

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH



LÊ THỊ THÚY AN

**ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, YẾU TỐ NGUY CƠ VÀ
BIỂU THỂ DI TRUYỀN CỦA BỆNH PARKINSON
KHỞI PHÁT SỚM**

**CHUYÊN NGÀNH: THẦN KINH
MÃ SỐ: 62720147**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH, NĂM 2024

Công trình nghiên cứu được thực hiện tại:

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS. NGUYỄN THI HÙNG

GS.TS. NGUYỄN VĂN TUẤN

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

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

Vào hồi giờ phút, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

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

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Đặt vấn đề

Bệnh Parkinson là một bệnh thoái hóa thần kinh thường gặp và đứng hàng thứ hai sau bệnh Alzheimer. Cơ chế bệnh học chính của bệnh Parkinson là sự suy giảm các tế bào dopamin trong 'liềm đen'. Bệnh Parkinson thuộc vào nhóm các bệnh phức tạp, vì chịu sự ảnh hưởng của các yếu tố môi trường và di truyền. Phơi nhiễm thuốc trừ sâu, tiếp xúc với 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), paraquat hoặc kim loại nặng (mangan, chì) làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson. Các gen gây ra bệnh Parkinson đã được phát hiện, bao gồm SNCA, LRRK2, GBA, PINK1, MAPT H1, UCHL1 và một biến thể của LRRK2, CYP2D6 và GSTs.

Biểu thể di truyền (tạm dịch từ thuật ngữ "epigenetics") liên quan đến những thay đổi trong biểu hiện của gen mà không có ảnh hưởng đến trình tự DNA. Tất cả các tế bào trong cơ thể con người có cùng một cấu trúc gen và hệ gen, nhưng sản phẩm của gen trong các tế bào lại rất khác nhau. Lý do của sự khác nhau là do tương tác giữa gen và môi trường trong tế bào, gọi là epigenetics. Vai trò của biểu thể di truyền tác động lên bệnh Parkinson khởi phát sớm như thế nào? Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Đặc điểm lâm sàng, yếu tố nguy cơ và biểu thể di truyền của bệnh Parkinson khởi phát sớm” với các mục tiêu sau:

1. Mô tả đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm.
2. Xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ bệnh Parkinson khởi phát sớm.
3. Mô tả đặc điểm biểu thể di truyền ở nhóm bệnh Parkinson khởi phát sớm.

2. Tính cấp thiết của đề tài

Theo tổ chức Y tế thế giới (WHO), tỷ lệ mắc bệnh Parkinson đã tăng gấp đôi trong 25 năm qua. Ước tính toàn cầu vào năm 2019 cho thấy hơn 8,5 triệu người mắc bệnh Parkinson. Bệnh Parkinson thường xảy ra ở người trên 65 tuổi. Bệnh Parkinson khởi phát ở những người trẻ tuổi (20-50), gọi là bệnh Parkinson khởi phát sớm, thường do đột biến gen. Tuy nhiên, những trường hợp bệnh nhân có mang gen bệnh Parkinson nhưng lại không biểu hiện bệnh Parkinson, phải chăng có những yếu tố môi trường tác động đến gen làm thay đổi biểu hiện của gen và những chức năng khác của gen, quá trình này được gọi là biểu thể di truyền. Tuy nhiên, nghiên cứu về sự tương tác giữa gen và môi trường qua biểu thể di truyền liên quan đến bệnh Parkinson trên thế giới rất ít và những nghiên cứu này không thể áp dụng cho người Việt Nam và chưa có nghiên cứu ở người Á châu. Chính vì vậy, mà chúng tôi tập trung nghiên cứu về biểu thể di truyền ở bệnh Parkinson khởi phát ở người trẻ tuổi.

3. Những đóng góp mới của luận án

Bệnh Parkinson khởi phát sớm ảnh hưởng trực tiếp đến người trong độ tuổi lao động và thường mang lại gánh nặng kinh tế xã hội lớn hơn khi so sánh với nhóm bệnh khởi phát muộn. Chính vì vậy chúng tôi tập trung nghiên cứu ở người trẻ. Vì người trẻ là nguồn lao động chính của xã hội và những yếu tố nguy cơ có liên quan đến bệnh thì chúng ta có thể ngăn chặn bằng cách tránh tiếp xúc với các yếu tố đó. Từ đó có thể làm thay đổi diễn tiến của bệnh.

Biểu thể di truyền là một nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam, mở ra hướng mới nhằm đánh giá tác động của các yếu tố môi trường đến bệnh Parkinson. Bệnh Parkinson khởi phát sớm có liên quan đến tiếp xúc hoá chất trừ sâu và dùng nước giếng ở vùng nông thôn. Các yếu tố này tác động đến sự thay đổi biểu hiện của các gen *SYN3*, *ENPP6*,

RP11-434C1.2, *MRI1*, *FAR2P1* và *KLF2P1*. Do đó có thể sử dụng gen và các yếu tố môi trường để đánh giá nguy cơ mắc bệnh.

4. Bố cục luận án

Luận án gồm 107 trang, bao gồm: phần đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 35 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 24 trang, kết quả nghiên cứu 24 trang, bản luận 18 trang, kết luận và kiến nghị 3 trang. Có 24 bảng, 15 biểu đồ và 17 hình minh họa, 88 tài liệu tham khảo (8 tiếng Việt, 80 tài liệu tiếng Anh).

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Bệnh Parkinson

1.1.1. Giới thiệu

Bệnh Parkinson được định nghĩa là một hội chứng lâm sàng được xác định bởi sự hiện diện của các triệu chứng vận động như run, đơ cứng và chậm vận động. Bệnh được đặc trưng bởi hai quá trình bệnh học chính: Mất các tế bào thần kinh tạo ra dopamin, sự tích tụ của các thể Lewy bao gồm α -synuclein bị gấp cuộn sai và tích tụ trong nhiều hệ thống của bệnh nhân Parkinson. Điều trị chủ yếu là kiểm soát triệu chứng, bằng các loại thuốc nhằm khôi phục tế bào dopamin trong thể vân hoặc tác động lên các thụ thể dopamin sau synap thần kinh.

