

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

LÊ HỮU PHƯỚC

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG,  
CẬN LÂM SÀNG VÀ ĐỘT BIẾN GEN *ATP7B*  
TRÊN BỆNH NHÂN WILSON NGƯỜI LỚN

CHUYÊN NGÀNH: NỘI TIÊU HÓA

MÃ SỐ: 62722001

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH, NĂM 2023

Công trình được hoàn thành tại:

**Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh**

Người hướng dẫn khoa học:

**1. PGS.TS. BÙI HỮU HOÀNG**

**2. PGS.TS. HOÀNG ANH VŨ**

Phản biện 1: .....

Phản biện 2: .....

Phản biện 3: .....

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp Trường học  
tại: Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

Vào lúc .... giờ .... phút, ngày .... tháng .... năm .....

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp Thành phố Hồ Chí Minh
- Thư viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

## GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Bệnh Wilson là một bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, do đột biến gen *ATP7B*, được phát hiện vào năm 1912. Tỷ lệ mắc bệnh khoảng 1/30.000 trẻ sinh ra và người lành mang gen bệnh dao động 1/90-1/150, được xếp vào nhóm bệnh hiếm gặp. Đây là căn bệnh vô cùng phức tạp, biểu hiện lâm sàng đa dạng, tổn thương nhiều cơ quan. Bệnh nhân có thể đến khám tại các chuyên khoa: nội thần kinh, tiêu hóa, gan mật, xương khớp, huyết học... Trong cùng một thể lâm sàng nhưng triệu chứng lại khác nhau giữa các bệnh nhân. Ba dấu hiệu được xem là “đặc trưng” của bệnh Wilson (vòng Kayser-Fleischer, nồng độ ceruloplasmin máu giảm, đồng niệu 24 giờ tăng) cũng rất thay đổi, có thể không xuất hiện. Do đó, việc chẩn đoán sớm càng trở nên khó khăn, thách thức.

Năm 1993, nguyên nhân gây bệnh Wilson được phát hiện là do đột biến gen *ATP7B*. Từ thời điểm mang tính lịch sử này, các nhà khoa học rất lạc quan, tin rằng bệnh sẽ được phát hiện sớm. Tuy nhiên, phân tích gen gặp nhiều khó khăn do kích thước gen lớn, đột biến rất đa dạng. Tần suất, kiểu đột biến cũng khác nhau tùy theo quốc gia, chủng tộc. Tính đa dạng trong đột biến tạo nên tính đa dạng trong kiểu gen, làm cho việc xác định mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson rất phức tạp.

Như vậy, hơn 100 năm từ khi được phát hiện, bệnh Wilson vẫn là căn bệnh nguy hiểm, phức tạp. *Nguy hiểm* bởi nếu không được điều trị, bệnh nhân sẽ tử vong. *Phức tạp* vì biểu hiện bệnh đa dạng, thay đổi từ triệu chứng lâm sàng, sinh hóa cho đến sinh học phân tử. Điều quan trọng là chúng ta có thể ngăn chặn sự tiến triển, làm thay đổi tiên lượng của căn bệnh phức tạp này. Việc điều trị đặc biệt hiệu quả ở những

bệnh nhân được phát hiện sớm, giúp cho họ có cuộc sống gần như bình thường. Brewer G.J. từng nói với bệnh nhân: “Chúng ta không may khi mắc phải căn bệnh di truyền nhưng nếu gặp, hãy là bệnh Wilson vì đây là bệnh có thể điều trị được”. Brewer G.J. cũng từng nói với đồng nghiệp: “Thầy thuốc chúng ta nếu bỏ sót bệnh Wilson sẽ có lỗi rất lớn, chẳng những chúng ta không cứu được bệnh nhân mà còn các thành viên trong gia đình họ”. Tại Việt Nam, đã có một số công trình nghiên cứu bệnh Wilson như khảo sát đặc điểm lâm sàng, sinh hóa. Gần đây, các nghiên cứu về đột biến gen *ATP7B* đã được thực hiện. Phần lớn các nghiên cứu được tiến hành ở bệnh nhân Wilson trẻ em. Do đó chúng tôi thực hiện đề tài “Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen *ATP7B* trên bệnh nhân Wilson người lớn” với mong muốn góp phần hoàn thiện “bức tranh” về bệnh cảnh lâm sàng của bệnh nhân Wilson Việt Nam - tạo cơ sở cho việc chẩn đoán sớm. Ngoài ra, chúng tôi cũng mong muốn tìm hiểu phổ đột biến gen *ATP7B* trên bệnh nhân Việt Nam, cũng như mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh Wilson - tạo cơ sở cho việc tiên lượng bệnh.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu**

- Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân Wilson.

- Xác định tỷ lệ và đặc điểm đột biến gen *ATP7B*.

- Khảo sát mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh Wilson.

## **3. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn**

- Đây là một trong những nghiên cứu mới, đầy đủ nhất về bệnh Wilson bao gồm đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen *ATP7B* cũng như mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh. Mặc dù đây là bệnh di truyền hiếm gặp, chúng tôi đã thu thập được số lượng bệnh nhân khá lớn (66 bệnh nhân).

- Nghiên cứu đã mô tả rõ ràng đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng. Các dấu hiệu đặc trưng của bệnh Wilson: đồng niệu 24 giờ tăng (93,9%), nồng độ ceruloplasmin máu giảm (92,4%), sự hiện diện vòng Kayser-Fleischer (78,8%), tổn thương não trên MRI (68,2%). Ngoài các triệu chứng phổ biến đã được báo cáo tại Việt Nam (triệu chứng gan mật, thần kinh, huyết học), chúng tôi phát hiện thêm 2 dấu hiệu là rối loạn kinh nguyệt (34,8%) và viêm khớp ngoại biên (24,2%). Các dấu hiệu này xuất hiện với tỷ lệ không nhỏ, nếu chú ý sẽ góp phần chẩn đoán, không bỏ sót bệnh Wilson.

- Kết quả phân tích đột biến gen *ATP7B*: Chúng tôi phát hiện 33 loại đột biến, trong đó có 03 đột biến mới chưa được công bố theo ACMG.

- Nghiên cứu của chúng tôi cũng tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về đột biến gen *ATP7B* trên bệnh nhân Việt Nam, đặc biệt mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh Wilson.

#### **4. Bộ cục luận án**

Luận án có 114 trang bao gồm: phần đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu 02 trang, tổng quan tài liệu 33 trang, phương pháp nghiên cứu 16 trang, kết quả 27 trang, bàn luận 33 trang, kết luận và kiến nghị 03 trang. Luận án được trình bày với 16 hình, 41 bảng, 03 biểu đồ, 04 sơ đồ. Nghiên cứu sinh đã tham khảo 104 tài liệu, trong đó 16 tài liệu tham khảo tiếng Việt, 88 tài liệu tham khảo tiếng Anh; có 25 tài liệu mới trong vòng 05 năm (24%).

## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. Bệnh sinh

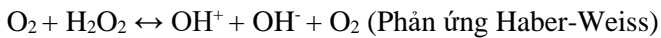
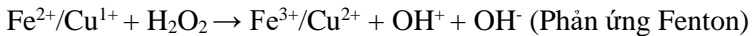
#### 1.1.1. Chuyển hóa đồng trong cơ thể

Đồng là một nguyên tố vi lượng cần thiết cho sự phát triển cơ thể con người. Đồng liên quan đến nhiều con đường chuyển hóa trong tế bào, đóng vai trò là một cofactor của các loại enzyme. Đồng tham gia trong cấu tạo một số enzyme quan trọng như hydroxylase, oxydase... Trong trường hợp thiếu đồng (bệnh Menkes, cắt ruột non hoặc chế độ ăn không thích hợp...) thì sự phát triển của hệ thần kinh, hệ miễn dịch, cấu trúc mô liên kết có thể bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Ngược lại, nếu lượng đồng quá dư thừa (bệnh Wilson) sẽ lắng đọng và làm tổn thương các cơ quan, dẫn đến tử vong. Đồng còn có vai trò như chất bảo vệ chống lại các stress oxi hóa trong nhiều cơ quan, bao gồm cả hệ thần kinh trung ương. Ngoài ra, đồng còn có vai trò quan trọng trong chuyển hóa sắt, là một cofactor của ceruloplasmin, oxi hóa  $Fe^{2+}$  thành  $Fe^{3+}$ . Tổng lượng đồng trong máu được cân bằng bởi quá trình hấp thu từ ruột non và thải trừ qua đường mật. Hàng ngày, đồng được hấp thu với một lượng cố định từ thức ăn, trung bình 1-1,6 mg.

#### 1.1.2. Độc tính của đồng tự do

Đồng là yếu tố rất cần thiết cho cuộc sống nhưng vô cùng độc hại nếu ở trạng thái tự do hay ion. Bình thường, hơn 70% lượng đồng tồn tại trong phân tử ceruloplasmin, 20% được gắn kết với albumin, 7-15% gắn kết với transcuprein và 2-5% gắn kết với amino acid. Khi ở dạng kết hợp, đồng không có độc tính. Trong bệnh Wilson, tổng lượng đồng huyết thanh giảm (do ceruloplasmin giảm) nhưng đồng tự do lại tăng. Chính lượng đồng tự do này sẽ gây tổn thương tế bào nếu tình trạng quá tải kéo dài.

Đồng là một nguyên tố có tính oxi hóa-khử, có khả năng dịch chuyển từ dạng  $\text{Cu}^{2+}$  thành  $\text{Cu}^{1+}$  và ngược lại. Có nhiều tranh cãi về cơ chế gây tổn thương tế bào do đồng, gần đây một giả thuyết được chấp nhận là phản ứng giữa đồng và sắt tạo thành gốc hydroxyl.



Các ion đồng tự do sẽ tạo ra các gốc hydroxyl, gây phản ứng oxi hóa lan tỏa, làm tổn hại tế bào. Stress oxi hóa do gốc hydroxyl tấn công trực tiếp các amino acid, gây tổn thương ty thể, hủy hoại màng bào tương, phá vỡ cấu trúc DNA. Những tổn thương này không chỉ gây viêm, kích thích quá trình xơ hóa mà còn dẫn đến loạn sản hoặc hủy hoại tế bào gan. Cơ chế tác động thứ hai là đồng tự do ức chế một số protein chức năng, làm suy giảm hoạt độ các enzyme chống oxi hóa. Thêm vào đó, lượng đồng tự do tăng cao đã làm suy giảm protein X - chất ức chế hiện tượng tế bào chết theo chương trình, kết quả gây hủy hoại hàng loạt tế bào.

## 1.2. Vai trò của gen *ATP7B* trong chuyển hóa đồng

Quá trình tổng hợp ceruloplasmin và đào thải đồng qua đường mật phụ thuộc vào chức năng của gen *ATP7B*. Gen *ATP7B* mã hóa cho enzyme ATPase, đây là một protein có tác dụng như một chiếc bơm vận chuyển đồng qua màng tế bào. Tuy nhiên, vai trò của protein này trong việc điều hòa quá trình chuyển hóa đồng ở trạng thái bình thường cũng như khi mắc bệnh Wilson vẫn chưa được rõ. Giả thuyết được đưa ra là enzym *ATP7B* chịu trách nhiệm trong việc vận chuyển đồng để thành lập phân tử ceruloplasmin và đào thải đồng dư thừa qua đường mật. Trong trường hợp hàm lượng đồng bình thường, enzym *ATP7B* định vị trong thể Golgi của tế bào gan, giúp gắn kết đồng vào phân tử

ceruloplasmin và phóng thích vào hệ tuần hoàn. Khi lượng đồng trong tế bào gan gia tăng, enzym ATP7B sẽ di chuyển từ thể Golgi ra bào tương để thúc đẩy quá trình bài tiết đồng qua đường mật. Khi gen *ATP7B* bị đột biến sẽ dẫn đến tích lũy đồng trong mô, đây là điểm cốt lõi trong cơ chế bệnh sinh của bệnh Wilson.

### **1.3. Tình hình nghiên cứu bệnh Wilson tại Việt Nam và thế giới**

#### **1.3.1. Tình hình nghiên cứu bệnh Wilson trên thế giới**

Hiện nay các nhà khoa học đi sâu tìm hiểu đột biến gen *ATP7B* cũng như mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson. Hầu hết các trường hợp bệnh Wilson có kiểu gen dị hợp tử kép. Hơn 600 loại đột biến của gen *ATP7B* đã được phát hiện. Kiểu đột biến thường gặp là thay thế nucleotid dẫn đến sai nghĩa, vô nghĩa; tiếp theo là thêm/mất nucleotid và cuối cùng là bất thường nối ghép intron. Kiểu đột biến hiếm gặp bao gồm: mất toàn bộ exon, đột biến vùng promoter.

