BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN VIỆT TRƯỜNG

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE TẠI BỆNH VIỆN NHI ĐỒNG 1

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN VIỆT TRƯỜNG

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE TẠI BỆNH VIỆN NHI ĐỒNG 1

NGÀNH**:** NHI KHOA

MÃ SỐ: 62.72.01.35

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. NGUYỄN ANH TUẤN (HDC)
2. PGS.TS. TẠ VĂN TRẦM (HDP)

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là hoàn toàn trung thực, khách quan và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Người thực hiện

Nguyễn Việt Trường

MỤC LỤC

Trang

Trang phụ bìa

Lời cam đoan ..... **i**

Mục lục ..... **ii**

Danh mục các từ viết tắt ..... **iv**

Danh mục đối chiếu các thuật ngữ Anh Việt ..... **iv**

Danh mục các bảng ..... **vii**

Danh mục các hình ảnh, biểu đồ, lưu đồ ..... **ix**

MỞ ĐẦU **1**

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU **4**

1.1. Lịch sử hội chứng Alagille 4

1.2. Sinh bệnh học 6

1.3. Biểu hiện lâm sàng 10

1.4. Cận lâm sàng 17

1.5. Tiêu chuẩn chẩn đoán 22

1.6. Điều trị 24

1.7. Tiên lượng 34

1.8. Các nghiên cứu về hội chứng Alagille 35

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU **44**

2.1. Thiết kế nghiên cứu 44

2.2. Đối tượng nghiên cứu 44

2.3. Thu thập dữ liệu 45

2.4. Xử lý và phân tích số liệu 59

2.5. Đạo đức trong nghiên cứu 60

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....61
3.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu.....62
3.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille.....64
3.3. Đặc điểm đột biến gen của trẻ mắc hội chứng Alagille 74
3.4. Mối liên quan kiểu gen - kiểu hình ở trẻ mắc hội chứng Alagille.....80
3.5. Các yếu tố liên quan tiên lượng bệnh gan ở trẻ mắc hội chứng Alagille..83
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN 94
4.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu.....94
4.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille.....96
4.3. Đặc điểm đột biến gen của trẻ mắc hội chứng Alagille 104
4.4. Mối liên quan kiểu gen - kiểu hình ở trẻ mắc hội chứng Alagille.....110
4.5. Các yếu tố liên quan diễn tiến bệnh gan ở trẻ mắc hội chứng Alagille 113
KẾT LUẬN.....121
KIẾN NGHỊ 122
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Nguyên chữ
ALT	Alanine transaminase
AST	Aspartate transferase
CD	Cluster of differentiation
CS	Cột sống
DSL	Delta serrate ligand
ĐMC	Động mạch chủ
ĐMP	Động mạch phổi
EGF	Epidermal growth factor
Ex	Exon
GGT	Gamma-glutamyl transpeptidase
IVS	Intervening sequence
KQ	Kết quả
KTV	Khoảng tứ vị
KXĐ	Không xác định
JAG1	*JAGGED1*
NL	Notch ligand
SA	Siêu âm
TCLS	Triệu chứng lâm sàng
TP.HCM	Thành phố Hồ Chí Minh
TV	Trung vị

DANH MỤC ĐỐI CHIẾU CÁC THUẬT NGỮ ANH VIỆT

Ký hiệu, Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ALGS	Alagille syndrome	Hội chứng Alagille
ALP	Alkaline phosphatase	Phosphatase kiềm
ANKRD	Ankyrin repeat domain	Miền lặp lại Ankyrin
aPTT	Activated partial thromboplastin time	Thời gian thromboplastin một phần hoạt hóa
ASD	Atrial septal defect	Thông liên nhĩ
BA	Biliary atresia	Teo đường mật
BTP	Total bilirubin	Bilirubin toàn phần
BTT	Direct bilirubin	Bilirubin trực tiếp
CT scan	Computerized Tomography scan	Chụp cắt lớp vi tính
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axít deoxyribonucleic
ECG	Electrocardiogram	Điện tâm đồ
ERCP	Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography	Chụp mật tụy ngược dòng qua nội soi
HIDA	Dimethyl iminodiacetic acid scan	Chụp axít dimethyl iminodiacetic
IOC	Intraoperative cholangiogram	Chụp đường mật trong phẫu thuật
LDL	Low density lipoprotein	Lipoprotein trọng lượng thấp
MARS	Molecular adsorbent recirculation system	Hệ thống tái tuần hoàn hấp thu phân tử
MCT	Medium chain triglyceride	Triglycerid chuỗi trung bình

MRCP	Magnetic Resonance Cholangiopancreatogram	Chụp cộng hưởng từ mật tụy
NCBI	National Center for Biotechnology Information	Trung tâm quốc gia về thông tin kỹ thuật sinh học
NH	Neonatal hepatitis	Viêm gan sơ sinh
NICD	Notch intracellular domain	Miền trong tế bào Notch
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
PDA	Patent Ductus Arteriosus	Còn ống động mạch
PEBD	Partial external biliary diversion	Chuyển vị đường mật ra ngoài một phần
PEST	Proline, glutamine, serine and threonine rich domain	Miền giàu proline, glutamine, serine và threonine
PFIC	Progressive familial intrahepatic cholestasis	Ứ mật trong gan tiến triển gia đình
PPS	Peripheral pulmonary stenosis	Hẹp động mạch phổi ngoại biên
PT	Prothrombin time	Thời gian prothrombin
RAS-MAPK	RAS – Mitogen activated protein kinases	Protein hoạt hóa Mitogen và protein RAS
SNP	Single nucleotide polymorphism	Đa hình nucleotide đơn
TC	Triangular cord	Dây chằng tam giác
TOF	Tetralogy of Fallot	Tứ chứng Fallot
UDCA	Ursodeoxycholic acid	Axít ursodeoxycholic
VSD	Ventricular septal defect	Thông liên thất

DANH MỤC CÁC BẢNG

Trang

Bảng 1.1. Các bệnh tim bẩm sinh trong hội chứng Alagille 12
Bảng 1.2. Tóm tắt các nghiên cứu về đặc điểm trẻ ALGS 38
Bảng 1.3. Tóm tắt các nghiên cứu đặc điểm di truyền học trẻ ALGS 41

Bảng 2.1. Định nghĩa các triệu chứng lâm sàng chính chẩn đoán ALGS 45
Bảng 2.2. Các biến số nghiên cứu 48
Bảng 2.3. Các phản ứng khuếch đại gen *JAG1* đoạn ngắn 54
Bảng 2.4. Các phản ứng khuếch đại gen *JAG1* đoạn dài 54

Bảng 3.1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu 62
Bảng 3.2. Phân bố lý do nhập viện 64
Bảng 3.3. Tần suất biểu hiện triệu chứng lâm sàng chính 64
Bảng 3.4. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính biểu hiện đồng thời 64
Bảng 3.5. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính 64
Bảng 3.6. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính phân theo giới 64
Bảng 3.7. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính phân theo tuổi 64
Bảng 3.8. Các đặc điểm bất thường gan 67
Bảng 3.9. Các đặc điểm bất thường tim 67
Bảng 3.10. Các đặc điểm bất thường mắt 68
Bảng 3.11. Các đặc điểm bất thường cột sống 68
Bảng 3.12. Các đặc điểm cận lâm sàng 69
Bảng 3.13. Các đặc điểm cận lâm sàng phân theo giới 72
Bảng 3.14. Các đặc điểm cận lâm sàng phân theo tuổi 73
Bảng 3.15. Đặc điểm đột biến gen trẻ ALGS 75

Bảng 3.16. Đặc điểm tính đa hình nucleotide đơn 77
Bảng 3.17. Tần suất phát hiện đột biến gen *JAG1* ở thân nhân bệnh nhân ALGS 79
Bảng 3.18. Mối liên quan giữa các đặc điểm nền với đột biến 80
Bảng 3.19. Mối liên quan giữa các bất thường lâm sàng chính với đột biến ...81
Bảng 3.20. Mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với đột biến 82
Bảng 3.21. Thời gian theo dõi và diễn tiến bệnh gan 83
Bảng 3.22. Phân bố diễn tiến bệnh gan 84
Bảng 3.23. Mối liên quan giữa các đặc điểm nền với diễn tiến bệnh gan.....84
Bảng 3.24. Mối liên quan giữa lý do nhập viện với diễn tiến bệnh gan 85
Bảng 3.25. Mối liên quan giữa các bất thường lâm sàng chính với diễn tiến bệnh gan 85
Bảng 3.26. Mối liên quan giữa các đặc điểm bất thường gan với diễn tiến bệnh gan.....86
Bảng 3.27. Mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan.....87
Bảng 3.28. Diện tích dưới đường cong R.O.C, điểm cắt, độ nhạy, độ đặc hiệu của các chỉ số cận lâm sàng.....88
Bảng 3.29. Mối liên quan giữa các chỉ số cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan89
Bảng 3.30. Đặc điểm trẻ ALGS tử vong trong mẫu nghiên cứu.....91

Bảng 4.1. So sánh kết quả đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS của chúng tôi và các tác giả.....97
Bảng 4.2. So sánh kết quả các kiểu đột biến gen *JAG1* của chúng tôi và các tác giả.....106

DANH MỤC CÁC HÌNH ẢNH, BIỂU ĐỒ, LƯU ĐỒ, SƠ ĐỒ

Trang

HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Cấu trúc protein JAG1 và vị trí gen *JAG1* trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 20 **8**

Hình 1.2. Cấu trúc protein NOTCH2 và vị trí gen *NOTCH2* trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể số 1 **9**

Hình 1.3. Các dạng u vàng ở trẻ ALGS **10**

Hình 1.4. Vòng đục sau giác mạc **13**

Hình 1.5. Đốt sống hình cánh bướm **14**

Hình 1.6. Trẻ ALGS có mắt sâu, sóng mũi gãy và cằm nhọn **15**

Hình 1.7. Đốm cà phê sữa ở trẻ ALGS **17**

Hình 1.8. Thiểu sản đường mật trong gan **22**

Hình 1.9. Phẫu thuật chuyển vị đường mật ra ngoài một phần **31**

Hình 2.1. Dấu TC dương trên siêu âm **46**

Hình 2.2. Kết quả phản ứng PCR khuếch đại 26 exon gen *JAG1* **55**

Hình 2.3. Kết quả phản ứng PCR khuếch đại 26 exon gen *JAG1* **56**

Hình 2.4. Kết quả giải trình tự exon 6 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS **56**

Hình 2.5. Kết quả giải trình tự exon 11 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS **57**

Hình 2.6. Kết quả giải trình tự exon 26 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS **57**

Hình 3.1. Tính đa hình nucleotide đơn trên một bệnh nhân ALGS **77**

BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Phân bố giới tính của đối tượng tham gia nghiên cứu.....**62**
Biểu đồ 3.2. Phân bố bệnh nhân theo địa chỉ **63**
Biểu đồ 3.3. Các kiểu đột biến gen *JAG1* **76**
Biểu đồ 3.4. Vị trí đột biến gen *JAG1* **77**
Biểu đồ 3.5. Đường cong Kaplan Meier xác suất nặng và tử vong theo thời gian **90**
Biểu đồ 3.6. Đường cong Kaplan Meier xác suất nặng và tử vong theo thời gian phân theo đột biến gen.....**91**

LƯU ĐỒ, SƠ ĐỒ

Lưu đồ 1.1. Hướng dẫn gợi ý trong điều trị ngứa.....**30**
Lưu đồ 2.1. Các bước thực hiện nghiên cứu.....**51**
Sơ đồ 3.1. Kết quả nghiên cứu **51**

MỞ ĐẦU

Hội chứng Alagille (ALGS) là một rối loạn tính trội nhiễm sắc thể thường, ảnh hưởng nhiều hệ thống cơ quan khác nhau, chủ yếu bao gồm gan, tim, mắt, cột sống và khuôn mặt [72], [129]. Bệnh được Daniel Alagille mô tả lần đầu năm 1969 [5], sau đó được Watson và Miller mô tả bổ sung năm 1973 [132]. Năm 1975, Alagille đã mô tả đầy đủ nhất các biểu hiện lâm sàng của hội chứng [6]. Từ đó, các tác giả đã đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh bao gồm thiểu sản đường mật trong gan kết hợp biểu hiện ít nhất ba triệu chứng lâm sàng chính.

Bệnh rất hiếm gặp, tỷ lệ mắc bệnh là 1:70.000 trẻ sơ sinh [30]. Năm 1997, đột biến gen *JAGGED1* (*JAG1*) thuộc nhiễm sắc thể 20 đã được phát hiện là nguyên nhân chính gây ra ALGS [86], [102]. Năm 2006, tỷ lệ nhỏ đột biến gen *NOTCH2* (< 1%) cũng được phát hiện là nguyên nhân thứ hai gây bệnh [93]. Cả hai gen đều thuộc con đường tín hiệu Notch. Từ đó, tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh được thay đổi, chẩn đoán xác định ALGS bao gồm gen đột biến gây bệnh *JAG1* hoặc *NOTCH2* và một biểu hiện lâm sàng chính.

Việc chẩn đoán sớm ALGS là rất quan trọng vì bệnh thường biểu hiện đa dạng, triệu chứng tương tự với các bệnh lý khác, đặc biệt là teo đường mật, nhất là giai đoạn sơ sinh. Hậu quả là trẻ thường bị chẩn đoán nhầm và phải chịu các can thiệp không cần thiết, làm ảnh hưởng nặng nề đến tiên lượng của bệnh như phẫu thuật Kasai [42], [76], [85]. Điều trị chủ yếu là điều trị nâng đỡ, điều trị triệu chứng cùng với chế độ dinh dưỡng hợp lý cho thấy có cải thiện chất lượng cuộc sống đáng kể. Tiên lượng bệnh chủ yếu dựa vào bệnh lý gan và tim. Trong khi các tổn thương tim thường gây tử vong sớm thì các bệnh lý gan góp phần quyết định tử vong muộn [73].

Hiện tại, trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu ALGS về biểu hiện lâm sàng cũng như đặc điểm di truyền học. Kết quả cho thấy biểu hiện ALGS rất đa dạng, phong phú, nhiều mức độ khác nhau và phát hiện nhiều kiểu gen đột biến mới. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào về ALGS được thực hiện ngoại trừ nghiên cứu của Lin C. Henry và Hoàng Lê Phúc về phân tích đột biến và đánh giá kiểu hình nét mặt của trẻ ALGS Việt Nam [89]. Tuy nhiên, hạn chế của nghiên cứu là mẫu nhỏ chưa mang tính đại diện cho dân số Việt Nam, và chủ yếu tập trung phân tích đột biến gen và kiểu hình nét mặt. Kết quả không cho thấy giá trị kiểu hình nét mặt trong chẩn đoán ALGS với độ đặc hiệu thấp hơn nhiều so với các báo cáo trên thế giới.

Tại khoa Tiêu hóa, bệnh viện Nhi đồng 1, hiện tại chẩn đoán ALGS chủ yếu dựa vào lâm sàng, thường chẩn đoán nhầm với teo đường mật làm ảnh hưởng chất lượng cuộc sống bệnh nhân. Ngoài ra, do không theo dõi bệnh nhân đầy đủ nên chưa tiên lượng được biểu hiện bệnh gan về sau. Từ những thách thức đó cũng như từ những kết quả và hạn chế của nghiên cứu Lin C. Henry và Hoàng Lê Phúc trước đây về trẻ ALGS Việt Nam như hạn chế về cỡ mẫu và giá trị của kiểu hình nét mặt trong chẩn đoán bệnh, chúng tôi tiếp tục tiến hành nghiên cứu "Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille tại bệnh viện Nhi Đồng 1" nhằm hỗ trợ chẩn đoán chính xác ALGS, hỗ trợ điều trị bệnh hiệu quả hơn. Bên cạnh đó, cùng với việc theo dõi diễn tiến bệnh, chúng tôi mong muốn sẽ phát hiện các yếu tố quan trọng góp phần tiên lượng bệnh gan về sau, để từ đó có kế hoạch chăm sóc, theo dõi sớm hơn nhằm cải thiện tích cực chất lượng cuộc sống cho trẻ ALGS.

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

1. Xác định tỷ lệ các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille.
2. Xác định tỷ lệ các đặc điểm đột biến gen *JAG1* và *NOTCH2* của trẻ mắc hội chứng Alagille.
3. Xác định mối liên quan giữa kiểu gen với kiểu hình của trẻ mắc hội chứng Alagille.
4. Xác định các yếu tố liên quan diễn tiến bệnh gan của trẻ mắc hội chứng Alagille.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. LỊCH SỬ HỘI CHỨNG ALAGILLE

Năm 1965, David WS và cộng sự mô tả trường hợp hai anh em ruột (anh trai và em gái) đều tử vong ở giai đoạn nhũ nhi. Qua quá trình thăm khám, hỏi bệnh sử, cả hai bé có bệnh cảnh lâm sàng tương tự nhau. Cả hai cùng biểu hiện bất thường cấu trúc sọ mặt, bất thường tai, mắt, bàn tay và bàn chân. Hai anh em cùng giảm trương lực cơ sau sinh, chậm tăng trưởng, vàng da và tử vong thời điểm 8 tuần tuổi và 10 tuần tuổi. Tử thiết cho thấy thận đa nang và thiểu sản đường mật trong gan. Không có bất thường nhiễm sắc thể hay yếu tố bên ngoài nào được tìm thấy. Từ đó, tác giả cho rằng di truyền tính lặn nhiễm sắc thể thường có khả năng gây bệnh [31].

Năm 1969, bác sĩ Daniel Alagille (24/01/1925 – 8/11/2005) lần đầu mô tả 25 ca thiểu sản đường mật trong gan có bất thường tim mạch, bất thường cột sống và khuôn mặt bất thường. Trẻ có biểu hiện ứ mật mạn tính, âm thổi tâm thu, bất thường cung đốt sống, chậm phát triển tâm thần, vận động và thiểu năng sinh dục. Ngoài ra, cùng với bất thường mô học và sinh hóa đã giúp tác giả nghĩ đến một hội chứng đặc trưng có thể phân biệt với các bệnh lý đường mật khác [5], [6].