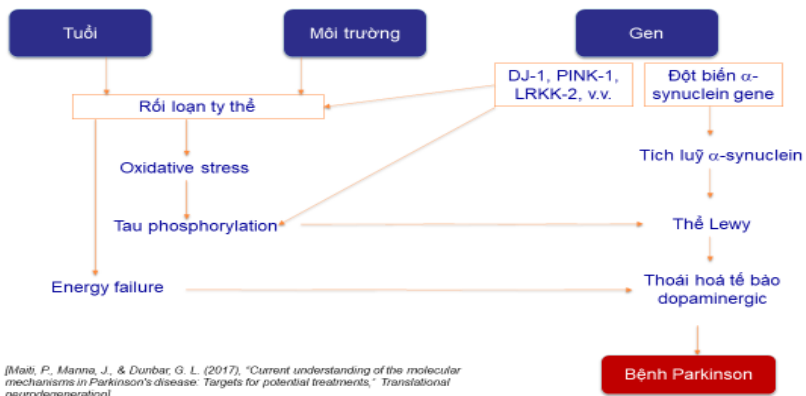
1.1.2. Tỷ lệ mắc bệnh

Khoảng 1-2% người trên 65 tuổi và 4-5% trên 85 tuổi mắc bệnh Parkinson. Tuy nhiên, khoảng 10% bệnh Parkinson xảy ra ở những người trẻ tuổi dưới 50, và nam giới có xu hướng mắc bệnh cao hơn (1,5 lần) so với nữ giới.

1.2. Bệnh Parkinson khởi phát sớm

Bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD: Early onset Parkinson disease), thường được gọi là bệnh Parkinson khởi phát ở người trẻ (YOPD: Young onset Parkinson disease), là nhóm bệnh Parkinson rất được quan tâm. Các đặc điểm lâm sàng của EOPD tương tự như bệnh Parkinson khởi phát muộn (LOPD: Late-onset Parkinson disease), nhưng có xu hướng bệnh tiến triển chậm hơn và không liên quan nhiều đến suy giảm nhận thức như LOPD. Ngược lại, nhiều bệnh nhân EOPD có sự xuất hiện các biến chứng vận động sớm hơn, như rối loạn vận động, loạn trương lực cơ, đơ cứng. Mặc dù, EOPD có quá trình tiến triển của các đặc điểm vận động chậm hơn và sự xuất hiện của suy giảm nhận thức muộn hơn, tỷ lệ tử vong ở EOPD ít nhất gấp hai lần trung bình của bệnh Parkinson thông thường và tỷ lệ này còn cao hơn khi so sánh với LOPD.

1.3. Yếu tố tuổi, môi trường và gen trong bệnh Parkinson khởi phát sớm



Hình: Liên kết giữa tuổi, môi trường và gen trong bệnh Parkinson khởi phát sớm

1.4. Vai trò biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson khởi phát sớm

Thuật ngữ biểu thể di truyền lần đầu tiên được sử dụng vào năm 1942 bởi Conrad Waddington, là sự kết hợp của hai từ biểu sinh hay 'bề mặt' (epi) và di truyền (genetics). Biểu thể di truyền có thể hiểu đơn giản là “bề mặt của gen”. Biểu thể di truyền được định nghĩa là nghiên cứu các yếu tố môi trường tác động đến sự ảnh hưởng của gen.

Biểu thể di truyền là sự thay đổi trong biểu hiện của gen và những chức năng khác của gen mà không ảnh hưởng đến trình tự chuỗi DNA. Yếu tố làm thay đổi biểu hiện của gen chính là yếu tố môi trường. Quá trình này xảy ra trong suốt cuộc đời, tùy thuộc vào nhiều yếu tố môi trường. Cơ chế biểu thể di truyền bao gồm sự methyl hóa DNA, sửa đổi histon sau sao chép và sự thay đổi microRNA và các RNA không mã hóa khác.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu bệnh chứng, mô tả cắt ngang.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.2. Chọn mẫu

Nhóm 'bệnh' bao gồm những bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh Parkinson, khởi phát dưới hay ở tuổi 50. Nguồn bệnh nhân xuất từ phòng khám nội thần kinh Bệnh viện Chợ Rẫy.

Nhóm 'chứng' bao gồm những người không mắc bệnh Parkinson, dưới hay ở tuổi 50, nguồn từ phòng khám chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu Bệnh viện Chợ Rẫy.

2.2.3. Tiêu chuẩn chọn bệnh và loại trừ

*** Nhóm bệnh**

Tiêu chuẩn chọn vào

- Bệnh Parkinson khởi phát dưới hay ở tuổi 50;
- Được chẩn đoán bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease 2015 (MSD-PD)
- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

Có hội chứng Parkinson trong các bệnh thoái hóa khác (liệt trên nhân tiến triển, teo nhiều hệ thống...) hoặc nguyên nhân gây bệnh Parkinson thứ phát.

*** Nhóm chứng**

Tiêu chuẩn chọn vào

- Dưới hay ở tuổi 50
- Không có dấu hiệu của hội chứng Parkinson
- Đồng ý tham gia nghiên cứu

Tiêu chuẩn loại ra

Bệnh nhân không hợp tác trong khai thác thông tin.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu tháng 7 năm 2019 đến tháng 7 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu tại phòng khám nội thần kinh và phòng khám chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu Bệnh viện Chợ Rẫy.

Địa điểm thực hiện xét nghiệm biểu thể di truyền: Công ty Zymo Research Corporation, có trụ sở chính tại thành phố Irvine, bang California, Hoa Kỳ.

2.4. Cỡ mẫu

Việc ước tính cỡ mẫu được thực hiện dựa vào mục tiêu nghiên cứu. Mục tiêu 1 là mô tả đặc điểm lâm sàng và mục tiêu 2 là xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ bệnh Parkinson khởi phát sớm. Chúng

tôi lấy phơi nhiễm thuốc trừ sâu làm điểm tham chiếu. Gọi p_1 là tỷ lệ phơi nhiễm thuốc trừ sâu ở nhóm chứng; và OR là tỷ số odds liên quan đến bệnh Parkinson ở người bị phơi nhiễm thuốc trừ sâu; và $z_{\alpha/2}$ và z_β là hằng số của phân bố chuẩn (Normal distribution) tương ứng với sai số loại I và sai số loại II, cỡ mẫu tối thiểu cần thiết cho một nghiên cứu bệnh chứng có thể ước tính như sau:

$$n_{bệnh} = n_{chứng} \frac{[Z_{1-\frac{\alpha}{2}} \times \sqrt{2p(1-p)} + Z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_2 - p_1)^2}$$

Trong đó, tỷ lệ phơi nhiễm ở nhóm bệnh là $p_2 = \frac{p_1 \times OR}{1 + p_1 \times (OR - 1)}$,

và tỷ lệ trung bình là $p = (p_1 + p_2)/2$.

