếm trong cơ sở dữ liệu 1000 genome với tần số tương ứng là 0,002 và 0,0008. Đối với người bệnh PKS59, hai biến thể c.T8563C (p.W2855R) trên exon61 và c.C9077T (p.A3026V) trên exon65 đều được dự đoán là có khả năng gây bệnh bằng các công cụ dự đoán tin sinh. Cả hai biến thể này đều nằm trên vùng rất bảo thủ và mới chỉ xuất hiện với tần số lần lượt là $1,9 \times 10^{-5}$ và $1,8 \times 10^{-5}$ trên cơ sở dữ liệu gnomd, trong khi đó không xuất hiện trong ngân hàng 1000 genome. Hai người bệnh đều không có tiền sử gia đình và không có suy giảm nhận thức tại thời điểm khám. Người bệnh PKS04 có triệu chứng rối loạn trầm cảm và rối loạn khứu giác.

- **Gen *PRKN* (*PARKIN*)**

Người ta đã xác định được có khoảng 200 các loại biến thể khác nhau trên gen *PRKN*. Điều thú vị là, phần lớn các người bệnh mang biến thể trên gen *PRKN* đều có dạng sắp xếp lại exon ở dạng dị hợp tử [53], [65]. Nghiên cứu của Ả Rập (2019) về giải trình tự exome và đánh giá số lượng bản sao trong bệnh Parkinson, phát hiện 2 trường hợp EOPD có biến thể xóa exon 3, trong đó một người bệnh có tiền sử gia đình với ba anh chị em bị Parkinson

[163]. Điều này tương tự trong nghiên cứu của chúng tôi, cả 5 người bệnh mang biến thể trên gen này đều có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson, trong đó 4 người bệnh mang cùng một biến thể điểm kết hợp với biến thể dị hợp tử, mất 3 exon (exon 3, exon 4, exon 5). Một người bệnh (PKS88) bị biến thể dạng đồng hợp tử mất 3 exon (E3-E5) trên cả 2 allele. Tới nay, đã xác định một điểm rõ ràng là biến thể ở *PRKN* có liên quan đến việc xuất hiện sớm các triệu chứng vận động: giảm vận động, loạn trương lực, run, đáp ứng tốt với liều thấp của Levodopa lúc khởi phát, và sau đó là rối loạn vận động do Levodopa, cũng như chậm tiến triển của các triệu chứng tâm thần [164]. Các trường hợp mang biến thể trên gen *PRKN* trong nghiên cứu đều khởi phát khi tuổi còn rất trẻ (24, 26, 28, 30 và 31 tuổi), các đặc điểm lâm sàng đều phù hợp như các nghiên cứu trên là: 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

Nghiên cứu xác định được 21 người bệnh (21/97, 21,6%) mang biến thể gây bệnh trên các gen di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường bao gồm *SNCAIP*, *DNAJC13*, *EIF4G1*, *GBA*, *LRRK2*, *VPS35*, các gen này cũng đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây thuộc nhóm di truyền trội nhiễm sắc thể thường gây bệnh Parkinson [5], [52].

- **Gen *VPS35***

Cho đến nay, mới xác định được một biến thể (D620N) trong gen *VPS35* gây ra Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường, khởi phát muộn (51-52 tuổi) ở nhiều gia đình trên toàn thế giới với phổ lâm sàng và bệnh lý tương tự như Parkinson rải rác [15]. Các dạng đa hình khác trong gen *VPS35* đã được xác định bao gồm L774M, P316S, R524W, I241M, M57I,

G51S, R32S, I560T, H599R, M607V. Tuy nhiên, tất cả các biến thể này, ngoại trừ D620N, vẫn chưa thấy rõ được mối liên quan chặt chẽ với bệnh Parkinson [74]. Bên cạnh đó, biến thể D620N còn được xác định có mối liên quan với gen *LRRK2*, tuy nhiên cơ chế còn chưa thực sự rõ ràng. Pal P. và cộng sự (2023) nghiên cứu thấy rằng, biến thể *VPS35* (D620N) gây rối loạn lysosome và kích hoạt *LRRK2* trên bề mặt lysosomal, thúc đẩy quá trình lắp ráp phức hợp [75]. Kiểu hình của người bệnh mang biến thể này giống với bệnh Parkinson vô căn với độ tuổi trung bình khởi phát là 49 tuổi, đáp ứng với Levodopa và run chủ yếu [52]. Một nghiên cứu gần đây cho thấy rằng sự tiến triển của bệnh có thể chậm, với sự suy giảm nhận thức tối thiểu ngay cả sau hơn 10 năm khởi phát bệnh [165].

Nghiên cứu xác định được một người bệnh PKS48 mang biến thể di hợp tử c.T2035C (p.S679P) trên gen *VPS35*, sự thay thế Serine thành Proline ở axit amin 679 được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán. Đặc biệt, người bệnh này cũng mang biến thể gây bệnh c.G4883C (p.R1268P) trên gen *LRRK2*, điều này cho chúng ta thấy, liệu rằng, có thể có mối liên quan giữa các biến thể khác ngoài D620N với gen *LRRK2* không, điều này cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu sâu hơn. Người bệnh này cũng tương tự như kiểu hình của biến thể *VPS35* (D620N) với thời gian mang bệnh 6 năm, tiến triển bệnh chậm và không có biểu hiện suy giảm nhận thức, rối loạn trầm cảm và rối loạn khứu giác [165].

- **Gen *SNCAIP***

SNCAIP nằm trên nhiễm sắc thể 5q23.1-23.3, chứa 10 exon. Synphilin-1 là một protein được mã hóa bởi gen *SNCAIP* ở người, chức năng của nó vẫn chưa được hiểu đầy đủ. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy nó có liên quan đến bệnh Parkinson gia đình. Synphilin-1 là thành phần chính của thể Lewy được tìm thấy trong tế bào thần kinh ở vùng đặc liềm đen của người bệnh Parkinson [76]. Các nhà nghiên cứu suy đoán rằng, synphilin-1 thúc đẩy liên kết α -synuclein với màng túi tiếp hợp, một số nghiên cứu đã cho thấy mối liên

hệ giữa quá trình methyl hóa *SNCAIP* và nguy cơ mắc bệnh Parkinson, cụ thể, *SNCAIP* có thể có chức năng bảo vệ, hạn chế nguy cơ mắc bệnh Parkinson [77]. Một nghiên cứu ở Nam Phi (2011) trên 202 người bệnh Parkinson thấy rằng, có ba biến thể sai nghĩa mới (T383N, R606Q, N906H), một biến thể đã biết (E709Q) [78].

Trong nghiên cứu có 2 người bệnh mang biến thể dị hợp tử trên gen này PKS18 và PKS90. Người bệnh PKS18 mang biến thể c.A190T (p.T64S) và người bệnh PKS90 mang biến thể c.G181A (p.A61T). Các biến thể này đều được dự đoán gây bệnh trên các cơ sở dữ liệu. Hai người bệnh này đều không có tiền sử gia đình, tuổi khởi phát bệnh khá trẻ là 37 tuổi (PKS18) và 28 tuổi (PKS90), tiến triển bệnh chậm với thời gian mang bệnh của người bệnh PKS18 (10 năm, giai đoạn 2, MDS-UPDRS mức độ nhẹ) và PKS90 (6 năm, giai đoạn 2, MDS-UPDRS mức độ nhẹ), cả hai người bệnh đều có rối loạn trầm cảm nhưng chỉ có người bệnh PKS18 có suy giảm nhận thức và triệu chứng loạn động.

- **Gen *DNAJC13***

Gần đây, biến thể *DNAJC13* được cho là có liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson. Gen *DNAJC13* có thể mang các biến thể nguy cơ và biến thể nguyên nhân hiếm gặp [79]. Mặc dù biến thể *DNAJC13* được cho là nguyên nhân gây ra bệnh Parkinson, tuy nhiên các nghiên cứu tiếp theo đã báo cáo kết quả trái ngược nhau về mối liên quan này, một số ít biến thể được tìm thấy có khả năng gây bệnh như p.N855S, bên cạnh đó rất nhiều nghiên cứu hầu như mới chỉ dừng lại ở mối liên hệ của biến thể trên gen này làm tăng tính nhạy cảm với bệnh Parkinson, đòi hỏi các nghiên cứu sâu, rộng hơn [80], [81], [82].

Nghiên cứu có một người bệnh PKS102 mang 2 biến thể dị hợp tử trên 2 gen là c.A3400G (p.M1134V) trên gen *EIF4G1* và c.G4145A (p.R1382H) trên gen *DNAJC13*, các biến thể này đều được khẳng định gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng. Người bệnh PKS102 khởi phát bệnh lúc 34 tuổi,

tại thời điểm khám năm thứ 3 của bệnh với các triệu chứng vận động tiến triển chậm (MDS-UPDRS=13), không có biểu hiện suy giảm nhận thức, rối loạn trầm cảm và rối loạn khứu giác.

- **Gen *EIF4G1***

Biến thể trong gen 4-gamma (*EIF4G1*) là gen khởi tạo dịch mã nhân chuẩn, mã hóa một thành phần của phức hợp khởi tạo dịch mã eIF4F, gần đây đã được báo cáo là nguyên nhân có thể gây ra dạng bệnh Parkinson trội trên nhiễm sắc thể thường, đã được xác định ở nhóm người bệnh Parkinson rải rác và gia đình khởi phát muộn ở chủng người da trắng [83]. Biến thể trên gen *EIF4G1* đã được xác định ở một đại gia đình người Pháp bị bệnh Parkinson dạng di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường. Các biến thể này cũng được tìm thấy trên các gia đình bị bệnh người Mỹ, Canada, Ireland, Italia và Tunisia. Về mặt lâm sàng, những người bệnh bị biến thể gen thường khởi phát muộn với các triệu chứng chứng run không đối xứng, nhịp tim chậm, cứng đờ và đáp ứng tốt với điều trị Levodopa [84]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu ở các nước châu Á thì biến thể *EIF4G1* là nguyên nhân hiếm gặp gây ra bệnh Parkinson, một số nghiên cứu các quốc gia Trung Quốc, Nhật... chưa thấy được vai trò gây bệnh Parkinson của các biến thể gen này [84], [85], [86].

Nghiên cứu của chúng tôi có 4 người bệnh đã xác định được biến thể dị hợp tử trên gen *EIF4G1* (PKS21, PKS72, PKS95 và PKS102). Trong đó, 3 người bệnh PKS21, PKS72 và PKS102 mang cùng biến thể c.A3400G (p.M1134V). Riêng người bệnh PKS102 mang 2 biến thể dị hợp tử trên 2 gen, c.A3400G (p.M1134V) trên gen *EIF4G1* và c.G4145A (p.R1382H) trên gen *DNAJC13* và các biến thể này đều được khẳng định gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng. Người bệnh PKS95 mang biến thể sai nghĩa c.G1634A (p.R545Q), được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng, đồng thời người bệnh này cũng mang cả biến thể c.C725T (p.S242F) trên gen *INPP5F*, cũng được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng.

Như vậy, tỷ lệ người bệnh mang biến thể nguyên nhân trên gen *EIF4G1* trong nghiên cứu của chúng tôi là 4/97 (4%), tỷ lệ trên cao hơn các nghiên cứu khác ở dân số châu Á, điều này có thể do tính chủng tộc và nhóm nghiên cứu là những người bệnh Parkinson khởi phát trẻ hơn nên cho thấy tỷ lệ khác biệt.

Cả 4 người bệnh đều không có tiền sử gia đình bị bệnh Parkinson, tuổi khởi phát ≤ 40 tuổi, không có biểu hiện suy giảm nhận thức mặc dù người bệnh mang biến thể mới PKS95 bị bệnh được 18 năm. Đồng thời, người bệnh PKS95 cũng có triệu chứng loạn trương lực cổ và loạn động sau điều trị. Có 2/4 người bệnh (PKS72 và PKS95) có biểu hiện rối loạn khứu giác.

- **Gen *GBA***

Gen *GBA* nằm trên nhiễm sắc thể 1(1q21) và được tạo thành từ 11 exon. Gen *GBA* mã hóa enzyme lysosomal glucocerebrosidase (GCase), giúp duy trì cân bằng nội môi glycosphingolipid. Khoảng 5-15% người bệnh Parkinson có biến thể gen *GBA*, khiến nó trở thành yếu tố nguy cơ di truyền quan trọng nhất đối với bệnh Parkinson. Hơn 300 biến thể *GBA* gây bệnh đã được xác định. Về mặt lâm sàng, bệnh Parkinson liên quan đến *GBA* giống hệt với bệnh Parkinson rải rác, ngoại trừ độ tuổi khởi phát sớm hơn, suy giảm nhận thức thường xuyên hơn và tiến triển nhanh hơn [71].

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. Đây là biến thể điểm sai lệch quá trình cắt intron của phân tử mRNA. Biến thể này đã được khẳng định là nguyên nhân gây bệnh Parkinson trên cơ sở dữ liệu ClinVar. Biến thể này cũng đã được tìm thấy ở 2 người bệnh trong nghiên cứu của Thái Lan (2023) sử dụng NGS để kiểm tra mức độ phổ biến của các nguyên nhân đơn gen đã biết ở người bệnh

EOPD [166]. Cả bốn người bệnh đều khởi phát tuổi rất trẻ (dưới 35 tuổi), điều này phù hợp với các nhận định trước đây khi thấy rằng tuổi khởi phát của người bệnh mang biến thể *GBA* khởi phát trẻ hơn thường xuyên hơn và tiến triển nhanh hơn [71]. Tuy nhiên có một người bệnh PKS69 có tiền sử gia đình, bị bệnh 13 năm, có biểu hiện loạn trương lực cơ, loạn động sau điều trị, rối loạn khứu giác và rối loạn trầm cảm mức độ nặng nhưng không có suy giảm nhận thức. Ba người bệnh còn lại (PKS83, PKS92 và PKS98) đều không có tiền sử gia đình và phổ các triệu chứng tương tự nhau.

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.

- **Gen *LRRK2***

Biến thể trên gen (*LRRK2*) là nguyên nhân phổ biến dẫn đến bệnh Parkinson, chiếm ít nhất 4% trong số người bệnh Parkinson di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường khởi phát muộn, và xuất hiện khoảng 1% trong tổng số người bệnh Parkinson không di truyền [67], [68]. Mặc dù vậy, các biến thể trên gen này cũng có thể gây ra bệnh Parkinson ở độ tuổi trẻ hơn nhiều [167]. Trong một nghiên cứu với số lượng lớn ở Anh thấy rằng biến thể *LRRK2* (p.G2019S) phổ biến hơn ở người bệnh EOPD (2,2%) so với LOPD (0,4%) [108]. Tuy nhiên, *LRRK2* (p.G2019S) lại không được tìm thấy ở dân số châu Á [111]. Điều này cho thấy các bằng chứng về các biến thể hiếm gặp của các gen tuân theo Mendel ở bệnh Parkinson cũng có thể đóng vai trò trong bệnh

Parkinson rải rác và EOPD [168], [169], [170]. Ở dân số châu Á, nghiên cứu ở Hàn Quốc ở nhóm EOPD thấy rằng, *LRRK2* xuất hiện với các biến thể hiếm gặp phổ biến nhất [170]. Hay một nghiên cứu ở dân số Trung Quốc (2020) cũng thấy rằng có 4 biến thể hiếm gặp trong gen *LRRK2* được xác định có khả năng gây bệnh (1,7%) [111]. Nghiên cứu chúng tôi, số lượng người bệnh mang biến thể gây bệnh trên gen *LRRK2* là phổ biến nhất (9/97, 9,3%). Trong số này, bảy người bệnh mang cùng một biến thể c.G4883C (p.R1268P). Trên cơ sở dữ liệu 1000 genome biến thể này có tần số xuất hiện là 0,0063 còn trên cơ sở dữ liệu ExAC biến thể này có tần số là 0.0017. Biến thể c.G4883C nằm trong vùng rất bảo thủ của protein *LRRK2*. Sự thay đổi từ R->P làm thay đổi điện tích giữa *LRRK2* bình thường và loại bị biến thể. Biến thể này cũng đã được mô tả là có khả năng làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson [171]. Biến thể c.C1256T (p.A419V) được tìm thấy trên người bệnh PKS28. Biến thể này đã được khẳng định là làm tăng nguy cơ gây bệnh Parkinson [172]. Tương tự như vậy, biến thể c.C2264T (p.P755L) trên mẫu PKS31 cũng đã được khẳng định là có liên quan đến bệnh Parkinson [173]. Các biến thể này đều được khẳng định gây bệnh trên các công cụ tin sinh.

Về kiểu hình, theo các nghiên cứu, người bệnh bị biến thể trên gen *LRRK2* biểu hiện đầy đủ các đặc điểm lâm sàng với kiểu hình bao gồm cứng cơ, run, suy giảm nhận thức, mất trí nhớ vừa phải, giảm khứu giác, ảo giác, rối loạn giấc ngủ, hạ huyết áp thể đứng và phản ứng đáng kể với Levodopa [69]. Nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng, tuổi khởi phát bệnh của cả 9 người bệnh đều dưới 40, có 3/9 người bệnh có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson (PKS63, PKS64 và PKS73). Những người bệnh này có thời gian mang bệnh kéo dài từ 6 đến 17 năm đều có đầy đủ các triệu chứng vận động, trong đó có 6 người bệnh đã có biểu hiện loạn động sau điều trị nhưng chỉ có 3/9 người bệnh có biểu hiện trầm cảm và 3/9 người bệnh có triệu chứng rối loạn khứu giác, đặc biệt không có người bệnh nào có biểu hiện suy giảm nhận thức, đặc

điểm lâm sàng này cũng tương tự như nhận định người mang biến thể *LRRK2* ít có khả năng mắc các triệu chứng không liên quan đến vận động như suy giảm khứu giác, đặc điểm nhận thức và rối loạn giấc ngủ [174].

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

- **Gen *AMBRA1***

AMBRA1 là một protein tổng hợp được biểu hiện đặc biệt ở ty thể và biểu hiện của nó đã được chứng minh là gây ra hiện tượng giảm phân mạnh mẽ trong tế bào động vật có vú. Quan trọng nhất, yếu tố pro-autophagy *AMBRA1* đủ để khôi phục tình trạng nguyên bào sợi ở người bệnh Parkinson mang biến thể *PINK1* và *PARKIN*. Gen *AMBRA1* có thể có các đặc tính bảo vệ thần kinh với vai trò quan trọng trong việc hạn chế sự chết tế bào hệ Dopaminergic do ROS gây ra để ngăn ngừa bệnh Parkinson hoặc các bệnh thoái hóa thần kinh khác liên quan đến stress oxy hóa ty thể [89].

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 [90]. 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 [87]. Để xác định mức độ ảnh hưởng, nghiên cứu đã tạo ra chuột bị loại bỏ *PGAM5* (KO) từ tế bào gốc phôi nhắm 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 [87].

Năm 2022, tác giả 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 [88]. 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 [88].