Năm 1973, Watson và cộng sự mô tả 5 gia đình với 21 trẻ. Trong số này, có 5 trẻ bình thường, 11 trẻ bất thường gan, 14 trẻ bất thường tim và 9 trẻ có cả hai bất thường. Một hội chứng mới được mô tả với những đặc điểm nổi bật như thiểu sản hay hẹp động mạch phổi bẩm sinh có hoặc không kèm các bất thường tim mạch khác; bệnh gan sơ sinh thường là vàng da ứ mật, giống teo đường mật hay viêm gan sơ sinh hay đôi khi chỉ biểu hiện rối loạn nhẹ chức năng gan kéo dài; các bất thường bẩm sinh khác như khuôn mặt bất thường.

Bệnh có tính chất gia đình, gợi ý bệnh di truyền tính trội nhiễm sắc thể thường với nhiều biểu hiện đa dạng [132].

Sau đó, năm 1979, Riley và cộng sự mô tả thêm về vòng đục sau giác mạc [111]. Bên cạnh việc mô tả các biểu hiện lâm sàng tương tự với các báo cáo trước đây, tác giả còn phát hiện nhiều bất thường khác nhau ở mắt và đặc trưng nhất là vòng đục sau giác mạc. Đây là vòng tròn dầy hơn so với bình thường bao quanh giác mạc.

Bằng việc phát hiện các bệnh nhân ALGS có mất đoạn tế bào gen đã giúp phát hiện gen 20p12. Từ đó, các nhà di truyền học đã tiếp cận vùng chính yếu và sử dụng huỳnh quang để khu trú lại một vùng quan trọng khoảng 250 kb. Trong vùng này, gen *JAG1*, đồng phân với gen *JAG1* ở chuột, đã được nhận dạng là gen mã hóa cầu nối cho thụ thể Notch [40]. Xác định toàn bộ cấu trúc exon và intron của gen *JAG1* giúp phân tích chi tiết các dạng đột biến. Từ 4 đột biến khác nhau được phát hiện từ 4 gia đình ALGS, các tác giả đã kết luận đột biến gen *JAG1* là nguyên nhân chính gây ALGS. Kiểu đột biến đơn bội của gen này là một trong những cơ chế gây ra kiểu hình ALGS [86], [102].

Năm 2006, McDaniell R và cộng sự phát hiện ra nguyên nhân gây bệnh ALGS không đột biến *JAG1*. Tác giả đã tầm soát gen mã hóa thụ thể Notch2 ở những bệnh nhân ALGS không đột biến gen *JAG1*, phát hiện 5 bệnh nhân có đột biến từ hai gia đình ALGS. Đặc điểm nổi bật là những bệnh nhân này thường có biểu hiện tổn thương thận, một triệu chứng ít gặp ở nhóm bệnh nhân ALGS trước đây. Đột biến *NOTCH2* là rối loạn dị hợp tử, gây các biểu hiện ALGS [93].

Ngoài tên gọi phổ biến nhất là hội chứng Alagille, bệnh còn có các tên gọi khác ít thông dụng hơn như hội chứng Alagille – Watson; thiểu sản động mạch gan; hội chứng tim cột sống, ứ mật kết hợp hẹp động mạch phổi ngoại biên;

thiểu sản ống mật gan; hội chứng gan mật thần kinh tim cột sống; thiểu sản đường mật trong gan; hội chứng Watson – Miller; teo đường mật trong gan.

1.2. SINH BỆNH HỌC

Theo tiêu chuẩn cổ điển, thiểu sản đường mật giữ vai trò quan trọng trong chẩn đoán ALGS và là một đặc điểm thường gặp, kinh điển trong hầu hết bệnh nhân ALGS (80-90%) [33], [86]. Tiến trình thiểu sản xuất hiện và phát triển trong suốt giai đoạn nhũ nhi, cùng với tiến trình suy chức năng gan. Tuy nhiên, tiến trình này không phải luôn luôn xảy ra. Mặc dù biết rằng có sự tổn thương quá trình phát triển các đường mật trong gan, các yếu tố nào làm giảm số lượng đường mật thì vẫn chưa được hiểu rõ. Vai trò đầy đủ của protein JAG1 trong việc tạo ra đường mật mới thì chưa rõ. Giảm số lượng khoảng cửa và thâm nhiễm ống mật đã được ghi nhận ở số ít trẻ ALGS [51]. Lý do của sự khác biệt này thì chưa được biết.

Sự đa dạng kiểu hình ALGS đưa ra giả thuyết về vai trò nguyên phát của kiểu gen cho ra kiểu hình hay kiểu hình là kết quả thứ phát của các biến chứng nội khoa. Sự tranh cãi này tập trung vào kiểu hình khuôn mặt đặc trưng không phải là bất thường nguyên phát mà là thứ phát do tình trạng ứ mật mạn tính gây ra [123]. Tuy nhiên, các nhà hình thái học có thể nhận dạng các bệnh nhân ALGS với các bệnh nhân do nguyên nhân ứ mật khác [63]. Điều này cho thấy vai trò nguyên phát của kiểu gen. Một giả thuyết khác về khả năng ALGS nguyên phát là bệnh lý mạch máu. Sự bất thường mạch máu ALGS rất đa dạng [66], dẫn đến khái niệm về các yếu tố ảnh hưởng sự bất thường trong quá trình tạo mạch máu và hệ thống mạch máu. Có bằng chứng cho thấy rằng việc tạo các ống mật trưởng thành xảy ra sau khi phát triển hệ thống mạch máu trong gan [88]. Tuy nhiên, giả thuyết hợp lý nhất là các gen liên quan ALGS, gen *JAG1* và *NOTCH2*, thành phần tham gia con đường tín hiệu Notch, giữ vai trò chính trong quá trình tạo mạch máu.

1.2.1. Gen *JAG1*

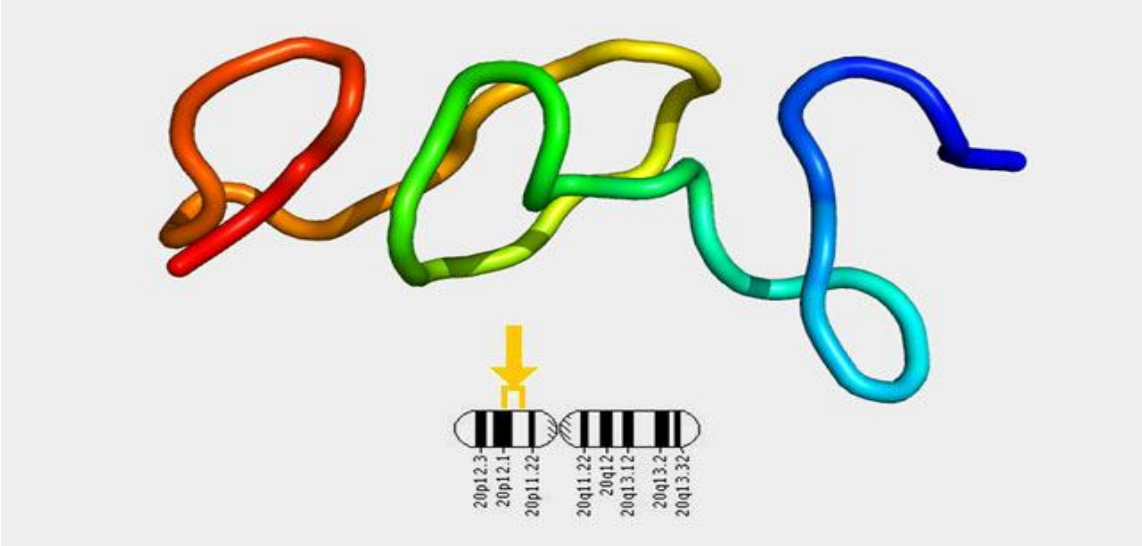
Năm 1997, đột biến gen *JAG1* gây ALGS đã được tìm thấy. Gen liên quan trong hầu hết các trường hợp ALGS và không liên quan trong các kiểu hình khác [86], [102]. Gen gồm 26 exon, mã hóa protein bề mặt tế bào Jagged1, có vai trò là một trong năm cầu nối cho các thụ thể Notch (Notch 1, 2, 3 và 4) trong con đường tín hiệu Notch [106]. Những thụ thể này là protein xuyên màng, sự tương tác với cầu nối làm khởi ngòi hàng loạt các tác động thuận trong tế bào thông qua sự dịch mã của gen, giúp hình thành chức năng và sự biệt hóa tế bào.

Những bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng ALGS, các đột biến *JAG1* hoặc các dạng đột biến mất đoạn gen 20p12 có thể được xác định trong 95% trường hợp. Hơn 400 đột biến gen *JAG1* được tìm thấy, và 70% số đó làm mất chức năng protein. Không có vị trí đặc biệt nào của gen mà là toàn bộ các vùng vị trí mã hóa đều có thể liên quan [114], [124].

Mất đoạn gen được tìm thấy trong 7% trường hợp và thường xuất hiện ở một vùng chính yếu 5,4 Mb. Nhờ vậy mà kiểu hình không có sự khác biệt. Tuy nhiên, nếu mất đoạn lớn thường liên quan nhiều vấn đề khác như khó khăn trong học tập [67]. Khoảng 60% đột biến là mới, thể khảm có thể xảy ra với tần suất 8%. Trường hợp này không nên xem nhẹ vấn đề tham vấn di truyền [43].

Có rất ít bằng chứng về mối liên quan kiểu gen kiểu hình giữa đột biến gen *JAG1* và ALGS. Tuy nhiên, đột biến *G274D* được tìm thấy có liên quan bệnh tim cấu trúc đơn độc trong một gia đình, trong khi các trường hợp còn lại có biểu hiện tứ chứng Fallot (TOF) toàn phần hoặc bán phần [36]. Ngoài tên gọi chính thức là gen *JAGGED1*, gen còn có nhiều tên gọi khác nhau như *AGS*, *AHD*, *AWS*, *CD339*, *HJ1*, *JAGL1*. Gen thuộc gia đình gen *CD*. Vị trí tế

bào gen: 20p12.1-p.11.23. Vị trí phân tử trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 20, các cặp base từ 10.637.683 đến 10.674.045.



Hình 1.1. Cấu trúc protein JAG1 và vị trí gen *JAG1* trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 20

"Nguồn: Christopher M. Grochowski, 2016"[23]

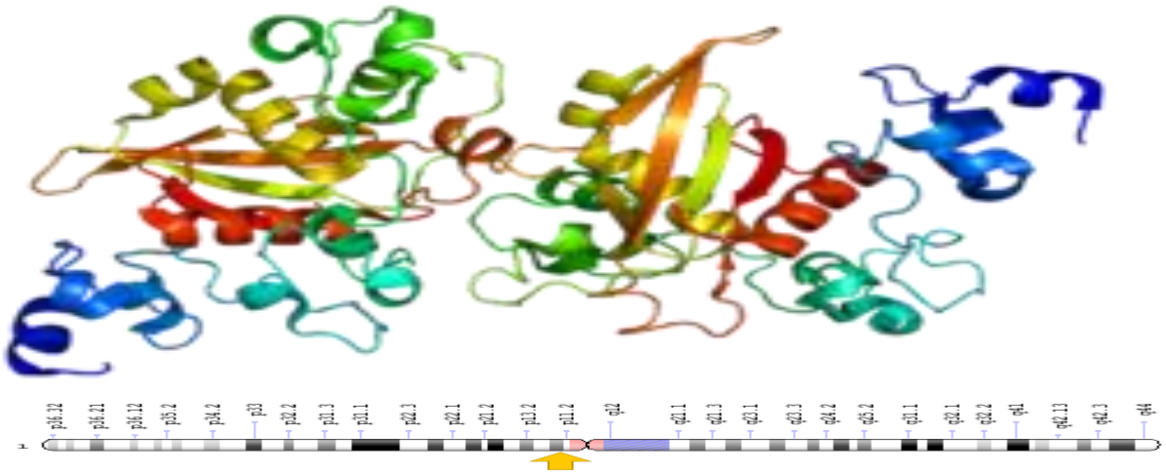
1.2.2. Gen *NOTCH2*

Tương tự gen *JAG1*, gen *NOTCH2* là một gen lớn chứa 34 exon và mã hóa protein xuyên màng Notch2. Nhiều nghiên cứu cho thấy các tín hiệu Notch2 cần thiết cho sự phát triển các tế bào hình thành tim, gan, thận, răng, xương và các cấu trúc khác trong quá trình phát triển phôi thai [106]. Sau sinh, tín hiệu Notch2 tiếp tục ảnh hưởng chức năng hệ thống miễn dịch, sửa chữa mô, tái tạo xương [48], [128].

Thụ thể Notch2 gồm nhiều phần khác nhau. Một phần thụ thể là miền ngoài tế bào, trải dài từ bề mặt tế bào và gắn kết với các cầu nối. Sự kết hợp này làm khởi động phần thụ thể bên trong tế bào hay NICD. Sau khi tách khỏi protein, NICD di chuyển vào nhân tế bào, tương tác với các protein khác giúp điều hòa hoạt động của các gen. Phần cuối cùng của NICD là vùng PEST, rất quan trọng khi NICD bị phân hủy, làm chấm dứt tín hiệu Notch2 [106].

Từ thực nghiệm ở chuột mang dị hợp tử đột biến *JAG1* và Notch2 có kiểu hình rất giống ALGS ở người, việc giải trình tự gen Notch2 đã được tiến hành ở các trường hợp ALGS không đột biến gen *JAG1*. Từ đó, chỉ có hai gia đình mang đột biến gen Notch2 được báo cáo. Có tổng cộng 5 người mắc bệnh có các triệu chứng đặc trưng ALGS, đặc biệt thận tổn thương rất nặng [93]. Hiện tại, chưa đủ số liệu cho thấy mối liên quan giữa kiểu gen kiểu hình này. Một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân biểu hiện đầy đủ tiêu chuẩn chẩn đoán ALGS nhưng không có đột biến *JAG1* hay *NOTCH2*. Một hội chứng giống Alagille, di truyền tính trội nhiễm sắc thể thường, không liên quan gen *JAG1* hay Notch2, đã được báo cáo từ một gia đình Canada bản địa. Những người mắc bệnh này có biểu hiện thiểu sản đường mật, ứ mật và hẹp động mạch phổi [119].

Ngoài tên gọi chính thức gen *NOTCH2*, gen còn có nhiều tên gọi khác như *hN2*, *NOTC2-HUMAN*. Gen thuộc gia đình gen *ANKRD*. Vị trí tế bào gen: 1p13-p11. Vị trí phân tử nằm trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể số 1, các cặp base từ 119.911.552 đến 120.069.702.



Hình 1.2. Cấu trúc protein NOTCH2 và vị trí gen *NOTCH2* trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể số 1

"Nguồn: Gordon WR, 2007"[46]

1.3. BIỂU HIỆN LÂM SÀNG

1.3.1. Bệnh gan

Ứ mật mạn tính xảy ra hơn 95% trường hợp [37] và rất thường gặp ở giai đoạn sơ sinh hay trong 3 tháng đầu đời, với biểu hiện vàng da do tăng bilirubin kết hợp. Các axít mật huyết thanh và men gan tăng, ngứa và chậm tăng trưởng có thể xảy ra, và có thể xuất hiện u vàng. Sinh thiết gan không bắt buộc nếu có ứ mật. Trong trường hợp điển hình sẽ cho thấy tình trạng thiểu sản đường mật trong gan, mặc dù ở giai đoạn sơ sinh sự thâm nhiễm ống mật có thể thấy, thường kết hợp viêm khoảng cửa, dẫn đến chẩn đoán nhầm với teo đường mật. Điều này rất quan trọng bởi vì bệnh nhân teo đường mật cần được phẫu thuật Kasai, trong khi phẫu thuật này không có lợi cho bệnh nhân ALGS [76].

Hình 1.3. Các dạng u vàng ở trẻ Alagille

"Nguồn: Gómez-Moyano E, 2014" [45]

Thiểu sản đường mật xuất hiện và tiến triển dần, thường gặp ở giai đoạn muộn trẻ nhũ nhi và trẻ nhỏ hơn là giai đoạn sớm. Khi thực hiện sinh thiết

gan, kết quả cho thấy thiểu sản đường mật xuất hiện chỉ khoảng 60% trẻ nhũ nhi dưới 6 tháng, và 90% trẻ sau 6 tháng. Bệnh gan tiến triển dần, dẫn đến xơ gan, suy gan, và cần phải ghép gan, xảy ra khoảng 15% trường hợp [37].

Mặc dù không có yếu tố nào đáng tin cậy để tiên lượng trẻ nguy cơ cao, nhưng nhìn chung những trẻ có biểu hiện bệnh gan tiến triển về sau, thường trước đó có tăng bilirubin toàn phần (BTP), tăng bilirubin trực tiếp (BTT) và tăng cholesterol mạn tính [69]. Một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân không có biểu hiện bệnh gan [65], [79].

1.3.2. Bệnh tim

Có nhiều nghiên cứu cho thấy bất thường tim mạch gặp hơn 90% bệnh nhân ALGS [41], [96] . Ít nhất 2/3 trường hợp có liên quan đường ra của động mạch phổi, là bệnh tim bẩm sinh thường gặp nhất với biểu hiện hẹp động mạch phổi ngoại biên (PPS) [37], [96]. Rodriguez RM (2016) nghiên cứu đặc điểm kiểu hình hẹp động mạch phổi bằng CT scan từ 15 trẻ ALGS từ 6 tháng đến 17 tuổi. Nghiên cứu cho thấy hẹp động mạch phổi là đặc điểm thường gặp ở trẻ ALGS, thường là hẹp nhánh trái đoạn gần động mạch phổi, và thường ảnh hưởng thùy trên của phổi [113].

Tứ chứng Fallot (TOF) là bất thường cấu trúc phức tạp thường gặp nhất, biểu hiện 16% trường hợp [37], [96]. Các bất thường khác bao gồm thông liên thất (VSD), thông liên nhĩ (ASD), hẹp động mạch chủ, hẹp eo động mạch chủ và hội chứng thiểu sản tim trái được ghi nhận ở một bệnh nhân mất đoạn 20p12 [112].

Bệnh tim bẩm sinh có thể là biểu hiện duy nhất của ALGS. Các đột biến *JAG1* được tìm thấy ở nhiều gia đình với nhiều thế hệ có hẹp động mạch phổi ngoại biên nhưng không có bệnh gan, và khi tầm soát bệnh nhân TOF đơn thuần, 7% trường hợp có đột biến *JAG1* [79]. Sự xuất hiện bệnh tim phức tạp là dấu hiệu chỉ điểm quan trọng cho tử vong sớm, có thể do liên quan hẹp

động mạch phổi ngoại biên, trong khi đó các biến chứng gan là dấu hiệu tiên lượng tử vong muộn.