Tỷ lệ phơi nhiễm ở nhóm chứng là 21% (theo nghiên cứu của Anais và các cộng sự), và OR là 2,5 (theo nghiên cứu của Jordan và các cộng sự).

Sai số I và II được xác định là 5% và 20%. Số cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm là 92 người. Chúng tôi sẽ chọn 100 người cho mỗi nhóm trong nghiên cứu, vì chúng tôi nghĩ sẽ có một số bệnh nhân bỏ cuộc trong lúc nghiên cứu.

Đối với mục tiêu 3 (nghiên cứu biểu thể di truyền), hầu hết các nghiên cứu trước đây trong y văn đều có cỡ mẫu dao động trong khoảng 5 đến 30 bệnh nhân cho nhóm chứng và nhóm bệnh. Chúng tôi ước tính cỡ mẫu dựa trên tham số 'beta' được định nghĩa như sau: $\beta = signal / (signal + non - signal) \times 100$; trong đó 'signal' có nghĩa là tín hiệu methyl hoá, 'non-signal' là tín hiệu không methyl hoá. Mức độ khác biệt về β giữa nhóm bệnh và nhóm chứng được giả định là dao động từ 10% đến 20% (vì không có con số chính xác). Với cỡ mẫu 10 người mỗi nhóm thì độ nhạy (power) của nghiên cứu là từ 80% trở lên để phát hiện một khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Do đó, chúng tôi quyết định phân tích biểu thể di truyền dựa trên 20 mẫu, trong đó 10 bệnh nhân và 10 người chứng. Và 20 mẫu này được lấy

ngẫu nhiên trong 100 bệnh nhân Parkinson và 100 người chứng trong mục tiêu 1 và 2.

2.5. Các biến số theo mục tiêu nghiên cứu

Chúng tôi định nghĩa các biến số liên quan đến các biến số trong nghiên cứu.

Sống ở vùng nông thôn: là nơi làm nghề trồng trọt hoặc chăn nuôi gia súc và có thời gian sinh sống ít nhất 1 năm.

Sống ở vùng công nghiệp: đang sinh sống vùng công nghiệp, và có thời gian sinh sống ít nhất 1 năm.

Trình độ học vấn: được xác định là trình độ học vấn của bệnh nhân, hỏi trực tiếp bệnh nhân, gồm 4 giá trị:

- Tiểu học
- Trung học cơ sở
- Trung học phổ thông
- Cao đẳng/ Đại học

Nghề nghiệp: là nghề nghiệp hiện tại của bệnh nhân, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Lao động chân tay: là sử dụng chân tay, cơ bắp
- Lao động trí óc: là lao động phức tạp chủ yếu sử dụng trí óc

Yếu tố nguy cơ nguồn nước sử dụng: nguồn nước của người bệnh sử dụng hàng ngày, liên tục trong vòng 6 tháng hoặc hơn, biến danh định, có 4 giá trị:

- Nước giếng
- Nước máy
- Nước suối
- Nguồn nước khác

Yếu tố nguy cơ tiếp xúc hóa chất hoặc kim loại nặng, thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ: nơi ở hoặc nơi làm việc có sự tiếp xúc với hóa chất hoặc kim loại nặng, thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ trong vòng 3 km, liên tục trong 1 năm, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị: Có/ Không

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

Số liệu được thu thập theo phiếu thu thập đã được soạn sẵn. Dữ liệu thu thập bằng bộ câu hỏi: nhân trắc, học vấn, nơi sống, lối sống, tiền sử bệnh lý, dùng thuốc và yếu tố môi trường: tiếp xúc thuốc trừ sâu, dùng nước giếng khoan.

2.7. Phân tích và xử lý số liệu

Để giải đáp mục tiêu 1 (mô tả đặc điểm lâm sàng) và mục tiêu 2 (xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ bệnh Parkinson khởi phát sớm), dữ liệu được phân tích bằng các phương pháp phân tích mô tả và phân tích suy luận.

Phân tích mô tả: Trung bình và độ lệch chuẩn (biến liên tục) và tỷ lệ (đối với biến phân nhóm). Khác biệt giữa hai nhóm: kiểm định t (t-test) đối với biến liên tục và Kiểm định phương sai đối với biến phân nhóm. $P < 0,05$ được xem là “có ý nghĩa thống kê”

Phân tích suy luận: Đánh giá mối liên quan giữa mỗi yếu tố môi trường và bệnh Parkinson: Mô hình hồi qui logistic. Tỷ số odds (OR) và khoảng tin cậy 95%. Các yếu tố nguy cơ: tuổi, giới tính, học vấn, nghề nghiệp, tiền sử mắc bệnh Parkinson trong gia đình, nguồn nước, phơi nhiễm thuốc trừ sâu, và nơi sống.

Đối với mục tiêu 3: phân tích biểu thể di truyền

- Phân tích methyl hóa DNA
- So sánh hệ số methyl hóa giữa 2 nhóm bệnh và chứng
- Mối liên hệ giữa methyl hóa bất thường và yếu tố lâm sàng
- Dự báo bệnh Parkinson khởi phát sớm.

2.8. Sơ đồ thực hiện nghiên cứu



2.9. Đạo đức trong nghiên cứu

Đề cương và quy trình nghiên cứu được chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược TP. HCM số 55/ HĐĐĐ-ĐHYĐ, ngày 12 tháng 3 năm 2019. Những thông tin cá nhân (như tên, năm sinh, số điện thoại liên lạc, địa chỉ) được bảo mật, không công khai, chỉ sử dụng khi cần liên lạc với người bệnh hoặc thân nhân để thu thập những thông tin liên quan đến nghiên cứu.