Đột biến p.His1069Gln trên exon 14 là loại đột biến thường gặp ở bắc Mỹ và đông Âu, chiếm tỷ lệ 30-72%. Ngược lại, đột biến p.Arg778Leu trên exon 8 thường gặp trên quần thể châu Á, chiếm tỷ lệ 14-49%. Mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson rất phức tạp do đột biến gen đa dạng, dị hợp tử kép chiếm ưu thế. Tính đa dạng trong kiểu hình bệnh Wilson có lẽ do sự kết hợp bởi các yếu tố: gen, chuyển hóa, môi trường. Nói chung, các đột biến xảy ra ở vùng chức năng quan trọng của protein ATP7B hoặc đột biến cắt cụt protein thường có tuổi khởi phát sớm với triệu chứng về gan chiếm ưu thế. Ngược lại, các đột biến điểm trong vùng chức năng ít quan trọng của protein ATP7B thường có tuổi khởi phát muộn với triệu chứng thần kinh nổi bật. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng hầu hết bệnh nhân với đột biến p.Arg778Leu có tuổi khởi phát sớm, thể lâm sàng gan mật.

Vòng Kayser-Fleischer dường như xuất hiện nhiều hơn ở những bệnh nhân đồng hợp tử p.His1069Gln so với dị hợp tử kép.

### 1.3.2. Tình hình nghiên cứu bệnh Wilson tại Việt Nam

- Từ 1997-2003: Lê Đức Hình nghiên cứu “Đặc điểm lâm sàng của bệnh Wilson ở bệnh nhân Việt Nam”. Qua nghiên cứu 60 trường hợp bệnh Wilson cho thấy triệu chứng lâm sàng khá đa dạng: triệu chứng thần kinh, tâm thần, gan mật, mắt (vòng Kayser-Fleischer xuất hiện 71,6% các trường hợp). Nồng độ ceruloplasmin máu giảm thấp trên toàn bộ bệnh nhân.

- Năm 2005: Thái Duy Thành nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng 29 trường hợp bệnh Wilson tại bệnh viện Bạch Mai. Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện lâm sàng hay gặp là: triệu chứng tâm-thần kinh, triệu chứng tiêu hóa. Biểu hiện ở mắt: vòng Kayser-Fleischer (86,2%), đục thủy tinh thể kiểu hoa hướng dương (17,2%). Tương tự, kết quả nghiên cứu của Quách Nguyễn Thu Thủy cho thấy biểu hiện của bệnh Wilson thường gặp là: triệu chứng tiêu hóa-gan mật, triệu chứng tâm-thần kinh.

- Năm 2015: Hoàng Anh Vũ và Phan Thị Xinh khảo sát đột biến gen *ATP7B* trong bệnh Wilson bằng kỹ thuật giải trình tự chuỗi DNA. Đột biến gen *ATP7B* được phát hiện trên 8 bệnh nhân, trong đó có 2 trường hợp đột biến đồng hợp tử, 1 trường hợp đột biến dị hợp tử đơn và 5 trường hợp đột biến dị hợp tử kép. Không có đột biến nào của vùng khởi động gen được phát hiện. Các đột biến được phát hiện trên exon 2 (c.525-526insA và c.314C>A), exon 8 (c.2333G>T và c.2304-2305insC), exon 11 (c.2705T>C), exon 13 (c.2975C>T), exon 14 (c.3079G>C) và exon 20 (c.4112T>C). Trong số đó, 2 đột biến c.2705T>C và c.3079G>C là đột biến mới chưa được công bố trên thế giới.

- Năm 2016: Đỗ Thanh Hương nghiên cứu đột biến gen *ATP7B* và mối tương quan kiểu gen-kiểu hình 60 bệnh nhân Wilson. Tác giả phát hiện 26 đột biến của gen *ATP7B*, trong đó 3 đột biến chiếm tỷ lệ cao nhất là c.75C>A (26,9%), p.S105X (26,9%) và p.R778L (9,62%).

- Năm 2017: Hoàng Lê Phúc nghiên cứu đột biến gen 36 bệnh nhân Wilson, phát hiện ra 20 loại đột biến trên 13 exon và 2 intron của gen *ATP7B*. Các đột biến thường gặp nhất là D1027H (16,7%), T850I (10,4%), P1273Q (8,3%). Trong đó có 8 đột biến mới, chưa được y văn mô tả là: T850I, P868-fs, L902P, L1015R, D1027H, L1333fsX59, IVS15-2:A>G và IVS20+3:A>G. Vị trí đột biến thường gặp là exon 2, 8, 10, 14, 18 và 20. Về mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson, tác giả ghi nhận tất cả các trường hợp kiểu gen đồng hợp tử đều có vòng Kayser-Fleischer và nồng độ ceruloplasmin máu thấp. Tuy nhiên, đồng niệu 24 giờ không cao trong tất cả các trường hợp này.

- Năm 2019: Nguyễn Thị Mai Hương và Nguyễn Phạm Anh Hoa nghiên cứu “Phát hiện sớm người mắc bệnh Wilson chưa có biểu hiện lâm sàng bằng xét nghiệm di truyền phân tử”. Nghiên cứu được tiến hành trên 23 thành viên trong một gia đình gồm 3 thế hệ của một bệnh nhân Wilson được sàng lọc đột biến V176fsX28 và P1273Q trên gen *ATP7B* bằng kỹ thuật giải trình tự gen. Kết quả nghiên cứu đã phát hiện thêm 1 bệnh nhân Wilson bị đột biến dị hợp tử kép; 10 người mang gen bệnh và 12 người không bị đột biến gen.

Nhìn chung, các nghiên cứu về bệnh Wilson tại Việt Nam phần lớn khảo sát trên trẻ em. Đặc điểm lâm sàng trong các nghiên cứu trên tương đối giống nhau, thường là các triệu chứng về gan, thần kinh, vòng Kayser-Fleischer ở mắt. Chúng tôi không tìm thấy các triệu chứng được mô tả trong y văn thế giới như: thiếu máu tán huyết, rối

loạn kinh nguyệt, viêm khớp ngoại biên mà các dấu hiệu này có thể góp phần chẩn đoán. Hiện nay, các nghiên cứu về đột biến gen *ATP7B* cũng như mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson đã được thực hiện trên cả nước. Gần đây, 2 luận án tiến sĩ về đề tài này đã được thực hiện bởi Đỗ Thanh Hương và Hoàng Lê Phúc. Đỗ Thanh Hương nghiên cứu 60 bệnh nhân với mục tiêu: mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và mối tương quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson. Hoàng Lê Phúc nghiên cứu 54 bệnh nhân (36 bệnh nhân được phân tích đột biến gen) với mục tiêu: mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, đặc điểm đột biến gen *ATP7B* và mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson. Nhưng cả 2 nghiên cứu này đều được khảo sát trên bệnh nhi. Như chúng ta đã biết, biểu hiện lâm sàng, thể lâm sàng khác nhau tùy theo lứa tuổi. Đặc biệt, dấu hiệu rối loạn kinh nguyệt không thể tìm thấy ở lứa tuổi nhi đồng. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài “Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đột biến gen *ATP7B* trên bệnh nhân Wilson người lớn” nhằm bổ sung các tồn tại trong những nghiên cứu trước đây. Thực sự đây là chủ đề nóng, thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học cũng như bác sĩ lâm sàng. Gen *ATP7B* có kích thước lớn, đột biến đa dạng, lại khác nhau theo chủng tộc và vùng địa lý. Phổ đột biến gen của bệnh nhân Wilson người Việt Nam như thế nào? Các khảo sát về đột biến gen *ATP7B* trong thời gia qua bước đầu phác họa phổ đột biến gen của bệnh Wilson người Việt Nam, cần các nghiên cứu tiếp theo.