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.

• **Gen *INPP5F***

Nhờ nghiên cứu liên kết trên toàn bộ gen, người ta đã xác định được gen mã hóa *Sac2/INPP5F*, một protein chứa miền *Sac* nằm trong vị trí nguy cơ gây bệnh Parkinson [91]. Nhưng cho đến nay, mối liên hệ này mới chỉ là giả thuyết, vai trò này thường được xác định cùng trong mối liên quan với các gen gây bệnh Parkinson khác (ví dụ: *SJ1/Park20*) và chủ yếu trên mô hình gây bệnh động vật [92].

Nghiên cứu đã xác định được 2 người bệnh mang biến thể trên gen *INPP5F*, trong đó người bệnh PKS104 mang biến thể c.A599C (p.E200A) được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* với CADD là 23,9 nhưng chưa được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC. Người bệnh PKS95 mang biến thể c.C725T (p.S242F) đã được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* với CADD là 27,4 và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC, đồng thời mang biến thể sai nghĩa c.G1634A (p.R545Q) di truyền trội trên gen *EIF4G1*, được dự đoán gây bệnh. Tuy nhiên, cả hai biến thể trên gen *INPP5F* ở hai người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền, điều này có thể do gen gây bệnh hiếm và các nghiên cứu phát hiện sự xuất hiện của gen này trên người bệnh Parkinson còn thiếu dữ liệu.

Trên lâm sàng, kiểu hình người bệnh PKS104 và PKS95 có thời gian mang bệnh lần lượt là 9 và 18 năm, giai đoạn bệnh tại thời điểm khám theo Hoehn và Yahr là 2 (PKS104) và 3 (PKS95) với thể bệnh ưu thế run

(PKS104) và ưu thế cứng (PKS95), trong đó người bệnh PKS95 có biểu hiện loạn động. Cả hai người bệnh đều không có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson, không có biểu hiện rối loạn trầm cảm và suy giảm nhận thức, nhưng đều có các triệu chứng rối loạn khứu giác, rối loạn chức năng sinh dục và bàng quang, đáp ứng điều trị tốt.

- **Gen *TMEM175***

TMEM175 thuộc họ protein xuyên màng (*TMEM*), là một thành phần của kênh K^+ lysosomal và sự thiếu hụt của nó dẫn đến suy giảm chức năng của lysosomal và ty thể [93], [94]. Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy cả hai biến thể hiếm và phổ biến của *TMEM175* đều có mối liên quan với bệnh Parkinson [95], [96].

Một nghiên cứu lớn của Trung Quốc (2022) sử dụng phương pháp phân tích 3879 người bệnh Parkinson (gồm dạng Parkinson rải rác và EOPD) nhằm xác định vai trò di truyền của 6 gen họ protein *TMEM* liên quan đến bệnh Parkinson trong đó có *TMEM175*. Kết quả đã xác định được một số biến thể sai nghĩa *TMEM175* hiếm gặp, nhưng không tìm thấy mối liên hệ nào giữa các gen này với bệnh Parkinson. Điều này được cho là vì các biến thể phổ biến khác nhau của *TMEM175* có thể có ảnh hưởng trái ngược đến tổn thương do stress và sự tích tụ α -synuclein gây ra trong tế bào thần kinh, làm phức tạp vai trò cụ thể của *TMEM175* trong bệnh Parkinson, điều đó có thể giải thích tại sao nghiên cứu không thể tìm thấy mối liên hệ giữa *TMEM175* với bệnh Parkinson ở cấp độ gen [97], [98].

Một nghiên cứu khác trên 400 người bệnh Parkinson ở Ý (2023) nhằm xác định các thể phổ biến và hiếm gặp trong gen *TMEM175* và mối liên quan của chúng với cơ chế bệnh sinh bệnh Parkinson bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới và các phân tích liên kết. Thấy rằng, *TMEM175* được biểu hiện cao ở các tế bào thần kinh hệ Dopaminergic của vùng liềm đen và trong các tế bào thần kinh đệm (microglia) của vỏ não người. Bốn biến thể phổ biến

có liên quan đến bệnh Parkinson, bao gồm hai biến thể mới rs2290402 (c-10C >T) và rs80114247 (c.T1022C, p.M341T), lần lượt nằm trong chuỗi đồng thuận Kozak và miền TM3II. Nghiên cứu phát hiện 13 biến thể bất lợi mới có tính xâm nhập cao trong gen *TMEM175* liên quan đến bệnh Parkinson. Ít nhất chín trong số các biến thể này (p.R35C, p.R183X, p.A270T, p.P308L, p.S348L, p.L405V, p.R414W, p.P427fs, p.R481W) có thể gây bệnh và sự hiện diện của biến thể gen có mối liên quan với tuổi khởi phát bệnh sớm hơn. Phân tích chức năng *In silico* của kênh ion được mã hóa bởi gen *TMEM175* bị biến thể cho thấy sự mất kênh K^+ và giảm ái lực đối với Akt. Hơn nữa, nghiên cứu đã quan sát thấy dòng phân giải protein tự thực/lysosomal bị suy yếu và sự biểu hiện ngày càng tăng của các dấu hiệu phản ứng protein chưa được mở ra trong các nguyên bào sợi có nguồn gốc từ người bệnh. Những dữ liệu này cho thấy biến thể gen *TMEM175* có thể góp phần vào sinh lý bệnh của bệnh Parkinson [99].

Trong nghiên cứu xác định được 3 người bệnh (PKS31, PKS34, PKS89) mang cùng một biến thể c.A526G (p.K176E) trên gen *TMEM175*, biến thể này đã được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *In silico* và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu 1000g và ExAC. Tuy nhiên, biến thể ở ba người bệnh này đều chưa xác định được kiểu di truyền. Trong đó, người bệnh PKS34 cũng được xác định mang biến thể nguyên nhân c.G4883C (p.R1268P) trên gen *LRRK2*.

Về đặc điểm lâm sàng, ba người bệnh đều có triệu chứng lúc khởi phát là run, không có tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson. Tại thời điểm khám, người bệnh PKS89 khởi bệnh năm đầu với thể bệnh ưu thế run, hai người bệnh còn lại là PKS31 và PKS34 có thời gian mắc bệnh lần lượt 11 năm và 8 năm đều thể bệnh ưu thế cứng cơ, đều có biểu hiện loạn động, rối loạn trầm cảm nhưng cả ba người bệnh đều không có biểu hiện suy giảm nhận thức.

- **Gen CCDC62**

Với sự phát triển của các phương pháp xét nghiệm gen thế hệ mới và các nghiên cứu liên kết toàn bộ gen đã xác định mối liên quan giữa gen *CCDC62* với bệnh Parkinson [100], [101]. Tiếp đó là nghiên cứu trên quy mô lớn người bệnh Parkinson đã báo cáo rằng *CCDC62* làm tăng nguy cơ mắc bệnh ở người châu Á (Hồng Kông, Nhật, Hàn Quốc) và người da trắng [102]. Biến thể của gen này đã được xác định trong các nghiên cứu là rs12817488. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào ở chủng tộc người Việt Nam phát hiện được biến thể gây bệnh Parkinson trên gen này.

Một người bệnh PKS78 mang biến thể gây bệnh trên gen *CCDC62* là c.G778A (p.R263K), biến thể được dự đoán gây bệnh trên các công cụ dự đoán chức năng *Insilico* và đã được công bố trên các cơ sở dữ liệu ExAC nhưng chưa được công bố trên cơ sở dữ liệu 1000g. Tuy nhiên, biến thể này chưa có dữ liệu về kiểu di truyền. Người bệnh này khởi phát bệnh 47 tuổi, không có tiền sử gia đình, với triệu chứng run, cứng cơ, giảm động. Tại thời điểm khám sau hai năm của bệnh đang ở giai đoạn 2 (Hoehn và Yahr), không có triệu chứng trầm cảm và rối loạn nhận thức nhưng có rối loạn chức năng sinh dục, rối loạn khứu giác và có hội chứng chân không yên.

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng của 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 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.
- + Nhóm mang biến thể gây bệnh 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.

HẠN CHẾ CỦA NGHIÊN CỨU

1. Nghiên cứu mô tả cắt ngang với cỡ mẫu nhỏ nên chưa đánh giá được đầy đủ, toàn diện triệu chứng ngoài vận động để lý giải mối liên quan giữa triệu chứng đau với rối loạn trầm cảm, tri giác và chức năng tình dục.

2. Bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có tỷ lệ di truyền theo quy luật Mendel, tuy nhiên nghiên cứu chưa thu thập được mẫu gia đình để xác định mô hình di truyền và tính chất phân ly kiểu gen – kiểu hình giữa các thế hệ do điều kiện hạn chế kinh phí, thời gian thực hiện cũng như khoảng cách địa lý.

KIẾN NGHỊ

Từ kết quả nghiên cứu của chúng tôi, chúng tôi có một số kiến nghị như sau:

1. Nên 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. Nên 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 thế hệ đồng thời luận giải tính chất gây bệnh của các biến thể di truyền.

DANH MỤC
CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ KẾT QUẢ CỦA 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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kalia L.V., Lang A.E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet.*, 386(9996): 896-912.
2. Tysnes O.B., Storstein A. (2017). Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*.124(8): 901-905.
3. Mehanna R., Jankovic J. (2019). Young-onset Parkinson's disease: Its unique features and their impact on quality of life. *Parkinsonism Relat Disord.*, 65: 39-48.
4. Lê Đức Hình (2001). *Bệnh Parkinson*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội: 108-114.
5. Jankovic J.E., Tan, E. K. (2020). Parkinson's disease: etiopathogenesis and treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*, 91(8): 795-808.
6. Nguyễn Thanh Bình (2023). *Bệnh Parkinson và các rối loạn vận động*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội: 46-66.
7. Postuma R.B., Aarsland D., Barone P., et al. (2012). Identifying prodromal Parkinson's disease: pre-motor disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord.*, 27(5): 617-26.
8. Tolosa E., Garrido A., Scholz S.W. (2021). Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 20(5): 385-397.
9. Mehanna R., Smilowska K., Fleisher J., et al. (2022). Age Cutoff for Early-Onset Parkinson's Disease: Recommendations from the International Parkinson and Movement Disorder Society Task Force on Early Onset Parkinson's Disease. *Mov Disord Clin Pract.* 9(7):869-878.
10. Tanner C.M., Ottman R., Goldman S.M., et al. (1999). Parkinson disease in twins: an etiologic study. *Jama.*, 281(4): 341-6.

11. Zeng X.S., Geng W.S., Jia J.J., et al. (2018). Cellular and Molecular Basis of Neurodegeneration in Parkinson Disease. *Front Aging Neurosci.*, 10:109.
12. Zhao Y., Qin L., Pan H., et al. (2020). The role of genetics in Parkinson's disease: a large cohort study in Chinese mainland population. *Brain.*, 143(7): 2220-2234.
13. Lim S.Y., Tan A.H., Ahmad-Annuar A., et al. (2019). Parkinson's disease in the Western Pacific Region. *Lancet Neurol.*, 18(9): 865-879.
14. Puschmann A. (2013). Monogenic Parkinson's disease and parkinsonism: clinical phenotypes and frequencies of known mutations. *Parkinsonism Relat Disord.*, 19(4): 407-15.
15. Williams, E.T., Chen X., Moore D.J. (2017). VPS35, the Retromer Complex and Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis.*, 7(2): 219-233.
16. Đặng Thị Huyền Thương, Nguyễn Mạnh Tuấn, Hà Lê Ngọc Uyên và cộng sự (2021). Triệu chứng đau ở bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm: tần suất, đặc điểm và các yếu tố liên quan. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.*, 25(2): 129-135.
17. Trần Ngọc Tài, Hà Lê Ngọc Uyên, Nguyễn Mạnh Tuấn và cộng sự (2021). The effect of Non-Motor symptoms on Health-Related quality of life in patients with young onset Parkinson's Disease: A single center Vietnamese Cross-Sectional study. *Clin Park Relat Disord.*, 5: 100118.
18. Lê Thị Thúy An, Nguyễn Trúc Dung, Trần Thanh Tú và cộng sự (2023). Đặc điểm vận động của bệnh nhân Parkinson khởi phát ở người trẻ: Nghiên cứu trên 100 trường hợp. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 527(1B).
19. Nhữ Đình Sơn (2003). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh Parkinson*. Luận án Tiến sĩ y học, Học viện Quân y.

20. Hồ Trường Giang, Nguyễn Đức Hiếu, Nguyễn Thị Hoài Thu và cộng sự (2017). Mutation analysis of DJ-1 gene in Vietnamese Parkinson's disease patients. *Viet Nam Journal of Biotechnology.*, 15(4): 617-623.
21. Tô Thị Thu Hương, Nguyễn Văn Liệu. (2021). Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và đột biến gen trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm. *Tạp chí Y học Việt Nam.*, 507(1): 247-250.
22. Đỗ Minh Đức, Trần Ngọc Tài, Lương Bắc An và cộng sự (2023). Clinical and genetic analysis of Vietnamese patients diagnosed with early-onset Parkinson's disease. *Brain Behav.*, 13(4): 2950.
23. Trần Tín Nghĩa, Trần Huy Thịnh, Nguyễn Hoàng Việt và cộng sự (2023). Xác định đột biến trên gen *SNCA*, *PARK2*, *PARK7* và *LRRK2* ở bệnh nhân Parkinson. *Tạp chí Nghiên cứu Y học.*, 160: 35-44.
24. Postuma R.B., Berg D., Stern M., et al. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.*, 30(12) : 1591-601.
25. Mehanna R., Moore S., Hou J.G., et al. (2014). Comparing clinical features of young onset, middle onset and late onset Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.*, 20(5): 530-4.
26. Magrinelli F., Picelli A., Tocco P., et al. (2016). Pathophysiology of Motor Dysfunction in Parkinson's Disease as the Rationale for Drug Treatment and Rehabilitation. *Parkinsons Dis.*, 2016: 9832839.
27. Mackenzie I.R. (2001). The pathology of Parkinson's disease. *British Columbia Medical Journal.*, 43(3):142-147.
28. Doty R.L. (2012). Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiol Dis.*, 46(3): 527-52.
29. Braak H., Del Tredici K., Rüb U., et al. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.*, 24(2): 197-211.

30. Branco D.M., Arduino D.M., Esteves A.R., et al. (2010). Cross-talk between mitochondria and proteasome in Parkinson's disease pathogenesis. *Front Aging Neurosci.*, 2: 17.
31. Nguyễn Văn Chương, Nhữ Đình Sơn (2016). *Thực hành lâm sàng thần kinh học, Bệnh học thần kinh*, xuất bản lần 2, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội: 188-215.
32. Hoàng Khánh (2013). Bệnh Parkinson. *Giáo trình sau đại học thần kinh học*, Nhà xuất bản Đại học Huế, Huế: 301-328.
33. Ross G.W., Petrovitch H., Abbott R.D., et al. (2008). Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. *Ann Neurol.*, 63(2): 167-73.
34. Ponsen M.M., Stoffers D., Booij J., et al. (2004). Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease. *Ann Neurol.*, 56(2): 173-81.
35. Tai Y.C., Lin C.H. (2020). An overview of pain in Parkinson's disease. *Clin Park Relat Disord.*, 2: 1-8.
36. Tinazzi, M., Del Vesco C., Fincati E., et al. (2006). Pain and motor complications in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 77(7): 822-5.
37. Beiske, A.G., Loge J.H., Rønningen A., et al. (2009). Pain in Parkinson's disease: Prevalence and characteristics. *Pain.*, 141(1-2): 173-7.
38. Rieu I., Degos B., Castelnovo G., et al. (2018). Incobotulinum toxin A in Parkinson's disease with foot dystonia: A double blind randomized trial. *Parkinsonism Relat Disord.* 46: 9-15.
39. Kurihara, K., Fujioka S., Kawazoe M., et al. (2021). Fluctuating pain in Parkinson's disease: Its prevalence and impact on quality of life. *NeurologicalSci.*, 25: 100371.

40. Hirsi, J.O., Yifru Y.M., Metaferia G.Z., et al. (2019). Prevalence of pain in patients with Parkinson's disease in Addis Ababa, Ethiopia. *Parkinsonism Relat Disord.*, 61: 214-218.
41. Sossi V., de la Fuente-Fernández R., Schulzer M., et al. (2006). Age-related differences in levodopa dynamics in Parkinson's: implications for motor complications. *Brain.*, 129(4): 1050-1058.
42. Pagano G., Ferrara N., Brooks D.J., et al. (2016). Age at onset and Parkinson disease phenotype. *Neurology.*, 86(15): 1400-1407.
43. Wickremaratchi M.M., Knipe M.D., Sastry B.S., et al. (2011). The motor phenotype of Parkinson's disease in relation to age at onset. *Mov Disord.*, 26(3): 457-63.
44. Kim R., Shin J.H., Park S., et al. (2020). Longitudinal evolution of non-motor symptoms according to age at onset in early Parkinson's disease. *J Neurol Sci.*, 418: 117157.
45. Willis A.W., Schootman M., Kung N., et al. (2013). Epidemiology and neuropsychiatric manifestations of Young Onset Parkinson's Disease in the United States. *Parkinsonism & Related Disorders.*, 19(2): 202-206.
46. Goetz, C.G., Tilley B.C., Shaftman S.R., et al. (2008). Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord.* 23(15): 2129-70.
47. Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Schapira A.H., et al. (2006). International multicenter pilot study of the first comprehensive self-completed nonmotor symptoms questionnaire for Parkinson's disease: the NMSQuest study. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society.*, 21(7): 916-923.

48. Wamelen D.J., P. Martinez-Martin., D. Weintraub., et al. (2021). The Non-Motor Symptoms Scale in Parkinson's disease: Validation and use. *Acta Neurol Scand.*, 143(1): 3-12.
49. Wu P.L., Lee M., Huang T.T. (2017). Effectiveness of physical activity on patients with depression and Parkinson's disease: A systematic review. *PLoS One.*, 12(7): e0181515.
50. Dubois B., Burn D., Goetz C., et al. (2007). Diagnostic procedures for Parkinson's disease dementia: recommendations from the movement disorder society task force., *Mov Disord.*, 22(16): 2314-24.
51. Chaudhuri K.R., Rizos A., Trenkwalder C., et al. (2015). King's Parkinson's disease pain scale, the first scale for pain in PD: An international validation. *Mov Disord.*, 30(12): 1623-31.
52. Jia, F., Fellner A., Kumar K.R. (2022). Monogenic Parkinson's Disease: Genotype, Phenotype, Pathophysiology, and Genetic Testing. *Genes (Basel)*.,13(3).
53. Karimi-Moghadam A., Charsouei S., Bell B., et al. (2018). Parkinson Disease from Mendelian Forms to Genetic Susceptibility: New Molecular Insights into the Neurodegeneration Process. *Cellular and Molecular Neurobiology.*, 38(6): 1153-1178.
54. Crosiers D., Ceulemans B., Meeus B., et al. (2011). Juvenile dystonia-parkinsonism and dementia caused by a novel *ATP13A2* frameshift mutation. *Parkinsonism Relat Disord.*, 17(2): 135-8.
55. Murphy K.E., Cottle L., Gysbers A.M., et al. (2013). *ATP13A2* (*PARK9*) protein levels are reduced in brain tissue of cases with Lewy bodies. *Acta Neuropathol Commun.*, 1(1): 11.
56. Tofaris G.K. (2012). Lysosome-dependent pathways as a unifying theme in Parkinson's disease. *Mov Disord.*, 27(11): 1364-9.
57. Kong S.M., Chan B.K., Park J.S., et al. (2014). Parkinson's disease-linked human *PARK9/ATP13A2* maintains zinc homeostasis and

promotes α -Synuclein externalization via exosomes. *Hum Mol Genet.*, 23(11): 2816-33.