Bảng 1.1. Các bệnh tim bẩm sinh trong hội chứng Alagille [37], [122]

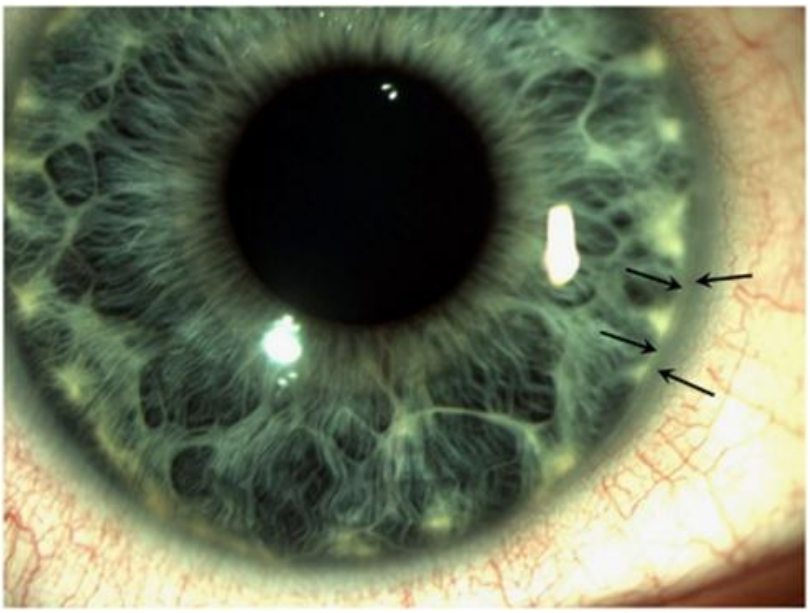
Tim bẩm sinh	Silberbach (1994) (n=122) (%) [122]	Emerick (1999) (n=92) (%) [37]
PPS đơn độc	71	67
Hẹp van ĐMP	11	2
Teo ĐMP + VSD	2	2
TOF	8	11
VSD	5	8
ASD	1	5
Khác	3	5

1.3.3. Bất thường mắt

Vòng đục sau giác mạc là đặc điểm ở mắt thường gặp nhất trong ALGS, gặp hơn 90% bệnh nhân [55]. Đây là tình trạng dày lên của vòng Schwalbe, nơi giao nhau biểu mô giác mạc và các dải cơ. Tuy nhiên, đặc điểm này có thể gặp khoảng 15% dân số bình thường, gần 70% bệnh nhân mắc hội chứng mất đoạn 22q11 [94].

ALGS có thể ảnh hưởng giác mạc, mống mắt, võng mạc và đĩa thị, gây bất thường Axenfeld, giác mạc nhỏ, thủy tinh mạc. Giảm sắc tố lan tỏa vùng đáy thị, đốm biểu mô sắc tố võng mạc, bất thường đĩa thị lần lượt gặp 57%, 33% và 76% bệnh nhân ALGS. Theo Hingorani M, ALGS có thể gây ra nhiều bất thường ở mắt nhưng chức năng thị lực không bị ảnh hưởng nhiều và không liên quan thiếu các vitamin tan trong mỡ. Việc khám mắt trẻ sơ sinh vàng da ứ mật sẽ giúp phát hiện sớm ALGS, tránh được nhiều can thiệp xâm lấn không cần thiết [55].

Nischal và cộng sự tìm thấy sự tích tụ chất vàng ở đĩa thị một bên là 95% bệnh nhân và hai bên mắt là 80% bệnh nhân (không gặp ở bệnh nhân bệnh gan mà không phải ALGS). Tần suất này cao hơn hẳn so với dân số bình thường (0,3% - 2%). Tuy nhiên, các bệnh nhân này lại có tiên lượng thị lực tốt [101].



Hình 1.4. Vòng đục sau giác mạc (mũi tên)

"Nguồn: Mr Anthony Quinn, 2011" [129]

1.3.4. Bất thường hệ xương

Bất thường hệ xương thường gặp nhất là đốt sống hình cánh bướm, gặp khoảng 80% bệnh nhân ALGS [118]. Đây là tình trạng chẻ dọc một hay nhiều đốt sống ngực, có thể nhìn thấy trên phim Xquang cột sống thẳng trước sau, do sự bất thường hợp nhất của cung trước đốt sống. Bất thường này rất hiếm gặp ở nhiều bệnh lý khác, ngoại trừ hội chứng mất đoạn 22q11 [128].

Các bất thường xương trục khác bao gồm hẹp khoảng gian đốt sống thắt lưng, đốt sống C1 nhô trước, chẻ kín cột sống, dính gian đốt sống, khuyết đốt sống và mất xương sườn số 12 [15]. Ngoài ra, chồng xương sọ [64], [100], [137] và dính xương quay trụ [26], [115], ngắn đốt xa ngón tay làm ngón tay có dạng hình thoi, đã được ghi nhận. Các bất thường về bệnh xương chuyển hóa như

loãng xương và gãy xương, rất hiếm gặp ở bệnh nhân ALGS, thường là biến chứng của tổn thương nhiều cơ quan hay do tình trạng thiếu hụt dinh dưỡng. Một khảo sát hồi cứu các gia đình ALGS ghi nhận tỷ lệ gãy xương là 28% trong 48 bệnh nhân tuổi trung bình 5 tuổi, trong đó ảnh hưởng chi dưới là 70% [12].

Hình 1.5. Đốt sống hình cánh bướm

"Nguồn: Berrocal và cộng sự, 1997" [15]

1.3.5. Khuôn mặt

Trẻ ALGS được mô tả đầy đủ về biểu hiện khuôn mặt đặc trưng, có thể nhận diện được, bao gồm trán cao, mắt sâu và xa nhau, sóng mũi gãy và đầu mũi to, tai to, hàm dưới nhô cao và cằm nhọn [77]. Nhìn chung, trẻ ALGS thường có khuôn mặt hình tam giác. Tuy nhiên, khi lớn lên, đặc điểm trán cao ít thấy hơn, trong khi đó, cằm và hàm dưới nhô ra rõ hơn.

Hình 1.6. Trẻ Alagille có mắt sâu, sóng mũi gãy và cằm nhọn

"Nguồn: Peter Lunt, Alison Male, và Simon Holden, 2011" [129]

Theo tác giả Sokol RJ (1975), khi 13 chuyên gia gan mật nhi đánh giá độ đặc hiệu khuôn mặt cho ALGS từ 15 trẻ có ứ mật trong gan, cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của khuôn mặt trong chẩn đoán ALGS rất thấp. Như vậy, khuôn mặt ứ mật không xuất hiện đặc hiệu cho ALGS. Biểu hiện này là đặc điểm chung cho tình trạng ứ mật trong bệnh gan bẩm sinh [123].

Tuy nhiên, trái ngược với Sokol, Kamath tiến hành đánh giá khuôn mặt 18 trẻ Alagille và các bệnh ứ mật trong gan bẩm sinh từ các nhà hình thái học. Kết quả cho thấy, độ nhạy trong nhận diện khuôn mặt chẩn đoán ALGS là 76%, độ đặc hiệu là 82%, giá trị tiên đoán dương là 81%, và giá trị tiên đoán âm là 77%. Kết quả này cho thấy khuôn mặt là đặc hiệu cho ALGS và việc nhận dạng khuôn mặt là công cụ có giá trị trong chẩn đoán ALGS [63].

1.3.6. Biểu hiện mạch máu

Các tai biến về mạch máu có thể gặp hơn 15% các trường hợp [37], và là nguyên nhân tử vong trong 34% trường hợp ALGS [66]. Xuất huyết nội sọ có thể xảy ra sau chấn thương đầu nhẹ. Các bất thường mạch máu bao gồm bất thường động mạch nền, động mạch cảnh và động mạch não giữa [20], [39], [66]. Ngoài ra, các nghiên cứu còn ghi nhận bất thường mạch máu thận, hội chứng động mạch chủ giữa và hội chứng Moyamoya [11], [117].

1.3.7. Bất thường thận

Bất thường cấu trúc như thận nhỏ, thận đồng âm, nang thận và tắc niệu quản chậu có thể gặp trong ALGS [37].

Bất thường chức năng, đặc biệt là toan hóa ống thận có thể xảy ra hơn 74% trường hợp [37]. Các nghiên cứu ban đầu cho thấy ALGS do đột biến gen Notch2 thường có bất thường thận hơn so với ALGS đột biến JAG1. Tuy nhiên, cần thêm nhiều nghiên cứu hơn nữa để kết luận mối liên quan này.

1.3.8. Tăng trưởng

Hầu hết bệnh nhân chậm tăng trưởng đáng kể [10], [37]. Kém hấp thu dẫn đến chậm lớn và suy dinh dưỡng là nguyên nhân chính. Tuy nhiên, có thể do các yếu tố tiềm ẩn khác gây hạn chế tăng trưởng bên cạnh vấn đề dinh dưỡng [103], [139].

Suy giáp và chậm dậy thì cũng được mô tả trong vài trường hợp ALGS. Kém nhạy với hóc môn tăng trưởng được ghi nhận ở trẻ ALGS [18] và do đó có nhiều lý do có thể giải thích tình trạng lùn ở trẻ ALGS.

1.3.9. Tụy

Khoảng 40% bệnh nhân ALGS có biểu hiện suy tụy [22], [37] nhưng việc đánh giá trở nên phức tạp vì bản thân thiểu sản đường mật cũng là nguyên nhân gây tiêu phân mỡ [44]. Một số bệnh nhân có biểu hiện tiến triển thành đái tháo đường phụ thuộc insulin, tăng insulin bẩm sinh [34].

1.3.10. Khó khăn trong học tập

Tỷ lệ lớn trẻ ALGS chậm phát triển tâm thần, tâm vận (16%) [7]. Nguyên nhân thường liên quan mất đoạn lớn nhiễm sắc thể 20p12. Tuy nhiên, nếu điều trị tích cực sớm, biểu hiện này không có khác biệt so với dân số chung.

1.3.11. Da

Pati GK (2016, Ấn Độ) báo cáo một trường hợp bé trai ALGS, 10 tuổi có biểu hiện ứ mật sơ sinh, gãy chi trên nhiều lần, chảy máu cam không liên tục,

ho đàm, giảm thị lực về đêm và đặc biệt bất thường ở da, là những đốm cà phê sữa khắp người, vùng bụng, các đốm lan rộng tiến triển. Sinh thiết thấy hình ảnh thiểu sản đường mật trong gan. Bé được chẩn đoán ALGS, được điều trị bảo tồn và tử vong một năm sau đó. So y văn trước đây, trường hợp này có thể là ca ALGS đầu tiên được báo cáo biểu hiện đốm cà phê sữa da [105].

Hình 1.7. Đốm cà phê sữa ở trẻ ALGS

"Nguồn: Pati GK, 2016" [105]

1.4. CẬN LÂM SÀNG

Bao gồm xét nghiệm chức năng các cơ quan ảnh hưởng và các xét nghiệm chẩn đoán phân biệt.

Thiếu hụt các vitamin tan trong mỡ (A, D, E, K) thường gặp:

- Cần nghĩ đến thiếu vitamin E ở bệnh nhân thiếu máu tán huyết nhẹ, mất trương lực hay phản xạ gân cơ.
- Xét nghiệm đánh giá vitamin A và D dự trữ bằng việc đo nồng độ 25-OH vitamin D và vitamin A.

Thời gian prothrombin (PT) và thời gian thromboplastin một phần hoạt hóa (aPTT) kéo dài thường gặp và có thể điều chỉnh bằng bổ sung vitamin K tĩnh mạch sau đó là bổ sung bằng đường uống.

Các bất thường chức năng gan thường phản ánh tình trạng ứ mật mạn tính:

- Tăng cholesterol máu (> 200 mg/dL) và tăng triglyceride (500-2000 mg/dL) [90].
- Tăng Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) và phosphatase kiềm (ALP). Nếu có sự khác biệt đáng kể giữa mức độ tăng GGT và ALP, cần nghĩ đến khả năng thiếu kẽm hay thiếu vitamin D.
- BTP trong giai đoạn nhũ nhi thường khoảng 4-14 mg/dL, BTT chiếm hơn 30% BTP. Hầu hết trường hợp sau một tuổi, mức độ bilirubin sẽ cải thiện.
- Các axít mật tăng đáng kể, chủ yếu là tăng axít cholic và axít chenodeoxycholic.

Các bệnh nhân ALGS lớn, cần theo dõi chức năng thận và tầm soát carcinoma tế bào gan định kỳ.

Chẩn đoán hình ảnh:

- Siêu âm bụng đánh giá bất thường thận, đánh giá đại thể cây đường mật và nhu mô gan, tầm soát u gan hay carcinoma tế bào gan. Hyun-Hae Cho và cộng sự (2016) nghiên cứu đặc điểm siêu âm của 23 bệnh nhân ALGS, 75 bệnh nhân teo đường mật (BA) và 70 bệnh nhân viêm gan sơ sinh (NH), thấy rằng cả bệnh nhân ALGS (57%) và BA (79%) thường gặp bất thường hình dạng túi mật (túi mật nhỏ, ngắn) hơn NH (19%, P < 0,001). Không bệnh nhân ALGS và NH có dấu TC (triangular-cord) dương tính, trong khi đó 41% BA có dấu TC (+) (P < 0,001). Động mạch gan phì đại ít gặp ở ALGS (13%) và NH (14%) hơn BA (83%), (P < 0,001). Từ đó, nghiên cứu cho thấy rằng bất

thường túi mật và TC (-), động mạch gan phì đại là dấu hiệu giúp chẩn đoán phân biệt ALGS với các nguyên nhân khác [59]. Nghiên cứu của Han S và cộng sự (2017) cho thấy rằng dấu TC (-) và không thấy phì đại động mạch gan ở tất cả bệnh nhân ALGS, trong khi đó, dấu hiệu này được ghi nhận ở bệnh nhân BA lần lượt là 48% (23/48) (p = 0,034) và 77% (33/43) (p < 0,001). Dấu hiệu tăng áp cửa ít gặp hơn ở bệnh nhân ALGS so với bệnh nhân BA (p = 0,010). Mặt dù chụp cộng hưởng từ mật tụy (MRCP) không thấy cây đường mật ngoài gan không khác biệt đáng kể ở cả hai nhóm ALGS và BA, ALGS thường thấy ống mật chủ trên phim chụp đường mật trong phẫu thuật (IOC) so với bệnh nhân BA. Như vậy, túi mật co nhỏ, không thấy cây đường mật ngoài gan trên MRCP, thường không xảy ra trên cả bệnh nhân ALGS và BA. Tuy nhiên, dấu TC, phì đại động mạch gan và dấu hiệu tăng áp cửa, không thấy ống mật chủ trên IOC, ít gặp hơn ở bệnh nhân ALGS so với BA. Do đó, khi thấy những hình ảnh không điển hình của BA nên nhanh chóng tìm các biểu hiện ngoài gan của ALGS để giúp bệnh nhân tránh khả năng phẫu thuật không cần thiết [50].

- Có thể đánh giá cụ thể giải phẫu đường mật bằng HIDA (Chụp axít dimethyl iminodiacetic), chụp cộng hưởng từ mật tụy (MRCP), chụp mật tụy ngược dòng qua nội soi (ERCP) hay chụp đường mật trong phẫu thuật.
- CT scan bụng: so sánh kết quả CT scan bụng trước ghép gan giữa nhóm bệnh nhân ALGS (11 bệnh nhân, 19,0 ± 13,0 tháng) và bệnh nhân teo đường mật giai đoạn cuối (109 bệnh nhân, 17,9 ± 25,8 tháng). Các thay đổi nhu mô gan thấy ở 27% bệnh nhân ALGS và 100% bệnh nhân BA giai đoạn cuối. Đường kính động mạch gan nhỏ hơn, đường kính tĩnh mạch cửa lớn hơn ở nhóm ALGS so với nhóm BA. Không

thấy sang thương khu trú ở bệnh nhân ALGS, trong khi đó nhóm BA có thể thấy nang đường mật trong gan (39%), u gan (8%). Cả hai nhóm đều có biểu hiện lách to. Nhìn chung, các thay đổi xơ hóa nhu mô gan, sang thương khu trú và tăng áp cửa ít gặp hơn ở nhóm ALGS so với nhóm BA giai đoạn cuối [58].

- Chụp Xquang cột sống thẳng: phát hiện bất thường cột sống.
- Điện tâm đồ (ECG) loại trừ Wolff-Parkinson-White, rối loạn huyết động, bất thường tim phải.
- Khám mắt đánh giá bất thường mắt như vòng đục sau giác mạc, bất thường Axenfeld và các thay đổi võng mạc. Bác sĩ chuyên khoa mắt thực hiện khám mắt bằng đèn khe để chẩn đoán vòng đục sau giác mạc và các bất thường khác của mắt. Với đèn khe, kính hiển vi với ánh sáng cường độ cao, một tia sáng mỏng sẽ chiếu thẳng vào mắt. Thuốc nhuộm màu vàng có thể sử dụng để khảo sát giác mạc và lớp nước mắt. Thuốc nhuộm có thể dạng giọt hoặc giấy mỏng có tẩm thuốc nhuộm, tiếp xúc vào tròng trắng của mắt. Ngoài ra, có thể sử dụng thuốc giọt gây dãn đồng tử [17], [35].