## **CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Thiết kế nghiên cứu**

Nghiên cứu mô tả cắt ngang

## **2.2. Đối tượng nghiên cứu**

- **Dân số mục tiêu:** tất cả các bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Wilson
- **Dân số chọn mẫu:** các trường hợp được chẩn đoán bệnh Wilson tại Bệnh viện Chợ Rẫy trong khoảng thời gian từ 6/2015-6/2019.

### **- Tiêu chuẩn nhận bệnh**

+ Đủ tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Wilson theo thang điểm Leipzig (tổng số điểm  $\geq 4$ )

+ Bệnh nhân  $\geq 16$  tuổi

+ Đồng ý tham gia nghiên cứu

### **- Tiêu chuẩn loại trừ**

+ Các bệnh thần kinh có triệu chứng ngoại tháp (được khám chuyên khoa nội thần kinh).

+ Bệnh Wilson đã được điều trị

## **2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Thời gian nghiên cứu: từ 6/2015-6/2019

- Địa điểm nghiên cứu: Khoa Viêm Gan, Khoa Nội Tiêu Hóa, Khoa Nội Thần Kinh, Khoa Mắt, Khoa Chẩn Đoán Hình Ảnh (Bệnh viện Chợ Rẫy); Trung tâm Sinh học phân tử (Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh).

## **2.4. Cỡ mẫu của nghiên cứu**

- Do đây là bệnh di truyền hiếm gặp, chúng tôi không tính cỡ mẫu mà lấy mẫu toàn bộ, gồm tất cả bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Wilson theo thang điểm Leipzig trong thời gian nghiên cứu.

- Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện, dựa theo tiêu chuẩn nhận bệnh và loại trừ trong thời gian nghiên cứu.

## **2.5. Xác định các biến số**

Các biến số nghiên cứu được định nghĩa và liệt kê chi tiết.

## **2.6. Phương pháp và công cụ đo lường, thu thập số liệu**

### 2.6.1. Khám mắt tìm vòng Kayser-Fleischer

Thực hiện tại Khoa Mắt, Bệnh viện Chợ Rẫy

### 2.6.2. Định lượng ceruloplasmin máu:

- Được thực hiện tại khoa sinh hóa, Bệnh viện Chợ Rẫy.
- Phương pháp: đo độ đục ở bước sóng 340nm.
- Giá trị bình thường 20-40 mg/dL

### 2.6.3. Định lượng đồng niệu:

- Thực hiện tại khoa sinh hóa, Bệnh viện Chợ Rẫy.
- Phương pháp: phát hiện bằng phương pháp so màu.
- Giá trị bình thường:  $\leq 40 \mu\text{g}/24 \text{ giờ}$ .

Khoa sinh hóa Bệnh viện Chợ Rẫy được nội kiểm mỗi ngày, ngoại kiểm mỗi năm 2 lần. Hiện đạt chứng nhận ISO 15189.

### 2.6.4. Chụp cộng hưởng từ sọ não

Thực hiện tại Khoa Chẩn Đoán Hình Ảnh, Bệnh viện Chợ Rẫy.

### 2.6.5. Phân tích đột biến gen *ATP7B*

Thực hiện tại Trung tâm Y sinh học phân tử, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh theo quy trình sau: Quy trình giải trình tự DNA toàn bộ 21 exon và vùng promoter của gen *ATP7B* bằng kỹ thuật giải trình tự DNA của Sanger.

- Tách chiết genomic DNA từ mẫu máu: Tiến hành lấy 2 ml máu tĩnh mạch, cho vào ống chống đông có EDTA, lắc đều nhẹ nhàng. Genomic DNA được tách chiết trong vòng 24 giờ bằng bộ kit illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit (GE Healthcare, Anh) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

- Thiết kế các đoạn mồi: Các đoạn mồi được thiết kế bằng phần mềm CLC Main Workbench dựa trên trình tự chuẩn của gen *ATP7B* mang accession number NG\_008806 trong GenBank. Vị trí mồi nằm trên các intron, cách vị trí tiếp giáp exon – intron ít nhất 50 bp để có

thể khuếch đại được toàn bộ các exon và vùng tiếp giáp exon – intron. Mỗi được đặt tổng hợp bởi Integrated DNA Technologies (Mỹ). Các cặp mồi đã được chứng minh có hiệu quả qua các nghiên cứu trước đó.

- Thiết lập điều kiện cho PCR: Mỗi tube PCR có thể tích 25  $\mu$ l chứa các thành phần: PCR buffer, dNTP (250  $\mu$ M cho mỗi loại), 2 mồi xuôi và ngược (0,5  $\mu$ M cho mỗi loại), 1,25U TaKaRa Taq™ HotStart Polymerase (Takara, Nhật Bản) và 50-100 ng genomic DNA. Chu trình luân nhiệt cho PCR được thực hiện trên máy Mastercycler@Pro S (Eppendorf, Đức). Các phản ứng luôn kèm theo một chứng âm không chứa DNA để kiểm soát ngoại nhiễm.

- Kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di trên thạch agarose: Sản phẩm PCR được phát hiện bằng điện di trên thạch agarose 1,5% có nhuộm ethidium bromide và quan sát dưới hệ thống chụp ảnh điện di Geldoc-It™ (UVP, Mỹ).

- Tinh sạch sản phẩm: Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Anh) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

- Giải trình tự bằng phương pháp Sanger: Sản phẩm PCR đã tinh sạch sẽ được thực hiện phản ứng cycle sequencing với BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Mỹ) theo hai chiều xuôi và ngược. Sản phẩm sau đó được kết tủa bằng ethanol, hòa tan trong Hi-Di formamide, biến tính ở 95°C trước khi làm lạnh đột ngột. Trình tự DNA được đọc bằng máy ABI 3500 Genetic Analyzer, với POP-7 polymer và capillary 50 cm (Applied Biosystems, Mỹ).

- Phân tích kết quả giải trình tự: Kết quả giải trình tự sẽ được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench, so sánh với trình tự chuẩn của gen *ATP7B* mang mã số NG\_008806 trong GenBank để xác định đột biến gen.