58. Hozumi I., Hasegawa T., Honda A., et al. (2011). Patterns of levels of biological metals in CSF differ among neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci.*, 303(1-2): 95-9.
59. Tan J., Zhang T., Jiang L., et al. (2011). Regulation of intracellular manganese homeostasis by Kufor-Rakeb syndrome associated *ATP13A2* protein. *J Biol Chem.*, 286(34): 29654-62.
60. Guilarte T.R. (2010). Manganese and Parkinson's disease: a critical review and new findings. *Environ Health Perspect.*, 118(8): 1071-80.
61. Rentschler G., Covolo L., Haddad A.A., et al. (2012). *ATP13A2* (*PARK9*) polymorphisms influence the neurotoxic effects of manganese. *Neurotoxicology.*, 33(4): 697-702.
62. Lesage S., Drouet V., Majounie E., et al. (2016). Loss of *VPS13C* Function in Autosomal-Recessive Parkinsonism Causes Mitochondrial Dysfunction and Increases *PINK1/Parkin*-Dependent Mitophagy. *Am J Hum Genet.*, 98(3): 500-513.
63. Schreglmann S.R., Houlden H., (2016). *VPS13C*-Another Hint at Mitochondrial Dysfunction in Familial Parkinson's Disease. *Mov Disord.*, 31(9): 1340.
64. Hristova V.A., Beasley S.A., Rylett R.J., et al. (2009). Identification of a novel Zn^{2+} binding domain in the autosomal recessive juvenile Parkinson-related E3 ligase parkin. *J Biol Chem.*, 284(22): 14978-86.
65. Kasten M., Marras C., Klein C., (2017). Nonmotor Signs in Genetic Forms of Parkinson's Disease. *Int Rev Neurobiol.*, 133: 129-178.
66. Kasten M., Hartmann C., Hampf J., et al. (2018). Genotype-Phenotype Relations for the Parkinson's Disease Genes *Parkin*, *PINK1*, *DJ1*: MDSGene Systematic Review. *Mov Disord.*, 33(5): 730-741.

67. Healy D.G., Falchi M., O'Sullivan S.S., et al. (2008). Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of *LRRK2*-associated Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol.*, 7(7): 583-90.
68. Di Fonzo A., Rohé C.F., Ferreira J., et al. (2005). A frequent *LRRK2* gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *Lancet.*, 365(9457): 412-5.
69. Alcalay R.N., Mejia-Santana H., Tang M.X., et al. (2009). Motor phenotype of *LRRK2* G2019S carriers in early-onset Parkinson disease. *Arch Neurol.*, 66(12): 1517-22.
70. Funayama M., Hasegawa K., Ohta E., et al. (2005). An *LRRK2* mutation as a cause for the parkinsonism in the original *PARK8* family. *Ann Neurol.*, 57(6): 918-21.
71. Smith L.A., Schapira H.V. (2022). *GBA* Variants and Parkinson Disease: Mechanisms and Treatments. *Cells.*, 11(8).
72. Lin M.K., Farrer M.J. (2014). Genetics and genomics of Parkinson's disease. *Genome Med.*, 6(6): 48.
73. Hruska K.S., LaMarca M.E., Scott C.R., et al. (2008). Gaucher disease: mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (*GBA*). *Hum Mutat.*, 29(5): 567-83.
74. Rahman A.A., Morrison B.E. (2019). Contributions of *VPS35* Mutations to Parkinson's Disease. *Neuroscience.*, 401: 1-10.
75. Pal P., Taylor M., Lam P.Y., et al. (2023). Parkinson's *VPS35*[D620N] mutation induces *LRRK2*-mediated lysosomal association of *RILPL1* and *TMEM55B*. *Sci Adv.*, 9(50): eadj1205.
76. Carvajal-Oliveros A., Dominguez-Baleón C., Sánchez-Díaz I., et al. (2023). Parkinsonian phenotypes induced by Synphilin-1 expression are differentially contributed by serotonergic and dopaminergic circuits and suppressed by nicotine treatment. *PLoS One.*, 18(3): e0282348.
77. Dashtipour K., Tafreshi A., Adler C., et al. (2017). Hypermethylation of Synphilin-1, Alpha-Synuclein-Interacting Protein (*SNCAIP*) Gene in

the Cerebral Cortex of Patients with Sporadic Parkinson's Disease. *Brain Sci.*, 7(7).

78. Keyser R.J., Oppon E., Carr J.A., Bardien S. (2011). Identification of Parkinson's disease candidate genes using CAESAR and screening of *MAPT* and *SNCAIP* in South African Parkinson's disease patients. *J Neural Transm (Vienna)*., 118(6): 889-97.
79. Ross J.P., Dupre N., Dauvilliers Y., et al. (2016). Analysis of *DNAJC13* mutations in French-Canadian/French cohort of Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.*, 45: 212.e13-212.e17.
80. Yoshida S., Hasegawa T., Suzuki M., et al. (2018). Parkinson's disease-linked *DNAJC13* mutation aggravates alpha-synuclein induced neurotoxicity through perturbation of endosomal trafficking. *Hum Mol Genet.*, 27(5): 823-836.
81. Gustavsson E.K., Trinh J., Guella I., et al. (2015). *DNAJC13* genetic variants in parkinsonism. *Mov Disord.*, 30(2): 273-8.
82. Vilariño-Güell C., Rajput A., Milnerwood A.J., et al. (2014). *DNAJC13* mutations in Parkinson disease. *Hum Mol Genet.*, 23(7): 1794-801.
83. Chen Y., Chen K., Song W., et al. (2013). *VPS35* Asp620Asn and *EIF4G1* Arg1205His mutations are rare in Parkinson disease from southwest China. *Neurobiol Aging.*, 34(6): 1709.e7-8.
84. Chartier-Harlin M.C., Dachsel J.C., Vilariño-Güell C., et al. (2011). Translation initiator *EIF4G1* mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet.*, 89(3): 398-406.
85. Zhao Y., Ho P., Prakash K.M., et al. (2013). Analysis of *EIF4G1* in Parkinson's disease among Asians. *Neurobiol Aging.*, 34(4):1311.e5-6.
86. Nishioka K., Funayama M., Vilariño-Güell C., et al., (2014). *EIF4G1* gene mutations are not a common cause of Parkinson's disease in the Japanese population. *Parkinsonism Relat Disord.*, 20(6): 659-61.

87. Lu W., Karuppagounder S.S., Springer D.A., et al. (2014). Genetic deficiency of the mitochondrial protein *PGAM5* causes a Parkinson's-like movement disorder. *Nat Commun.*, 5: 4930.
88. Feng L., He H., Xiong X., et al. (2022). Plasma-derived phosphoglycerate mutase 5 as a biomarker for Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci.*, 14: 1022274.
89. Di Rita A., D'Acunzo P., Simula L., et al. (2018). *AMBRA1*-Mediated Mitophagy Counteracts Oxidative Stress and Apoptosis Induced by Neurotoxicity in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Front Cell Neurosci.*, 12: 92.
90. Di Rienzo M., Romagnoli A., Ciccocanti F., et al. (2022). *AMBRA1* regulates mitophagy by interacting with ATAD3A and promoting *PINK1* stability. *Autophagy.*, 18(8): 1752-1762.
91. Nalls M.A., Pankratz N., Lill C.M., et al. (2014). Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet.*, 46(9): 989-93.
92. Cao M., Park D., Wu Y., et al. (2020). Absence of *Sac2/INPP5F* enhances the phenotype of a Parkinson's disease mutation of synaptojanin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 117(22): 12428-12434.
93. Jinn S., Drolet R.E, Cramer P.E, et al. (2017). *TMEM175* deficiency impairs lysosomal and mitochondrial function and increases α -synuclein aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 114(9): 2389-2394.
94. Pergel E., Veres I., Csigi G.I., et al. (2021). Translocation of *TMEM175* Lysosomal Potassium Channel to the Plasma Membrane by Dynasore Compounds. *Int J Mol Sci.*, 22(19).
95. Hopfner F., Mueller S.H., Szymczak S., et al. (2020). Rare Variants in Specific Lysosomal Genes Are Associated With Parkinson's Disease. *Mov Disord.*, 35(7): 1245-1248.

96. Rudakou U., Yu E., Krohn L., et al. (2021). Targeted sequencing of Parkinson's disease loci genes highlights *SYT11*, *FGF20* and other associations. *Brain.*, 144(2): 462-472.
97. Wie J., Liu Z., Song H., et al. (2021). Author Correction: A growth-factor-activated lysosomal K(+) channel regulates Parkinson's pathology. *Nature.*, 592(7855): E10.
98. Zhao Y., Zhang K., Pan H., et al. (2022). Genetic Analysis of Six Transmembrane Protein Family Genes in Parkinson's Disease in a Large Chinese Cohort. *Front Aging Neurosci.*, 14: 889057.
99. Palomba N.P., Fortunato G., Pepe G., et al. (2023). Common and Rare Variants in *TMEM175* Gene Concur to the Pathogenesis of Parkinson's Disease in Italian Patients. *Mol Neurobiol.*, 60(4): 2150-2173.
100. Nalls M.A., Plagnol V., Hernandez D.G., et al. (2011). Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta analysis of genome-wide association studies. *Lancet.*, 377(9766): 641-9.
101. Li N.N., Tan E.K., Chang X.L., et al. (2013). Genetic association study between *STK39* and *CCDC62/HIP1R* and Parkinson's disease. *PLoS One.*, 8(11): e79211.
102. Sharma M., Ioannidis J.P., Aasly J.O., et al. (2012). Large-scale replication and heterogeneity in Parkinson disease genetic loci. *Neurology.*, 79(7): 659-67.
103. Marwaha S., Knowles J.W., Ashley E.A. (2022). A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome. *Genome Med.*, 14(1): 23.
104. Fernandez-Marmiesse A., Gouveia S., Couce M.L. (2018). NGS Technologies as a Turning Point in Rare Disease Research , Diagnosis and Treatment. *Curr Med Chem.*, 25(3): 404-432.

105. Ferguson L.W., Rajput A.H., Rajput A. (2016). Early-onset vs. Late-onset Parkinson's disease: A Clinical-pathological Study. *Can J Neurol Sci.*, 43(1): 113-9.
106. Kasamo S., Takeuchi M., Ikuno M., et al. (2019). Real-world pharmacological treatment patterns of patients with young-onset Parkinson's disease in Japan: a medical claims database analysis. *J Neurol.*, 266(8): 1944-1952.
107. Schirinzi T., Di Lazzaro G., Sancesario G.M., et al., (2020). Young-onset and late-onset Parkinson's disease exhibit a different profile of fluid biomarkers and clinical features. *Neurobiol Aging.*, 90: 119-124.
108. Tan M.M.X., Malek N., Lawton M.A., et al. (2019). Genetic analysis of Mendelian mutations in a large UK population-based Parkinson's disease study. *Brain.*, 142(9): 2828-2844.
109. Youn J., Lee C., Oh E., et al. (2019). Genetic variants of *PARK* genes in Korean patients with early-onset Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.*, 75: 224.e9-224.e15.
110. Cristina T.P., Pablo M., Teresa P.M., et al. (2020). A genetic analysis of a Spanish population with early onset Parkinson's disease. *PLoS One.*, 15(9): e0238098.
111. Li N., Wang L., Zhang J., et al. (2020). Whole-exome sequencing in early-onset Parkinson's disease among ethnic Chinese. *Neurobiol Aging.*, 90: 150.e5-150.e11.
112. Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Brown R.G., et al. (2007). The metric properties of a novel non-motor symptoms scale for Parkinson's disease: Results from an international pilot study. *Mov Disord.*, 22(13): 1901-11.
113. Eggers C., Kahraman D., Fink G.R., et al. (2011). Akinetic-rigid and tremor-dominant Parkinson's disease patients show different patterns of FP-CIT single photon emission computed tomography. *Mov Disord.*, 26(3): 416-23.

114. Li, H., Durbin R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics.*, 25(14): 1754-1760.
115. Wang, K., Li M., Hakonarson H. (2010). ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.*, 38(16): e164.
116. Sim N.L., Kumar P., Hu J., et al. (2012). SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Res.*, 40: W452-7.
117. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., et al. (2010). A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.*, 7(4): 248-9.
118. Schwarz J.M., Cooper D.N., Schuelke M., et al. (2014). MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods.*, 11(4): 361-2.
119. Venselaar H., Te Beek T.A., Kuipers R.K., et al. (2010). Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics.*, 11: 548.
120. Auton A., Brooks L.D., Durbin R.M., et al. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature.*, 526(7571): 68-74.
121. Lek M., Karczewski K.J., Minikel E.V., et al. (2016). Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.*, 536(7616): 285-91.
122. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., et al. (2017). The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet.*, 136(6): 665-677.
123. Hori N., Newton R.U., Kawamori N., et al. (2009). Reliability of performance measurements derived from ground reaction force data

during countermovement jump and the influence of sampling frequency. *J Strength Cond Res.*, 23(3): 874-82.

124. Lücking C.B., Dürr A., Bonifati V., et al. (2000). Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med.*, 342(21): 1560-7.
125. Periquet M., Latouche M., Lohmann E., et al. (2003). Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain.*, 126 (Pt 6): 1271-8.
126. Schrag A., Ben-Shlomo Y., Brown R., et al. (1998). Young-onset Parkinson's disease revisited--clinical features, natural history, and mortality. *Mov Disord.*, 13(6): 885-94.
127. Hustad E., Myklebust T., Gulati S., et al. (2021). Increased Mortality in Young-Onset Parkinson's Disease. *J Mov Disord.*, 14(3): 214-220.
128. De Carolis L., Galli S., Bianchini E., et al. (2023). Age at Onset Influences Progression of Motor and Non-Motor Symptoms during the Early Stage of Parkinson's Disease: A Monocentric Retrospective Study. *Brain Sci.*, 13(2).
129. Zhao Y.J., Wee H.L., Chan Y.H., et al. (2010). Progression of Parkinson's disease as evaluated by Hoehn and Yahr stage transition times. *Mov Disord.*, 25(6): 710-6.
130. Bovenzi R., Conti M., Degoli G.R., et al. (2023). Shaping the course of early-onset Parkinson's disease: insights from a longitudinal cohort. *Neurol Sci.*, 44(9): 3151-3159.
131. Ba F., Obaid M., Wieler M., et al. (2016). Parkinson Disease: The Relationship Between Non-motor Symptoms and Motor Phenotype. *Can J Neurol Sci.*, 43(2): 261-7.
132. Spica V., Pekmezović T., Svetel M., et al. (2013). Prevalence of non-motor symptoms in young-onset versus late-onset Parkinson's disease. *J Neurol.*, 260(1): 131-7.

133. Zhou M.Z., Gan J., Wei Y.R., et al. (2013). The association between non-motor symptoms in Parkinson's disease and age at onset. *Clin Neurol Neurosurg.*, 115(10): 2103-7.
134. Kim H.J., Kim H.J., Lee J.Y., et al. (2011). Phenotype analysis in patients with early onset Parkinson's disease with and without parkin mutations. *J Neurol.*, 258(12): 2260-7.
135. Durcan R., Wiblin L., Lawson R.A, et al. (2019). Prevalence and duration of non-motor symptoms in prodromal Parkinson's disease. *Eur J Neurol.*, 26(7): 979-985.
136. Deng X., Xiao B., Li H.H., et al. (2015). Sexual dysfunction is associated with postural instability gait difficulty subtype of Parkinson's disease. *J Neurol.*, 262(11): 2433-9.
137. Buhmann C., Kassubek J., Jost W.H. (2020). Management of Pain in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis.*, 10(s1): S37-s48.
138. Allen N.E., Wong C.M., Canning C.G., et al. (2016). The Association Between Parkinson's Disease Motor Impairments and Pain. *Pain Med.*, 17(3): 456-462.
139. Ghosh P., Imbriani P., Caputi N., et al. (2020). A Dual Centre Study of Pain in Parkinson's Disease and Its Relationship with Other Non-Motor Symptoms. *J Parkinsons Dis.*, 10(4): 1817-1825.
140. Silverdale M.A., Kobylecki C., Kass-Iliyya L., et al. (2018). A detailed clinical study of pain in 1957 participants with early/moderate Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.*, 56: 27-32.
141. Buhmann C., Wrobel N., Grashorn W., et al. (2017). Pain in Parkinson disease: a cross-sectional survey of its prevalence, specifics, and therapy. *J Neurol.*, 264(4): 758-769.
142. Mao C.J., Chen J.P., Zhang X.Y., et al. (2015). Parkinson's disease patients with pain suffer from more severe non-motor symptoms. *Neurol Sci.*, 36(2): 263-8.

143. Behari M., Srivastava A., Ahtani R., et al. (2020). Pain Assessment in Indian Parkinson's Disease Patients Using King's Parkinson's Disease Pain Scale. *Ann Indian Acad Neurol.*, 23(6): 774-780.
144. Agrawal A.K., Anand K.S., Juneja A., et al. (2021). Predictors of Pain Severity and its Impact on Quality of Life in Patients with Parkinson's Disease. *Neurol India.*, 69(4): 979-983.
145. Yoritaka A., Shimo Y., Takanashi M., et al. (2013). Motor and non-motor symptoms of 1453 patients with Parkinson's disease: prevalence and risks. *Parkinsonism Relat Disord.*, 19(8): 725-31.
146. Rodríguez-Violante M., Alvarado-Bolaños A., Cervantes-Arriaga A., et al. (2017). Clinical Determinants of Parkinson's Disease-associated Pain Using the King's Parkinson's Disease Pain Scale. *Mov Disord Clin Pract.*, 4(4): 545-551.
147. Fu Y.T., Mao C.J., Ma L.J, et al. (2018). Pain Correlates with Sleep Disturbances in Parkinson's Disease Patients. *Pain Pract.*, 18(1): 29-37.
148. Kim Y.E., H.J. Kim., J.Y. Yun., et al. (2018). Musculoskeletal Problems Affect the Quality of Life of Patients with Parkinson's Disease. *J Mov Disord.*, 11(3): 133-138.
149. Li J., Zhu B.F., Gu Z.Q, et al. (2021). Musculoskeletal Pain in Parkinson's Disease. *Front Neurol.*, 12: 756538.
150. Joseph C., Jonsson-Lecapre J., Wicksell R., et al. (2019). Pain in persons with mild-moderate Parkinson's disease: a cross-sectional study of pain severity and associated factors. *Int J Rehabil Res.*, 42(4): 371-376.
151. Valkovic P., Minar M., Singliarova H., et al. (2015). Pain in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study of Its Prevalence, Types, and Relationship to Depression and Quality of Life. *PLoS One.*, 10(8): e0136541.