Quá trình thu thập dữ liệu không làm ảnh hưởng đến tình hình bệnh của người tham gia vào nghiên cứu, không làm chậm trễ cho việc khám, chẩn đoán, điều trị và theo dõi bệnh nhân. Chi phí thực hiện nghiên cứu do nghiên cứu viên chi trả. Tất cả bệnh nhân tham gia nghiên cứu đều được giải thích cụ thể về mục đích, lợi ích và bất lợi khi tham gia nghiên cứu và chỉ nhận vào nghiên cứu khi bệnh nhân và thân nhân đồng ý và ký thỏa thuận tham gia nghiên cứu.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ

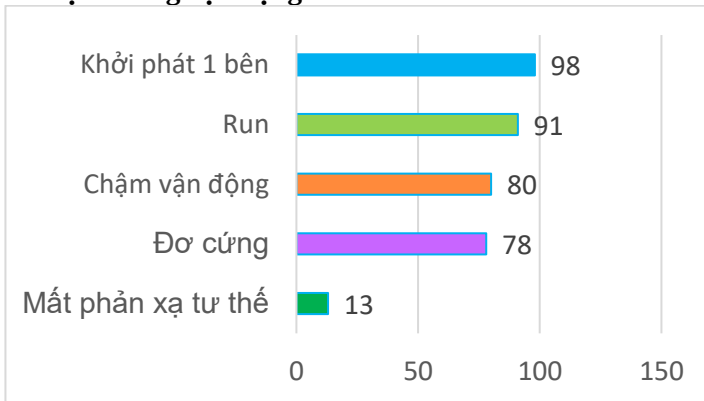
Trong thời gian từ tháng 7 năm 2019 đến tháng 7 năm 2022, chúng tôi tiến hành thu thập số liệu và tuyển chọn được 100 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Parkinson và 100 nhóm chứng (không mắc bệnh Parkinson) thỏa tất cả các tiêu chí chọn mẫu. Đặc điểm của bệnh Parkinson khởi phát sớm được trình bày dưới đây.

3.1. Đặc điểm lâm sàng và một số các yếu tố nguy cơ liên quan bệnh Parkinson khởi phát sớm

3.1.1 Đặc điểm lâm sàng nhóm bệnh và nhóm chứng

	Nhóm bệnh	Nhóm chứng	Trị số p
N	100	100	
Hút thuốc lá (%)	21	10	< 0,001
Dùng rượu bia (%)	26	28	0,75
Nguồn nước (%)			
Giếng	36	17	
Nước máy	57	78	
Suối	7	3	< 0,001
Tiếp xúc thuốc trừ sâu (%)	60	27	< 0,001
Sống ở nông thôn (%)	73	30	< 0,001

3.1.2. Triệu chứng vận động



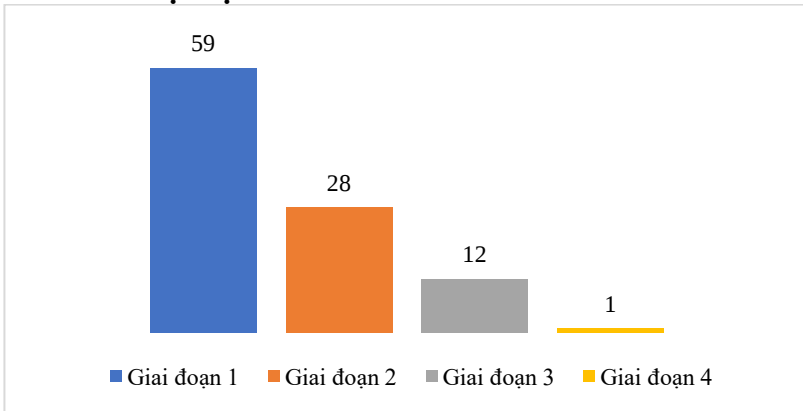
Biểu đồ 3.1: Triệu chứng khởi phát bệnh

Triệu chứng khởi phát bệnh 1 bên chiếm tỷ lệ cao (98%), trong 39% chuyển sang 2 bên trong quá trình diễn tiến bệnh. Triệu chứng run khi nghỉ là triệu chứng khởi phát thường gặp nhất (91%), chậm vận động (80%), đơ cứng (78%), mất phản xạ tư thế (13%).

3.1.3. Triệu chứng ngoài vận động

Triệu chứng rối loạn lo âu chiếm tỷ lệ cao nhất (71%), kế đến là triệu chứng rối loạn giấc ngủ (51%), các triệu chứng còn lại dưới 50%.

3.1.4. Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr



Biểu đồ 3.2: Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr

Nghiên cứu cho thấy phân độ theo Hoehn và Yahr giai đoạn 1 chiếm tỉ lệ cao nhất (59%), giai đoạn 2 (28%), giai đoạn 3 (12%), giai đoạn 4 chiếm tỷ lệ thấp nhất (1%), không có bệnh nhân giai đoạn 5.

3.2. Mối liên quan giữa các yếu tố dân số xã hội và môi trường với bệnh Parkinson khởi phát sớm

Bảng 3.1: Tỷ số chênh các yếu tố nguy cơ liên quan với bệnh Parkinson khởi phát sớm

Yếu tố nguy cơ	OR (KTC 95%)	p
Lao động chân tay	7,11 (3,60 – 14,21)	<0,001
Học vấn từ trung học cơ sở trở xuống	3,79 (2,03 – 7,12)	<0,001
Nước giếng so với các nguồn nước khác	2,40 (1,26 – 4,57)	0,008
Sống tại nông thôn	6,31 (3,41 – 11,67)	<0,001
Phơi nhiễm thuốc trừ sâu	4,06 (2,24 – 7,36)	<0,001

Kiểm định: Hồi qui logistic

Nghiên cứu sử dụng hồi quy logistic dùng để lượng hóa mối liên quan giữa bệnh Parkinson khởi phát sớm với các yếu tố liên quan, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3. Mô tả đặc điểm biểu thể di truyền