## 2.7. Quy trình nghiên cứu

Các bệnh nhân có biểu hiện bệnh Wilson điển hình hoặc nghi ngờ (triệu chứng về gan, thần kinh không giải thích được nguyên nhân) được đưa vào quy trình tầm soát: khám mắt tìm vòng Kayser-Fleischer, đo nồng độ ceruloplasmin máu, đồng niệu 24 giờ, dấu hiệu thiếu máu tán huyết, chụp MRI sọ não và phân tích đột biến gen *ATP7B*. Bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh Wilson được tiến hành các bước: Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, đột biến gen *ATP7B*.

## 2.8. Phương pháp phân tích dữ liệu

- Dữ liệu được mã hóa, xử lý bằng phần mềm SPSS 18.0 và kết quả được trình bày dưới dạng bảng, biểu đồ.

- Các biến số định lượng được mô tả bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (nếu phân phối chuẩn), dưới dạng số trung vị (nếu không có phân phối chuẩn).

- Các biến số định tính được mô tả bằng tần số và tỷ lệ phần trăm.

- Mối liên quan kiểu gen-kiểu hình:

+ Về kiểu gen, chúng tôi phân tích theo các nhóm: đồng hợp tử so với dị hợp tử kép, đồng hợp tử so với dị hợp tử đơn, dị hợp tử kép so với dị hợp tử đơn.

+ Về kiểu hình, chúng tôi phân tích theo các yếu tố: tuổi khởi phát (năm), vòng Kayser-Fleischer (có hoặc không), nồng độ ceruloplasmin máu (thấp nếu  $< 20$  mg/dL), đồng niệu 24 giờ (cao nếu  $> 100$   $\mu$ g), thể lâm sàng theo thang điểm Leipzig (H1: bệnh Wilson thể tổn thương gan cấp, H2: thể tổn thương gan mạn, N1: thể thần kinh kèm tổn thương gan, N2: thể thần kinh đơn thuần).

+ So sánh giữa 2 nhóm: Phép kiểm Chi bình phương (Chi-square test) dùng để so sánh tỷ lệ giữa các nhóm hoặc phép kiểm chính

xác Fisher (Fisher's exact test) khi có > 20% tần số mong đợi trong bảng < 5. Phép kiểm t-test để so sánh 2 giá trị trung bình nếu số liệu tuân theo phân phối bình thường. Phép kiểm phi tham số Mann-Whitney U dùng để so sánh 2 trung vị của 2 nhóm nếu số liệu không tuân theo phân phối chuẩn.

+ Mức ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

## 2.9. Đạo đức trong nghiên cứu

- Đây là nghiên cứu không can thiệp.
- Bệnh nhân tự nguyện tham gia nghiên cứu, thông tin được bảo mật.
- Nghiên cứu được thực hiện hoàn toàn vì mục đích khoa học.
- Tuân thủ đạo đức trong nghiên cứu y học.
- Đã thông qua hội đồng đạo đức Bệnh viện Chợ Rẫy (số 218/BVCR-HĐĐĐ, ngày 04/6/2015).

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian nghiên cứu từ tháng 06/2015 đến tháng 06/2019 tại Bệnh viện Chợ Rẫy, chúng tôi thu thập được 66 bệnh nhân thỏa các tiêu chuẩn chọn mẫu và loại trừ.

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

#### 3.1.1. Phân bố bệnh nhân theo tuổi khởi phát

Tuổi khởi phát: tuổi lúc chẩn đoán trừ đi thời gian từ khi bệnh khởi phát đến khi được chẩn đoán.

Bảng 3.4. Phân bố bệnh nhân theo tuổi khởi phát

| Tuổi khởi phát | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) |
|----------------|---------------|-----------|
| 10-19          | 34            | 51,5      |
| 20-29          | 19            | 28,8      |
| ≥ 30           | 13            | 19,7      |
| Tổng           | 66            | 100       |

Tuổi khởi phát trung bình  $22,2 \pm 8,3$  tuổi, nhỏ nhất: 10 tuổi.

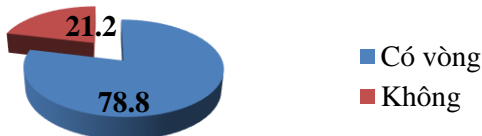
### 3.1.2. Triệu chứng lâm sàng

Bảng 3.5. Triệu chứng lâm sàng

| Triệu chứng               | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) |
|---------------------------|---------------|-----------|
| Vàng da                   | 35            | 53,0      |
| Lách to                   | 30            | 45,5      |
| Viết khó                  | 29            | 43,9      |
| Bảng bụng                 | 26            | 39,4      |
| Thiếu máu tán huyết       | 25            | 37,9      |
| Phù 2 chi dưới            | 25            | 37,9      |
| Rối loạn kinh nguyệt      | 23            | 34,8      |
| Run tay                   | 22            | 33,3      |
| Nói khó                   | 19            | 28,8      |
| Dáng điệu bất thường      | 16            | 24,2      |
| Viêm khớp ngoại biên      | 16            | 24,2      |
| Các cử động không chủ ý   | 14            | 21,2      |
| Chảy nước dãi             | 13            | 19,7      |
| Nuốt khó                  | 13            | 19,7      |
| Tuần hoàn bàng hệ cửa chủ | 10            | 15,2      |
| Gan to                    | 3             | 4,5       |
| Trầm cảm                  | 1             | 1,5       |

Triệu chứng lâm sàng thường gặp lúc nhập viện là các triệu chứng về gan và thần kinh. Các dấu hiệu khác như thiếu máu tán huyết, rối loạn kinh nguyệt, viêm khớp ngoại biên cũng khá phổ biến.

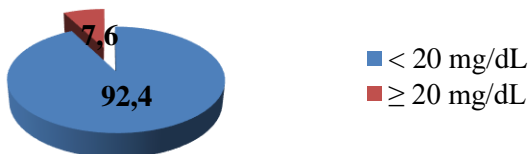
### 3.1.3. Vòng Kayser-Fleischer



Biểu đồ 3.1. Vòng Kayser-Fleischer

Vòng Kayser-Fleischer hiện diện trong phần lớn các trường hợp.

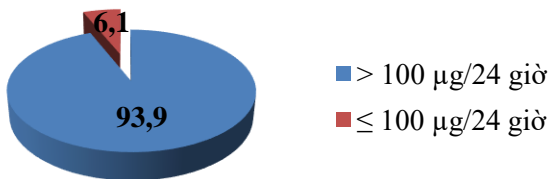
### 3.1.4. Nồng độ ceruloplasmin máu



Biểu đồ 3.2. Nồng độ ceruloplasmin máu

Nồng độ ceruloplasmin máu giảm gặp ở đa số bệnh nhân, trị số thấp nhất là 0,5 mg/dL.