152. Rana A.Q., Qureshi A.R.M., Rahman N., et al. (2017). Disability from pain directly correlated with depression in Parkinson's disease. *Clin Neurol Neurosurg.*, 160: 1-4.
153. Broen M.P., Braaksma M.M., Patijn J., et al. (2012). Prevalence of pain in Parkinson's disease: a systematic review using the modified QUADAS tool. *Mov Disord.*, 27(4): 480-4.
154. Simon D.K., Tanner C.M., Brundin P. (2020). Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med.*, 36(1): 1-12.
155. Gamal-Eltrabily M., Manzano-García A. (2018). Role of central oxytocin and dopamine systems in nociception and their possible interactions: suggested hypotheses. *Rev Neurosc.*, 29(4): 377-386.
156. Poisbeau P., Grinevich V., Charlet A. (2018). Oxytocin Signaling in Pain: Cellular, Circuit, System, and Behavioral Levels. *Curr Top Behav Neurosci.*, 35: 193-211.
157. Okun M.S., Crucian G.P., Fischer L., et al. (2004). Testosterone deficiency in a Parkinson's disease clinic: results of a survey. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*, 75(1): 165-6.
158. Picillo M., Palladino R., Erro R., et al. (2019). The PRIAMO study: active sexual life is associated with better motor and non-motor outcomes in men with early Parkinson's disease. *Eur J Neurol.*, 26(10): 1327-1333.
159. Defazio G., Antonini A., Tinazzi M., et al. (2017). Relationship between pain and motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol.*, 24(7): 974-980.
160. Alcalay R.N., Caccappolo E., Mejia-Santana H., et al. (2010). Frequency of known mutations in early-onset Parkinson disease: implication for genetic counseling: the consortium on risk for early onset Parkinson disease study. *Arch Neurol.*, 67(9): 1116-22.

161. Hua P., Zhao Y., Zeng Q., et al. (2022). Genetic Analysis of Patients With Early-Onset Parkinson's Disease in Eastern China. *Front Aging Neurosci.*, 14: 849462.
162. Blauwendraat C., Nalls M.A., Singleton A.B. (2020). The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.*, 19(2): 170-178.
163. Yemni E.A., Moniesc D., Alkhairallah T., et al. (2003). Integrated Analysis of Whole Exome Sequencing and Copy Number Evaluation in Parkinson's Disease. *Scientific Reports.*, 9(1): 3344.
164. Thobois S., Ribeiro M.J., Lohmann E., et al. (2003). Young-onset Parkinson disease with and without parkin gene mutations: a fluorodopa F 18 positron emission tomography study. *Arch Neurol.*, 60(5): 713-8.
165. Ishiguro M., Li Y., Yoshino H., et al. (2021). Clinical manifestations of Parkinson's disease harboring VPS35 retromer complex component p.D620N with long-term follow-up. *Parkinsonism Relat Disord.*, 84: 139-143.
166. Thanprasertsuk S., Phowthongkum P., Hopetrungraung T., et al. (2023). Levodopa-induced dyskinesia in early-onset Parkinson's disease (EOPD) associates with glucocerebrosidase mutation: A next-generation sequencing study in EOPD patients in Thailand. *PLoS One.*, 18(10): e0293516.
167. Trinh J., Zeldenrust F.M.J., Huang J., et al. (2018). Genotype-phenotype relations for the Parkinson's disease genes SNCA, LRRK2, VPS35: MDSGene systematic review. *Mov Disord.*, 33(12): 1857-1870.
168. Spataro N., Calafell F., Cervera-Carles L., et al. (2014). Mendelian genes for Parkinson's disease contribute to the sporadic forms of the disease. *Human Molecular Genetics*, 24(7): 2023-2034.
169. Yang N., Zhao Y., Liu Z., et al. (2019). Systematically analyzing rare variants of autosomal-dominant genes for sporadic Parkinson's disease in a Chinese cohort., 76: 215. e1-215. e7.

170. Youn J., Lee C., Oh E., et al. (2019). Genetic variants of *PARK* genes in Korean patients with early-onset Parkinson's disease. 75: 224. e9-224. e15.
171. Lu, C.S., Wu-Chou Y.H., Van Doeselaar M., et al. (2008). The *LRRK2* Arg1628Pro variant is a risk factor for Parkinson's disease in the Chinese population. 9: 271-276.
172. Heckman, M.G., Soto-Ortolaza A.I., Aasly J.O., et al. (2013). Population-specific frequencies for *LRRK2* susceptibility variants in the Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease (GEO-PD) Consortium. *Mov Disord.* 28(12):1740-4.
173. Tomiyama, H., Mizuta I., Li Y., et al. (2008). *LRRK2* P755L variant in sporadic Parkinson's disease. 53(11): 1012-1015.
174. Kestenbaum M., Alcalay R.N.. (2017). Clinical Features of *LRRK2* Carriers with Parkinson's Disease. *Adv Neurobiol.*, 14: 31-48.

Phụ lục 1

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Đề tài “Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và biến đổi gen ở bệnh nhân

Parkinson khởi phát sớm”

Số BA:

SNC:

Địa chỉ thu thập số liệu:.....

1. Thông tin chung của bệnh nhân

- Họ tên:.....SĐT.....
- Địa chỉ liên hệ:.....
- Ngày vào viện (hoặc đến khám ngoại trú).....
- Ngày ra viện.....
- Tuổi khi khám bệnh:.....
- Nhóm tuổi:
- | | | |
|------------|------------|---------|
| 1. < 40 | 4. 60 – 69 | 5. ≥ 70 |
| 2. 40 - 49 | 3. 50 - 59 | |
- Tuổi khởi phát bệnh:.....
- Giới : 1. Nam 2. Nữ
- Lao động: 1. Chân tay 2. Trí óc
- Trình độ văn hóa :
- | | |
|----------|------------------------|
| 1. Cấp 1 | 4. Trung học, cao đẳng |
| 2. Cấp 2 | 5. Đại học |
| 3. Cấp 3 | 6. Trên ĐH |

2. Tiền sử

* Bản thân

1. CTSN 3. Bệnh lý MM não.....
2. Viêm não 4. Tiếp xúc chất độc.....
5. Khác:.....

* Gia đình: Ông bà, bố mẹ, anh chị em ruột hoặc họ hàng trong vòng 3 thế hệ mắc bệnh Parkinson

1. Có

2. Không

- Mắc bệnh di truyền hệ TKTW khác

3. Lâm sàng

- Thời gian mắc bệnh (.....năm)

3.1 Triệu chứng lúc khởi phát

Rối loạn vận động:

+ Run: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Giảm vận động: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Đơ cứng: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Rối loạn tư thế:.....

+ Dystonia (Loạn trương lực cơ).....

+ Triệu chứng khác:.....

Tiến triển của bệnh: Nhanh.....

Chậm.....

3.2 Các triệu chứng tại thời điểm khám

a. Rối loạn vận động:

+ Run: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Giảm vận động: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Đơ cứng: Vị trí.....

Đặc điểm.....

+ Rối loạn tư thế:.....

+ Dystonia (Loạn trương lực cơ).....

+ Triệu chứng khác:.....

+ *Mức độ rối loạn vận động theo Hoehn và Yahr*

+Giai đoạn 1

+Giai đoạn 2

+ Giai đoạn 3

+ Giai đoạn 4

+ Giai đoạn 5

+*Mức độ RLVĐ theo UPDRS*

[1] . Nhẹ

[2] .Trung bình

[3] . Nặng

[4] . Rất nặng

b. Rối loạn ngoài vận động:

- Thời gian xuất hiện so với triệu chứng khởi phát (triệu chứng rối loạn vận động):

+Trước khi có triệu chứng khởi phát.....(....tháng.....năm)

+Sau khi có triệu chứng khởi phát.....(.....tháng.....năm)

+ Trầm cảm: 1. Có 2. Không . Mức độ.....(*Theo thang BDI*)

+ Rối loạn nhận thức: 1. Có 2. Không . Mức độ.....(*Theo thang MMSE*)

+ Hoang tưởng: 1.Có 2. Không

+ Ảo giác: 1. Có 2. Không

+ Đau: 1. Có 2. Không Điểm....(*Theo thang điểm đau KPPS*)

+ Hội chứng chân không yên: 1. Có 1. Không

* *Rối loạn thần kinh tự chủ*

- Tăng tiết mồ hôi : 1. Có 2. Không

- Táo bón : 1. Có 2. Không

- Hạ huyết áp tư thế (có tiêu chuẩn): 1. Có 2. Không

HA khi nằm:mmHg

HA khi đứng:.....mmHg

-Nhịp tim :

- RL chức năng bàng quang: 1. Có 2. Không

- Rối loạn chức năng sinh dục: 1. Có 2. Không

- Rối loạn khứu giác: 1. Có 2. Không

- Các triệu chứng khác:.....

- *Phản xạ thân não:*

+ Phản xạ từ miệng : 1. Có 2. Không

+ Phản xạ da gan tay cầm: 1. Có 2. Không

- Rối loạn thăng bằng 1. Có 2. Không

- *Mức độ triệu chứng rối loạn ngoài vận động theo thang điểm NMSS:.....*

4.Điều trị:.

1. Chưa điều trị gì

2. Đang điều trị bằng thuốc:

+ Kháng cholinergic: [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Đồng vận Dopamin : [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Levodopa [1]. Có (.....) [2]. Không

+Ức chế men hủy Dopamin: [1]. Có (.....) [2]. Không

3. Thuốc lần đầu điều trị

+ Kháng cholinergic: [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Đồng vận Dopamin : [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Levodopa [1]. Có (.....) [2]. Không

+Ức chế men hủy Dopamin: [1]. Có (.....) [2]. Không

4. Đáp ứng điều trị

+ Kháng cholin: [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Đồng vận Dopamin : [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Levodopa [1]. Có (.....) [2]. Không

+Ức chế men hủy Dopamin: [1]. Có (.....) [2]. Không

5. Tác dụng phụ

+ Kháng cholin: [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Đồng vận Dopamin : [1]. Có (.....) [2]. Không

+ Levodopa [1]. Có (.....) [2]. Không

+Ức chế men hủy Dopamin: [1]. Có (.....) [2]. Không

Tác dụng phụ:.....

6. Chẩn đoán xác định bệnh Parkinson : 1. Có 2. Không

7. Chẩn đoán giai đoạn bệnh : Theo Hoehn và Yahr

- | | | |
|---------|---------|---------|
| 1. GĐ 1 | 3. GĐ 3 | 5. GĐ 5 |
| 2. GĐ 2 | 4. GĐ 4 | |

8. Chẩn đoán mức độ bệnh: theo thang điểm UPDRS mục rối loạn vận động

1. Nhẹ
2. Trung bình
3. Nặng
4. Rất nặng

9. Bệnh kèm theo:.....

10. Kết quả xét nghiệm gen:.....

....., ngày tháng năm 20

Bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Nghiên cứu viên

Xác nhận của bác sỹ Khoa Thần kinh

Ths. Bs Hoàng Thị Dung

Phụ lục 2
TIÊU CHUẨN CHẨN ĐOÁN BỆNH PARKINSON
(MDS -2015)

STT	Tiêu chuẩn chẩn đoán	Có	Không
<i>Tiêu chuẩn cần (2 tiêu chí sau trong đó có chậm cử động)</i>			
1	Giảm vận động		
2	Run lúc nghỉ		
3	Cứng đơ		
<i>Tiêu chuẩn hỗ trợ</i>			
1	Có hiệu quả rõ ràng và ngoạn mục với thuốc dopaminergic. Trong giai đoạn khởi đầu, người bệnh có thể phục hồi chức năng bình thường hoặc gần bình thường. Trong trường hợp không ghi nhận được đáp ứng khởi đầu rõ ràng, đáp ứng ngoạn mục có thể được xác định như sau: - Cải thiện đáng kể với tăng liều và xấu đáng kể với giảm liều. Không xem xét trường hợp cải thiện nhẹ. Ghi nhận điều này khách quan (cải thiện > 30% điểm UPDRS) hoặc chủ quan (bệnh sử rõ ràng từ bệnh nhân hoặc người nuôi xác nhận cải thiện đáng kể). - Dao động vận động bật/tắt rõ ràng, nhưng phải có dấu hiệu tắt dần cuối liều có thể đoán được.		
2	Có loạn động do levodopa		

3	Run khi nghỉ ở một chi được xác định khi khám (trước đây hoặc hiện tại)		
4	Hiện diện mất mùi hoặc mất phân bố giao cảm tim trên nhấp nháy đồ MIBG (Xạ hình tim bằng ^{123}I -metaiodobenzyl guanidine)		
Tiêu chuẩn loại trừ tuyệt đối (chỉ cần một là loại trừ chẩn đoán)			
1	Bất thường tiểu não rõ ràng như dáng đi tiểu não, thất điều chi, bất thường vận nhãn tiểu não như nystagmus theo hướng kéo dài, giật sóng vuông vuông lớn, liếc nhanh (saccade) quá tầm. Đột quỵ nhiều lần đi kèm với một hội chứng Parkinson nặng dần.		
2	Liệt chức năng nhìn xuống trên nhãn, hoặc chậm ở động tác liếc nhanh (saccadic) khi nhìn xuống.		
3	Được chẩn đoán (nhiều khả năng hay rất có thể) là sa sút trí tuệ trán thái dương biến thể rối loạn hành vi hoặc mất ngôn ngữ tiến triển nguyên phát theo tiêu chuẩn đồng thuận trong vòng 5 -7 năm đầu của bệnh.		
4	Các triệu chứng Parkinson chỉ ở hai chi dưới hơn 3 năm.		
5	Điều trị thuốc ức chế dopamine hoặc thuốc hủy dopamine với liều và thời gian đủ gây hội chứng Parkinson do thuốc.		
6	Kém đáp ứng với liều cao levodopa mặc dù độ nặng của bệnh ít nhất ở mức trung bình.		

7	Mất cảm giác vỏ não rõ ràng (mất nhận thức hình khối, mất cảm giác phân biệt hai điểm trên da), mất thực dụng ý tưởng vận động chi thể rõ rệt, mất ngôn ngữ tiến triển.		
8	Hình ảnh học chức năng hệ dopaminergic tiền synapse bình thường.		
9	Có nguyên nhân khác phù hợp với hội chứng Parkinson của bệnh nhân, hoặc theo đánh giá chẩn đoán đầy đủ của chuyên gia là khả năng do nguyên nhân khác hơn là bệnh Parkinson.		
Các dấu hiệu cảnh báo			
1	Rối loạn dáng đi tiến triển nhanh đòi hỏi thường xuyên sử dụng xe lăn trong vòng 5 năm sau khởi phát.		
2	Hoàn toàn không có sự tiến triển nặng các triệu chứng vận động sau khoảng thời gian hơn 5 năm (trừ khi ổn định liên quan với điều trị).		
3	Có các triệu chứng hành não xuất hiện sớm trong vòng 5 năm đầu tiên của bệnh như rối loạn phát âm hoặc nói khó mức độ nặng (không thể nói trong hầu hết thời gian), hoặc nuốt khó mức độ nặng (đòi hỏi ăn thức ăn mềm, nuôi dưỡng qua sonde hoặc mở thông dạ dày).		
4	Rối loạn hô hấp ở thì hít vào: thở rít thì hít vào lúc ngủ hoặc ban ngày, hoặc tiếng thở rít khi hít vào thường xuyên.		

5	Rối loạn thần kinh tự chủ mức độ nặng trong vòng 5 năm đầu, bao gồm: - Tụt huyết áp tư thế: giảm huyết áp tư thế đứng trong vòng 3 phút với ít nhất HATT 30mmHg hoặc HATTr 15mmHg, loại trừ nguyên nhân mất nước, do thuốc, hoặc các nguyên nhân khác. Hoặc: - Khó tiểu tiện mức độ nặng hoặc tiểu không kiểm soát trong vòng 5 năm đầu của bệnh (loại trừ nguyên nhân stress ở phụ nữ, hoặc nguyên nhân tiền liệt tuyến, liệt dương ở nam)		
6	Ngã tái phát (> 1 lần/năm) do rối loạn thăng bằng trong vòng 3 năm đầu khởi bệnh.		
7	Loạn trương lực cổ gập hoặc cứng khớp bàn tay, bàn chân trong vòng 10 năm đầu khởi bệnh.		
8	Vẫn các triệu chứng ngoài vận động thường gặp của bệnh dù bệnh đã 5 năm; gồm: rối loạn giấc ngủ (mất ngủ, ngủ ngày quá mức, rối loạn hành vi giấc ngủ REM), rối loạn thần kinh tự chủ (táo bón, tiểu gập ban ngày, triệu chứng tụt HA thể đứng), giảm khứu giác, rối loạn tâm thần (trầm cảm, lo âu, ảo giác).		
9	Triệu chứng tổn thương bó tháp không giải thích được như liệt hoặc tăng phản xạ bệnh lý rõ (loại trừ triệu chứng bất đối xứng phản xạ mức độ nhẹ và đáp ứng gan bàn chân duỗi cục bộ).		

10	Hội chứng Parkinson đối xứng hai bên được hiểu là: . Bệnh nhân và người chăm sóc ghi nhận triệu chứng ở cả hai bên khi khởi phát mà không có ưu thế bên nào và, . Thăm khám lâm sàng phát hiện không có sự bất đối xứng.		
----	---	--	--

***Bước 1: Chẩn đoán hội chứng Parkinson**

Chậm cử động và có ít nhất một trong hai triệu chứng run hoặc cứng đơ

***Bước 2: Chẩn đoán bệnh Parkinson**

Khám xét tất cả các biểu hiện quan trọng của bệnh theo bảng phân loại bệnh Parkinson của Hội bệnh Parkinson và rối loạn vận động (MDS-Unified Parkinson Disease Rating Scale).