3.3.1. Phân tích sự khác biệt methyl hóa giữa bệnh nhân Parkinson và nhóm chứng

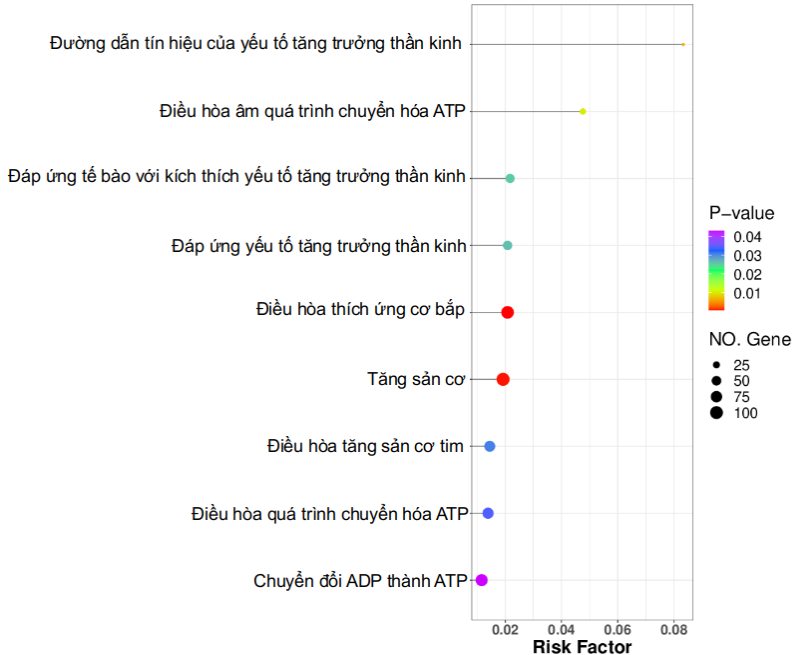
Nghiên cứu về biểu thể di truyền là để đánh giá sự tương tác giữa gen và môi trường với bệnh Parkinson khởi phát sớm. 20 mẫu máu trong số 100 mẫu, bao gồm 10 cá thể khỏe mạnh (nhóm chứng) và 10 bệnh nhân Parkinson được giải trình tự và xác định vị trí methyl hóa trên toàn bộ bộ gen. Kết quả sau khi giải trình tự, có 27,779,984 vị trí methyl hóa được xác định ở tất cả các mẫu máu.

Khác biệt methyl hóa Cytosin (DMCs) được định nghĩa là tại vị trí đó mức độ methyl hóa giữa hai nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($FDR < 0,05$). Với sự khác biệt giá trị beta trung bình giữa hai nhóm là 20 và $FDR < 0,05$ và có 1338 vị trí CpGs trong tổng số 27 triệu vị trí được xác định có sự khác biệt mức độ methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.

Tiếp theo, dựa trên giá trị khác biệt (delta), 1338 vị trí DMC có 691 vị trí CpGs giảm mức độ methyl hóa - mức độ methyl hóa của người bệnh thấp hơn nhóm chứng và 647 vị trí CpGs tăng mức độ methyl hóa - mức độ methyl hóa của người bệnh cao hơn nhóm chứng

Những vị trí CpGs khác nhau được tập hợp lại thành các vùng khác biệt được gọi là DMRs. Những vùng khác biệt này là vùng chứa các DMCs nằm gần nhau trên cùng nhiễm sắc thể. Kết quả có 266 vùng được phát hiện (DMRs) từ 1338 vị trí CpGs bất thường, trong đó có 134 DMRs nằm trong vùng gen và 132 nằm trong vùng không có gen, các DMRs này có số lượng CpGs ít nhất là 2 và nhiều nhất lên đến 40 CpGs. Đa số các DMRs có số lượng CpGs dao động từ 2 đến 10. Các DMRs có sự phân bố đều trên các nhiễm sắc thể khác nhau - bao gồm nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính.

3.3.2. Ảnh hưởng của các vùng methyl hóa bất thường đến các đường sinh học (Biologic pathway)



Biểu đồ 3.3: Các đường sinh học liên quan đến các DMRs - vùng khác biệt methyl hóa

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng, các đường bị ảnh hưởng bởi 266 vùng DMRs có liên quan đến các con đường sinh học về cơ chế điều hòa của cơ, chuyển hóa năng lượng ATP và phát triển của tế bào thần kinh.

3.3.3. Yếu tố lâm sàng ảnh hưởng đến sự thay đổi methyl hóa DNA

Bảng 3.2: Vùng khác biệt methyl hóa (DMRs) liên quan đến các yếu tố lâm sàng

DMR	Nhiễm sắc thể	Bắt đầu	Kết thúc	nCpG	Khác biệt trung bình	Gen	Yếu tố lâm sàng	Methyl hóa DNA	Vùng gen	nDMCs
1	chr12	11700255	11700344	13	0,20	<i>RP11-434C1.2</i>	Tiếp xúc với thuốc trừ sâu	Tăng methyl hóa	promoters	7
2	chr19	13874994	13875046	3	0,24	<i>MRI1</i>	Tiếp xúc với thuốc trừ sâu	Tăng methyl hóa	promoters	3
1	chr12	11700255	11700344	13	0,20	<i>RP11-434C1.2</i>	Sống ở vùng nông thôn	Tăng methyl hóa	promoters	7
3	chr22	33153345	33153387	4	0,21	<i>SYN3</i>	Sống ở vùng nông thôn	Giảm methyl hóa	introns	4
4	chr22	33172527	33172640	3	0,24	<i>SYN3</i>	Sống ở vùng nông thôn	Tăng methyl hóa	introns	3

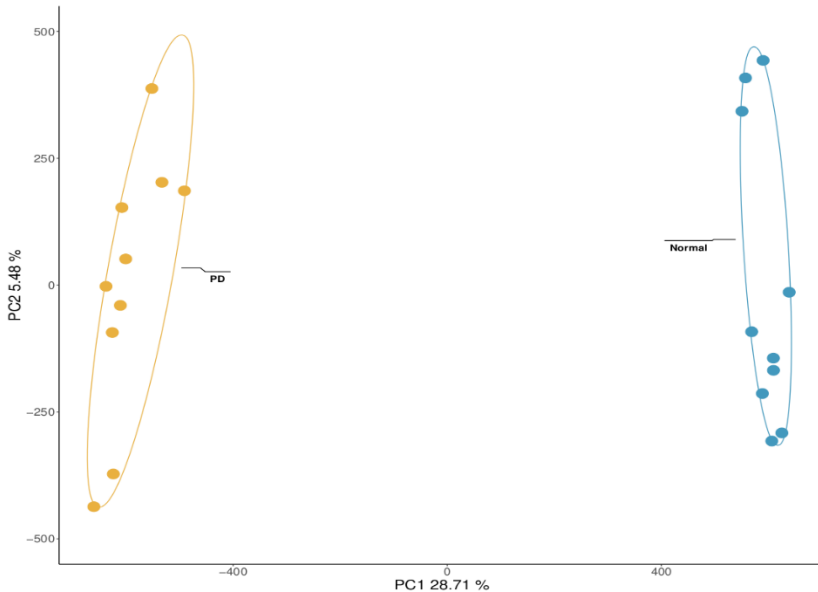
DMR	Nhiễm sắc thể	Bắt đầu	Kết thúc	nCpG	Khác biệt trung bình	Gen	Yếu tố lâm sàng	Methyl hóa DNA	Vùng gen	nDMCs
5	chr4	185021515	185021796	9	0,32	<i>ENPP6</i>	Sống ở vùng nông thôn	Giảm methyl hóa	introns	6
6	chr2	130794581	130795129	40	0,22	<i>KLF2P1</i> , <i>FAR2P1</i>	Uống nước giếng	Tăng methyl hóa	introns	28