Các thủ thuật:

- Sinh thiết gan giúp đánh giá cấu trúc và mô học gan, đường mật. Là kỹ thuật lấy một mẫu mô gan, khảo sát dưới kính hiển vi để tìm các dấu hiệu tổn thương hay các bệnh lý về gan.
- Bất thường mô học:
  - Mẫu sinh thiết gan điển hình cho thấy hình ảnh ứ mật mạn tính và thiểu sản đường mật trong gan.
  - Tỷ lệ đường mật khoảng cửa < 0,4 trong 10 khoảng cửa. Tuy nhiên, sự hiện diện thiểu sản đường mật tùy thuộc vào thời điểm sinh thiết gan nghĩa là tình trạng này biến đổi theo thời gian. Số lượng

đường mật có thể hoàn toàn bình thường ở giai đoạn nhũ nhi. Tần suất thiểu sản đường mật tùy thuộc tiêu chuẩn được sử dụng chẩn đoán. Các nghiên cứu mới khi chẩn đoán bệnh dựa vào biểu hiện lâm sàng và đột biến gen cho thấy thiểu sản đường mật chỉ chiếm khoảng 80-85% trường hợp. Một nghiên cứu cho thấy sinh thiết gan trẻ dưới 6 tháng tuổi có đủ số lượng ống mật [29], [68]. Những thay đổi mô học sớm trên những bệnh nhân này là không đặc hiệu, bao gồm ứ mật với sự hình thành tế bào khổng lồ và các dấu hiệu tổn thương đường mật thay đổi. Sự tăng sinh đường mật không thường gặp ở trẻ ALGS. Điều này làm khó chẩn đoán phân biệt với teo đường mật. Emerick và cộng sự ghi nhận thiểu sản đường mật biểu hiện 60% trong 48 trẻ nhũ nhi dưới 6 tháng tuổi nhưng tăng lên 90% trong 40 mẫu sinh thiết sau 6 tháng tuổi [37]. Tiến triển đường mật theo thời gian làm cho bệnh gan nặng thêm. Sinh bệnh học thiểu sản đường mật ở bệnh nhân ALGS thì chưa rõ. Không có bằng chứng về sự bất thường ống mật trên bệnh nhân ALGS giai đoạn bào thai. Vai trò của gen JAG1 trong tiến trình này vẫn chưa rõ. Tuy nhiên, có vẻ gen JAG1 giữ vai trò không thể thiếu trong quá trình phát triển của ống mật khi gan lớn dần sau sinh. Một giả thuyết cho thấy đột biến gen JAG1 gây sự tăng sinh các tế bào mầm gan tạo thuận lợi cho sự phát triển tế bào gan hơn là tế bào mật.

– Những biến đổi muộn mô học bao gồm dãn khoảng cửa, xơ hóa các cầu nối gặp khoảng 50% bệnh nhân nhưng hiếm khi gây xơ gan. Trong khi đó, trạng ứ mật sinh hóa có thể cải thiện theo thời gian [71].

Các xét nghiệm chẩn đoán phân biệt:

- Trẻ nhũ nhi biểu hiện bệnh gan ứ mật cần loại trừ các nguyên nhân khác như bệnh xơ nang (Chlor mồ hôi hoặc xét nghiệm DNA xơ nang), suy giáp (chức năng tuyến giáp), Galactosemia (xét nghiệm

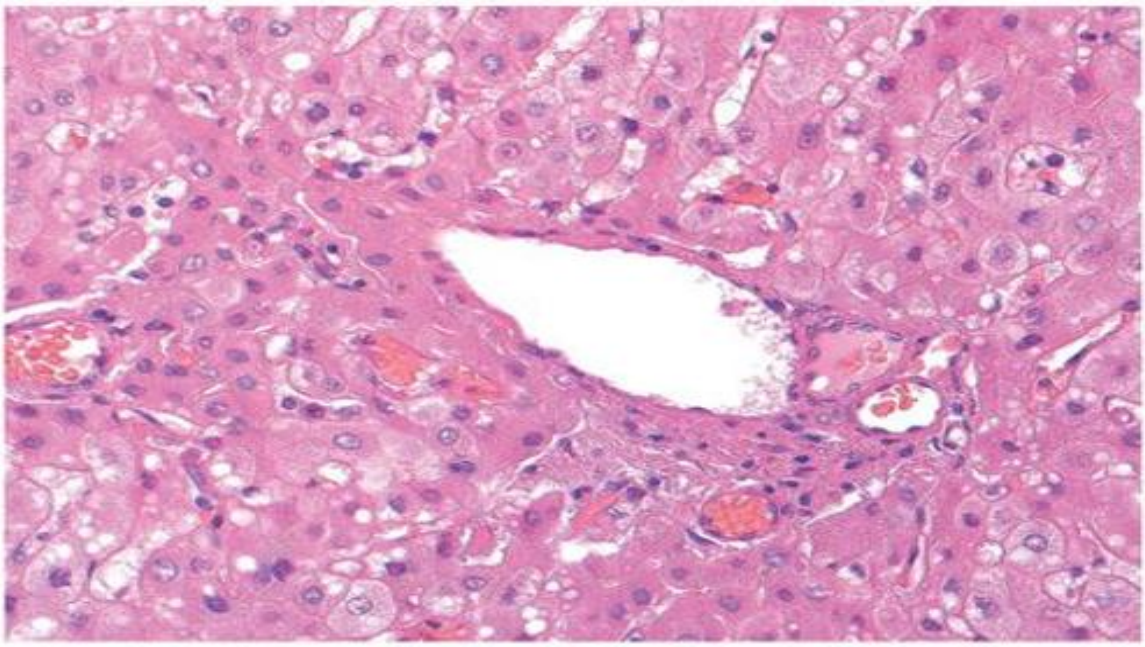
Galactose nước tiểu), nhiễm trùng (Cytomegalovirus), thiếu alpha-1 antitrypsin (định lượng alpha-1 antitrypsin).

- Các nguyên nhân ít gặp hơn như rối loạn chuyển hóa axít mật (axít mật nước tiểu), ứ mật trong gan tiến triển gia đình (PFIC).

1.5. TIÊU CHUẨN CHẨN ĐOÁN

Tiêu chuẩn cổ điển bao gồm thiểu sản đường mật trong gan cộng với 3 trong 5 triệu chứng lâm sàng chính. Theo tác giả Turnpenny PD, nếu bất thường gan là tình trạng ứ mật mạn tính thì việc sinh thiết gan tìm thiểu sản đường mật trong gan là không cần thiết [128].

Thiểu sản đường mật (sự tăng tỷ lệ khoảng cửa – đường mật) mặc dù được xem là đặc điểm quan trọng và hằng định của ALGS, nhưng lại không hiện diện thường xuyên ở nhiều cá thể có triệu chứng ALGS giai đoạn nhũ nhi. Giai đoạn sơ sinh, có thể thấy tỷ lệ khoảng cửa đường mật bình thường, tăng sinh đường mật hay hình ảnh viêm gan sơ sinh. Nhìn chung, thiểu sản đường mật hiện diện khoảng 90% trường hợp.



Hình 1.8. Thiểu sản đường mật trong gan

"Nguồn: abdominalkey.com"

Ba trong năm triệu chứng lâm sàng chính:

- Ứ mật mạn tính
- Bất thường tim mạch
- Bất thường xương
- Bất thường mắt
- Khuôn mặt đặc trưng

Ngoài ra, các bất thường khác có thể gặp ở bệnh nhân ALGS như bất thường thận, hệ thần kinh, mạch máu, tụy [70], [129].

Ngày nay, ALGS được chẩn đoán dựa vào kiểu gen và kiểu hình. Bệnh nhân được chẩn đoán ALGS khi có đột biến gây bệnh gen *JAG1* hay *NOTCH2* cộng với biểu hiện một triệu chứng lâm sàng chính. Tuy nhiên, trên lâm sàng, chẩn đoán ALGS vẫn còn là thách thức lớn. Ví dụ, thiểu sản đường mật, một chẩn đoán mô học từ sinh thiết gan, có thể gặp ở những bệnh lý khác ngoài ALGS như hội chứng Down, bệnh xơ nang, nhiễm trùng bẩm sinh, thiếu alpha-1-antitrypsin và hội chứng Zellweger, hội chứng Ivemark [52], [57]. Và tất cả các bệnh lý này, kể cả ALGS thì thiểu sản đường mật không phải là đặc điểm hằng định mà thay đổi theo thời gian. Biểu hiện ứ mật được xem là đủ mà không cần thiết sinh thiết gan thường quy. Tương tự, hẹp động mạch phổi và các dạng tim bẩm sinh có thể biểu hiện đơn độc hay là một biểu hiện của nhiều hội chứng khác nhau như các bệnh lý của con đường RAS-MAPK và hội chứng mất đoạn 22q11.2 (hội chứng DiGeorge) [94], [95], [134]. Tuy nhiên, hẹp động mạch phổi ngoại biên thì đặc hiệu hơn và cần nghĩ đến ALGS nếu bệnh nhân không có hội chứng Williams [97].

Bệnh gan và hẹp động mạch phổi là những đặc điểm thường gặp nhất của ALGS, nhưng các biểu hiện này rất đa dạng. Kamath và cộng sự khảo sát 53 người thân có đột biến gen ALGS từ 34 bệnh nhân ALGS. Kết quả cho thấy chỉ có 11 (21%) bệnh nhân có đủ triệu chứng để chẩn đoán ALGS; 17 (32%)

có biểu hiện nhẹ sau khi tầm soát các cơ quan; 25 (47%) không đủ tiêu chuẩn chẩn đoán và 2 bệnh nhân không có biểu hiện triệu chứng nào [65]. Theo thống kê 241 trường hợp xét nghiệm ALGS tại phòng xét nghiệm di truyền tại Anh, có 59/135 (44%) người tình nguyện và 24/106 (23%) người thân có đột biến gen *JAG1*. Trong nhóm tình nguyện có ba triệu chứng lâm sàng, đột biến được tìm thấy là 54%, trong khi đó 34% đột biến được phát hiện ở nhóm chỉ có một hoặc hai triệu chứng lâm sàng. Mặc dù, kết quả này còn tùy thuộc vào sự chính xác của dữ liệu lâm sàng thu thập được, nhưng nhìn chung, trong nhóm bệnh nhân có ba biểu hiện lâm sàng, tỷ lệ đột biến gen *JAG1* không cao như mong đợi. Ngược lại, tỷ lệ đột biến này lại cao đáng kể ở nhóm có ít triệu chứng lâm sàng hơn. Vì vậy, các nhà lâm sàng cần nghĩ đến việc tầm soát xét nghiệm di truyền hơn khi bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ ALGS [49].

Từ những thách thức lâm sàng về ALGS, cùng với việc phát hiện gen đột biến gây ra bệnh từ xét nghiệm chẩn đoán di truyền học, Kamath và cộng sự đã đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán. Mặc dù, Warthen và cộng sự trong một nghiên cứu lớn phát hiện đột biến gen *JAG1* là 94% [131] nhưng thực tế tỷ lệ này thấp hơn rất nhiều. Không phát hiện đột biến gen *JAG1* có thể thấy trong gần 40% bệnh nhân chẩn đoán lâm sàng là ALGS [25], [54], [60], [78], [108]. Tuy nhiên, tỷ lệ này còn tùy thuộc vào tiêu chuẩn lâm sàng và kỹ thuật xét nghiệm di truyền học.

1.6. ĐIỀU TRỊ

1.6.1. Nguyên tắc điều trị: không có điều trị đặc hiệu, bao gồm

- Chế độ dinh dưỡng hợp lý
- Bổ sung đầy đủ các vitamin và khoáng chất
- Điều trị triệu chứng
- Điều trị biến chứng

- Ghép gan
- Tham vấn
- Theo dõi

1.6.2. Chế độ dinh dưỡng

Chế độ dinh dưỡng năng lượng cao, đủ protein, giàu carbohydrate và triglyceride chuỗi trung bình (MCT) giúp hấp thu tốt hơn, nhằm ngăn ngừa tình trạng suy dinh dưỡng và chậm tăng trưởng. Trẻ nhũ nhi cần sữa công thức chứa MCT. Sau đó, có thể sử dụng MCT như nguồn năng lượng bổ sung vào thức ăn, 1-2 ml/kg/ngày. Để phòng ngừa tình trạng thiếu chất béo, bệnh nhân cần được bổ sung khoảng 5% tổng năng lượng cần thiết ở dạng axít béo thiết yếu. Cần xem xét chế độ ăn nhỏ giọt qua sonde mũi dạ dày hoặc mở dạ dày ở bệnh nhân tăng cân kém.

Cung cấp đầy đủ các axít béo thiết yếu: là một dạng chất béo không bão hòa đa thiết yếu cho cơ thể con người, rất quan trọng đối với quá trình tăng trưởng và phát triển, đóng vai trò chính trong các phản ứng chống viêm như sự hình thành của huyết khối hay phản ứng gây dị ứng, bao gồm axít α-linolenic (omega-3) và axít linoleic (omega-6). Lượng Omega-6 không nên vượt quá 4 lần lượng Omega-3 được đưa vào cơ thể. Để làm được điều đó cần ăn nhiều thực phẩm có Omega-3.

1.6.3. Bổ sung vitamin và các yếu tố vi lượng

Bổ sung đầy đủ các vitamin thiếu hụt A, D, E, K ở dạng tan trong nước, rất quan trọng cho sự tăng trưởng và phát triển của trẻ ALGS. Hỗn hợp vitamin A, D, E, K với polyethylene glycol thường được sử dụng do dễ dung nạp và hấp thu tốt.

Vitamin A (Palmitate-A 5000, Aquasol-A): 10.000 – 25.000 IU/ngày.

Ergocalciferol (Calciferol, Drisdol): chứa vitamin D-2, được chuyển hóa thành dạng hoạt tính sinh học 1,25-dihydroxyergocalciferol (1,25[OH]2 -D2).

Hợp chất này kích thích sự hấp thu canxi và phospho từ ruột và thúc đẩy sự phóng thích canxi từ xương vào máu. Ergocalciferol 1mg chứa 40.000 IU vitamin D hoạt tính, dạng dịch 1mL chứa 8.000 IU vitamin D và viên nang là 50.000 IU vitamin D.

Vitamin E (Nutr-E-Sol): chất chống oxy hóa có thể ngăn chặn sự oxy hóa vitamin A và vitamin C, bảo vệ các axít béo không bão hòa ở màng tế bào chống lại các gốc tự do và ngăn chặn sự tán huyết của hồng cầu. Nutr-E-Sol là một phức hợp vitamin E đặc biệt với pyethylene glycol 1000 succinate, cho phép hấp thu trực tiếp mà không cần hòa tan trong mật. Hỗn dịch chứa 400 IU vitamin E/15mL. Liều dùng: 50 - 100 IU/kg/ngày.

Vitamin K1: 10 mg/ 2 tuần, tiêm bắp.

Thiếu kẽm thỉnh thoảng có thể gặp. Dễ dàng bổ sung kẽm bằng đường uống. Kẽm là chất thiết yếu của hơn 70 enzyme cần thiết cho chức năng miễn dịch và tái tạo tế bào. Kẽm acetate chứa 5 mg kẽm nguyên tố trong 1mL. Kẽm sulfate chứa 10 mg kẽm nguyên tố trong 1 mL và viên kẽm sulfate chứa 23% kẽm nguyên tố.

1.6.4. Điều trị ngứa

1.6.4.1. Cơ chế

Có nhiều giả thuyết về sinh bệnh học gây ngứa ở bệnh nhân ALGS. Tuy nhiên, chưa có giải thích nào là thuyết phục nhất. Nhìn chung, ngứa có thể do sự tăng nồng độ các axít mật, vai trò của steroid, chất gây nghiện nội sinh, histamine, sterotonin, axít lysophosphatidic, tăng hoạt tính autotaxin [8], [80]. Điều trị kinh điển bằng kháng histamine đơn trị liệu gần như không hiệu quả. Từ đó, đã có nhiều nghiên cứu về hiệu quả điều trị ngứa của các loại thuốc khác như rifampin, phenobarbital, ursodiol, kháng nghiện, resin kết hợp axít mật. Mỗi loại thuốc cho thấy mức độ hiệu quả khác nhau và chưa có một chỉ dẫn điều trị cụ thể nào. Tuy nhiên, nhìn chung, cholestyramine và ursodiol an toàn, rẻ tiền và hiệu quả trong

điều trị ngứa do ứ mật trẻ em. Ngoài ra, ứ mật gây ngứa là hậu quả của nhiều cơ chế khác nhau nên vấn đề điều trị thuốc phối hợp nên được nghĩ đến. Các phương pháp điều trị mới đang được nghiên cứu và nhiều hứa hẹn như kháng serotonin, ức chế hấp thu serotonin chọn lọc và kháng leukotriene [24], [81].

1.6.4.2. Điều trị nội khoa:

Ngứa thường khó đáp ứng điều trị nội khoa và ảnh hưởng nghiêm trọng chất lượng cuộc sống. Kardorff R (1996) nghiên cứu 20 trẻ được điều trị axít ursodeoxycholic (UDCA) ít nhất 6 tháng (tuổi bắt đầu điều trị 5-87 tháng, trung bình 24 tháng; chẩn đoán: teo đường mật n=10, hội chứng Alagille n=4, thiểu sản đường mật trong gan n=3, bệnh Byler n=3). Ngứa, tổn thương tế bào gan, ứ mật, chức năng gan và cân nặng, chiều cao trước điều trị UDCA (liều 7-26, trung bình 13 mg/kg/ngày) được so sánh với các giá trị tương ứng sau 3, 6, 12, 18 và 24 tháng điều trị. Kết quả, không thấy tác dụng phụ nào. Trong năm đầu điều trị, 15 bệnh nhân cải thiện cân nặng theo tuổi, 4 bệnh nhân ngứa cải thiện. Trong suốt thời gian điều trị UDCA, GGT giảm đáng kể, AST và ALT giảm hầu hết bệnh nhân. Tuy nhiên, không thấy thay đổi đáng kể bilirubin và xét nghiệm tổng hợp gan [74].

Cholestyramine (Questran): các phân tử này kết hợp với các axít mật tạo thành phức hợp không hấp thu được, ức chế sự hấp thu các muối mật qua chu trình gan ruột và được bài tiết trong phân. Thuốc được sử dụng chủ yếu trong điều trị tăng cholesterol máu nguyên phát không đáp ứng điều trị dinh dưỡng và là lựa chọn thứ 2 trong điều trị ngứa do ứ mật. Sử dụng các thuốc khác trước ít nhất 1 giờ hoặc 4 – 6 giờ sau sử dụng cholestyramin. Không sử dụng dạng bột khô, nên pha với nhiều nước. Liều dùng 12-15 gram/ngày [120]. Thuốc thường được lựa chọn điều trị trong trường hợp ngứa ứ mật mức độ trung bình đến nặng. Thuốc thường dung nạp tốt nhưng mùi vị khó uống nên có thể kết hợp với nước trái cây khi sử dụng. Tác dụng phụ bao gồm chán ăn,

táo bón, tiêu chảy, đầy bụng, khó tiêu. Một nghiên cứu 92 bệnh nhân viêm xơ đường mật nguyên phát từ 2007 – 2011, tại bệnh viện Newcastle, được điều trị cholestyramine (liều trung bình 8g/ngày, thời gian điều trị trung bình 24 tuần). 61% bệnh nhân cải thiện ngứa hoàn toàn hay một phần [53].