- Chẩn đoán lâm sàng chắc chắn bệnh Parkinson khi:
 1. Không có các tiêu chuẩn loạn trừ tuyệt đối như trên bảng
 2. Có ít nhất hai tiêu chuẩn hỗ trợ và
 3. Không có dấu hiệu cảnh báo
- Chẩn đoán lâm sàng có thể mắc bệnh Parkinson khi:
 1. Không có các tiêu chuẩn loạn trừ tuyệt đối như bảng trên
 2. Có các dấu hiệu cảnh báo nhưng có ít nhất một tiêu chuẩn ủng hộ đối trọng:
 - Có 1 dấu hiệu cảnh báo thì phải có ít nhất 1 tiêu chuẩn hỗ trợ
 - Có 2 dấu hiệu cảnh báo thì phải có ít nhất 2 tiêu chuẩn hỗ trợ
 - Không có nhiều hơn 2 dấu hiệu cảnh báo như trên bảng

PHỤ LỤC 3

BẢNG ĐÁNH GIÁ THANG ĐIỂM MDS - UPDRS

Tên Bệnh nhân:

Năm sinh:

Giới:

Số hồ sơ:

Người đánh giá:

Ngày đánh giá:

Tay thuận: ☐ Phải ☐ Trái

1.A	Nguồn thông tin	☐ Bệnh nhân ☐ Người nuôi ☐ BN + N. nuôi	3.3b	Đơ cứng - tay P	
			3.3c	Đơ cứng - tay T	
Phần I			3.3d	Đơ cứng - chân P	
1.1	Suy giảm nhận thức		3.3e	Đơ cứng – chân T	
1.2	Ảo giác và loạn thần		3.4a	Chập ngón tay – P	
1.3	Khí sắc trầm cảm		3.4b	Chập ngón tay – T	
1.4	Khí sắc lo âu		3.5a	Nắm mở bàn tay-P	
1.5	Sự thờ ơ		3.5b	Nắm mở bàn tay-T	
1.6	Đặc tính của rối loạn điều hòa dopamine		3.6a	Sắp ngửa bàn tay - P	
1.6a	Ai điền bảng câu hỏi?	☐ Bệnh nhân ☐ Người nuôi ☐ BN + N. nuôi	3.6b	Sắp ngửa bàn tay - T	
			3.7a	Chập ngón chân -P	
1.7	Vấn đề giấc ngủ		3.7b	Chập ngón chân –T	
1.8	Sự ngủ ngày		3.8a	Dậm chân – P	
1.9	Đau và các cảm giác khác		3.8b	Dậm chân – T	
1.10	Vấn đề đi tiểu		3.9	Đứng lên từ ghế	
1.11	Vấn đề táo bón		3.10	Dáng đi	
1.12	Choáng váng tư thế		3.11	Động cứng dáng đi	
1.13	Sự mệt mỏi		3.12	Mất ổ định tư thế	
Phần II			3.13	Tư thế	
2.1	Lời nói		3.14	Cử động tự nhiên toàn bộ	
2.2	Nước bọt và chảy dãi		3.15a	Run tư thế - tay P	
2.3	Nhai và nuốt		3.15b	Run tư thế - tay T	
2.4	Vấn đề ăn		3.16a	Run khi cử động – tay P	
2.5	Mặc		3.16b	Run khi cử động – tay T	
2.6	Vệ sinh		3.17a	Biên độ run khi nghỉ - tay P	
2.7	Viết		3.17b	Biên độ run khi nghỉ - tay T	
2.8	Sở thích và các hoạt động khác		3.17c	Biên độ run khi nghỉ - chân P	

2.9	Xoay trở trên giường		3.17d	Biên độ run khi nghỉ - chân T	
2.10	Run		3.17e	Biên độ run khi nghỉ - Môi/cằm	
2.11	Ra khỏi giường		3.18	Tính hằng định của run khi nghỉ	
2.12	Đi và thăng bằng			Có loạn động không?	☐ Có ☐ Không
2.13	Đông cứng			Loạn động này có gây khó khăn cho việc đánh giá không?	☐ Có ☐ Không
3a	Bệnh nhân có đang uống thuốc không?	☐ Không ☐ Có		Giai đoạn Hoehn và Yahr	
3b	Tình trạng lâm sàng bệnh nhân	☐ Bất ☐ Tất	Phần IV		
3c	Bệnh nhân đang uống levodopa?	☐ Không ☐ Có	4.1	Thời gian có loạn động	
3.c1	Nếu có, bao nhiêu phút kể từ lần uống cuối?		4.2	Ảnh hưởng chức năng của loạn động	
Phần III			4.3	Thời gian tắt	
3.1	Lời nói		4.4	Ảnh hưởng chức năng của dao động vận động	
3.2	Nét mặt		4.5	Tính phức tạp của dao động vận động	
3.3a	Đơ cứng cổ		4.6	Loạn trương lực gây đau ở thời điểm tắt	

TỔNG ĐIỂM:

- Phần I:
- Phần II:
- Phần III:
- Phần IV:

Phụ lục 4
THANG ĐIỂM HOEHN VÀ YAHR

Giai đoạn 0	Không có triệu chứng bệnh	GĐBN
Giai đoạn 1	Biểu hiện thương tổn một bên cơ thể	
Giai đoạn 2	Thương tổn cả hai bên, nhưng chưa có rối loạn thăng bằng	
Giai đoạn 3	Thương tổn hai bên, từ nhẹ đến vừa, có một vài rối loạn về tư thế dáng bộ, sinh hoạt vẫn bình thường.	
Giai đoạn 4	Bị tàn tật, tuy nhiên vẫn có thể đi lại được hay đứng dậy không cần sự giúp đỡ.	
Giai đoạn 5	Phải sử dụng xe lăn hoặc nằm liệt giường nếu không có người giúp đỡ.	

Phụ lục 5
Thang điểm đánh giá các triệu chứng ngoài vận động ở bệnh nhân Parkinson (Non-Motor Syndroms Scale – NMSS)

Các triệu chứng được đánh giá trong suốt **tháng trước**.

Mỗi triệu chứng được cho điểm với các khía cạnh cụ thể sau:

Mức độ:

0 = Không,

1 = Nhẹ: Một vài triệu chứng xuất hiện nhưng ít gây lo lắng (phiền muộn) hoặc khó chịu cho bệnh nhân;

2 = Trung bình: triệu chứng gây một số lo lắng (phiền muộn) hoặc khó chịu cho bệnh nhân;

3 = Nặng: triệu chứng là nguyên nhân chính gây lo lắng (phiền muộn) hoặc khó chịu cho bệnh nhân;

Tần suất:

1 = Hiếm khi (<1 lần/tuần);

2 = thỉnh thoảng (1 lần/tuần);

3 = Thường xuyên (Vài lần/tuần);

4 = Rất thường xuyên (suốt ngày hoặc suốt thời gian).

Khía cạnh 1: Tim mạch bao gồm cả ngã do nguyên nhân tim mạch

Khía cạnh 2: Ngủ/mệt mỏi

Khía cạnh 3: Tâm trạng/nhận thức

Khía cạnh 4: Vấn đề tri giác/ảo giác

Khía cạnh 5: Sự chú ý/ghi nhớ

Khía cạnh 6: Đường tiêu hóa

Khía cạnh 7: Tiết niệu

Khía cạnh 8: Chức năng tình dục

Khía cạnh 9: Các triệu chứng khác

Mức điểm cho mỗi mục được tính bằng mức độ nhân với tần suất cho ra kết quả từ 0 đến 12 (mức tối đa của tần suất và mức độ). Riêng khía cạnh 9 gồm nhiều triệu chứng khác nhau như đau, khửu giác, thay đổi cân nặng, tình trạng tăng trương lực.

Các khía cạnh được cho điểm khác nhau. Câu trả lời có/không thì không bao gồm trong sự tính toán tần suất nhân với mức độ. (Những chữ trong ngoặc đơn ở câu hỏi trong thang điểm với mục đích giải thích).

	<u>Severity</u>	<u>Frequency</u>	<u>Frequency x Severity</u>
--	------------------------	-------------------------	--

Khía cạnh 1: Tim mạch bao gồm cả ngã

- | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Bệnh nhân có bị đau đầu nhẹ, chóng mặt, yếu khi đứng dậy từ | ☐ | ☐ | ☐ |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|

- tư thế ngồi hoặc nằm?
2. Bệnh nhân có bị ngã vì ngất hoặc tối sầm mắt? ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 1

Khía cạnh 2: Ngủ/Mệt mỏi

3. Bệnh nhân có ngủ gà, ngủ gật hoặc ngủ mà bệnh nhân không chủ tâm trong các hoạt động ban ngày không? (Ví dụ như, trong lúc nói chuyện, trong lúc ăn, hoặc trong lúc xem tivi hoặc đọc sách). ☐ ☐ ☐
4. Sự mệt mỏi hoặc thiếu năng lượng (không phải là chậm chạp) có giới hạn hoạt động ban ngày của bệnh nhân không? ☐ ☐ ☐
5. Bệnh nhân có khó khăn khi đi ngủ hoặc ngủ không? ☐ ☐ ☐
6. Bệnh nhân có thôi thúc phải di chuyển chân hoặc trạng thái chân không yên mà đỡ khi bệnh nhân đi lại khi bệnh nhân đang ngồi hoặc nằm im không? ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 2

Khía cạnh 3: Tâm trạng/nhận thức

7. Bệnh nhân có mất hứng thú với mọi thứ xung quanh không? ☐ ☐ ☐
8. Bệnh nhân có mất sự thích thú làm mọi thứ hoặc thiếu động lực để bắt đầu các hoạt động mới không? ☐ ☐ ☐
9. Bệnh nhân có cảm thấy lo lắng, hồi hộp hoặc lo sợ mà không có lý do rõ ràng không? ☐ ☐ ☐
10. Bệnh nhân có buồn rầu hoặc ủ rũ hoặc bệnh nhân nói có cảm giác như thế không? ☐ ☐ ☐
11. Bệnh nhân có tâm trạng thờ ơ không bình thường không? ☐ ☐ ☐
12. Bệnh nhân có khó khăn trong việc trải nghiệm niềm vui từ các hoạt động bình thường hay nói rằng họ thiếu niềm vui không? ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 3

Khía cạnh 4: Vấn đề tri giác/ảo giác

13. Bệnh nhân có cho biết rằng họ nhìn thấy những thứ mà nó không có ở đó không? ☐ ☐ ☐

14. Bệnh nhân có tin rằng những điều bạn biết không đúng sự thật không? ☐ ☐ ☐

(Ví dụ như bị hãm hại, bị cướp hoặc bị phản bội)

15. Bệnh nhân có nhìn đôi không? ☐ ☐ ☐
(2 vật thể riêng biệt và không nhìn mờ)

ĐIỂM 4

Khía cạnh 5: Sự chú ý/ghi nhớ

16. Bệnh nhân có duy trì được sự tập trung trong các hoạt động không? ☐ ☐ ☐
(Ví dụ, đọc sách hoặc trò chuyện)

17. Bệnh nhân có quên những điều mà họ đã nói ở thời gian ngắn về trước hoặc những sự kiện xảy ra trong mấy ngày trước không? ☐ ☐ ☐

18. Bệnh nhân có quên những việc phải làm không? ☐ ☐ ☐
(Ví dụ, uống thuốc hoặc tắt các thiết bị gia dụng)

ĐIỂM 5

Khía cạnh 6: Đường tiêu hóa

19. Bệnh nhân có bị chảy nước miếng trong suốt cả ngày không? ☐ ☐ ☐

20. Bệnh nhân có khó khăn về nuốt không? ☐ ☐ ☐

21. Bệnh nhân có bị táo bón không? ☐ ☐ ☐
(Đi đại tiện ít hơn 3 lần 1 tuần)

ĐIỂM 6

Khía cạnh 7: Tiết niệu

22. Bệnh nhân có khó khăn trong việc nín tiểu không? (Khẩn cấp) ☐ ☐ ☐

23. Bệnh nhân có phải đi tiểu trong 2 giờ kể từ lần tiểu cuối? (thường xuyên) ☐ ☐ ☐

24. Bệnh nhân có phải dậy thường xuyên vào đêm để đi tiểu không? (tiểu đêm) ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 7

Khía cạnh 8: Chức năng tình dục

25. Bệnh nhân có sự thay đổi quan tâm tới tình dục? ☐ ☐ ☐

(Tăng hoặc giảm rất nhiều, vui lòng gạch dưới)

26. Bệnh nhân có hứng thú với tình dục không? ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 8

Khía cạnh 9: Các triệu chứng khác

27. Bệnh nhân có đau mà không giải thích được bằng các tình trạng khác đã được biết đến không? (Nó có liên quan đến dùng thuốc và cho là thuốc điều trị Parkinson) ☐ ☐ ☐

28. Bệnh nhân có thay đổi khẩu vị không? ☐ ☐ ☐

29. Gần đây bệnh nhân có thay đổi về cân nặng không (không liên quan đến ăn kiêng)? ☐ ☐ ☐

30. Bệnh nhân có bị đổ mồ hôi quá nhiều không? (không liên quan đến thời tiết nóng)? ☐ ☐ ☐

ĐIỂM 9

TỔNG ĐIỂM

..

Phụ lục 6
THANG ĐIỂM ĐAU KPPS
(KING'S PARKINSON'S DISEASE PAIN SCALE)

Mỗi triệu chứng nên được ghi với các khía cạnh sau

Mức độ nặng

0 = Không đau

1 = Nhẹ (Có xuất hiện triệu chứng nhưng gây ra ít sự đau đớn hoặc lo âu)

2 = Trung bình (Một vài triệu chứng đau đớn và lo âu cho bệnh nhân)

3 = Nặng (Nguyên nhân chính của đau đớn và lo âu của bệnh nhân)

Tần suất

0 = Không bao giờ

1 = Hiếm khi (< 1 lần/ tuần)

2 = Thỉnh thoảng (1 lần/ tuần)

3 = Thường xuyên (vài lần/ tuần) 4 = Rất thường xuyên (hàng ngày hoặc suốt ngày)

Khía cạnh 1: Đau cơ xương khớp

**Mức độ
(0-3)**

**Tần suất
(0-4)**

**Mức độ
x Tần
suất**

1. Bệnh nhân có đau quanh khớp (bao gồm cả đau khớp) không?

Khía cạnh 1 (Tổng điểm)

Khía cạnh 2: Đau mạn tính

2. Bệnh nhân có đau sâu trong cơ thể (một loại đau đớn nặng, lan tỏa- đau trung tâm thần kinh) không?

3. Bệnh nhân có đau cơ quan nội tạng (đau quanh gan, dạ dày hoặc nội tạng) không?

Khía cạnh 2 (tổng điểm)

Khía cạnh 3: Đau liên quan đến dao động vận động (đau dao động)

4. Bệnh nhân có cơn đau loạn động (đau liên quan đến sự bất thường của chuyển động) không?
5. Bệnh nhân có giai đoạn off loạn trương lực cơ ở một vùng cụ thể không? (trong vùng loạn trương lực)
6. Bệnh nhân có đau lan tỏa trong giai đoạn off (đau khắp cơ thể hoặc ở vùng xa của loạn trương lực) không?

Khía cạnh 3 (tổng điểm)

Khía cạnh 4: Đau về đêm

7. Đau ở bệnh nhân liên quan đến cử động giật của chân suốt đêm hoặc một cảm giác bồng rập khó chịu ở chân mà cải thiện khi vận động không?
8. Đau ở bệnh nhân có liên quan khi trở mình trên giường về đêm không?

Khía cạnh 4 (tổng điểm)

Khía cạnh 5: Đau hàm mặt

9. Bệnh nhân có đau khi nhai không?
10. Bệnh nhân có đau vì nghiến răng suốt đêm không?
11. Bệnh nhân có triệu chứng bồng rập trong miệng không?

Khía cạnh 5 (tổng điểm)

Khía cạnh 6: Biến đổi sắc tố da; phù/sưng đau

12. Bệnh nhân có cơn đau bùng phát ở các chi không? (thường liên quan đến phù hoặc điều trị bằng dopamine)

13. Bệnh nhân có đau lan tỏa vùng bụng dưới không?

Khía cạnh 6 (tổng điểm)

Khía cạnh 7: Đau rễ thần kinh

14. Bệnh nhân có đau như đạn bắn/ kim châm và kiến bò ở chi?

Khía cạnh 7 (tổng điểm)

**TỔNG ĐIỂM
(7 khía cạnh)**

Phụ lục 7
THANG ĐIỂM BDI
(The Beck Depression Inventory)

Mục	Suy nghĩ	Điểm
1	Tôi không cảm thấy buồn.	0
	Tôi cảm thấy buồn	1
	Tôi buồn tất cả thời gian và tôi không thể thoát ra khỏi nó.	2
	Tôi rất buồn và không vui; tôi không thể chịu được.	3
2	Tôi không đặc biệt nản lòng về tương lai.	0
	Tôi cảm thấy chán nản về tương lai.	1
	Tôi cảm thấy tôi không có gì để trông đợi.	2
	Tôi cảm thấy vô vọng về tương lai và mọi thứ không thể cải thiện.	3
3	Tôi không cảm thấy như thất bại.	0
	Tôi cảm thấy mình đã thất bại nhiều hơn người bình thường.	1
	Khi tôi nhìn lại cuộc đời mình, tất cả những gì tôi có thể thấy là rất nhiều thất bại.	2
	Tôi cảm thấy tôi hoàn toàn thất bại.	3
4	Tôi nhận cảm thấy hài lòng từ những thứ như trước đây.	0

5	Tôi không thích những thứ tôi đã từng làm.	1
	Tôi không thực sự hài lòng với bất cứ điều gì nữa.	2
	Tôi không hài lòng hoặc chán nản với mọi thứ.	3
	Tôi không cảm thấy đặc biệt có lỗi	0
	Tôi cảm thấy tội lỗi một phần thời gian.	1
	Tôi cảm thấy khá tội lỗi hầu hết thời gian.	2
	Tôi cảm thấy tội lỗi mọi lúc.	3
	Tôi không cảm thấy mình bị trừng phạt.	0
6	Tôi cảm thấy tôi có thể bị trừng phạt.	1
	Tôi hy vọng sẽ bị trừng phạt.	2
	Tôi cảm thấy tôi đang bị trừng phạt.	3
	Tôi không cảm thấy thất vọng về bản thân mình.	0
7	Tôi thất vọng trong bản thân mình.	1
	Tôi ghê tởm về bản thân mình.	2
	Tôi ghét chính bản thân mình.	3
8	Tôi không cảm thấy mình tồi tệ hơn bất cứ ai khác.	0
	Tôi rất thất vọng với bản thân mình vì những điểm yếu hay sai lầm của tôi.	1

9	Tôi đổ lỗi cho bản thân mình tất cả thời gian vì lỗi lầm của mình.	2
	Tôi đổ lỗi cho bản thân khi tất cả mọi thứ xấu xảy ra.	3
	Tôi không có ý nghĩ tự tử.	0
	Tôi có ý nghĩ tự tử, nhưng tôi sẽ không thực hiện nó.	1
	Tôi muốn tự sát	2
	Tôi sẽ tự sát khi có cơ hội.	3
10	Tôi không khóc nhiều hơn bình thường.	0
	Tôi khóc nhiều hơn trước kia.	1
	Tôi khóc suốt thời gian này.	2
	Tôi đã từng khóc, nhưng bây giờ tôi không thể khóc dù tôi muốn.	3
11	Tôi không cảm thấy khó chịu hơn bình thường.	0
	Tôi hơi khó chịu hơn bình thường.	1
	Tôi khá khó chịu hoặc bị kích thích trong nhiều thời điểm.	2
	Tôi cảm thấy bị kích thích mọi lúc.	3
12	Tôi đã không mất hứng thú với người khác.	0
	Tôi ít quan tâm đến người khác hơn là trước đây.	1