Sau khi tìm được 266 vùng DMR khác biệt methyl hóa ở bệnh nhân Parkinson, những DMR này được đánh giá ảnh hưởng đến sự bất thường bởi các yếu tố lâm sàng khác nhau như việc sống ở nông thôn, tiếp xúc với thuốc trừ sâu và việc uống nước giếng. Việc đánh giá này nhằm xem xét các yếu tố tác động bên ngoài có ảnh hưởng đến sự bất thường methyl hóa ở người bệnh hay không. Kết quả cho thấy, có 6 vùng methyl hóa bất thường bị ảnh hưởng bởi các yếu tố trên, trong đó việc bệnh nhân sống ở vùng nông thôn ảnh hưởng đến 4 vùng DMR. Ngoài ra, việc uống nước giếng ảnh hưởng đến 1 vùng DMR ở nhiễm sắc thể 2 và yếu tố tiếp xúc với thuốc trừ sâu ảnh hưởng đến 2 vùng DMR, trong đó vùng DMR số 1 ở nhiễm sắc thể 12 tiếp xúc với yếu tố thuốc trừ sâu trùng với vùng DMR bị ảnh hưởng bởi việc sống ở vùng nông thôn.

Cả 6 DMR đều nằm trong vùng gen và ở các vùng chức năng khác nhau như vùng promoter, intron. Trong đó, DMR số 1 và số 2 nằm ở vùng promoter của hai gen *RP11-434C1.2* và *MRI1*, các DMR còn lại nằm ở vùng intron của các gen *SYN3*, *ENPP6* và *KLF2P1*, *FAR2P1*. DMR số 1 nằm ở nhiễm sắc thể 12 đồng thời bị ảnh hưởng bởi hai yếu tố thuốc trừ sâu và sống ở vùng nông thôn, có mức độ methyl hóa tăng ở người bệnh Parkinson.

3.3.4. Dự báo bệnh Parkinson dựa trên sự bất thường methyl hóa

Như vậy, kết quả cho thấy có 1338 vị trí CpG trên nhiễm sắc thể (bao gồm nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính X) có sự bất thường methyl hóa được phát hiện và mang giá trị tiềm năng phát triển thành dấu ấn sinh học giúp tiên đoán nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở người trẻ tuổi. Sử dụng dữ liệu methyl hóa từ 1338 vị trí này với phương pháp thống kê giảm chiều – PCA, mỗi dấu chấm là một cá thể cho thấy rằng hai nhóm mẫu gồm bệnh Parkinson và nhóm chứng phân tách thành cụm và tách nhau rõ ràng. Điều này cho thấy, sự khác biệt về methyl hóa có thể giúp phân biệt giữa hai nhóm bệnh Parkinson và nhóm chứng.



Biểu đồ 3.4: Biểu đồ giảm chiều bằng phương pháp PCA dựa trên methyl hóa của 1338 CpGs.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng ở nhóm bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm

Triệu chứng khởi phát bệnh:

Bệnh Parkinson khởi phát sớm với các triệu chứng vận động chiếm ưu thế. Run là triệu chứng thường gặp nhất (91%), kế đến là đơ cứng (78%). So với nghiên cứu của tác giả Tô Thị Thu Hương trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có triệu chứng khởi phát bệnh run là 93,8% và đơ cứng là 87,5%, nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang có tỷ lệ triệu chứng run là 87,8% và đơ cứng là 73,1%, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi.

Triệu chứng mất phản xạ tư thế trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp chỉ 13%. Triệu chứng này thường xuất hiện ở những người bệnh có thời gian mắc bệnh dài, kết quả điều trị đạt hiệu quả không cao và mắc nhiều bệnh lý nền. Vì vậy, trong nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm sẽ ít gặp.

Triệu chứng chậm vận động:

Trong nghiên cứu, trên 80% người bệnh có ít nhất 1 triệu chứng chậm vận động và tất cả người bệnh có biểu hiện của tình trạng chậm vận động. Các nghiên cứu mà chúng tôi ghi nhận cũng đều có kết quả người bệnh Parkinson có biểu hiện chậm vận động với tỷ lệ trên 90%.

Triệu chứng ngoài vận động:

Trong nghiên cứu của chúng tôi, triệu chứng rối loạn lo âu là triệu chứng thường gặp nhất. Điều này có thể là do những người bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể gặp nhiều vấn đề khác như thất nghiệp do tàn tật hoặc nghỉ hưu sớm và những yếu tố này góp phần làm suy giảm chất lượng sống nhiều và người bệnh Parkinson khởi phát sớm thường bị rối loạn lo âu nhiều hơn. Điều này phù hợp với nghiên cứu Post B năm 2020.

Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr:

Bệnh nhân chủ yếu ở giai đoạn 1 và không ghi nhận có bệnh nhân ở giai đoạn 5, có thể do bệnh nặng bệnh nhân nằm liệt giường không đến bệnh viện khám hoặc tự mua thuốc ở nhà.

4.2. Mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và bệnh Parkinson khởi phát sớm

Chúng tôi cũng ghi nhận được có mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa bệnh Parkinson khởi phát sớm với các yếu tố hút thuốc lá và uống cà phê. Kết quả này chưa phù hợp với y văn và những nghiên cứu khác trên thế giới, bởi vì nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng uống cà phê và hút thuốc lá có khả năng ngăn ngừa nguy cơ phát triển bệnh Parkinson. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi chưa đủ lớn và không tương đồng về nơi sống, trình độ học vấn, loại cà phê uống và loại thuốc lá hút và các yếu tố khác.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sử dụng nước giếng khoan là một yếu tố nguy cơ đối với bệnh Parkinson khởi phát sớm, ở nhóm bệnh là 36% và cao hơn nhóm chứng là 19%, mối liên quan có ý nghĩa thống kê ($p=0,006$).