Rifampin: cơ chế chưa rõ. Có thể liên quan sự ức chế hấp thu axít mật vào tế bào gan và tạo thuận lợi cho bài tiết axít mật dihydroxy và monohydroxy, các axít mật độc tính [28]. G V Gregorio (1993) xác định hiệu quả rifampicin trong điều trị ngứa 33 trẻ (tuổi trung bình 25 tháng, từ 4-135 tháng; 19 bé trai) mắc bệnh gan ứ mật mạn tính (21 trẻ mắc ALGS, 8 trẻ ứ mật trong gan tiến triển, một teo đường mật, một bất thường chuyển hóa axít mật, một xơ gan vô căn). Liều trung bình rifampicin là 5 (4-10) mg/kg/ngày. Thời gian điều trị trung bình là 36 (4-120) tuần. Kết quả, 5 trẻ hết ngứa hoàn toàn (15%) và 12 (36%) trẻ đáp ứng một phần. Nhìn chung, không có sự khác biệt đáng kể về xét nghiệm sinh hóa trước và sau điều trị rifampicin. Tuy nhiên, 21 bệnh nhân ALGS giảm đáng kể ALP trước và sau điều trị 1, 6 tháng. Không ghi nhận tác dụng phụ nào [47]. Một kết quả tương tự, Yerushalmi (1999) nghiên cứu hiệu quả điều trị của rifampin cho 24 trẻ (13 trẻ teo đường mật, 6 trẻ ALGS, 3 trẻ bệnh Byler, một trẻ viêm xơ đường mật nguyên phát, một thiếu alpha 1 antitrypsin) biểu hiện ngứa không đáp ứng điều trị với axít ursodeoxycholic, diphenhydramine hay phenobarbital. Liều điều trị rifampin, 10 mg/kg/ngày, 2 lần/ngày trong thời gian 18+/-20 tháng. Kết quả, 10 bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn, 12 bệnh nhân đáp ứng một phần và 2 trường hợp kháng trị. Bệnh nhân ALGS thường đáp ứng một phần (80%). GGT thường giảm. Không ghi nhân tác dụng phụ nào. Như vậy, rifampin hiệu quả và an toàn trong điều trị bệnh nhân ứ mật mạn tính có ngứa không đáp ứng điều trị với các điều trị nội khoa khác [136].

1.6.4.3. Các thuốc điều trị khác:

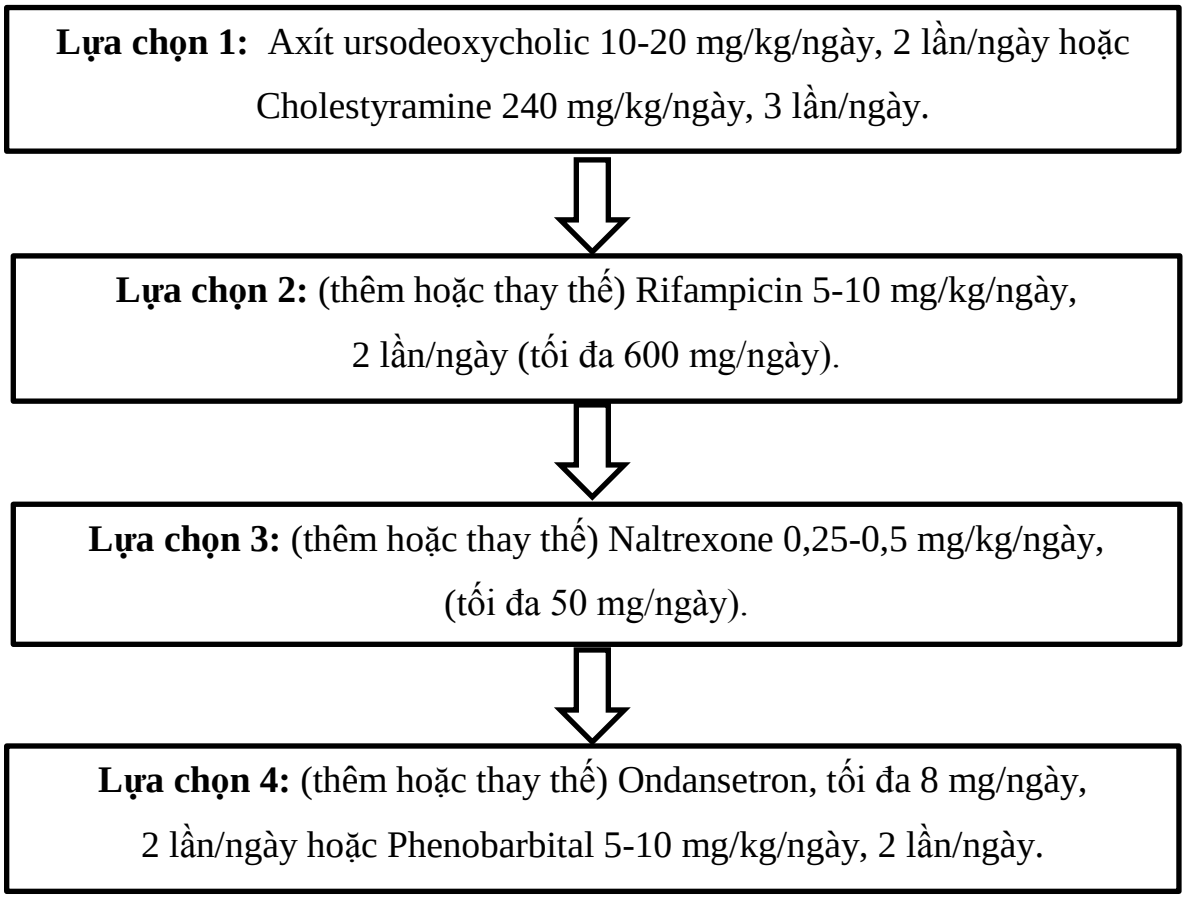
Naltrexone: là kháng thụ thể opiate đã được chứng minh có hiệu quả trong điều trị ngứa ứ mật nặng ở người lớn [135]. Zellos A và cộng sự ghi nhận naltrexone uống điều trị thành công 4 trẻ ngứa kháng trị với phenobarbital, axít ursodeoxycholic và rifampin [138]. Kháng thụ thể Serotonin (Ondansetron): Thébaut A (2017) đánh giá hiệu quả và an toàn sertraline, ức chế hấp thu serotonin, trong điều trị trẻ ngứa ứ mật kháng trị. 20 trẻ ALGS hay ứ mật trong gan tiến triển gia đình, từ 4 trung tâm từ 2007 - 2014, có ngứa kháng trị, được điều trị sertraline liều khởi đầu 1mg/kg/ngày và sau đó tăng dần đến liều 4 mg/kg/ngày (liều trung bình 2,2 mg/kg/ngày). Sau 3 tháng, 14 bệnh nhân cải thiện ngứa. 9 bệnh nhân cải thiện các dấu cào sướt và rối loạn giấc ngủ. Không có tác dụng phụ nào được ghi nhận [127].

Phenobarbital: Bloomer JR (1975) nghiên cứu hiệu quả điều trị phenobarbital cho 15 trẻ bệnh ứ mật (3 trẻ thiểu sản đường mật trong gan), thời gian 1-5 tháng. Kết quả, trẻ giảm ngứa, nồng độ bilirubin và axít mật giảm. Nồng độ cholesterol huyết thanh và chức năng gan không thay đổi đáng kể và có 12 bệnh nhân tăng phosphatase kiềm. Nghiên cứu này cho thấy phenobarbital có hiệu quả điều trị trong vài bệnh nhân bệnh ứ mật nhưng cần nghiên cứu thêm [16]. Theo Adolf Stiehl (1973), phenobarbital cải thiện ngứa trong ứ mật trong gan, do làm giảm nồng độ muối mật huyết thanh. Phenobarbital đóng vai trò vận chuyển các muối mật từ máu ngoại biên vào chu trình gan ruột và tăng cường bài tiết muối mật trong phân [125].

Hydroxyzine (Atarax, Vistaril): hiệu quả điều trị ngứa qua trung gian histamine. Thuốc kháng thụ thể H1 ngoại biên và ức chế hoạt tính histamine vùng dưới vỏ hệ thần kinh trung ương. Tuy nhiên, gần như không nghiên cứu nào cho thấy hiệu quả kháng histamine trong điều trị ngứa do ứ mật.

Hệ thống tái tuần hoàn hấp thu phân tử (MARS): cho phép lấy đi các chất gây ngứa mà không cần tiếp xúc với các kháng nguyên. Schaefer B (2012)

phân tích hồi cứu hiệu quả của MARS trong điều trị 3 bé trai ngứa ứ mật nặng. Tổng cộng có 135 chu kỳ trong thời gian 13 tháng trước ghép gan. Bilirubin huyết thanh và axít mật được theo dõi và đánh giá ngứa theo thang điểm 10 (0: không ngứa, 10: ngứa tối đa). Chu kỳ MARS khởi đầu thực hiện 3 lần/tuần, thời gian trung bình là $6,3 \pm 1,4$giờ. Sau đó, giảm dần một lần/tuần và cách tuần. Axít mật huyết tương trung bình trước MARS là 207 ± 67µmol/l. Chỉ số này giảm còn $67 \pm 9\%$, $48 \pm 3\%$, $38 \pm 14\%$, và $37 \pm 5\%$ sau 2, 4, 6 và 8 giờ điều trị (tất cả $p < 0,05$). Chỉ số ngứa giảm từ $6,5 \pm 2,3$ còn $3,3 \pm 2,9$ ($p < 0,01$). Không còn các sang thương da do ngứa. Không ghi nhận tai biến nào [121].

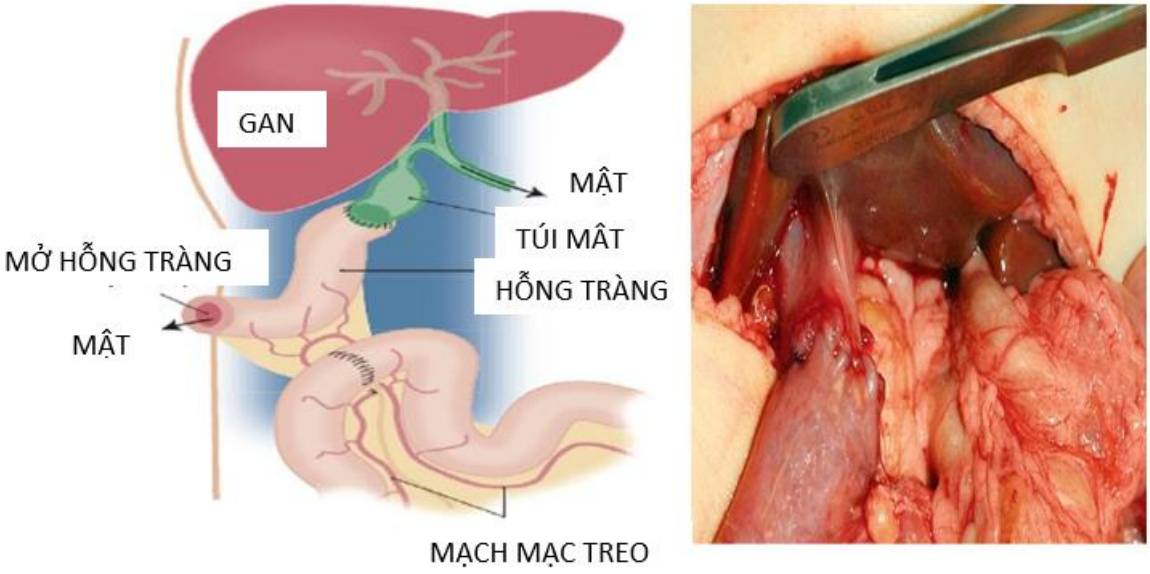


Lưu đồ 1.1. Hướng dẫn gợi ý trong điều trị ngứa [57], [67]

Nếu thất bại điều trị với tất cả thuốc trên, có thể cân nhắc MARS, chuyển vị đường mật ra ngoài một phần, hoặc ghép gan [13].

1.6.4.4. Điều trị ngoại khoa

Bao gồm chuyển vị đường mật ra ngoài một phần (PEBD) [110], [130] và có thể ghép gan trong trường hợp bệnh kháng trị [75], [92]. Whitington ghi nhận hàng loạt bệnh nhân ALGS biểu hiện ngứa, được chuyển vị đường mật ra ngoài một phần. Tác giả ghi nhận có giảm nồng độ muối mật cũng như một số trường hợp bệnh nhân có giảm ngứa và u vàng. Tuy nhiên, kết quả này không rõ ràng so với nhóm bệnh nhân do nguyên nhân khác như ứ mật trong gan tiến triển gia đình [133].



Hình 1.9. Phẫu thuật chuyển vị đường mật ra ngoài một phần

"Nguồn: Whitington PF, 1988" [133]

Theo Emerick KM, PEBD hiệu quả trong việc điều trị ngứa nặng và tăng cholesterol máu ở bệnh nhân ALGS không xơ gan, không đáp ứng điều trị nội khoa. PDBD nên được xem là biện pháp điều trị chọn lựa cho nhóm bệnh nhân này trước khi xem xét chỉ định ghép gan [38].

1.6.5. Ghép gan

Các chỉ định xem xét ghép gan bao gồm suy gan tiến triển, tăng áp cửa nặng, chậm tăng trưởng, ngứa không hồi phục và loạn dưỡng xương [3], [4], [99], [107].

Tỷ lệ sống còn 20 năm là 80% đối với nhóm không cần ghép gan và 60% đối với nhóm cần ghép gan. Trong nhóm trẻ bệnh gan ứ mật, sống còn sau 1 năm và 5 năm ghép gan giảm đáng kể ở nhóm bệnh nhân ALGS so với nhóm teo đường mật. Tử vong sớm (< 30 ngày sau ghép gan) cao đáng kể ở nhóm bệnh nhân ALGS so với nhóm teo đường mật. Tương tự, sự sống còn của mẫu ghép ở bệnh nhân ALGS sau 1 năm và 5 năm cao hơn nhóm teo đường mật (lần lượt là ALGS: 74,7%, 61,5%, và teo đường mật: 81,6%, 70,0%). Tác giả cũng ghi nhận creatinin trước và tại thời điểm ghép gan, thời gian thiếu máu cục bộ >12 giờ là yếu tố nguy cơ gây tử vong [9].

Cardona J (1995) nghiên cứu 12 bệnh nhi ALGS được ghép gan, bệnh viện Bicêtre, Pháp. Tại thời điểm ghép gan (tuổi trung bình là 7 tuổi 10 tháng), có 9 trẻ ngứa kháng trị, 11 trẻ có u vàng, chậm phát triển cân nặng chiều cao là 11 trẻ. Bilirubin toàn phần từ 116 đến 322 umol/L và cholesterol huyết thanh 3,5 - 29 mmol/L. Có 5 trẻ có áp lực thất phải tâm thu tăng trung bình (36 - 48 mmHg); độ thanh lọc creatinin trung bình là 99 ml/phút/1,73 m^2. Hình ảnh mô học là xơ gan, xơ khoảng cửa và vùng dây chằng tròn. Theo dõi 11 trẻ còn sống từ 14 tháng đến 5,5 năm, tất cả đều sống bình thường. Ngứa và u vàng biến mất. Tăng chiều cao 8/10 bệnh nhân. Mức độ học bình thường là 4 trẻ (tuổi trung bình ghép gan là 5 tuổi 9 tháng) và dưới mức bình thường là 6 trẻ (tuổi trung bình ghép gan là 9 tuổi 9 tháng). Tất cả đều có xét nghiệm chức năng gan bình thường. Độ thanh lọc creatinin trung bình là 101 ml/phút/1,73 m^2. Kết quả cho thấy chất lượng cuộc sống cải thiện đáng kể sau

ghép gan ở trẻ ALGS có bệnh gan nặng và có thể thực hiện trước khi trẻ đến tuổi đi học [19].

1.6.6. Điều trị triệu chứng và phòng ngừa biến chứng

Điều trị bệnh lý tim mạch.

Điều trị dự phòng viêm nội tâm mạc nhiễm trùng.

Tầm soát các bất thường mạch máu như phình hay hẹp mạch máu.

Chủng ngừa vắc xin viêm gan A, vắc xin phế cầu đa chủng.

Thăm khám, kiểm tra thường xuyên bệnh lý răng miệng, nha chu [14].

1.6.7. Tham vấn

Tham vấn từng chuyên khoa có thể giúp chẩn đoán dễ dàng hơn và có kế hoạch chăm sóc lâu dài bao gồm khám chuyên gia mắt, gan mật nhi, tim mạch và thận.

Sinh hoạt không giới hạn hoạt động trừ phi bệnh nhân mắc bệnh tim nặng. Bệnh nhân hội chứng cường lách cần tránh các môn thể thao tiếp xúc.

Tham vấn di truyền: bệnh di truyền tính trội nhiễm sắc thể thường. Khoảng 30% - 50% cá thể có gen gây bệnh di truyền và 50% - 70% có gen gây bệnh mới [27], [78], [124]. Cha mẹ có con bệnh do gen gây bệnh mới thì nguy cơ xảy ra bệnh cho các đứa con tiếp theo là rất thấp nhưng cao hơn so với dân số chung do khả năng thể khảm [43], [82]. Con bệnh nhân ALGS có nguy cơ 50% mắc bệnh. Nếu gen gây bệnh ảnh hưởng các thành viên gia đình đã được xác định thì có thể thực hiện xét nghiệm trước sinh cho thai phụ. Tuy nhiên, xét nghiệm này không tiên đoán được khả năng xảy ra cũng như mức độ nặng nhẹ các biểu hiện lâm sàng [109].

1.6.8. Theo dõi

Bệnh nhân ngoại trú:

- Tình trạng dinh dưỡng.
- Tầm soát thiếu vitamin tan trong mỡ.

- Tham vấn về bệnh tim cấu trúc, bệnh lý mạch máu và tăng lipid máu.
- Điều trị bệnh gan ứ mật mạn tính bao gồm ngứa, xơ gan, tăng áp cửa, báng bụng và tầm soát carcinoma tế bào gan, adenoma tế bào gan [104].

Bệnh nhân nội trú:

- Điều trị dinh dưỡng, bệnh tim mạch và bệnh gan mạn tính.
- Nuôi ăn nhỏ giọt qua sonde hay mở dạ dày ra da.
- Điều trị bệnh thận mạn tính.
- Điều trị biến chứng: xuất huyết tĩnh mạch, báng bụng kéo dài, viêm phúc mạc vi trùng…
- Xem xét chỉ định ghép gan.