13	Tôi đã mất phần lớn sự quan tâm của tôi đối với người khác.	2
	Tôi đã mất tất cả sự quan tâm của tôi đối với người khác.	3
	Tôi đưa ra quyết định như tôi có thể.	0
	Tôi đưa ra quyết định nhiều hơn tôi từng làm.	1
	Tôi gặp khó khăn trong việc ra quyết định nhiều hơn trước đây.	2
	Tôi không thể đưa ra quyết định nữa.	3
14	Tôi không cảm thấy mình tệ hơn tôi trước đây.	0
	Tôi lo lắng rằng tôi trông già hoặc không hấp dẫn.	1
	Tôi cảm thấy có những thay đổi vĩnh viễn trong diện mạo của tôi khiến tôi nhìn không hấp dẫn.	2
	Tôi tin rằng tôi trông xấu xí.	3
15	Tôi có thể làm việc cũng như trước đây.	0
	Phải mất thêm một nỗ lực để bắt đầu làm điều gì đó.	1
	Tôi phải cố gắng hết mình để làm bất cứ điều gì.	2
	Tôi không thể làm gì cả.	3
16	Tôi có thể ngủ như bình thường.	0
	Tôi không ngủ ngon như trước đây.	1

17	Tôi thức dậy sớm hơn bình thường 1-2 giờ và thấy khó ngủ lại.	2
	Tôi thức dậy sớm hơn vài giờ so với trước đây và không thể ngủ lại được.	3
	Tôi không mệt mỏi hơn bình thường.	0
	Tôi cảm thấy dễ dàng mệt mỏi hơn trước đây.	1
	Tôi cảm thấy mệt mỏi khi làm hầu hết mọi thứ.	2
	Tôi quá mệt mỏi để làm bất cứ điều gì.	3
18	Vấn đề ăn uống của tôi vẫn như bình thường.	0
	Sự thèm ăn của tôi không tốt như trước đây.	1
	Sự thèm ăn của tôi tệ hơn nhiều.	2
19	Tôi không còn cảm giác thèm ăn nữa.	3
	Gần đây tôi đã không giảm cân nhiều, nếu có.	0
	Tôi đã giảm gần 3 cân.	1
	Tôi đã giảm gần 6 cân.	2
	Tôi đã giảm gần 9 cân.	3
	Tôi không lo lắng về sức khỏe của mình hơn bình thường.	0
20	Tôi lo lắng về các vấn đề thể chất như đau nhức, đau, đau bụng hoặc táo bón.	1

21	Tôi rất lo lắng về các vấn đề thể chất và thật khó để nghĩ ra những thứ khác.	2
	Tôi rất lo lắng về những vấn đề thể chất của mình mà tôi không thể nghĩ ra được.	3
	Tôi đã không nhận thấy bất kỳ sự thay đổi gần đây trong sự quan tâm của tôi về tình dục.	0
	Tôi ít quan tâm đến tình dục hơn trước kia.	1
	Tôi hầu như không quan tâm đến tình dục.	2
	Tôi đã mất hết hứng thú với tình dục.	3

Thang điểm Beck được tính như sau:

- + Tổng điểm < 14 điểm: Không có trầm cảm.
- + Tổng điểm từ 14-19 điểm: Trầm cảm mức độ nhẹ.
- + Tổng điểm từ 20-29 điểm: Trầm cảm mức độ vừa.
- + Tổng điểm > 30 điểm: Trầm cảm mức độ nặng.

Phụ lục 8
THANG ĐIỂM TÂM THẦN TỐI THIỂU
(Mini Mental State Examination -MMSE)

1. Đánh giá về định hướng (nói đúng mỗi câu đạt 1 điểm, tổng 10 điểm) .
Điểm đạt:

- a. Hãy nói cho biết hôm nay là thứ mấy ?
- b. Hãy nói cho biết hôm nay là ngày mấy ?
- c. Hãy nói cho biết tháng này là tháng mấy ?
- d. Hãy cho biết mùa này là mùa gì ?
- e. Hãy cho biết năm nay là năm nào?
- g. Hãy cho biết đây là buồng (hoặc tầng nào, hay khoa nào)?
- h. Hãy cho biết đây là ở đâu?
- i. Hãy cho biết đây thuộc quận (huyện) nào?
- k. Hãy cho biết đây thuộc tỉnh (thành phố) nào?
- l. Hãy cho biết đây là nước nào?

2. Đánh giá khả năng ghi nhận (3 điểm): Registration (trí nhớ tức thì).

Điểm đạt:

Đọc tên 3 đồ vật bất kỳ (quả táo, cái bàn, đồng xu...) một cách chậm rãi, rõ ràng; sau đó yêu cầu bệnh nhân nhắc lại luôn (*ghi 1 điểm cho mỗi câu trả lời đúng. Xin nhắc tên 3 đồ vật đó cho tới khi bệnh nhân thuộc được cả 3 để sử dụng cho phần D*)

3. Đánh giá sự chú ý và tính toán (5 điểm). Điểm đạt:

Yêu cầu bệnh nhân làm phép tính $100 - 7$ liên tiếp 5 lần (*ghi 1 điểm cho mỗi lần trả lời đúng*)

Nếu bệnh nhân không làm được 5 lần nghiệm pháp $100 - 7$, yêu cầu bệnh nhân làm liệu pháp khác: Đánh vần ngược 1 từ: HƯƠNG -> GNOU^H. (*Số điểm ghi bằng đúng theo thứ tự sắp xếp chính xác của từ*)

4. Đánh giá khả năng hồi ức nhớ lại (trí nhớ gần) (3 điểm).

Điểm đạt:

Yêu cầu bệnh nhân nhắc lại tên 3 đồ vật đã nêu ở phần B. (*cho 1 điểm cho mỗi câu trả lời đúng*).....

5. Đánh giá về ngôn ngữ (3 điểm). Điểm đạt:

a. **Gọi tên 2 đồ vật:** (cho 1 điểm cho mỗi lần gọi đúng tên đồ vật)

Đưa bệnh nhân xem một chiếc đồng hồ và hỏi đó là cái gì?.....

Đưa bệnh nhân xem một chiếc bút chì và hỏi đó là cái gì?.....

b. **Nhắc lại một câu (đánh giá tính lưu loát trong ngôn ngữ)**

Yêu cầu bệnh nhân nhắc lại câu "không thể, nếu, nhưng, tuy nhiên" (nếu nhắc lại đúng hoàn toàn cho 1 điểm).....

6. Đánh giá chức năng thực hiện các động tác kết hợp (5 điểm)

Mệnh lệnh theo 3 giai đoạn: Đưa một mảnh giấy trắng và yêu cầu bệnh nhân bằng một câu "Cầm lấy tờ giấy bằng tay phải, gấp đôi tờ giấy lại và đặt nó xuống bàn". (Ghi 1 điểm cho mỗi hành động đúng).....(3 điểm)

Đọc và làm theo sự chỉ dẫn

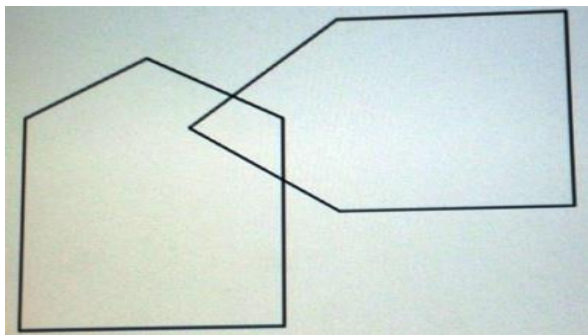
Đưa bệnh nhân một tờ giấy to có ghi rõ một mệnh lệnh "Hãy nhắm mắt lại". Yêu cầu bệnh nhân đọc và làm theo: (cho 1 điểm nếu làm đúng).....(1 điểm)

Viết một câu

Đưa bệnh nhân một tờ giấy trắng và yêu cầu bệnh nhân viết một câu bất kỳ (câu phải có chủ từ và động từ và phải có nghĩa, có thể sai về ngữ pháp, chính tả cũng được). (Cho 1 điểm nếu viết được).....

7. Đánh giá khả năng tưởng tượng, trừu tượng (thị giác) . Điểm đạt:

Yêu cầu bệnh nhân vẽ lại một hình đã được vẽ sẵn, hình vẽ phải gồm 10 góc và phải có 2 góc lồng vào nhau. (Cho 1 điểm nếu vẽ đúng)



Tổng số điểm: Kết quả test:

ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG NHẬN THỨC

Không có suy giảm nhận thức: > 24 điểm.

Suy giảm nhận thức nhẹ: 20 – 24 điểm.

Suy giảm nhận thức vừa: 14 - 19 điểm.

Suy giảm nhận thức nặng: 0 – 13 điểm

PHỤ LỤC 9

Bảng đánh giá chất lượng DNA của các mẫu người bệnh EOPD

STT	Mẫu	Nồng độ (η g/ μ l)	A260/280	Kết luận
Nhóm mẫu có gia đình (tiền sử gia đình có người mắc Parkinson)				
1	PKS1	27.8	1.9	Đạt
2	PKS2	29.8	1.82	Đạt
3	PKS11	43.4	1.81	Đạt
4	PKS11.C2	36.6	1.83	Đạt
5	PKS13	39.5	1.83	Đạt
6	PKS15	32.6	1.85	Đạt
7	PKS16	26.6	1.82	Đạt
8	PKS28	28.6	1.86	Đạt
9	PKS29	45.1	1.87	Đạt
10	PKS33	45.3	1.81	Đạt
11	PKS40	35.5	1.84	Đạt
12	PKS43	36.4	1.88	Đạt
13	PKS50	47.3	1.85	Đạt
14	PKS53	39.2	1.81	Đạt
15	PKS54	31.3	1.82	Đạt
16	PKS55	33.7	1.9	Đạt
17	PKS58	29	1.83	Đạt
18	PKS63	34.2	1.89	Đạt
19	PKS64	35.1	1.89	Đạt
20	PKS69	24	1.84	Đạt
21	PKS73	27	1.89	Đạt
22	PKS75	28.9	1.89	Đạt
23	PKS83	32.8	1.92	Đạt
24	PKS86	42.6	1.85	Đạt
25	PKS86.A	29.5	1.89	Đạt
26	PKS88	45.1	1.82	Đạt
27	PKS93	42.9	1.84	Đạt
28	PKS111	29.4	1.81	Đạt
Nhóm mẫu không gia đình (tiền sử gia đình không có người bị Parkinson)				
29	PKS3	35.3	1.91	Đạt
30	PKS4	26.6	1.84	Đạt
31	PKS5	27.2	1.88	Đạt
32	PKS7	29.3	1.83	Đạt
33	PKS8	28.4	1.84	Đạt
34	PKS9	30.2	1.84	Đạt
35	PKS10	19.5	1.92	Đạt
36	PKS12	34.2	1.89	Đạt
37	PKS14	27.5	1.88	Đạt
38	PKS18	26.5	1.88	Đạt
39	PKS19	28.1	1.81	Đạt
40	PKS20	26.7	1.83	Đạt

41	PKS21	26.9	1.82	Đạt
42	PKS22	35.6	1.84	Đạt
43	PKS23	26.2	1.85	Đạt
44	PKS24	28.9	1.85	Đạt
45	PKS26	29.5	1.82	Đạt
46	PKS27	40.5	1.89	Đạt
47	PKS30	36.2	1.88	Đạt
48	PKS31	29.3	1.88	Đạt
49	PKS32	34.3	1.85	Đạt
50	PKS34	26.2	1.85	Đạt
51	PKS37	41.9	1.89	Đạt
52	PKS38	42.2	1.87	Đạt
53	PKS39	42.1	1.86	Đạt
54	PKS41	45.6	1.82	Đạt
55	PKS42	32.8	1.82	Đạt
56	PKS45	42.6	1.84	Đạt
57	PKS46	35.7	1.82	Đạt
58	PKS47	49.8	1.81	Đạt
59	PKS48	27.4	1.83	Đạt
60	PKS49	28.1	1.89	Đạt
61	PKS51	25.2	1.91	Đạt
62	PKS52	22.8	1.91	Đạt
63	PKS56	37.4	1.9	Đạt
64	PKS57	43.1	1.82	Đạt
65	PKS60	46.7	1.84	Đạt
66	PKS61	29.4	1.81	Đạt
67	PKS62	46.1	1.82	Đạt
68	PKS65	34	1.85	Đạt
69	PKS66	37.9	1.83	Đạt
70	PKS67	41.2	1.86	Đạt
71	PKS68	25.5	1.86	Đạt
72	PKS70	22.2	1.84	Đạt
73	PKS71	29.2	1.88	Đạt
74	PKS72	35.2	1.82	Đạt
75	PKS76	37.8	1.81	Đạt
76	PKS77	31.2	1.84	Đạt
77	PKS78	31.6	1.88	Đạt
78	PKS81	48.2	1.92	Đạt
79	PKS82	26.3	1.81	Đạt
80	PKS84	39.4	1.84	Đạt
81	PKS85	41.2	1.85	Đạt
82	PKS89	53.2	1.94	Đạt
83	PKS90	55.4	1.82	Đạt
84	PKS92	52.3	1.88	Đạt
85	PKS95	37.1	1.86	Đạt
86	PKS96	49.2	1.87	Đạt
87	PKS98	28.9	1.88	Đạt
88	PKS99	25.6	1.86	Đạt

89	PKS100	48.6	1.84	Đạt
90	PKS102	23.5	1.85	Đạt
91	PKS103	49.1	1.83	Đạt
92	PKS104	33.6	1.83	Đạt
93	PKS105	21.9	1.9	Đạt
94	PKS106	27.6	1.82	Đạt
95	PKS108	29.5	1.84	Đạt
96	PKS109	30.4	1.85	Đạt
97	PKS110	37.4	1.88	Đạt
PKS: Parkinson				

PHỤ LỤC 10

Thông số về chất lượng của 10 thư viện đại diện

STT	Tên thư viện	Loại thư viện	Nồng độ (nM)	Kích thước (bp)	Đạt
1	PKS1	SureSelect V6-Post	16.53	330	Đạt
2	PKS2	SureSelect V6-Post	65.23	347	Đạt
3	PKS3	SureSelect V6-Post	102.89	346	Đạt
4	PKS4	SureSelect V6-Post	114.99	343	Đạt
5	PKS5	SureSelect V6-Post	76.35	347	Đạt
6	PKS19	SureSelect V6-Post	224.62	346	Đạt
7	PKS20	SureSelect V6-Post	129.54	337	Đạt
8	PKS21	SureSelect V6-Post	132.9	349	Đạt
9	PKS22	SureSelect V6-Post	125.06	336	Đạt
10	PKS23	SureSelect V6-Post	182.61	342	Đạt
PKS: Parkinson					

Phụ lục 11

Kết quả đánh giá dữ liệu thô trong phân tích WES các mẫu người bệnh EOPD

STT	Tên thư viện	Tổng số base	Tổng số lần	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
Nhóm mẫu có gia đình (tiền sử gia đình có người mắc Parkinson)							
1	PKS1	8,931,175,860	59,146,860	51.33	48.67	97.65	93.47
2	PKS2	6,980,060,466	46,225,566	51.66	48.34	97.64	93.25
3	PKS11	6,665,533,506	44,142,606	51.75	48.25	97.54	93.06
5	PKS13	6,575,306,476	43,545,076	51.78	48.22	97.24	92.43
6	PKS15	7,784,651,584	51,553,984	51.58	48.42	97.53	93
7	PKS16	8,587,461,204	56,870,604	50.67	49.33	97.6	93.4
8	PKS28	6,888,089,990	45,616,490	51.5	48.5	98.55	95.68
9	PKS29	6,798,759,598	45,024,898	51.78	48.22	98.46	95.32
11	PKS40	8,765,231,580	51,744,580	50.23	48.15	98.67	94.5
12	PKS43	7,546,972,148	49,979,948	51.91	48.09	97.68	93.35
13	PKS50	7,299,149,830	48,358,430	51.27	48.35	98.16	94.27
14	PKS53	11,258,548,222	74,559,922	51.34	48.66	98.38	95.12
15	PKS54	7,050,167,350	46,689,850	51.05	48.95	97.91	94.09
16	PKS55	8,224,684,610	54,468,110	50.92	49.08	98.12	94.62
17	PKS58	6,381,022,628	42,258,428	51.41	48.59	97.66	93.52
18	PKS63	9,060,613,060	60,004,060	51.6	48.4	97.58	93.39
19	PKS64	8,992,427,500	59,552,500	51.31	48.69	98.25	94.89
20	PKS69	7,496,213,196	49,643,796	51.95	48.05	97.57	93.43
21	PKS73	9,719,415,792	64,366,992	50.93	49.07	98.02	94.36
22	PKS75	6,866,856,370	45,475,870	50.96	49.04	97.78	93.85
23	PKS83	6,561,399,980	43,452,980	51.34	48.66	97.96	94.25
24	PKS86	8,045,622,770	53,282,270	51.96	48.04	97.65	93.6
25	PKS86.A	7,793,890,670	51,615,170	51.59	48.41	97.64	93.55
26	PKS88	6,824,911,892	45,198,092	50.71	49.29	98.02	94.34
27	PKS93	7,813,558,722	51,745,422	52.03	47.97	98.53	95.52
28	PKS111	7,393,379,176	48,962,776	51.53	48.47	97.87	93.84
29	PKS3	9,342,215,980	61,868,980	51.12	48.88	97.68	93.55
30	PKS4	6,593,517,076	43,665,676	51.8	48.2	97.38	92.7
31	PKS5	9,685,091,076	64,139,676	50.96	49.04	97.68	93.44
32	PKS7	6,049,185,028	40,060,828	52.21	47.79	97.18	92.35
33	PKS8	7,474,679,086	49,501,186	50.59	49.41	97.81	93.91
34	PKS9	7,921,429,196	52,459,796	51.27	48.73	97.56	93.35
35	PKS10	6,728,594,428	44,560,228	51.55	48.45	97.37	92.69
36	PKS12	7,630,894,626	50,535,726	51.51	48.49	97.58	93.13
37	PKS14	8,906,542,022	58,983,722	50.99	49.01	97.71	93.6
38	PKS18	6,022,972,032	39,887,232	51.26	48.74	97.75	93.75
39	PKS19	7,581,737,784	50,210,184	50.49	49.51	97.81	93.87
40	PKS20	6,491,536,206	42,990,306	52.12	47.88	98.52	95.49
41	PKS21	8,211,952,592	54,383,792	50.87	49.13	97.78	93.83
42	PKS22	8,634,955,234	57,185,134	51.36	48.64	98.4	95.29
43	PKS23	8,115,827,804	53,747,204	51.48	48.52	97.99	94.1