Ở Việt Nam, đa số cư dân sống ở vùng nông thôn làm nghề nông nên mức độ phơi nhiễm thuốc trừ sâu cao hơn người thành thị và sử dụng nước giếng vốn bị phơi nhiễm với kim loại nặng. Điều này có thể giải thích tại sao người nông thôn có nguy cơ mắc bệnh Parkinson cao hơn cư dân thành thị. Về yếu tố sống ở vùng nông thôn, có mối liên quan thuận có ý nghĩa thống kê với bệnh Parkinson khởi phát sớm với $OR = 6,31$ và $p<0,001$. Đa số nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng sống tại vùng nông thôn là yếu tố nguy cơ của bệnh Parkinson. Tỷ lệ tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ trong cuộc sống hàng ngày ở nhóm bệnh là 60% cao gấp 2,2 lần so với nhóm chứng là 27%, có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ($p<0,001$). Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây, phơi nhiễm thuốc trừ sâu là một yếu tố nguy cơ

mắc bệnh Parkinson. Thật ra, hai yếu tố này (sống ở nông thôn và phơi nhiễm thuốc trừ sâu) có liên quan chặt chẽ với nhau, bởi đa số người dân sống ở nông thôn làm nghề nông và họ bị phơi nhiễm thuốc trừ sâu. Do đó, sống ở nông thôn có thể xem là một 'marker' gián tiếp cho phơi nhiễm hoá chất trừ sâu. Nghiên cứu này đóng góp dữ liệu và chứng cứ trong y văn về mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và bệnh Parkinson khởi phát sớm. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể ngăn ngừa được, vì các yếu tố nguy cơ đều có thể can thiệp hay thay đổi.

4.3. Biểu thể di truyền

Nghiên cứu đã phát hiện 1338 vị trí có methyl hóa khác biệt giữa nhóm bệnh Parkinson và nhóm chứng, một con số đáng kể so với các nghiên cứu trước đây. Ví dụ, nghiên cứu của Costanza L và đồng nghiệp vào năm 2020 chỉ tìm thấy một vị trí khác biệt có ý nghĩa. Trong nghiên cứu tác giả sử dụng kỹ thuật array 450K để xác định 485,512 vị trí CpGs trên toàn bộ bộ gen, chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ (khoảng 1,7%) so với tổng số CpG trong cơ thể người. Giá trị khác biệt methyl hóa của 1338 vị trí giữa nhóm bệnh và nhóm chứng lớn, từ 0,2 (20%) đến 0,5 (50%), cho thấy tiềm năng của chúng là các dấu ấn sinh học (biomarker) trong việc tiên đoán và phát hiện sớm bệnh Parkinson. Thực tế, phân tích giảm chiều PCA dựa trên hệ số methyl hóa của các vị trí khác biệt này đã cho thấy sự phân tách rõ ràng giữa hai nhóm. Điều này cung cấp cơ sở nghiên cứu quan trọng cho việc phát triển các chất đánh dấu sinh học từ 1338 vị trí khác biệt này. Đáng chú ý, việc sử dụng mẫu máu trong nghiên cứu này mang ý nghĩa quan trọng, vì các chất đánh dấu sinh học phát hiện bệnh từ các DMC được tìm thấy trong nghiên cứu này, sẽ giúp việc chẩn đoán phát hiện bệnh trở nên dễ dàng hơn và ít xâm lấn hơn thông qua việc xét nghiệm máu.

Phân tích về chức năng gen (functional gene analysis) dựa trên 266 vùng khác biệt methyl hóa (DMRs), thấy rằng có nhiều con đường sinh học liên quan đến thần kinh cũng như hoạt động của cơ. Điều này

cho thấy, mối liên quan giữa các vùng bất thường methyl hóa và các gen liên quan có tác động đến các con đường sinh học, dẫn đến cơ chế bệnh lý của bệnh Parkinson.

Qua nghiên cứu nhận thấy, bệnh nhân tiếp xúc các yếu tố môi trường như việc tiếp xúc với thuốc trừ sâu, uống nước giếng và sống ở vùng nông thôn liên quan đến các sự bất thường methyl hóa ở các vùng khác nhau (DMRs) trên nhiễm sắc thể và các vùng này nằm trên các gen như *SYN3*, *MRI1*, *ENPP6*, *RP11-434C1.2*, *FAR2P1* và *KLF2P1*. Theo Sunker và Alkuraya năm 2013, gen *MRI1* có liên quan đến sự thoái hóa chất trắng (Vanishing white matter disease - VWMD). Khi có biến đổi trong gen này, tế bào thần kinh không thể tổng hợp và duy trì myelin một cách bình thường, dẫn đến thoái hóa chất trắng và gây ra các triệu chứng của bệnh. Ngoài ra, gen *ENPP6* còn liên quan đến bệnh thần kinh, bao gồm dây thần kinh cảm giác và rối loạn thần kinh thực vật, có tính chất di truyền với các triệu chứng mất ngủ, trầm cảm và rối loạn cảm xúc. Đặc biệt, gen *SYN3* có liên quan trực tiếp đến bệnh Parkinson, là chất điều hòa chính chức năng của các tế bào thần kinh tạo ra dopamin, đồng thời *SYN3* tích tụ ở vùng nhân đuôi và bào sẫm của não. Như vậy, những vùng gen có sự bất thường methyl hóa liên quan đến các yếu tố lâm sàng như *SYN3*, *MRI1* và *ENPP6*, đều có những vai trò trực tiếp hoặc gián tiếp đến các bệnh lý thần kinh đặc biệt là bệnh Parkinson.

Theo nghiên cứu của Selvaraj và đồng nghiệp vào năm 2019, các đột biến trên 7 gen gồm *GBA*, *LRRK2*, *PRKN*, *SNCA*, *PINK1*, *PARK7* và *VPS35* được xác định có liên quan trực tiếp đến bệnh Parkinson. Trong số này, gen *SNCA*, *PARK2*, *PINK1* và *DJ1* liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát sớm chiếm 10% trong tổng số ca. Do đó, câu hỏi đặt ra là liệu các bệnh nhân Parkinson trong nghiên cứu có chứa các đột biến trên các gen này không. Nếu có, việc tìm ra nguyên nhân của bệnh sẽ trở nên phức tạp hơn và phân tích biểu thể di truyền sẽ mất đi ý nghĩa lớn. Qua phân tích biến thể trên 20 mẫu nghiên cứu

bằng dữ liệu giải trình tự WGBS, chúng tôi phát hiện 30 biến thể, bao gồm 1 đột biến thay thế, 4 đột biến mất điểm, 7 đột biến chèn và 18 đột biến điểm. Tuy nhiên, khi so sánh với nguồn dữ liệu quốc tế về các đột biến gây bệnh, chúng tôi không tìm thấy bất kỳ đột biến nào trong tổng số 30 biến thể có khả năng gây hại. Từ đó, có thể kết luận rằng các bệnh nhân Parkinson trong nghiên cứu không chứa các đột biến dẫn đến bệnh Parkinson. Để xác định rõ hơn, chúng tôi cũng so sánh mức độ methyl hóa của các CpGs nằm trong các gen này và không tìm thấy sự khác biệt methyl hóa có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh và chứng trên 7 gen liên quan. Từ kết quả này có thể cho thấy rằng, nguyên nhân đột biến gen dẫn đến phát sinh bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể được loại trừ, phải chăng là do yếu tố môi trường làm thay đổi trong biểu hiện của gen và chức năng khác của gen và là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến bệnh thần kinh này.