1.7. TIÊN LƯỢNG

Biến chứng gan: do tình trạng ứ mật và xơ gan. Trẻ nhũ nhi có thể biểu hiện vàng da sơ sinh. Vàng da có thể hết trước 2 tuổi hoặc diễn tiến ứ mật dai dẳng. Thiếu các vitamin tan trong mỡ (A, D, E, K) có thể gây bệnh loãng xương, thiếu máu tán huyết hoặc tử vong do xuất huyết nội sọ.

Ngứa kháng trị cần xem xét ghép gan. Một số ít bệnh nhân tiến triển carcinoma tế bào gan.

Biến chứng tim mạch từ biểu hiện hẹp động mạch phổi ngoại biên nhẹ đến tứ chứng Fallot nặng có thể gây tử vong. Tăng lipid máu có thể biểu hiện u vàng. Bệnh nhân có nồng độ cao cholesterol, lipoprotein trọng lượng thấp (LDL) và apoprotein B có thể gây xơ vữa động mạch.

Bất thường cấu trúc thận cũng như xơ vữa cầu thận, xơ vữa nhu mô thận. Bất thường mạch máu thận như hẹp động mạch thận, thận lạc chỗ, thận đơn độc, niệu quản đôi. Một số trường hợp cần ghép thận.

Bệnh tim và bệnh gan ảnh hưởng trực tiếp thời gian sống còn bệnh nhân.

Trong nghiên cứu 163 bệnh nhân ALGS (1960 – 2000), Lykavieris P (2001) cho thấy tiên lượng bệnh gan nặng gặp trẻ ALGS vàng da ứ mật sơ sinh. Tuy nhiên, biến chứng gan nặng có thể xảy ra nhóm bệnh nhân biểu hiện bệnh gan muộn và điều này đòi hỏi cần theo dõi bệnh nhân suốt đời [91].

Một nghiên cứu khác của Lee HP (2015) về hậu quả của bệnh nhân ALGS sau phẫu thuật Kasai. Một số trẻ giai đoạn nhũ nhi, được chẩn đoán nhầm là teo đường mật và đã được tiến hành phẫu thuật Kasai tại khoa nhi, bệnh viện Samsung. Kết quả cho thấy tỷ lệ tử vong không có sự khác biệt đáng kể giữa hai nhóm nhưng tỷ lệ ghép gan ở nhóm Kasai cao hơn. Tiên lượng xấu ở nhóm bệnh nhân Kasai có thể do ảnh hưởng phẫu thuật hoặc do ứ mật không phù hợp phẫu thuật Kasai [85]. Một nghiên cứu tương tự của Kaye AJ (2010) về hậu quả gan trên bệnh nhân ALGS phẫu thuật Kasai, thực hiện tại bệnh viện trường Pennsylvania, Philadelphia. Có 430 bệnh nhân ALGS, 19 được phẫu thuật Kasai (K). Nhóm chứng là 36 bệnh nhân (C). BTP giữa 6 và 10 tuần tuổi của 2 nhóm tương đương nhau, lần lượt là K: 9,6 mg/dL, C: 8,7 mg/dL; GGT cao hơn ở nhóm chứng (K: 493,4 U/L, C: 574,4 U/L). Đáng lưu ý, nhóm Kasai có tỷ lệ ghép gan cao hơn (K: 9 [47,3%], C: 5 [13,9%], P = 0,01) và tỷ lệ tử vong cao hơn (K: 6 [31,6%], C: 1 [2,8%], P = 0,005). Như vậy, mặc dù phẫu thuật Kasai phù hợp cho bệnh nhân teo đường mật nhưng lại không có ích lợi cho bệnh nhân ALGS, thậm chí gây hậu quả bệnh gan nặng hơn [76].

1.8. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ HỘI CHỨNG ALAGILLE

1.8.1. Đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS

Cho JM (2015) nghiên cứu 19 trẻ ALGS (10 nữ, 9 nam) tại trung tâm y khoa Asan, Seoul, Hàn Quốc, từ tháng 1/1997 – 12/2013. Hầu hết trẻ có biểu hiện ứ mật sơ sinh trong 6 tháng đầu sau sinh (89%, 17/19). BTP và BTT là 8,5 ± 2,7 mg/dL và 4,9 ± 1,6 mg/dL. Có 15 bệnh nhân được sinh thiết gan,

trung bình lúc 2 tháng tuổi. Có 14/15 (93%) bệnh nhân biểu hiện thiểu sản đường mật. Có 18/19 bệnh nhân (95%) có bất thường cấu trúc tim. Trong đó, 15/18 trường hợp (83%) là bất thường cây động mạch phổi. 9 bệnh nhân (47%) có đốt sống hình cánh bướm và 8/15 bệnh nhân (53%) biểu hiện vòng đục sau giác mạc. Bất thường khuôn mặt ở tất cả bệnh nhân (100%). Có 4/19 bệnh nhân (21%) bất thường thận, bao gồm teo thận phải (n=1), nang thận (n=2) và suy thận (n=1). 11/19 bệnh nhân (58%) chậm tăng trưởng (chiều cao và cân nặng < bách phân vị thứ 5) [21]. So với các nghiên cứu trước đây, tần suất bất thường mắt (67%) và bệnh thận (21%) thấp hơn.

Nghiên cứu của Lin HC (2012) về 21 trẻ ALGS Việt Nam, từ tháng 4/2007 đến tháng 10/2010, cho thấy không có mối liên quan kiểu gen kiểu hình. Về đặc điểm lâm sàng, bất thường cột sống (94,1%, 16/17) cao hơn các nghiên cứu trước đây nhưng bất thường khuôn mặt khó nhận dạng chỉ chiếm khoảng 61%. Các bất thường gan là 100% (18/18), tim 94,4% (17/18), mắt 100% (2/2), thận 27,3% (3/11). Lý do nhập viện chủ yếu là vàng da, một số ít có bệnh tim mạch, bệnh thận kèm viêm gan. Có 4 trẻ được sinh thiết gan và tất cả đều biểu hiện thiểu sản đường mật trong gan [89]. Hạn chế nghiên cứu là cỡ mẫu nhỏ và không đồng nhất số ca quan sát nên khó xác định chính xác tỷ lệ các bất thường.

Subramaniam (2011) nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và mô học qua 25 năm kinh nghiệm (từ 1980 đến 2005) chẩn đoán 117 trẻ ALGS tại bệnh viện King. Kết quả cho thấy 104 bệnh nhân (89%) có ứ mật, 91 bệnh nhân (77%) có khuôn mặt bất thường, vòng đục sau giác mạc là 72 (61%), đốt sống hình cánh bướm là 44 (39%), bệnh tim (thường là hẹp động mạch phổi ngoại biên) là 107 (91%) và bất thường thận là 27 (23%). Cholesterol huyết thanh > 5 mmol/L thấy ở 52/86 (60,4%) bệnh nhân. Thiểu sản đường mật trên sinh thiết gan là 59/77 (76,6%) trẻ < 16 tuần tuổi, 10/14 (71,4%) trẻ từ 16 tuần tuổi đến

1 tuổi, và 8/12 (66,66%) trên 1 tuổi. Túi mật co nhỏ hoặc không thấy trên siêu âm là 29/104 (27,8%). Nhìn chung, đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS không hằng định như trong y văn. Tăng cholesterol máu không đặc hiệu nhưng có thể là dấu chỉ điểm hữu ích. Mô học không đặc trưng trong khoảng 25% trường hợp. Siêu âm có thể cho chẩn đoán sai là teo đường mật [126].

Emerick KM và cộng sự (1999) hồi cứu đặc điểm 92 bệnh nhân ALGS từ 1974 đến 1997, đa trung tâm. Kết quả cho thấy, tỷ lệ ứ mật mạn tính là 85% (68/81), âm thổi tim 97% (90/92), bất thường cột sống 51% (37/71), bất thường khuôn mặt 96% (86/92), bất thường mắt 78% (65/83) và bất thường thận là 40% (28/69). Ngoài ra, nghiên cứu còn cho thấy trẻ ALGS có chậm phát triển tâm thần, vận động và suy tụy (2%, 16%, 41%). Có 81 bệnh nhân được sinh thiết gan, trong đó 69 bệnh nhân (85%) biểu hiện thiểu sản đường mật [37].

Năm 1987, lần đầu Alagille Daniel mô tả đầy đủ nhất về hội chứng thiểu sản đường mật trong gan có triệu chứng. Có 80 bệnh nhân có từ 3 triệu chứng lâm sàng trở lên. Trong đó, có 26 ca có 5 biểu hiện lâm sàng (hội chứng toàn phần), 42 ca có 4 triệu chứng lâm sàng và 12 ca có 3 triệu chứng lâm sàng (hội chứng bán phần). Tác giả nhận dạng được 5 đặc điểm lâm sàng chính: khuôn mặt đặc trưng (95%), ứ mật mạn tính (91%), vòng đục sau giác mạc (88%), đốt sống hình cánh bướm (87%) và thiểu sản hay hẹp động mạch phổi ngoại biên (có kết hợp hay không bất thường tim phức tạp khác) là 85%. Ngoài ra, các bệnh nhân này còn có chậm tăng trưởng (50%), chậm phát triển tâm thần (16%), suy thận, bất thường mạch máu và chậm dậy thì. Tỷ lệ tử vong là 26% (21 bệnh nhân) [7].

Bảng 1.2. Tóm tắt các nghiên cứu về đặc điểm trẻ ALGS [7], [21], [37], [89], [126]

Nghiên cứu	Cho JM (2014) [21]	Lin HC (2012) [89]	Subramaniam (2011) [126]	Emerick (1999) [37]	Alagille D (1987) [7]
Cỡ mẫu	19	21	117	92	80
Bất thường gan	17 (89%)	18/18* (100%)	104 (89%)	68/81 (85%)	73 (91%)
Bất thường Tim	18 (95%)	17/18* (94,4%)	107 (91%)	90/92 (97%)	68 (85%)
Bất thường cột sống	9 (47%)	16/17* (94,1%)	44 (39%)	37/71 (51%)	70 (87%)
Bất thường mắt	8/15 (53%)	2/2* (100%)	72 (61%)	65/83 (78%)	71 (88%)
Bất thường khuôn mặt	19 (100%)	11/18* (61%)	91 (77%)	86/92 (96%)	76 (95%)
Bất thường khác (bất thường thận, chậm phát triển tâm thần, vận động)		Bất thường thận 27,3% (3/11)	Bất thường thận (23%) (27/117)	Bất thường thận (40%) (28/69)	Chậm tăng trưởng 50% Chậm phát triển tâm thần 16%

* cỡ mẫu không nhất quán, từ 18 bệnh nhân ALGS đột biến *JAG1*.

Nhìn chung, trong các nghiên cứu đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS thì nghiên cứu Subramaniam (2011) có cỡ mẫu lớn nhất (n=117). Bất thường tim và bất thường gan là hai đặc điểm thường gặp nhất (>85%), trong đó bất

thường gan trong nghiên cứu Lin HC (2012) là 100%. Nguyên nhân có thể do cách chọn mẫu là những trẻ nhập khoa tiêu hóa nên tất cả đều có bất thường gan. Bất thường cột sống có sự dao động đáng kể từ 47% - 94,1%. Có thể do sự khác biệt cỡ mẫu hay là đặc điểm riêng của trẻ ALGS Việt Nam. Bất thường mắt dao động từ 53% đến 100%. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Lin HC (2012), số ca quan sát quá ít (2 ca) nên tỷ lệ 100% khó có thể kết luận. Bất thường khuôn mặt dao động 61% - 100%. Sự khác biệt này tùy thuộc nhiều vào người đánh giá. Bất thường thận tương tự giữa các nghiên cứu (≤40%).

1.8.2. Đặc điểm di truyền học trẻ ALGS

Liting Li (2014) nghiên cứu phổ đột biến 91 trẻ Trung Quốc từ 1/2010 – 12/2014, biểu hiện ít nhất hai triệu chứng lâm sàng của ALGS. Đột biến gây bệnh *JAG1* được phát hiện 70/91 trường hợp (76,9%), bao gồm mất đoạn nhỏ 29/70 (41,4%), thêm đoạn nhỏ 6/70 (8,6%), 16/70 vô nghĩa (22,9%), 8/70 (11,4%) cắt nối, 6/70 (9,4%) sai nghĩa và 5/70 (7,1%) mất đoạn lớn. Đột biến phân bố trên nhiều exon khác nhau [87].

Theo Jurkiewicz D (2014), khi nghiên cứu phổ đột biến gen *JAG1* từ 35 bệnh nhân Ba Lan mắc ALGS, đã phát hiện 26 đột biến gen *JAG1* (74,3%). Đột biến bao gồm 7 đột biến lệch khung (26,9%), 5 đột biến vô nghĩa (19,2%), 4 đột biến sai nghĩa (15,4%), 2 đột biến cắt nối (7,7%), 8 đột biến mất đoạn lớn (30,7%). Trong đó, có 23 đột biến gen khác nhau, 13 đột biến điểm mới, 6 đột biến mất đoạn lớn. Tất cả đột biến điểm đều thuộc miền ngoài tế bào của protein JAG1. Sự phân bố đột biến không khác biệt so với các nghiên cứu trước đây [61].

Cho JM (2014) nghiên cứu 19 trẻ ALGS (10 nữ, 9 nam) tại trung tâm y khoa Asan, Seoul, Hàn Quốc, từ tháng 1/1997 – 12/2013. Phân tích di truyền cho thấy có 14 bệnh nhân (74%, 14/19) đột biến gen *JAG1*. Không tìm thấy

đột biến Notch2. Có 13 đột biến gen *JAG1* khác nhau, 7 trường hợp đột biến mới, 2 đột biến sai nghĩa (15,4%), 3 đột biến vô nghĩa (23,1%) và 8 đột biến lệch khung (61,5%). Các đột biến nằm rải rác ở 11 exon: 3, 4, 9, 10, 14, 16, 17, 22, 23, 24, và 25 [21].

Nghiên cứu của Lin HC (2012) về 21 trẻ ALGS tại Việt Nam, từ tháng 4/2007 đến tháng 10/2010, cho thấy tỷ lệ phát hiện đột biến rất cao (90%) bao gồm 18 *JAG1* (86%) và 1 *NOTCH2* (5%). Phổ đột biến tương tự với các kết quả nghiên cứu trước đây bao gồm 9 lệch khung (50%), 3 sai nghĩa (16,6%), 2 cắt nối (11,1%), một vô nghĩa (5,6%), hai mất toàn bộ gen (11,1%) và một mất đoạn (5,6%) [89].

Năm 1999, Crosnier C nghiên cứu đột biến gen *JAG1* từ 109 bệnh nhân Alagille. Có 69 bệnh nhân (63%) đột biến trong gen, bao gồm 14 đột biến vô nghĩa (20,3%), 31 lệch khung (44,9%), 11 cắt nối (16%) và 13 đột biến sai nghĩa (18,8%). Tuy nhiên, 51% đột biến tập trung ở 7 exon trên gen *JAG1* [27].

Năm 1998, Krantz ID tiến hành tầm soát 54 bệnh nhân ALGS và các thành viên gia đình để xác định tần suất đột biến gen *JAG1*. Có 3 bệnh nhân (6%) mất toàn bộ gen. 35/51 bệnh nhân (69%) đột biến trong gen *JAG1*. Trong đó, 9 đột biến vô nghĩa (26%), 2 sai nghĩa (6%), 11 mất đoạn nhỏ (31%), 8 thêm đoạn nhỏ (23%) và 1 sắp xếp phức tạp (3%); tất cả đều là lệch khung, 4 đột biến cắt nối (11,4%) [78].

Bảng 1.3. Tóm tắt các nghiên cứu đặc điểm di truyền học trẻ ALGS [21], [27], [61], [78], [87], [89]

Nghiên cứu	Li L (2015) [87]	Jurkiewicz (2014) [61]	Cho JM (2014) [21]	Lin HC (2012) [89]	Crosnier (1999) [27]	Krantz (1998) [78]
Cỡ mẫu	91	35	19	21	109	51
Đột biến JAG1	70 (76,9%)	26 (74,3%)	14 (74%)	18 (86%)	69 (63%)	35 (69%)
Đột biến sai nghĩa	6 (9,4%)	4 (15,4%)	3 (21,4%)	3 (16,6%)	13 (18,8%)	2 (6%)
Đột biến vô nghĩa	16 (22,9%)	5 (19,2%)	3 (21,4%)	1 (5,6%)	14 (20,3%)	9 (26%)
Đột biến cắt nối	8 (11,4%)	2 (7,7%)	0	2 (11,1%)	11 (16%)	4 (11,4%)
Đột biến lệch khung	35 (50%)	7 (26,9%)	8 (57,2%)	9 (50%)	31 (44.9%)	20 (57%)
Đột biến mất đoạn	5 (7,1%)	8 (30,7%)	0	3 (16,7%)	0	0

1.8.3. Mối liên quan giữa kiểu gen kiểu hình trẻ ALGS

Năm 2002, McElhinney DB tiến hành phân tích kiểu hình tim mạch và mối liên quan kiểu gen – kiểu hình ở trẻ ALGS. Tác giả hồi cứu 200 bệnh nhân được chẩn đoán ALGS. Có 187 bệnh nhân (94%) có bất thường tim mạch. Trong đó, 150 bệnh nhân bất thường trên siêu âm tim và 37 bệnh nhân có âm thổi hẹp động mạch phổi ngoại biên với điện tâm đồ bình thường hoặc không có siêu âm tim. Kiểu hình hẹp nhánh động mạch phổi khác nhau giữa 2 nhóm có và không có đột biến gen *JAG1*. Trong nhóm đột biến gen *JAG1*,

không có sự liên quan giữa kiểu đột biến, vị trí đột biến với tần suất và kiểu bất thường tim mạch. Như vậy, mặc dù hơn 90% bệnh nhân ALGS có bất thường tim mạch, nhưng không thấy có sự liên quan giữa kiểu hình tim mạch và kiểu đột biến, vị trí đột biến gen *JAG1* [96].

Không có mối liên quan kiểu gen – kiểu hình giữa triệu chứng lâm sàng ALGS và kiểu đột biến, vị trí đột biến gen *JAG1* theo nghiên cứu của Krantz (1998), Crosnier (1999), Spinner (2001), Colliton RP (2001), Kamath BM (2010) [25], [27], [69], [78], [124].