44	PKS24	7,853,914,076	52,012,676	51.54	48.46	98.06	94.4
45	PKS26	8,367,343,974	55,412,874	50.84	49.16	97.71	93.59
46	PKS27	10,053,710,766	66,580,866	51.03	48.97	97.55	93.29
47	PKS30	7,079,366,522	46,883,222	50.91	49.09	98.38	95.18
48	PKS31	6,596,891,020	43,688,020	51.67	48.33	98.41	95.37
49	PKS32	6,992,192,410	46,305,910	51.99	48.01	97.65	93.25
50	PKS34	6,661,972,322	44,119,022	51.79	48.21	98.46	95.33
51	PKS37	7,283,639,624	48,236,024	51.54	48.46	97.73	93.49
52	PKS38	7,344,343,134	48,638,034	51.55	48.45	98.1	94.34
53	PKS39	7,165,278,576	47,452,176	50.83	49.17	97.77	93.78
54	PKS41	7,090,600,016	46,957,616	52.06	47.94	97.25	92.46
55	PKS42	6,902,191,276	45,709,876	51.77	48.23	97.3	92.59
56	PKS45	9,614,462,638	63,671,938	50.73	49.27	98.08	94.4
57	PKS46	7,739,502,886	51,254,986	51.68	48.32	98.58	95.62
58	PKS47	7,810,907,162	51,727,862	51.49	48.51	98.04	94.31
59	PKS48	7,321,814,840	48,488,840	51.9	48.1	97.59	93.16
60	PKS49	8,049,380,556	53,307,156	50.58	49.42	97.72	93.71
61	PKS51	11,109,490,988	73,572,788	51.47	48.53	98.43	95.22
62	PKS52	8,073,529,382	53,467,082	51.3	48.7	97.65	93.6
63	PKS56	6,809,690,186	45,097,286	51.62	48.38	98.11	94.32
64	PKS57	6,902,577,836	45,712,436	51.37	48.63	97.9	93.99
65	PKS60	6,979,788,364	46,223,764	51.61	48.39	98.09	94.26
66	PKS61	7,783,214,970	51,544,470	51.96	48.04	98.55	95.6
67	PKS62	8,059,319,678	53,372,978	51.55	48.45	97.59	93.42
68	PKS65	7,098,589,426	47,010,526	51.52	48.48	97.83	94.01
69	PKS66	6,497,298,064	43,028,464	51.66	48.34	98.53	95.66
70	PKS67	7,261,757,610	48,091,110	51.54	48.46	97.55	93.37
71	PKS68	7,025,880,510	46,529,010	51.82	48.18	97.71	93.73
72	PKS70	6,485,726,632	42,951,832	51.86	48.14	98.45	95.31
73	PKS71	7,631,511,008	50,539,808	50.69	49.31	98	94.31
74	PKS72	9,461,396,656	62,658,256	51.4	48.6	97.99	94.19
75	PKS76	8,036,081,382	53,219,082	51.16	48.84	97.99	94.28
76	PKS77	8,600,476,800	56,956,800	50.9	49.1	98.03	94.43
77	PKS78	7,688,467,906	50,917,006	50.86	49.14	98.11	94.52
78	PKS81	8,207,162,570	54,352,070	50.9	49.1	97.95	94.2
79	PKS82	8,056,138,108	53,351,908	50.75	49.25	98.13	94.58
80	PKS84	7,874,524,368	52,149,168	51.43	48.57	97.81	93.79
81	PKS85	10,411,008,476	68,947,076	50.85	49.15	97.98	94.29
82	PKS89	7,870,094,934	52,119,834	50.77	49.23	98.52	95.45
83	PKS90	7,508,224,340	49,723,340	50.48	49.52	97.99	94.25
84	PKS92	7,646,725,466	50,640,566	51.35	48.65	98.46	95.36
85	PKS95	7,540,886,848	49,939,648	51.24	48.76	97.86	93.95
86	PKS96	10,690,324,350	70,796,850	50.67	49.33	97.95	94.24
87	PKS98	7,896,530,806	52,294,906	52.17	47.83	98.58	95.7
88	PKS99	6,758,661,548	44,759,348	51.6	48.4	98.38	95.11
89	PKS100	6,814,263,976	45,127,576	51.89	48.11	98.34	95
90	PKS102	6,721,323,778	44,512,078	51.9	48.1	97.75	93.5
91	PKS103	7,304,032,476	48,371,076	51.4	48.6	98.26	94.65

92	PKS104	7,429,805,812	49,204,012	51.42	48.58	98.42	95.3
93	PKS105	6,662,040,272	44,119,472	51.73	48.27	97.27	92.5
94	PKS106	7,193,569,634	47,639,534	51.84	48.16	97.73	93.44
95	PKS108	6,577,543,692	43,559,892	51.95	48.05	97.38	92.69
96	PKS109	6,792,221,298	44,981,598	51.73	48.27	97.45	92.84
97	PKS110	6,759,559,394	44,765,294	51.65	48.35	98.51	95.42
PKS: Parkinson Q20(%): Tỷ lệ base có điểm chất lượng phred trên 20 (Độ chính xác của base là 99%) Q30(%): Tỷ lệ base có điểm chất lượng phred trên 30 (Độ chính xác của base là 99,9%)							

PHỤ LỤC 12
Một số SNV liên quan đến bệnh Parkinson

Mẫu	Kiểu di truyền	Kiểu hợp tử	Kiểu biến đổi	Gen	Transcript	Exon	cDNA	Thay đổi AA	1000g
Có yếu tố gia đình (tiền sử gia đình có người bị Parkinson)									
PKS01	AD/AR	het	nonsyn	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon6	c.G488C	p.R163P	.
PKS02	AR	het	nonsyn	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon13	c.G1187A	p.C396Y	.
	-	het	nonsyn	<i>GBA</i>	NM_000157	exon3	c.G170A	p.C57Y	.
	AR	het	nonsyn	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon18	c.C1737A	p.D579E	0.0006
PKS11	AR	het	nonsyn	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.0024
	AR	het	nonsyn	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon14	c.G1331A	p.R444Q	
PKS28	AR	het	nonsyn	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.0024
	AD	het	nonsyn	<i>GIGYF2</i>	NM_001103148	exon3	c.A73G	p.T25A	0.0016
	AD	het	nonsyn SNV	<i>LRRK2</i>	NM_198578	exon11	c.C1256T	p.A419V	0.0014
PKS53	AR	het	nonsyn SNV	<i>PRKN</i>	NM_013988	exon9	c.T874C	p.C292R	.
PKS54	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.G37C	p.A13P	.
	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.T43C	p.S15P	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PRKN</i>	NM_013988	exon9	c.T874C	p.C292R	.
PKS55	AR	het	nonsyn SNV	<i>PRKN</i>	NM_013988	exon9	c.T874C	p.C292R	.
PKS58	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.0024
	AR	het	nonsyn SNV	<i>DNAJC6</i>	NM_001256864	exon12	c.A1577G	p.N526S	0.0006
	AR	het	nonsyn SNV	<i>FBXO7</i>	NM_012179	exon2	c.A155G	p.Y52C	0.0012
PKS63	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon17	c.C2957G	p.A986G	0.0004
PKS69	-	het	.	.	0.0004				
PKS75	AR	het	nonsyn SNV	<i>PARK7</i>	NM_001123377	exon3	c.G103A	p.V35I	.
PKS83	AR	het	nonsyn SNV	<i>DNAJC6</i>	NM_001256864	exon10	c.A1362T	p.E454D	.
	-	het	.	.					0.0004
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PLA2G6</i>	NM_001349868	exon4	c.G116A	p.C39Y	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PRKN</i>	NM_013988	exon8	c.A793G	p.T265A	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.002
PKS86	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.G37C	p.A13P	.

	AD	het	nonsyn SNV	<i>LRRK2</i>	NM_198578	exon2	c.A158G	p.K53R	0.0006
PKS88	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon15	c.C1405G	p.P469A	0.0004
PKS93	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.0024
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PINK1</i>	NM_032409	exon5	c.G1023A	p.M341I	0.0002
PKS111	AR	het	nonsyn SNV	<i>PRKN</i>	NM_013988	exon9	c.T874C	p.C292R	.
Không có yếu tố gia đình (tiền sử gia đình chưa có ai bị parkinson)									
PKS03	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.G37C	p.A13P	.
	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.T43A	p.S15T	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>SLC6A3</i>	NM_001044	exon5	c.G710A	p.R237Q	0.0012
PKS04	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon82	c.G10955 A	p.G3652D	0.0008
	AR	het	Nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.002
PKS07	AR	het	nonsyn SNV	<i>SLC6A3</i>	NM_001044	exon5	c.G710A	p.R237Q	0.0012
	AR	het	Nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon39	c.A4438G	p.I1480V	0.0002
PKS08	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.0024
	AD	het	nonsyn SNV	<i>GIGYF2</i>	NM_001103148	exon3	c.A73G	p.T25A	0.0016
PKS09	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon78	c.G10595 A	p.S3532N	.
PKS16	AD	het	nonsyn SNV	<i>GIGYF2</i>	NM_001103148	exon26	c.C3632A	p.P1211Q	.
PKS18	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon82	c.G10955 A	p.G3652D	0.000799
	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon17	c.C2941G	p.R981G	.
	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon22	c.G3667A	p.A1223T	.
	AR	homo	nonsyn SNV	<i>PINK1</i>	NM_032409	exon4	c.A804G	p.L268L	0.0004
	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCAIP</i>	NM_001308105	exon3	c.A190T	p.T64S	0.0002
PKS19	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>UCHL1</i>	NM_004181	exon3	c.C58A	p.L20M	.
PKS20	AR	het	nonsyn SNV	<i>SYNJ1</i>	NM_003895	exon1	c.T13C	p.W5R	.
PKS21	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon20	c.A3400G	p.M1134V	0.000998
PKS24	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon48	c.A5836G	p.M1946V	0.0002
PKS25	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.002396
	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon9	c.G730A	p.A244T	0.000599
	AR	het	nonsyn SNV	<i>SLC6A3</i>	NM_001044	exon5	c.G710A	p.R237Q	0.001198
PKS26	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.G2221A	p.A741T	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>DNAJC6</i>	NM_001256864	exon1	c.C32A	p.T11N	.
	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_001194947	exon2	c.G37C	p.A13P	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon48	c.A5836G	p.M1946V	0.0002

PKS27	AR	het	nonsyn SNV	<i>HTRA2</i>	NM_001321727	exon2	c.G711C	p.K237N	.
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon6	c.A484C	p.T162P	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>SYNJ1</i>	NM_001160306	exon28	c.C4036A	p.P1346T	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.001997
PKS31	AR	het	nonsyn SNV	<i>FBXO7</i>	NM_001033024	exon9	c.G1248C	p.L416F	.
	AD	het	nonsyn SNV	<i>LRRK2</i>	NM_198578	exon19	c.C2264T	p.P755L	0.001597
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_001123066	exon6	c.C418T	p.P140S	0.000998
PKS34	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon3	c.C743T	p.T248M	0.0002
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon5	c.T278C	p.I93T	0.002396
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PLA2G6</i>	NM_001004426	exon5	c.C773T	p.S258L	0.000399
PKS37	AR	het	nonsyn SNV	<i>DNAJC6</i>	NM_014787	exon1	c.A21T	p.K7N	.
PKS38	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon15	c.C1405G	p.P469A	0.000399
	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCAIP</i>	NM_001308105	exon3	c.A920G	p.Q307R	0.0002
PKS39	AR	het	nonsyn SNV	<i>SYNJ1</i>	NM_003895	exon1	c.T13C	p.W5R	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon20	c.C2183T	p.T728M	0.002396
	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141973	exon9	c.G730A	p.A244T	0.000599
	AR	het	nonsyn SNV	<i>SLC6A3</i>	NM_001044	exon5	c.G710A	p.R237Q	0.001198
PKS47	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCAIP</i>	NM_001308105	exon3	c.G637A	p.V213M	.
PKS52		het	nonsyn SNV	<i>GBA</i>	NM_001171811	exon6	c.C685T	p.R229C	.
PKS56	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon18	c.C1737A	p.D579E	0.0006
PKS57	AD	het	nonsyn SNV	<i>LRRK2</i>	NM_198578	exon2	c.A158G	p.K53R	0.0006
PKS59	AR	het	nonsyn SNV	<i>PINK1</i>	NM_032409	exon2	c.C503T	p.A168V	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon65	c.C9077T	p.A3026V	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon61	c.T8563C	p.W2855R	.
PKS60	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon18	c.C1737A	p.D579E	0.0006
PKS62	AR	het	Nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon39	c.C4436G	p.T1479S	0.0002
PKS65	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_001123066	exon10	c.C1537G	p.P513A	0.001397
PKS67	AD	het	nonsy SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon10	c.C1916A	p.T639K	.
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_001123066	exon10	c.C1537G	p.P513A	0.0014
	AR	het	nonsyn SNV	<i>SYNJ1</i>	NM_001160306	exon20	c.T2771G	p.I924R	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.001997
PKS68	AR	het	nonsyn SNV	<i>ATP13A2</i>	NM_001141974	exon25	c.G2908A	p.G970S	0.001198
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon6	c.A484C	p.T162P	.

	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCA</i>	NM_000345	exon5	c.C349T	p.P117S	0.000599
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.001997
PKS71	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_001018088	exon7	c.C457T	p.R153C	0.000799
PKS72	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon20	c.A3400G	p.M1134V	0.000998
	AR	het	nonsyn SNV	<i>PARK7</i>	NM_001123377	exon3	c.G103A	p.V35I	.
PKS82	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon6	c.A484C	p.T162P	.
	AD/AR	het	nonsyn SNV	<i>MAPT</i>	NM_016834	exon6	c.G488C	p.R163P	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon55	c.C7168T	p.P2390S	.
PKS84	AR	het	nonsyn SNV	<i>FBXO7</i>	NM_001033024	exon2	c.C155T	p.S52F	
	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCAIP</i>	NM_001308105	exon3	c.C907G	p.R303G	.
PKS89	AR	het	nonsyn SNV	<i>HTRA2</i>	NM_001321727	exon1	c.G298A	p.G100R	0.0002
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon49	c.C5999G	p.A2000G	0.001997
	AD	het	nonsyn SNV	<i>VPS35</i>	NM_018206	exon8	c.G851A	p.R284Q	.
PKS90	AD	het	nonsyn SNV	<i>SNCAIP</i>	NM_001242935	exon4	c.G181A	p.A61T	.
PKS92		het	.	.					0.000399
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon29	c.A3035C	p.E1012A	0.0002
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon18	c.C1737A	p.D579E	0.000599
PKS95	AD	het	nonsyn SNV	<i>EIF4G1</i>	NM_004953	exon8	c.G1634A	p.R545Q	.
PKS98		het	nonsyn SNV	<i>GBA</i>	NM_001171811	exon4	c.A325C	p.K109Q	.
		het	.	.			.	.	0.000399
PKS100	AD	het	nonsyn SNV	<i>GIGYF2</i>	NM_001103148	exon5	c.G269T	p.R90I	.
	AR	het	nonsyn SNV	<i>VPS13C</i>	NM_017684	exon74	c.T10152G	p.F3384L	.
PKS103	AD	het	nonsyn SNV	<i>LRRK2</i>	NM_198578	exon34	c.T4852C	p.C1618R	.
PKS110		het	nonsyn SNV	<i>GBA</i>	NM_001171811	exon6	c.G553T	p.E185X	.

PD: Parkinson disease; **LOPD:** Late-onset form of Parkinson disease; **EOPD:** Early-onset form of Parkinson disease;
nonsyn SNV: nonsynonymous single nucleotide variant; **AD:** autosomal dominant; **AR:** autosomal recessive; **hete:** heterozygous;
homo: homozygous

DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH NGHIÊN CỨU

STT	DANH SÁCH	SỐ LƯỢNG NGƯỜI BỆNH	GHI CHÚ
1	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH ĐIỀU TRỊ NỘI TRÚ TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103	18	
2	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH ĐIỀU TRỊ NGOẠI TRÚ TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103 (2 DANH SÁCH)	9	- 7 người bệnh đến khám ngoại trú tại BV 103 - 2 Người bệnh (hai anh em) tại Thái Bình lấy ngoại trú tại địa phương.
3	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH ĐIỀU TRỊ TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT TIỆP	15	Sử dụng danh sách xác nhận của đề tài cấp nhà nước.
4	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH NỘI TRÚ BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TPHCM	72/73	Sử dụng danh sách xác nhận của đề tài cấp nhà nước . (Người bệnh số 16 loại vì là người nước ngoài)
5	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH NGOẠI TRÚ BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TPHCM	21	Sử dụng danh sách xác nhận của đề tài cấp nhà nước.
6	DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN	97	

**DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU
TẠI KHOA THẦN KINH BỆNH VIỆN QUÂN Y 103**

STT	Họ và Tên	Năm sinh	Giới tính	Số hồ sơ	Ngày vào viện	Ngày ra viện
1	LÊ TUẤN A.	1986	Nam	A04-19-1343	06/05/2019	07/06/2019
2	LÊ ĐÌNH B.	1953	Nam	A04-19-2398	06/08/2019	08/10/2019
3	TRẦN NGỌC C.	1975	Nam	A04-19-2230	04/09/2019	20/09/2019
4	ĐẶNG VĂN G.	1992	Nam	A04-19-2713	15/10/2019	12/11/2019
5	VŨ THỊ TÔ H.	1972	Nữ	A04-19-923	05/03/2019	19/04/2019
6	VŨ THỊ H.	1970	Nữ	A04-19-1373	29/05/2019	21/06/2019
7	NGUYỄN NGỌC K.	1972	Nam	A04-19-1147	16/06/2020	30/06/2020
8	ĐẶNG VĂN L.	1957	Nam	A04-19-1368	20/07/2020	31/07/2020
9	ĐẶNG THỊ M.	1965	Nữ	A04-19-1198	13/05/2019	24/05/2019
10	TRỊNH THỊ P.	1970	Nữ	A04-19-2456	23/09/2019	12/10/2019
11	BUI THỊ P.	1959	Nữ	A04-20-2039	27/10/2020	10/11/2020
12	LÊ THỊ S.	1971	Nữ	A04-19-1510	30/07/2020	18/08/2020
13	VŨ THỊ T.	1963	Nữ	A04-20-1889	08/10/2020	20/10/2020
14	LÊ THỊ T.	1958	Nữ	A04-19-588	05/03/2019	19/03/2019
15	PHÍ ĐỨC T.	1952	Nam	A04-19-1699	10/06/2019	19/07/2019
16	TRẦN VĂN T.	1975	Nam	A04-21-1225	29/06/2021	13/7/2021
17	NGUYỄN THỊ U.	1964	Nữ	A04-19-1209	13/5/2019	24/5/2019



Handwritten signature in blue ink.