### 3.1.5. Đồng niệu 24 giờ



Biểu đồ 3.3. Đồng niệu 24 giờ

Đồng niệu 24 giờ tăng trong hầu hết các trường hợp, trị số cao nhất là 1600 µg/24 giờ.

### 3.1.6. Hình ảnh cộng hưởng từ sọ não

Bảng 3.9. Hình ảnh cộng hưởng từ sọ não

| Hình ảnh MRI sọ não                          | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) |
|----------------------------------------------|---------------|-----------|
| Tăng tín hiệu thì T2W vùng đôi thị, nhân bào | 33            | 50,0      |
| Tăng tín hiệu thì T2W vùng cầu não           | 12            | 18,2      |
| Không ghi nhận tổn thương                    | 21            | 31,8      |
| Tổng                                         | 66            | 100       |

Hình ảnh cộng hưởng từ sọ não thường gặp là tăng tín hiệu trên T2W vùng đôi thị, nhân bào.

### 3.1.7. Thể lâm sàng

Dựa vào kết quả khám lâm sàng và xét nghiệm, chúng tôi phân chia các thể lâm sàng theo thang điểm Leipzig như sau:

Bảng 3.10. Thể lâm sàng theo thang điểm Leipzig (n=66)

| <b>Thể lâm sàng</b>                   | <b>Số trường hợp</b> | <b>Tỷ lệ (%)</b> |
|---------------------------------------|----------------------|------------------|
| Thể tổn thương gan cấp (H1)           | 3                    | 4,5              |
| Thể tổn thương gan mạn (H2)           | 32                   | 48,5             |
| Thể thần kinh kèm tổn thương gan (N1) | 11                   | 16,7             |
| Thể thần kinh đơn thuần (N2)          | 20                   | 30,3             |
| <b>Tổng</b>                           | <b>66</b>            | <b>100</b>       |

Thể lâm sàng thường gặp nhất là tổn thương gan mạn. Ba trường hợp (4,5%) thể tổn thương gan cấp đều rất nặng: vàng da, suy chức năng gan, thiếu máu tán huyết... cần phải truyền máu và có chỉ định ghép gan.

## 3.2. Kết quả phân tích đột biến gen *ATP7B*

### 3.2.1. Đặc điểm kiểu gen *ATP7B*

Bảng 3.14. Đặc điểm kiểu gen

| <b>Kiểu gen</b> | <b>Số trường hợp</b> | <b>Tỷ lệ (%)</b> |
|-----------------|----------------------|------------------|
| Đồng hợp tử     | 8                    | 12,1             |
| Dị hợp tử kép   | 40                   | 60,6             |
| Dị hợp tử đơn   | 16                   | 24,2             |
| Không đột biến  | 2                    | 3,0              |
| <b>Tổng</b>     | <b>66</b>            | <b>100</b>       |

Tỷ lệ phát hiện đột biến gen *ATP7B* là 97,0%; kiểu gen dị hợp tử kép thường gặp nhất.

### 3.2.2. Các loại đột biến được phát hiện

Bảng 3.15. Các loại đột biến được phát hiện trong nghiên cứu

| STT | Thay đổi nucleotide | Thay đổi acid Amin | Hậu quả             | Số alen | Tỷ lệ (%) |
|-----|---------------------|--------------------|---------------------|---------|-----------|
| 1   | c.525-526insA       | p.Val176fsStop     | Lệch khung          | 14      | 10,6      |
| 2   | c.314C>A            | p.Ser105Stop       | Vô nghĩa            | 13      | 9,8       |
| 3   | c.2549C>T           | p.Thr850Ile        | Sai nghĩa           | 13      | 9,8       |
| 4   | c.2333G>T           | p.Arg778Leu        | Sai nghĩa           | 9       | 6,8       |
| 5   | c.3079G>C           | p.Asp1027His       | Sai nghĩa           | 6       | 4,5       |
| 6   | c.2294A>G           | p.Asp765Gly        | Sai nghĩa           | 6       | 4,5       |
| 7   | c.3443T>C           | p.Ile1148Thr       | Sai nghĩa           | 6       | 4,5       |
| 8   | c.3517G>A           | p.Glu1173Lys       | Sai nghĩa           | 5       | 3,8       |
| 9   | c.2705T>C           | p.Leu902Pro        | Sai nghĩa           | 4       | 3,0       |
| 10  | c.3818C>A           | p.Pro1273Gln       | Sai nghĩa           | 4       | 3,0       |
| 11  | c.3997delC          | p.Leu1333fsStop    | Lệch khung          | 3       | 2,3       |
| 12  | c.2304-2305insC     | p.Met769fsStop     | Lệch khung          | 3       | 2,3       |
| 13  | c.4124+4A>G         | IVS20+4A>G         | Bất thường nối ghép | 2       | 1,5       |
| 14  | c.2121+3A>T         | IVS7+3A>T          | Bất thường nối ghép | 2       | 1,5       |
| 15  | c.4112T>C           | p.Leu1371Pro       | Sai nghĩa           | 2       | 1,5       |
| 16  | c.3155C>T           | p.Pro1052Leu       | Sai nghĩa           | 2       | 1,5       |
| 17  | c.2804C>T           | p.Thr935Met        | Sai nghĩa           | 2       | 1,5       |
| 18  | c.1946+3A>G         | IVS6+3A>G          | Bất thường nối ghép | 1       | 0,8       |
| 19  | c.3691G>A           | p.Ala1231Thr       | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 20  | c.3884C>T           | p.Ala1295Val       | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 21  | c.2621C>T           | p.Ala874Val        | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 22  | c.2333G>A           | p.Arg778Gln        | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 23  | c.2755C>G           | p.Arg919Gly        | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 24  | c.4064G>A           | p.Gly1355Asp       | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 25  | c.2604delC          | p.Gly869fsStop     | Lệch khung          | 1       | 0,8       |
| 26  | c.2828G>A           | p.Gly943Asp        | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 27  | c.3625C>G           | p.Leu1209Val       | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 28  | c.2375C>T           | p.Leu792Pro        | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |
| 29  | c.4066T>C           | p.Ser1356Pro       | Sai nghĩa           | 1       | 0,8       |

| STT | Thay đổi nucleotide | Thay đổi acid Amin | Hậu quả   | Số alen | Tỷ lệ (%) |
|-----|---------------------|--------------------|-----------|---------|-----------|
| 30  | c.2284A>C           | p.Thr762Pro        | Sai nghĩa | 1       | 0,8       |
| 31  | c.3316G>A           | p.Val1106Ile       | Sai nghĩa | 1       | 0,8       |
| 32  | c.3646G>A           | p.Val1216Met       | Sai nghĩa | 1       | 0,8       |
| 33  | c.3889G>A           | p.Val1297Ile       | Sai nghĩa | 1       | 0,8       |

Chúng tôi phát hiện 33 loại đột biến khác nhau của gen *ATP7B*, trong đó thường gặp nhất là p.Val176fsStop, p.Ser105Stop và p.Thr850Ile.