KẾT LUẬN

1/ Mô tả đặc điểm lâm sàng

Tuổi trung bình là 42,6 tuổi.

Triệu chứng khởi phát bệnh trung bình là 4,5 năm, thời gian chẩn đoán bệnh trung bình là 3,3 năm.

Các triệu chứng vận động lúc khởi phát bệnh: 91% run khi nghỉ, 80% chậm vận động, 78% cứng cơ và 13% mất phản xạ tư thế.

Các triệu chứng ngoài vận động: rối loạn lo âu chiếm 71%, rối loạn giấc ngủ 51%.

Phần lớn bệnh ở giai đoạn 1 theo Hoehn và Yahr chiếm 59%.

Điểm số rối loạn vận động trung bình MDS-UPDRS phần III là 38,2.

2/ Xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ bệnh Parkinson khởi phát sớm

Các yếu tố nguy cơ môi trường liên quan có ý nghĩa thống kê đến bệnh Parkinson là lao động chân tay $p < 0,001$ (OR=7,11; KTC 95%=3,60 – 14,21); trình độ học vấn từ trung học cơ sở trở xuống $p < 0,001$ (OR=3,79; KTC 95%=2,03 – 7,12); sử dụng nước giếng so với các nguồn nước khác hằng ngày $p = 0,008$ (OR=2,4; KTC 95%=1,26 – 4,57); sống tại nông thôn $p < 0,001$ (OR=6,31; KTC 95%=3,41 – 11,67) và phơi nhiễm thuốc trừ sâu $p < 0,001$ (OR=4,06; KTC 95%=2,24 – 7,36).

3/ Đặc điểm biểu thể di truyền ở nhóm bệnh Parkinson khởi phát sớm

Kết quả phân tích 27 triệu CpG phát hiện 266 vùng khác biệt methyl hóa liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát sớm. Các vùng khác biệt methyl hoá nằm trong các đường sinh học liên quan đến cơ chế kiểm soát sức cơ, chuyển hóa năng lượng ATP và phát triển của tế bào thần kinh. Ngoài ra, có 6 vùng methyl hoá (*SYN3*, *ENPP6*, *RP11-434C1.2*, *MRI1*, *FAR2P1* và *KLF2P1*) có liên quan đến tiếp xúc với thuốc trừ sâu, sử dụng nước giếng. Phát hiện từ phân tích biểu thể di truyền này rất phù hợp với kết quả phân tích các yếu tố môi trường, và khẳng định thêm tầm quan trọng của thuốc trừ sâu và nguồn nước giếng đối với bệnh nhân Parkinson.

Kết quả phân tích tiên lượng cho thấy sự khác biệt ở 1338 vị trí methyl hoá có thể phân định giữa người mắc bệnh và người không mắc bệnh khá rõ ràng. Kết quả này hàm ý rằng có thể sử dụng những khác biệt về methyl hoá để nhận dạng ra các cá nhân có nguy cơ cao mắc bệnh Parkinson, nhưng mô hình này cần phải được kiểm tra ở một quần thể độc lập và lớn hơn.

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu này là một nghiên cứu quan sát, không phải thử nghiệm lâm sàng, và những kiến nghị chỉ có thể xem là tham khảo.

1/ Người trẻ là lao động chính của xã hội, vì vậy cần tập trung nghiên cứu ở người trẻ để chú trọng những yếu tố thuận lợi gây ra bệnh, nếu những yếu tố có liên quan bệnh thì chúng ta có thể ngăn chặn bằng cách tránh tiếp xúc với các yếu tố đó. Từ đó chúng ta có thể làm thay đổi diễn tiến của bệnh.

Cần lưu ý những triệu chứng sớm về vận động và không vận động ở người trẻ để có thể chẩn đoán bệnh Parkinson sớm, tránh bỏ sót những triệu chứng bệnh làm chậm trễ chẩn đoán và điều trị cho bệnh nhân.

2/ Mối liên quan giữa phơi nhiễm hoá chất trừ sâu và dùng nước giếng và bệnh Parkinson cho thấy nông dân là nhóm người có nguy cơ cao. Do đó, cần phải có chiến lược y tế công cộng hạn chế sự tiếp xúc thuốc trừ sâu và khuyến khích người dân ở các vùng nông thôn sử dụng các thiết bị lọc để xử lý nguồn nước bảo đảm sức khoẻ cho họ.

3/ Đây là một nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về biểu thể di truyền nhằm đánh giá tác động của các yếu tố môi trường đến bệnh Parkinson. Những kết quả nghiên cứu này tuy còn sơ khởi và dựa trên một cỡ mẫu thấp, nhưng là tiền đề cho các nghiên cứu sau này về ứng dụng methyl hoá đối với bệnh Parkinson các bệnh khác như đái tháo đường, bệnh ung thư... Chúng tôi đề nghị một hay hơn một nghiên cứu đoàn hệ, theo dõi một nhóm người theo thời gian, và nên tập trung vào việc phân tích các vị trí methyl hoá và tạo ra 'chữ ký di truyền' cho mỗi cá nhân, và phân tích mối liên quan giữa chữ ký di truyền và nguy cơ mắc bệnh Parkinson.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Lê Thị Thúy An, Nguyễn Trúc Dung, Trần Thanh Tú, Nguyễn ThịHùng (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*. 2023. 527(1B): 12-17, <https://doi.org/10.51298/vmj.v527i1B.5716>.
2. Lê Thị Thúy An, Trần Thanh Tú, Nguyễn Thị Hùng, Nguyễn Tuấn (2023), “Các yếu tố môi trường liên quan đến bệnh Parkinson khởi ở người trẻ”. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2023. 527(1B): 105-108, [ttps://doi.org/10.51298/vmj.v527i1B.5750](https://doi.org/10.51298/vmj.v527i1B.5750).