Khi nghiên cứu hai gia đình có đột biến sai nghĩa bệnh lý gen *JAG1*, Eldadah (2001), Le Caignec (2002) đã phát hiện bất thường tim mạch mặc dù nhóm bệnh nhân không có bất thường gan mật [36]. Tác giả cho rằng đột biến gen *JAG1* đóng vai trò quan trọng trong biểu hiện bệnh tim phải tắc nghẽn [36], [83]. Tuy nhiên, đây chỉ là báo cáo riêng lẽ nên khó có thể xác định mối liên quan này.

1.8.4. Các yếu tố liên quan đến tiên lượng bệnh gan trẻ ALGS

Emerick KM (1999) hồi cứu 92 bệnh nhân ALGS để xác định các đặc điểm lâm sàng có liên quan tiên lượng, ghép gan, tử vong. Bệnh nhân chia thành 2 nhóm nhũ nhi (n=45) và trẻ lớn (n=12). Trong các triệu chứng lâm sàng, chỉ có bất thường cấu trúc tim nhũ nhi là có liên quan làm tăng tỷ lệ tử vong ($P < 0,001$). BTT > 5 mg% có liên quan tử vong, trong khi đó BTT < 5 mg% không liên quan tử vong ($P = 0,013$). Tuy nhiên, nhóm bệnh nhân có BTT > 5 mg% có nhiều bệnh tim phức tạp hơn so với nhóm BTT < 5 mg%. Vì vậy, khi tiếp tục nghiên cứu sâu hơn, loại trừ những bệnh nhân có bệnh tim bẩm sinh phức tạp, sự liên quan giữa nồng độ bilirubin và tử vong không còn ý nghĩa thống kê ($P = 0,375$) [37]. Như vậy, sau khi phân tích chi tiết và đầy đủ, tác giả không tìm được các yếu tố liên quan có thể ảnh hưởng tiên lượng bệnh nhân ALGS.

Kamath BM và cộng sự (2010) tiến hành nghiên cứu giá trị tiên đoán hậu quả bệnh gan từ các xét nghiệm của 33 bệnh nhân ALGS. Mục tiêu nghiên cứu là phát hiện các xét nghiệm có thể tiên đoán được bệnh gan ở trẻ ALGS. Hồi cứu dữ liệu từ 33 trẻ ALGS, bệnh nhân được chia thành 2 nhóm bệnh gan nhẹ và nặng. Kết quả, BTP > 6,5 mg/dL (111 micromol/L) (p=0,0001), BTT > 4,5 mg/dL (77 micromol/L) (p=0,0066) và cholesterol > 520 mg/dL (13,5 mmol/L) (p = 0,0022) có liên quan đến tiên lượng bệnh gan nặng về sau. Từ kết quả đó giúp nhà lâm sàng sẽ tích cực hơn trong điều trị đối với nhóm có xét nghiệm trên ngưỡng khuyến cáo [69]. Như vậy, giá trị BTP, BTT và cholesterol có thể giúp tiên lượng bệnh gan về sau cho trẻ ALGS.

Khắc phục hạn chế cỡ mẫu nhỏ của các nghiên cứu trước đây, Mouzaki M và cộng sự (2015) tiến hành nghiên cứu đa trung tâm nhằm phát hiện các chỉ điểm sớm giúp tiên lượng bệnh gan trẻ ALGS. Tác giả hồi cứu biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và hình ảnh học 144 bệnh nhân ALGS. 67 bệnh nhân có biểu hiện bệnh gan nhẹ và 77 bệnh nhân biểu hiện gan nặng. Phân tích đơn biến cho thấy tình trạng ứ mật (p=0,041), xơ hóa trên sinh thiết gan (p=0,006) và biểu hiện u vàng (p=0,003) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm (p < 0,05). Ngoài ra, ngưỡng BTP 3,8 mg/dL (65 mmol/L) có liên quan tiên lượng bệnh gan (p=0,001). Như vậy, hậu quả bệnh gan về sau của bệnh nhân ALGS có thể tiên đoán dựa vào BTP, ứ mật, xơ hóa trên sinh thiết gan và hiện diện u vàng khi khám thực thể [98].

CHƯƠNG 2:
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. THIẾT KẾ NGHIÊN CỨU

Mô tả hàng loạt ca.

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.2.1. Dân số mục tiêu

Tất cả bệnh nhi mắc hội chứng Alagille được điều trị tại Bệnh viện Nhi đồng 1.

2.2.2. Dân số chọn mẫu

Tất cả bệnh nhi mắc hội chứng Alagille được điều trị tại Bệnh viện Nhi đồng 1 từ tháng 02/2015 đến tháng 12/2018.

2.2.3. Tiêu chí chọn mẫu

2.2.3.1. Tiêu chí chọn vào

- Bệnh nhi dưới 16 tuổi
- Có biểu hiện ít nhất ba trong năm triệu chứng lâm sàng chính của hội chứng Alagille bao gồm (1) bất thường gan, (2) bất thường tim, (3) bất thường cột sống, (4) bất thường mắt và (5) bất thường khuôn mặt.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu

2.2.3.2. Tiêu chí loại trừ

- Không đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Không thu thập đủ số liệu cho nghiên cứu.
- Bệnh nhân đã được chẩn đoán hội chứng Alagille trước đó.

2.2.4. Cỡ mẫu

Chúng tôi tiến hành chọn tất cả các mẫu đủ tiêu chuẩn chọn vào và không có tiêu chuẩn loại trừ từ tháng 2/2015 đến tháng 12/2018 căn cứ vào hai lý do chính:

- Mục đích của nghiên cứu cũng như thiết kế nghiên cứu mô tả hàng loạt ca chỉ đơn thuần nhằm xác định các đặc điểm của bệnh và đóng vai trò như là nghiên cứu bổ sung, đi tiếp nghiên cứu trước của tác giả Henry C. Lin và Hoàng Lê Phúc về ALGS tại Việt Nam.
- ALGS không phải là bệnh phổ biến vì vậy không khả thi nếu chọn với số lượng quá lớn.

2.2.5. Phương pháp chọn mẫu

Chúng tôi áp dụng phương pháp chọn mẫu không xác suất, trong đó dùng phương pháp lấy mẫu liên tiếp. Tức là, chọn tất cả các trường hợp thỏa tiêu chí trong suốt thời gian nghiên cứu.

2.3. THU THẬP DỮ LIỆU

2.3.1. Liệt kê và định nghĩa biến số

❖ **Các triệu chứng lâm sàng**

Bảng 2.1. Định nghĩa các triệu chứng lâm sàng chính chẩn đoán ALGS [7]

Bất thường	Mô tả
Gan	Tình trạng ứ mật sơ sinh với biểu hiện vàng da tăng bilirubin trực tiếp (BTT > 17µmol/L hoặc >1mg/dL) [56], kèm phân bạc màu. Ngoài ra, có thể ngứa và xuất hiện u vàng.
Tim	Hẹp động mạch phổi ngoại biên, teo động mạch phổi, thông liên nhĩ, thông liên thất, và tứ chứng Fallot.
Cột sống	Biểu hiện đốt sống hình cánh bướm, ngoài ra có thể có khuyết xương sườn, dính gian đốt sống, hở cột sống, hẹp xương sọ, chồng sọ.
Mắt	Vòng đục sau giác mạc, các bất thường liên quan giác mạc, võng mạc, mống mắt, đĩa thị.
Khuôn mặt	Trán rộng, mắt sâu và xa nhau, mũi thẳng, đầu mũi to, hàm dưới nhô cao và cằm nhọn tạo hình ảnh mặt hình tam giác.

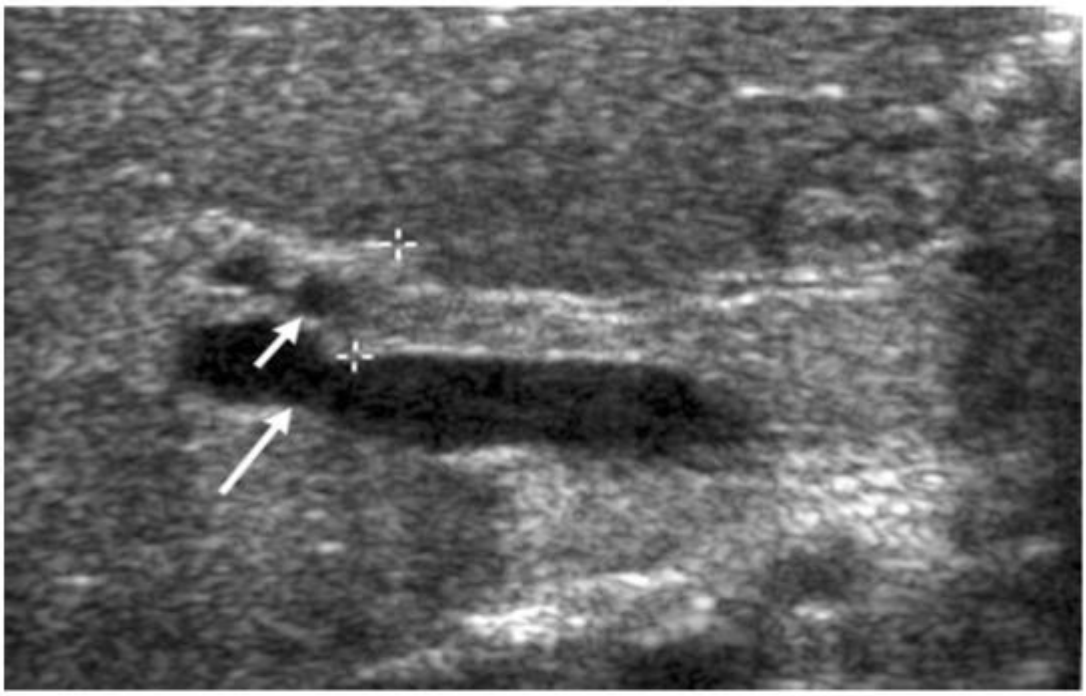
Vòng đục sau giác mạc: là tình trạng dày lên của vòng Schwalbe, nơi giao nhau biểu mô giác mạc và các dải cơ [77]. Bất thường này được bác sĩ Mắt bệnh viện Nhi đồng 1 khám và chẩn đoán.

Đốt sống hình cánh bướm: là tình trạng chẻ dọc một hay nhiều đốt sống ngực, có thể nhìn thấy trên phim Xquang cột sống thẳng trước sau, do sự bất thường hợp nhất của cung trước đốt sống [128]. Bất thường này được bác sĩ Chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Nhi Đồng 1 chụp và chẩn đoán.

Thiểu sản đường mật: tỷ lệ đường mật khoảng cửa < 0,4 trong 10 khoảng cửa [62]. Đặc điểm này do bác sĩ Giải phẫu bệnh phân tích.

Ứ mật mạn tính: khi tăng bilirubin trực tiếp > 17µmol/L (hoặc > 1mg/dL) hoặc GGT tăng > 3 lần giá trị bình thường, kéo dài trên 6 tháng [56].

Dấu TC: là dây mô sợi có hồi âm hình tam giác hoặc hình ống thấy ở khoảng cửa gan. Dương tính khi thành trước hồi âm của tĩnh mạch cửa phải dầy hơn 4mm, đo trên mặt phẳng siêu âm cắt dọc [84].



Hình 2.1. Dấu TC dương trên siêu âm

"Nguồn: Lee HJ, 2003" [84]

❖ **Tiên lượng gan** là biến nhị giá gồm bệnh gan nhẹ và bệnh gan nặng **[69]**

- **Bệnh gan nhẹ**: khi có một trong ba đặc điểm sau
  - Bất thường xét nghiệm sinh hóa nhưng không ứ mật (bilirubin trực tiếp < 17µmol/L (hoặc < 1mg/dL) hoặc GGT tăng < 3 lần giới hạn trên giá trị bình thường) [56].
  - Ứ mật (bilirubin trực tiếp >17µmol/L (hoặc >1mg/dL) hoặc GGT tăng > 3 lần giới hạn trên giá trị bình thường) [56] nhưng không ngứa (không cần điều trị).
  - Ứ mật và ngứa đáp ứng điều trị.
- **Bệnh gan nặng:** khi có một trong bốn đặc điểm sau
  - Ứ mật nặng (có kèm ngứa hoặc nồng độ axít mật >40µmol/L hoặc BTP >300µmol/L) và ngứa, không đáp ứng điều trị [69].
  - Ứ mật nặng với xơ gan (BTP >300µmol/L, nồng độ albumin huyết thanh < 35g/L, và PT kéo dài dù đã được điều trị vitamin K tĩnh mạch) và tăng áp cửa (dựa vào hình ảnh nội soi tiêu hóa, siêu âm hoặc chụp mạch máu) [91].
  - Phẫu thuật chuyển vị đường mật vì ứ mật nặng và ngứa kháng trị (ngứa không cải thiện sau khi điều trị nội khoa kết hợp) [81].
  - Ghép gan vì ứ mật nặng hoặc vì biến chứng tăng áp cửa

❖ **Đột biến điểm:** là sự thay đổi trình tự nucleotide của gen [32].

- Đột biến sai nghĩa: thay thế nucleotide làm thay đổi amino acid.
- Đột biến vô nghĩa: thay thế nucleotide tạo stop codon. Stop codon ở người TAG, TAA hoặc TGA.
- Đột biến lệch khung: mất một hay vài nucleotide hoặc thêm một hay vài nucleotide làm lệch bộ ba mã hóa (codon).
- Đột biến tại vị trí cắt nối: đột biến vùng intron gây mất exon.

- Đa hình nucleotide đơn: khi giải trình tự gen, có một số biến đổi cấu trúc gen được ghi nhận nhưng những cấu trúc này được xem là bình thường vì nó gặp ở người khỏe mạnh và sản phẩm protein tổng hợp của nó không bị ảnh hưởng chức năng.

Chẩn đoán lâm sàng ALGS: có 3 trên 5 triệu chứng lâm sàng chính [7]

- Ứ mật: bilirubin trực tiếp >17µmol/L (hoặc 1mg/dL) hoặc GGT tăng > 3 lần giá trị bình thường [56]
- Bất thường tim mạch (thường nhất là hẹp động mạch phổi ngoại biên và các nhánh)
- Bất thường xương (thường gặp là hình ảnh đốt sống hình cánh bướm trên phim Xquang ngực thẳng)
- Bất thường mắt (thường gặp vòng đục sau giác mạc)
- Khuôn mặt đặc trưng: trán rộng, mắt sâu và xa nhau, mũi thẳng, đầu mũi to, hàm dưới nhô cao và cằm nhọn [77]

Chẩn đoán xác định ALGS: gồm một triệu chứng lâm sàng chính và một gen đột biến gây bệnh *JAG1* hoặc *NOTCH2* [65].

Bảng 2.2. Các biến số nghiên cứu (Nelson Texbook of Pediatrics, 2011)

Tên biến số	**Loại biến số**	**Định nghĩa, đo lường, đơn vị**
Tuổi	Liên tục	Tháng
Giới	Nhị giá	Nam/Nữ
Địa chỉ	Danh định	Tỉnh, Thành phố
Lí do nhập viện	Danh định	Vàng da, ngứa, báng bụng, gan to, u vàng, tăng lipid máu
Bất thường gan	Nhị giá	Có/không
Bất thường tim	Nhị giá	Có/không
Bất thường cột sống	Nhị giá	Có/không

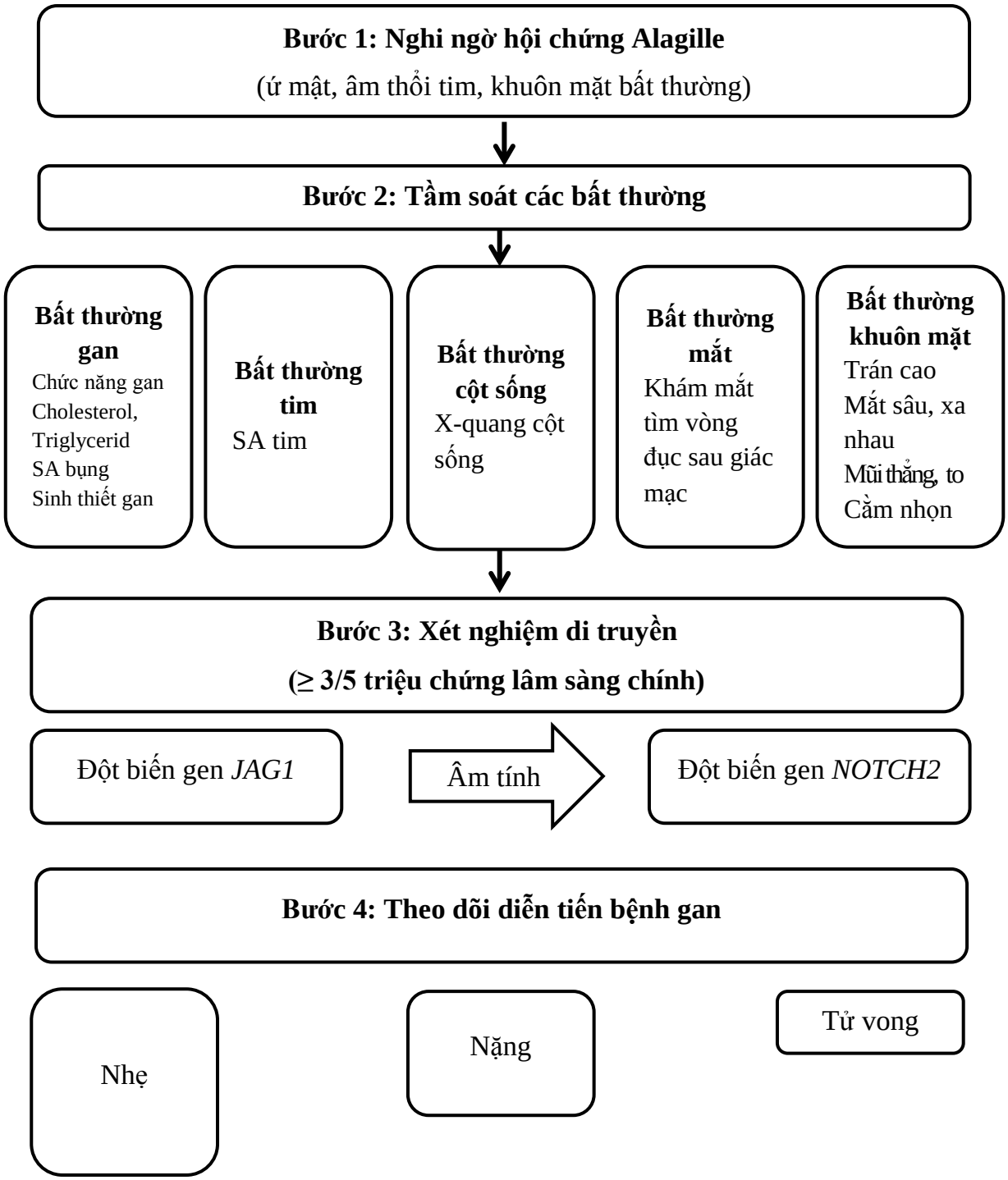
Bất thường mắt	Nhị giá	Có/không
Bất thường khuôn mặt	Nhị giá	Có/không
Bất thường thận	Nhị giá	Có/không Có: bất thường cấu trúc trên SA hoặc chỉ số Ure, Creatinin tăng
Gan to	Nhị giá	Có/không Dựa vào chiều cao gan trên SA. Bé trai: > 8cm, bé gái: > 6,5cm
Vàng da	Nhị giá	Có/không Có: là tình trạng nhuốm màu vàng ở da, niêm mạc mắt hoặc màng nhầy.
Âm thổi tim	Nhị giá	Có/không
Đột biến gen *JAG1*	Nhị giá	Có/không
Đột biến gen *NOTCH2*	Nhị giá	Có/không Có: thấy trên KQ phân tích di truyền Không: không thấy trên KQ
Kiểu đột biến gen	Danh định	Lệch khung, sai nghĩa, vô nghĩa, cắt nối, mất đoạn nhỏ, mất đoạn lớn
Vị trí đột biến *JAG1*	Danh định	1, 2, 3 …..26
Vị trí đột biến *NOTCH2*	Danh định	1, 2, 3 …..34
Tiên lượng gan	Thứ tự	Nhẹ, nặng, tử vong
Thời gian theo dõi	Liên tục	Tháng
BTP (umol/L)	Liên tục	Bình thường: 5,13 – 20,52umol/L Tăng: ≥20,52umol/L
BTT (umol/L)	Liên tục	Bình thường: <3,42umol/l Tăng: ≥3,42umol/L