### 3.2.3. Phân bố theo vị trí trên gen *ATP7B* của 112 alen có đột biến

Bảng 3.16. Phân bố theo vị trí của 112 alen có đột biến

| STT  | Exon | Số Alen | Tỷ lệ (%) |
|------|------|---------|-----------|
| 1    | 2    | 27      | 24,1      |
| 2    | 8    | 20      | 17,9      |
| 3    | 10   | 13      | 11,6      |
| 4    | 16   | 11      | 9,8       |
| 5    | 14   | 8       | 7,1       |
| 6    | 11   | 6       | 5,4       |
| 7    | 18   | 6       | 5,4       |
| 8    | 20   | 6       | 5,4       |
| 9    | 12   | 4       | 3,6       |
| 10   | 17   | 3       | 2,7       |
| 11   | 19   | 3       | 2,7       |
| 12   | 7    | 2       | 1,8       |
| 13   | 6    | 1       | 0,9       |
| 14   | 9    | 1       | 0,9       |
| 15   | 15   | 1       | 0,9       |
| Tổng |      | 112     | 100       |

Có đến 15 trên tổng số 21 exon bị đột biến, thường gặp nhất là exon 2, 8, 10.

### 3.2.4. Kiểu đột biến

Bảng 3.17. Kiểu đột biến

| STT  | Kiểu đột biến       | Số alen | Tỷ lệ (%) |
|------|---------------------|---------|-----------|
| 1    | Thay thế nucleotide | 86      | 76,8      |
| 2    | Thêm nucleotide     | 17      | 15,2      |
| 3    | Bất thường nối ghép | 5       | 4,5       |
| 4    | Mất nucleotide      | 4       | 3,6       |
| Tổng |                     | 112     | 100       |

Kiểu đột biến thay thế nucleotide dẫn đến sai nghĩa thường gặp nhất.

### 3.3. Mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson

Trong 66 bệnh nhân được phân tích đột biến gen *ATP7B*, có 2 trường hợp không thấy đột biến. Như vậy, chúng tôi chỉ phân tích mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của 64 trường hợp có đột biến gen.

**Về kiểu gen**, chúng tôi phân tích theo các nhóm: Đồng hợp tử, dị hợp tử kép, dị hợp tử đơn.

**Về kiểu hình**, chúng tôi phân tích theo 5 yếu tố: Tuổi khởi phát, vòng K.F, nồng độ ceruloplasmin máu, đồng niệu 24 giờ và thể lâm sàng.

#### 3.3.1. Mối liên quan giữa kiểu gen và tuổi khởi phát

Bảng 3.23. So sánh tuổi khởi phát ở nhóm đồng hợp tử và dị hợp tử kép

| Kiểu gen      | Số trường hợp | Tuổi khởi phát | Nhỏ nhất – Lớn nhất |
|---------------|---------------|----------------|---------------------|
| Đồng hợp tử   | 8             | 15,8 ± 1,6     | 13 – 17             |
| Dị hợp tử kép | 40            | 23,8 ± 8,3     | 10 – 46             |

*Phép kiểm t-test (t độc lập): p=0,011*

Tuổi khởi phát trung bình ở nhóm đồng hợp tử sớm hơn so với nhóm dị hợp tử kép; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,011$ ).

### 3.3.2. Mối liên quan giữa kiểu gen và vòng K.F

Bảng 3.26. Mối liên quan giữa kiểu gen và vòng K.F

| Kiểu gen             | Vòng K.F      |           |               |           |
|----------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|
|                      | Có            |           | Không         |           |
|                      | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) |
| Đồng hợp tử (n=8)    | 7             | 87,5      | 1             | 12,5      |
| Dị hợp tử kép (n=40) | 31            | 77,5      | 9             | 22,5      |
| Dị hợp tử đơn (n=16) | 13            | 81,3      | 3             | 18,8      |

*Phép kiểm chính xác Fisher:  $p=0,801$*

Chưa thấy sự khác biệt về sự hiện diện vòng K.F giữa các kiểu gen.

### 3.3.3. Mối liên quan giữa kiểu gen và ceruloplasmin máu

Bảng 3.27. So sánh ceruloplasmin máu ở nhóm đồng hợp tử và dị hợp tử kép

| Kiểu gen             | Ceruloplasmin     |           |                                |           |
|----------------------|-------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
|                      | Thấp (< 20 mg/dL) |           | Bình thường ( $\geq$ 20 mg/dL) |           |
|                      | Số trường hợp     | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp                  | Tỷ lệ (%) |
| Đồng hợp tử (n=8)    | 6                 | 75,0      | 2                              | 25,0      |
| Dị hợp tử kép (n=40) | 39                | 97,5      | 1                              | 2,5       |

*Phép kiểm chính xác Fisher:  $p=0,016$*

Nồng độ ceruloplasmin máu thấp chiếm ưu thế ở nhóm dị hợp tử kép so với đồng hợp tử; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,016$ ).

### 3.3.4. Mối liên quan giữa kiểu gen và đồng niệu 24 giờ

Bảng 3.30. So sánh đồng niệu 24 giờ ở nhóm đồng hợp tử và dị hợp tử kép

| Kiểu gen             | Đồng niệu 24 giờ     |           |                                   |           |
|----------------------|----------------------|-----------|-----------------------------------|-----------|
|                      | Tăng (> 100 $\mu$ g) |           | Bình thường ( $\leq$ 100 $\mu$ g) |           |
|                      | Số trường hợp        | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp                     | Tỷ lệ (%) |
| Đồng hợp tử (n=8)    | 8                    | 100       | 0                                 | 0         |
| Dị hợp tử kép (n=40) | 40                   | 100       | 0                                 | 0         |

*Không có giá trị p (vì tất cả đều > 100  $\mu$ g)*

Tất cả bệnh nhân trong 2 nhóm đồng hợp tử và dị hợp tử kép đều có đồng niệu 24 giờ tăng.