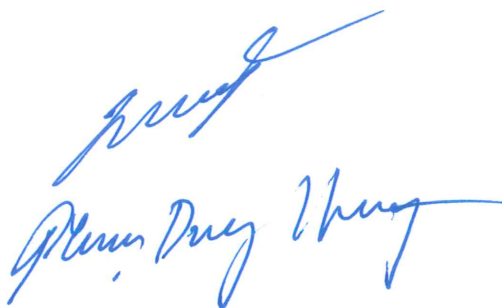
STT	Họ và Tên	Năm sinh	Giới tính	Số hồ sơ	Ngày vào viện	Ngày ra viện
18	NGUYỄN THỊ V.	1964	Nữ	A04-19-967	18/04/2019	26/04/2019

Xác nhận Bộ môn chủ quản



PGS.TS Nhữ Đình Sơn

Xác nhận phòng KHTH



Nghiên cứu sinh



ThS. Hoàng Thị Dung

Xác nhận Bệnh viện Quân y 103



**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**

**Đại tá
PGS.TS Tạ Bá Thắng**



**DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU
TẠI PHÒNG KHÁM NGOẠI TRÚ BỆNH VIỆN QUÂN Y 103**

STT	Họ và Tên	Năm sinh	Giới tính	Số hồ sơ	Ngày khám bệnh
1	NGUYỄN THỊ B.	1978	Nữ	200920073	20/9/2020
2	ĐẶNG THỊ C.	1957	Nữ	190514961	15/5/2019
3	HOÀNG THỊ H.	1974	Nữ	200513A26	13/5/2020
4	NGUYỄN TRỌNG H.	1983	Nam	190822266	22/8/2019
5	PHÍ VĂN S.	1972	Nam	201013A47	13/10/2020
6	NGUYỄN VĂN T.	1963	Nam	201202871	2/12/2020
7	BÙI THANH X.	1966	Nữ	191220546	20/12/2019

Xác nhận Bộ môn chủ quản



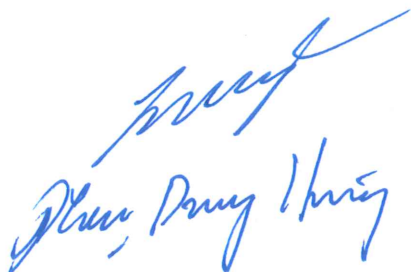
PGS.TS Nhữ Đình Sơn

Nghiên cứu sinh



ThS. Hoàng Thị Dung

Xác nhận của phòng KHTH



Xác nhận Bệnh viện Quân y 103



**Đại tá
PGS.TS Tạ Bá Thắng**

**DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGOẠI TRÚ THAM GIA NGHIÊN CỨU
TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103**

STT	Họ và tên	Năm sinh	Giới tính
1.	NGUYỄN VĂN M.	1962	Nam
2.	NGUYỄN MINH Q.	1961	Nam

**Xác nhận khoa Thần kinh
Bệnh viện Quân y 103**



PGS.TS Nhữ Đình Sơn

Ngày tháng năm 202
Người thu thập số liệu



ThS. Hoàng Thị Dung

**DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU
TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT TIỆP – HẢI PHÒNG**

*Đề tài: “Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong sàng
lọc bệnh Parkinson có yếu tố di truyền”*

STT	Họ và Tên	Số hồ sơ	Năm sinh	Giới tính
1	LÊ VĂN C.	307/2019	1967	Nam
2	PHAN VĂN Đ.	6860/19	1982	Nam
3	ĐỖ THỊ Đ.	6272/19	1968	Nữ
4	LÊ TRUNG D.	7534/2020	1955	Nam
5	NGUYỄN THỊ H.	9116/19	1967	Nữ
6	LÊ VĂN H.	8890/19	1972	Nam
7	NGUYỄN THỊ H.	8663/19	1971	Nữ
8	VŨ THỊ L.	2449/2020	1949	Nữ
9	NGUYỄN VĂN S.	4118/19	1964	Nam
10	NGUYỄN THỊ T.	9203/19	1967	Nữ
11	PHẠM VĂN T.	93/2019	1967	Nam
12	PHẠM THỊ T.	7480/19	1968	Nữ
13	NGUYỄN ĐỨC T.	5751/19	1965	Nam
14	ĐÀO THỊ THÚY V.	8850/19	1965	Nữ
15	NGUYỄN THỊ V.	9979/19	1972	Nữ

Xác nhận

Người thu thập số liệu

Bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp



PHÓ GIÁM ĐỐC

Nguyễn Thị Thu Huyền

Ths.Bs Hoàng Thị Dung

Số: 119 /GXN-BVĐHYD

Thành phố Hồ Chí Minh, ngày 23 tháng 12 năm 2020

GIẤY XÁC NHẬN
DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tên đề tài: *Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới trong sàng lọc bệnh Parkinson có yếu tố di truyền*

Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Đăng Tôn

STT	Họ và tên	Số hồ sơ	Năm sinh	Giới tính
1.	LÊ THANH T.	B08-0037931	1971	Nam
2.	Y DÊN N	N19-0159210	1972	Nam
3.	TRẦN THỊ THU H.	N18-0114650	1980	Nữ
4.	NGUYỄN THỊ MAI T.	N18-0424731	1985	Nữ
5.	TRẦN THỊ PHƯƠNG T.	N18-0121747	1975	Nữ
6.	LÊ BUỘI Đ.	N17-0166355	1979	Nam
7.	VƯƠNG PHƯỚC H.	A08-0138159	1970	Nam
8.	LÊ NGỌC H.	N17-0046537	1982	Nam
9.	NGUYỄN THỊ H.	N17-0260932	1976	Nữ
10.	ĐỖ THỊ PHƯƠNG T.	N19-0025872	1975	Nữ
11.	ĐÀM THỊ H.	A10-0093843	1975	Nữ
12.	TRẦN VĂN D.	A08-0096085	1972	Nam
13.	NGUYỄN VĂN U.	N15-0075955	1971	Nam
14.	BÙI HUYNH T.	A08-0052694	1974	Nam
15.	NGUYỄN HẢI D.	N17-0395264	1976	Nam
16.	ROS P.	N16-0317811	1955	Nữ
17.	PHẠM THỊ H.	N16-0104700	1978	Nữ
18.	VÀY QUAY P.	N18-0365456	1974	Nam
19.	NGUYỄN THỊ HỒNG L.	N18-0423021	1978	Nữ
20.	DƯƠNG HOÀNG Q.	A04-0007490	1974	Nam
21.	LÊ MINH T.	A12-0105125	1984	Nam
22.	TRƯƠNG HOÀNG T.	N14-0243151	1974	Nam
23.	ĐẬU THANH N.	N15-0085077	1978	Nữ



STT	Họ và tên	Số hồ sơ	Năm sinh	Giới tính
24.	NGUYỄN NGỌC T.	N17-0089353	1971	Nữ
25.	TRƯƠNG VĂN T.	A05-0055673	1968	Nam
26.	PHAN KIM T.	A04-0009661	1969	Nữ
27.	NGUYỄN THỊ H.	A13-0011692	1974	Nữ
28.	HUỲNH THỊ THU T.	N18-0129800	1968	Nữ
29.	NGUYỄN BỬU D.	N18-0083592	1964	Nam
30.	BÙI THỊ H.	N18-0060765	1970	Nữ
31.	LÊ THỊ ÚT N.	N18-0102981	1983	Nữ
32.	GIANG THANH B.	N17-0369232	1975	Nam
33.	NGUYỄN THỊ THU H.	B11-0014100	1977	Nữ
34.	NGÔ VĂN Q.	N17-0001383	1976	Nam
35.	NGUYỄN TRẦN ÁI N.	N15-0061136	1979	Nữ
36.	THÁI THỊ T.	A06-0123596	1973	Nữ
37.	TRẦN THỊ TRUNG K.	N19-0080771	1978	Nữ
38.	TRẦN ĐĂNG M.	N14-0178697	1977	Nam
39.	LƯƠNG THỊ NGỌC L.	N14-0198506	1978	Nữ
40.	NGUYỄN ANH T.	N17-0416756	1983	Nam
41.	VÕ HỒNG S.	A09-0105474	1978	Nam
42.	PHẠM HỒNG Q.	A10-0147069	1979	Nam
43.	HUỲNH BÁ H.	N14-0227711	1976	Nam
44.	PHẠM THỊ N.	N18-0306321	1986	Nữ
45.	HOÀNG VĂN D.	A09-0159922	1967	Nam
46.	DƯƠNG THỊ N.	N16-0250801	1985	Nữ
47.	VÕ P.	N19-0104925	1982	Nam
48.	LÊ VĂN L	N17-0029164	1979	Nam
49.	LÊ VĂN C.	N19-0141836	1983	Nam
50.	PHẠM VĂN D.	N14-0354469	1971	Nam
51.	ĐẶNG KHẢI H.	N19-0268075	1970	Nam
52.	HOÀNG THỊ L.	N19-0066677	1982	Nữ
53.	TRỊNH VĂN H.	N19-0318481	1981	Nam
54.	PHẠM THỊ Q.	N17-0267421	1976	Nữ
55.	CAO THỊ T.	A11-0135269	1976	Nữ

STT	Họ và tên	Số hồ sơ	Năm sinh	Giới tính
56.	NGÔ XUÂN N.	N19-0033619	1980	Nam
57.	MẠCH THỊ MỸ H.	N19-0356863	1981	Nữ
58.	BÙI LIỄU T.	A07-0129019	1962	Nữ
59.	NGUYỄN MẠNH H.	A09-0213590	1972	Nam
60.	NGUYỄN THỊ THU T.	N18-0330173	1975	Nữ
61.	NGUYỄN THỊ G.	N15-0308275	1979	Nữ
62.	TRẦN THỊ N.	N19-0179369	1973	Nữ
63.	LÊ CHÍ H.	N19-0306190	1980	Nam
64.	NGUYỄN BÁ H.	N19-0410112	1977	Nam
65.	PHẠM VĂN T.	N19-0418174	1981	Nam
66.	PHAN VĂN L.	N14-0097866	1971	Nam
67.	LÊ CẨM T.	N19-0392465	1982	Nam
68.	PHÙ THỊ KIM L.	N19-0106164	1973	Nữ
69.	VÕ THẾ M.	N19-0138281	1982	Nam
70.	HOÀNG THỊ DIỆU T.	N17-0375131	1980	Nữ
71.	NGUYỄN THẾ N.	N19-0406753	1974	Nam
72.	VŨ VĂN N.	N15-0281948	1984	Nam
73.	NGÔ VĂN Q.	A10-0270777	1966	Nam

TL. GIÁM ĐỐC
TRƯỞNG PHÒNG KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO



**DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGOẠI TRÚ THAM GIA NGHIÊN CỨU
TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

STT	Họ và tên	Năm sinh	Giới tính
1	CHÂU HẬU Q.	1983	Nam
2	VÕ VĂN T.	1972	Nam
3	TRƯỜNG MẠNH H.	1968	Nam
4	ÂU NGỌC TH.	1982	Nữ
5	ÂU NGỌC L.	1988	Nữ
6	ÂU NGỌC PH.	1985	Nữ
7	TRẦN THỊ THANH X.	1977	Nữ
8	ĐỖ THỊ L.	1975	Nữ
9	TRẦN KHÁNH D.	1977	Nam
10	NGÔ NGỌC M.	1982	Nam
11	ĐỖ THỊ MINH O.	1980	Nữ
12	HUỲNH THỊ QUỲNH A.	1974	Nữ
13	CAO TIẾN D.	1986	Nam
14	VÕ THÀNH TH.	1981	Nam
15	ĐỒNG MINH Đ.	1980	Nam
16	PHẠM TRUNG C.	1976	Nam
17	PHẠM ĐỨC M.	1977	Nam

STT	Họ và tên	Năm sinh	Giới tính
18	NGÔ THỊ BÍCH N.	1986	Nữ
19	NGUYỄN THỊ YẾN L.	1967	Nữ
20	NGUYỄN VĂN K.	1974	Nam
21	ĐẶNG VĂN N.	1964	Nam

Xác nhận


TS.BS. Trần Ngọc Tài
A07-158

Nghiên cứu viên


ThS.Bs Hoàng Thị Dung

DANH SÁCH BỆNH NHÂN XÉT NGHIỆM GEN

(Sử dụng cho đề tài: “Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và biến đổi gen ở bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm”).

STT	Ký hiệu mẫu	Họ và tên	Năm sinh	Giới
1	PKS14	Lê Tuấn A.	1986	Nam
2	PKS43	Giang Thanh B.	1975	Nam
3	PKS74	Trần Ngọc Ch.	1975	Nam
4	PKS4	Lê Văn Ch.	1967	Nam
5	PKS92	Lê Văn C.	1983	Nam
6	PKS105	Phạm Trung C.	1976	Nam
7	PKS100	Đồng Minh Đ.	1982	Nam
8	PKS60	Trần Khánh D.	1977	Nam
9	PKS90	Cao Tiến D.	1986	Nam
10	PKS81	Phan Văn Đ.	1984	Nam
11	PKS9	Đỗ Thị Đ.	1968	Nữ
12	PKS22	Lê Buội Đ.	1979	Nam
13	PKS95	Phạm Văn D.	1971	Nam
14	PKS73	Hoàng Văn D.	1967	Nam
15	PKS38	Nguyễn Bửu D.	1964	Nam
16	PKS29	Trần Văn D.	1972	Nam
17	PKS32	Nguyễn Hải D.	1976	Nam
18	PKS110	Nguyễn Thị G.	1979	Nữ
19	PKS83	Đặng Văn G.	1992	Nam
20	PKS113	Lê Chí H.	1980	Nam
21	PKS25	Nguyễn Thị H.	1976	Nữ
22	PKS37	Bùi Thị H.	1970	Nữ
23	PKS41	Nguyễn Thị H.	1974	Nữ
24	PKS56	Nguyễn Thị Thu H.	1977	Nữ
25	PKS28	Đàm Thị H.	1975	Nữ



STT	Ký hiệu mẫu	Họ và tên	Năm sinh	Giới
26	PKS71	Huỳnh Bá H.	1976	Nam
27	PKS2	Vũ Thị Tô H.	1972	Nữ
28	PKS10	Nguyễn Thị H.	1969	Nữ
29	PKS24	Lê Ngọc H.	1982	Nam
30	PKS78	Lê Văn H.	1972	Nam
31	PKS102	Mạch Thị Mỹ H.	1983	Nữ
32	PKS19	Trần Thị Thu H.	1980	Nữ
33	PKS34	Phạm Thị H.	1978	Nữ
34	PKS13	Vũ Thị H.	1970	Nữ
35	PKS23	Vương Phước H.	1970	Nam
36	PKS84	Nguyễn Trọng H.	1983	Nam
37	PKS76	Nguyễn Thị H.	1971	Nữ
38	PKS98	Trịnh Văn H.	1981	Nam
39	PKS31	Bùi Huỳnh T.	1974	Nam
40	PKS65	Trần Thị Trung K.	1978	Nữ
41	PKS104	Nguyễn Văn K.	1974	Nam
42	PKS96	Hoàng Thị L.	1982	Nữ
43	PKS59	Đỗ Thị L.	1975	Nữ
44	PKS68	Lương Thị Ngọc L.	1978	Nữ
45	PKS52	Nguyễn Thị Hồng L.	1978	Nữ
46	PKS7	Vũ Thị L.	1951	Nữ
47	PKS54	Âu Ngọc L.	1988	Nữ
48	PKS66	Trần Đăng M.	1977	Nam
49	PKS61	Ngô Ngọc M.	1982	Nam
50	PKS86	Nguyễn Văn M.	1962	Nam
51	PKS106	Phạm Đức M.	1977	Nam
52	PKS11	Đặng Thị M.	1965	Nữ
53	PKS15	Đặng Văn N.	1964	Nam

STT	Ký hiệu mẫu	Họ và tên	Năm sinh	Giới
54	PKS49	Đậu Thanh N.	1978	Nữ
55	PKS111	Ngô Thị Bích N.	1986	Nữ
56	PKS63	Nguyễn Trần Ái N.	1979	Nữ
57	PKS88	Dương Thị N.	1985	Nữ
58	PKS109	Trần Thị N.	1973	Nữ
59	PKS51	Lê Thị Út N.	1983	Nữ
60	PKS18	Y Dên N.	1972	Nữ
61	PKS72	Phạm Thị N.	1986	Nữ
62	PKS62	Đỗ Thị Minh O.	1980	Nữ
63	PKS89	Võ Ph.	1982	Nam
64	PKS48	Vầy Quay Ph.	1974	Nam
65	PKS85	Trịnh Thị Ph.	1970	Nữ
66	PKS55	Âu Ngọc Ph.	1985	Nữ
67	PKS86.A	Nguyễn Minh Q.	1961	Nam
68	PKS70	Phạm Hồng Q.	1979	Nam
69	PKS42	Dương Hoàng Q.	1974	Nam
70	PKS27	Châu Hậu Q.	1983	Nam
71	PKS57	Ngô Văn Q.	1976	Nam
72	PKS69	Võ Hồng S.	1978	Nam
73	PKS5	Phạm Văn Th.	1967	Nam
74	PKS53	Âu Ngọc Th.	1982	Nữ
75	PKS99	Cao Thị Th.	1976	Nữ
76	PKS8	Phạm Thị Th.	1969	Nữ
77	PKS64	Thái Thị Th.	1973	Nữ
78	PKS93	Võ Thành Th.	1981	Nam
79	PKS1	Lê Thị Th.	1958	Nữ
80	PKS47	Phan Kim Th.	1969	Nữ
81	PKS26	Đỗ Thị Phương Th.	1971	Nữ

STT	Ký hiệu mẫu	Họ và tên	Năm sinh	Giới
82	PKS77	Nguyễn Đức Th.	1966	Nam
83	PKS46	Lê Minh Th.	1984	Nam
84	PKS108	Nguyễn Thị Thu Th.	1975	Nữ
85	PKS103	Bùi Liễu T.	1962	Nữ
86	PKS20	Nguyễn Thị Mai T.	1985	Nữ
87	PKS21	Trần Thị Phương T.	1975	Nữ
88	PKS36	Nguyễn Ngọc T.	1971	Nữ
89	PKS39	Trương Hoàng T.	1974	Nam
90	PKS67	Nguyễn Anh T.	1983	Nam
91	PKS16	Lê Thanh T.	1971	Nam
92	PKS12	Nguyễn Thị Ú.	1964	Nữ
93	PKS30	Nguyễn Văn Ú.	1971	Nam
94	PKS75	Đào Thị Thúy V.	1966	Nữ
95	PKS82	Nguyễn Thị V.	1972	Nữ
96	PKS3	Nguyễn Thị V.	1964	Nữ
97	PKS58	Trần Thị Thanh X.	1977	Nữ

Xác nhận

Hà Nội, Ngày 15 tháng 5 năm 2024

VIỆN NGHIÊN CỨU HỆ GEN

Nghiên cứu sinh



TL. VIỆN TRƯỞNG
TRƯỞNG PHÒNG QLTH

Nguyễn Thiên Tạo

Ths. Bs Hoàng Thị Dung