Bảng 3.32. So sánh đồng niệu 24 giờ ở nhóm dị hợp tử kép và dị hợp tử đơn

| Kiểu gen             | Đồng niệu 24 giờ |           |                        |           |
|----------------------|------------------|-----------|------------------------|-----------|
|                      | Tăng (> 100 µg)  |           | Bình thường (≤ 100 µg) |           |
|                      | Số trường hợp    | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp          | Tỷ lệ (%) |
| Dị hợp tử kép (n=40) | 40               | 100       | 0                      | 0         |
| Dị hợp tử đơn (n=16) | 13               | 81,3      | 3                      | 18,8      |

*Phép kiểm chính xác Fisher: p=0,005*

Đồng niệu 24 giờ tăng chiếm ưu thế ở nhóm dị hợp tử kép so với dị hợp tử đơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,005).

### 3.3.5. Mối liên quan giữa kiểu gen và thể lâm sàng

Bảng 3.33. Mối liên quan giữa kiểu gen và thể lâm sàng

| Kiểu gen             | Thể lâm sàng  |           |               |           |               |           |               |           |
|----------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|
|                      | H1            |           | H2            |           | N1            |           | N2            |           |
|                      | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) | Số trường hợp | Tỷ lệ (%) |
| Đồng hợp tử (n=8)    | 0             | 0         | 4             | 50,0      | 0             | 0         | 4             | 50,0      |
| Dị hợp tử kép (n=40) | 3             | 7,5       | 17            | 42,5      | 8             | 20,0      | 12            | 30,0      |
| Dị hợp tử đơn (n=16) | 0             | 0         | 10            | 62,5      | 2             | 12,5      | 4             | 25,0      |

*Phép kiểm chính xác Fisher: p=0,457*

Chưa thấy sự khác biệt về kiểu gen với các thể lâm sàng bệnh Wilson

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 66 trường hợp bệnh Wilson tại Bệnh viện Chợ Rẫy trong khoảng thời gian từ 6/2015-6/2019, chúng tôi có một số kết luận như sau:

### 1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

- Tuổi khởi phát trung bình là  $22,2 \pm 8,3$
- Triệu chứng lâm sàng đa dạng: triệu chứng về gan, triệu chứng thần kinh, thiếu máu tán huyết, rối loạn kinh nguyệt, viêm khớp ngoại biên.

- Các dấu hiệu đặc trưng của bệnh Wilson: đồng niệu 24 giờ tăng (93,9%), nồng độ ceruloplasmin máu giảm (92,4%), sự hiện diện vòng Kayser-Fleischer (78,8%), tổn thương não trên MRI (68,2%).

- Tỷ lệ các thể lâm sàng thường gặp: tổn thương gan mạn (48,5%), thể thần kinh đơn thuần (30,3%), thể thần kinh kèm tổn thương gan (16,7%) và thể tổn thương gan cấp (4,5%).

### 2. Phân tích đột biến gen *ATP7B*

- Tỷ lệ phát hiện đột biến gen *ATP7B* là 97,0%. Kiểu gen dị hợp tử kép thường gặp nhất (60,6%).

- Chúng tôi phát hiện 33 loại đột biến khác nhau của gen *ATP7B*, trong đó thường gặp nhất là, p.Val176fsStop (10,6%), p.Ser105Stop (9,8%) và p.Thr850Ile (9,8%). Nghiên cứu phát hiện 03 loại đột biến mới, chưa được công bố theo ACMG.

- Kiểu đột biến đa dạng, trong đó đột biến thay thế nucleotide dẫn đến sai nghĩa là thường gặp nhất, chiếm tỷ lệ 76,8%.

- Vị trí đột biến: thường gặp là exon 2, 8, 10.

### 3. Mối liên quan kiểu gen-kiểu hình

- Các bệnh nhân nhóm đồng hợp tử có tuổi khởi phát sớm hơn so với nhóm dị hợp tử kép, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,011$ ).

- Nồng độ ceruloplasmin máu giảm chiếm ưu thế ở nhóm dị hợp tử kép so với nhóm đồng hợp tử, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,016$ ).

- Tất cả bệnh nhân trong 2 nhóm đồng hợp tử và dị hợp tử kép đều có đồng niệu 24 giờ tăng. Đồng niệu 24 giờ tăng chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân dị hợp tử kép so với nhóm dị hợp tử đơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,005$ ).

- Chưa thấy mối liên quan giữa kiểu gen với vòng Kayser-Fleischer cũng như giữa kiểu gen với các thể lâm sàng bệnh Wilson.

## KIẾN NGHỊ

Qua kết quả nghiên cứu này, chúng tôi kiến nghị:

- Hãy nghĩ đến bệnh Wilson ở những bệnh nhân có tổn thương đa cơ quan; nhất là các triệu chứng về gan đi kèm với biểu hiện thần kinh mà không giải thích được nguyên nhân.
- Nên phân tích đột biến gen *ATP7B* vì đây là xét nghiệm giúp chẩn đoán sớm. Ưu tiên khảo sát các exon: 2, 8, 10.
- Tầm soát các thành viên trong gia đình (anh/chị/em ruột của bệnh nhân) giúp phát hiện bệnh sớm, điều trị hiệu quả.
- Cần các nghiên cứu tiếp theo về đột biến gen *ATP7B* cũng như mối liên quan kiểu gen-kiểu hình của bệnh Wilson người Việt Nam; cần bổ sung các kỹ thuật xét nghiệm sâu hơn như giải trình tự toàn bộ gen *ATP7B*, kỹ thuật phát hiện đột biến mất đoạn.

## **CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Lê Hữu Phước. Một trường hợp xơ gan mất bù do bệnh Wilson được điều trị thành công tại Bệnh viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Gan mật Việt Nam*. 2014; 28: 25-30.
2. Lê Hữu Phước. Nghiên cứu đột biến gen ATP7B ở bệnh nhân Wilson tại Bệnh viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Gan mật Việt Nam*. 2015; 32: 26-31.
3. Lê Hữu Phước. Lao gan trên nền bệnh Wilson – Ca bệnh đầu tiên phát hiện tại Việt Nam, được điều trị thành công. *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2017; 4(21): 54-62.
4. Lê Hữu Phước. Một trường hợp bệnh Wilson được điều trị thành công tại Bệnh viện Chợ Rẫy. *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2018; 5(25): 128-131.
5. Lê Hữu Phước. Nghiên cứu đột biến gen ATP7B trên bệnh nhân Wilson. *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 2021; 3(25): 87-91.
6. Lê Hữu Phước, Hoàng Anh Vũ, Bùi Hữu Hoàng. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng trên bệnh nhân Wilson người lớn. *Tạp chí Y Dược Lâm Sàng 108*. 2021; 5(16): 18-24.
7. Lê Hữu Phước, Hoàng Anh Vũ, Bùi Hữu Hoàng. Nghiên cứu đột biến gen ATP7B trên bệnh nhân Wilson người lớn. *Tạp chí Y Dược Lâm Sàng 108*. 2021; 5(16): 31-38.