AST (U/L)	Liên tục	Bình thường: 15 – 60u/l Tăng: ≥60u/l
ALT (U/L)	Liên tục	Bình thường: 13 – 45u/l Tăng: ≥ 45u/l
ALP (U/L)	Liên tục	Bình thường: 93 – 345u/l Tăng: ≥345u/l
GGT (U/L)	Liên tục	Bình thường: <22u/l Tăng: ≥22u/l
Cholesterol (mmol/L)	Liên tục	Bình thường: <5,2mmol/L Tăng: ≥ 5,2mmol/L
Triglycerid (mmol/L)	Liên tục	Bình thường: <1,71mmol/L Tăng: ≥ 1,71mmol/L
Ure (mmol/L)	Liên tục	Bình thường: 1,8 – 6,4mmol/L Tăng: ≥6,4mmol/L
Creatinin (umol/L)	Liên tục	Bình thường: 35,4 – 61,9umol/L Tăng: ≥61,9umol/L
Đốt sống hình cánh bướm	Nhị giá	Có/không Có: khi thấy trên phim Xquang CS
Vòng đục sau giác mạc	Nhị giá	Có/không Có: khi thấy qua đèn khe khám mắt
Dấu TC	Nhị giá	Âm/dương Âm: TC <4mm trên SA cắt dọc Dương: TC ≥4m trên SA cắt dọc
Thiểu sản đường mật	Nhị giá	Có/không Có: đường mật/khoảng cửa < 0,4 Không : đường mật/khoảng cửa ≥ 0,4

2.3.2. Công cụ thu thập số liệu

Bệnh án mẫu và phiếu theo dõi quá trình điều trị mẫu.

2.3.3. Các bước thực hiện



Lưu đồ 2.1. Các bước thực hiện nghiên cứu

2.3.4. Phân tích đột biến

2.3.4.1 Phân tích đột biến gen *JAG1*

Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Y Sinh học Phân tử - Đại học Y Dược TP.HCM. Mẫu xét nghiệm là mẫu máu được ly trích DNA và giải trình tự DNA toàn bộ 26 exon gen *JAG1*.

Tách chiết genomic DNA từ mẫu máu: tiến hành lấy 2ml 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 mồi cho 26 exon của gen *JAG1*: sử dụng phần mềm CLC main workbench tải trình tự gen *JAG1* của người từ NCBI (NG_007496), sau đó sử dụng công cụ thiết kế mồi sẵn có của phần mềm để thiết kế mồi PCR cho các exon của gen *JAG1*.

Thiết lập điều kiện cho PCR khuếch đại tạo các vùng trình tự ngắn: mỗi tube PCR có thể tích 15 µl chứa các thành phần: 1,5µl PCR buffer 10X; 1,5µl dNTP 2,5mM; 0,75µl mỗi mồi xuôi và ngược (10nM/µl), 0,1µl TaKaRa TaqTM HotStart Polymerase (Takara, Nhật Bản), 2µl genomic DNA (20-50ng/µl) và 8,4µl nước cất 2 lần khử ion. Các phản ứng luôn kèm theo một chứng âm không chứa DNA để kiểm soát ngoại nhiễm. Chu trình luân nhiệt cho PCR được thực hiện trên máy Mastercycler@Pro S (eppendorf, Đức). Chu kỳ nhiệt: khởi đầu tại 98^{o}C trong 3 phút, tiếp theo với 40 chu kỳ lặp lại các bước 98^{o}C: 10 giây, 59^{o}C: 20 giây, 72^{o}C: 1 phút; kế tiếp với bước 72^{o}C: 2 phút. Trữ sản phẩm PCR tại 4^{o}C.

Thiết lập điều kiện cho PCR khuếch đại tạo các vùng trình tự dài: mỗi tube PCR có thể tích 15 µl chứa các thành phần: 1,5µl PCR buffer 10X; 1,5µl dNTP 2,5mM; 0,75µl mỗi mồi xuôi và ngược (10nM/µl), 0,1µl TaKaRa TaqTM HotStart Polymerase (Takara, Nhật Bản), 2µl genomic DNA (20-

50ng/µl) và 8,4µl nước cất 2 lần khử ion. Các phản ứng luôn kèm theo một chứng âm không chứa DNA để kiểm soát ngoại nhiễm. Chu trình luân nhiệt cho PCR được thực hiện trên máy Mastercycler@Pro S (eppendorf, Đức). Chu kỳ nhiệt: khởi đầu tại 98^{o}C trong 3 phút, tiếp theo với 40 chu kỳ lặp lại các bước 98^{o}C: 10 giây, 59^{o}C: 20 giây, 72^{o}C: 1 phút 30 giây; kế tiếp với bước 72^{o}C: 2 phút. Trữ sản phẩm PCR tại 4^{o}C.

Kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di trên thạch agarose: sử dụng thạch agarose 2% cho sản phẩm PCR kích thước ngắn (≤ 2000bp), thạch agarose 0,75% cho sản phẩm PCR kích thước dài (≥ 2000bp), thạch agarose nhuộm Gel Red và quan sát bằng hệ thống chụp ảnh điện di Geldoc-ItTM (UVP, Mỹ).

Tinh sạch sản phẩm: trường hợp có băng phụ xuất hiện, sản phẩm PCR mong muốn được cắt từ gel và tinh sạch. Sản phẩm PCR trực tiếp hoặc cắt từ gel sau đó được tinh sạch bằng illustraTM GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất. Tinh sạch trực tiếp sản phẩm PCR bằng enzyme Exo Sap.

Các phản ứng PCR được kéo dài hơn về thời gian tổng hợp mạch DNA, nhưng vẫn sử dụng cùng một bộ kít thí nghiệm và chu trình luân nhiệt. Việc hạn chế được số lượng phản ứng PCR cần phải thực hiện để khuếch đại gen *JAG1* và thiết kế đồng bộ các phản ứng PCR về cùng một chu trình luân nhiệt giúp giảm khối lượng công việc, tiết kiệm thời gian, chi phí và công sức.

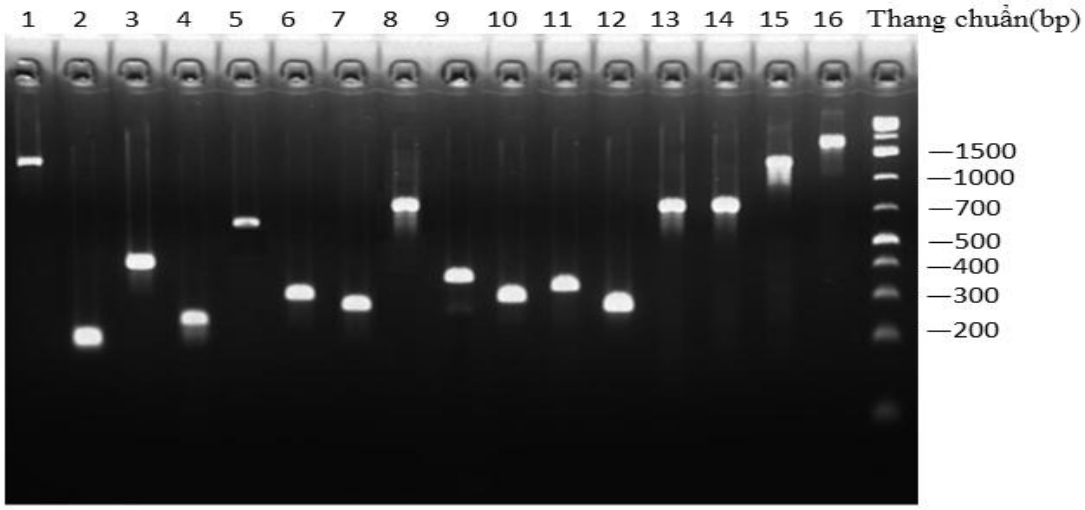
Giải trình tự bằng phương pháp Sanger: sản phẩm PCR đã được tinh sạch sẽ được thực hiện phản ứng cycle sequencing với BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Mỹ) theo hai chiều xuôi và ngược. Sản phẩm sau đó được kết tủa bằng ethanol tuyệt đối, lạnh, với sự hỗ trợ tủa bằng muối NH_4OAC, hòa tan trong Hi-Di formaldehyde, biến tính ở 96°C trước khi làm lạnh đột ngột ở 4^{o}C. Trình tự DNA được đọc bằng máy

ABI 3130 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 *JAG1* tham khảo từ ngân hàng trình tự gen trên website NCBI (NG_007496).

Bảng 2.3. Các phản ứng khuếch đại gen *JAG1* đoạn ngắn

Cặp mồi	Genomic DNA từ máu bệnh nhân	Kích thước vùng khuếch đại (bp)
JAG1_g1F/ JAG1_g 2R	Phản ứng 1	1186
JAG1_g3F/ JAG1_g 3R	Phản ứng 2	184
JAG1_g4F/ JAG1_g 4R	Phản ứng 3	389
JAG1_g5F/ JAG1_g 5R	Phản ứng 4	221
JAG1_g6F/ JAG1_g 7R	Phản ứng 5	580
JAG1_g8F/ JAG1_g 8R	Phản ứng 6	288
JAG1_g9F/ JAG1_g 9R	Phản ứng 7	262
JAG1_g10F/ JAG1_g 11R	Phản ứng 8	702
JAG1_g12F/ JAG1_g 12R	Phản ứng 9	345
JAG1_g13F/ JAG1_g 13R	Phản ứng 10	286
JAG1_g14F/ JAG1_g 14R	Phản ứng 11	318
JAG1_g15F/ JAG1_g 15R	Phản ứng 12	264
JAG1_g16F/ JAG1_g 18R	Phản ứng 13	713
JAG1_g19F/ JAG1_g 20R	Phản ứng 14	719
JAG1_g21F/ JAG1_g 23R	Phản ứng 15	1251
JAG1_g24F/ JAG1_c8R	Phản ứng 16	1858

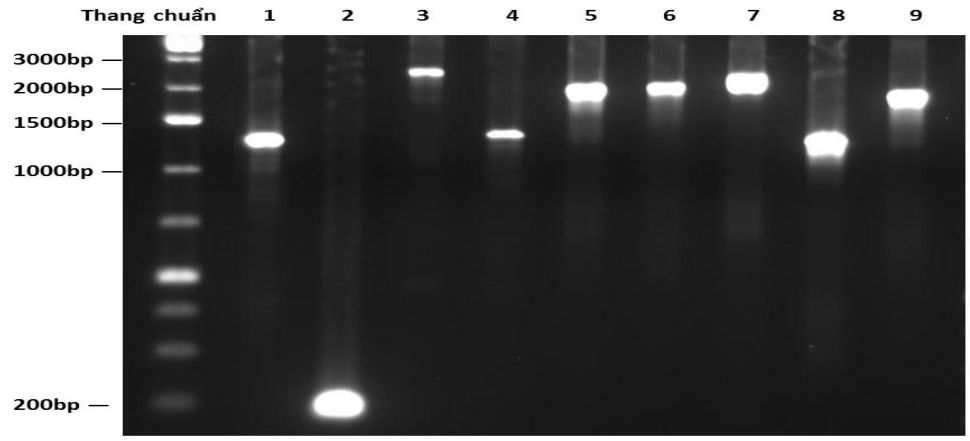


Hình 2.2. Kết quả phản ứng PCR khuếch đại 26 exon gen *JAG1*

Có 16 cặp mồi khuếch đại thành công với sản phẩm có kích thước mong muốn. Mỗi phản ứng đi kèm với một chứng âm âm tính, không thể hiện trong hình.

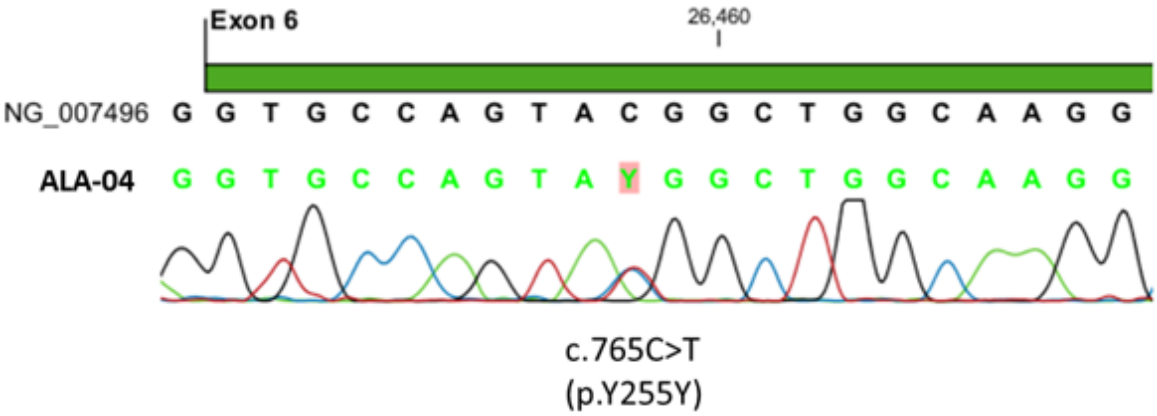
Bảng 2.4. Các phản ứng khuếch đại gen *JAG1* đoạn dài

Cặp mồi	Genomic DNA từ máu bệnh nhân	Kích thước vùng khuếch đại (bp)
*JAG1*_g1F/ *JAG1*_g 2R	Phản ứng 1	1186
*JAG1*_g3F/ *JAG1*_g 3R	Phản ứng 2	184
*JAG1*_g4F/ *JAG1*_g 5R	Phản ứng 3	2472
*JAG1*_g6F/ *JAG1*_g 8R	Phản ứng 4	1165
*JAG1*_g9F/ *JAG1*_g 12R	Phản ứng 5	2003
*JAG1*_g12F/ *JAG1*_g 14R	Phản ứng 6	1948
*JAG1*_g15F/ *JAG1*_g 20R	Phản ứng 7	2450
*JAG1*_g21F/ *JAG1*_g 23R	Phản ứng 8	1251
*JAG1*_g24F/ *JAG1*_c8R	Phản ứng 9	1858



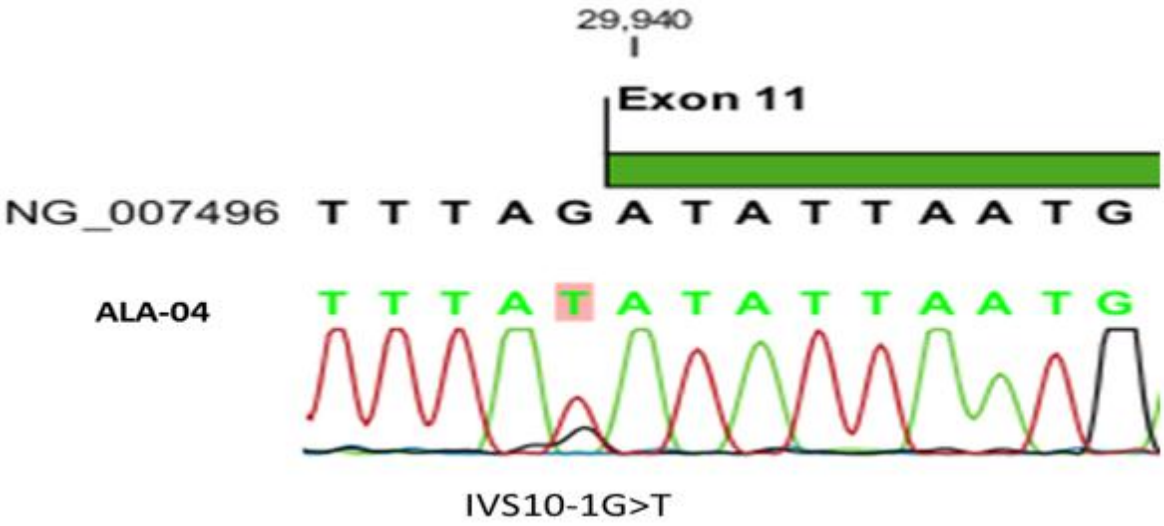
Hình 2.3. Kết quả phản ứng PCR khuếch đại 26 exon gen *JAG1*

Có 9 cặp mồi khuếch đại thành công với sản phẩm có kích thước mong muốn. Mỗi phản ứng đi kèm với một chứng âm âm tính, không thể hiện trong hình.

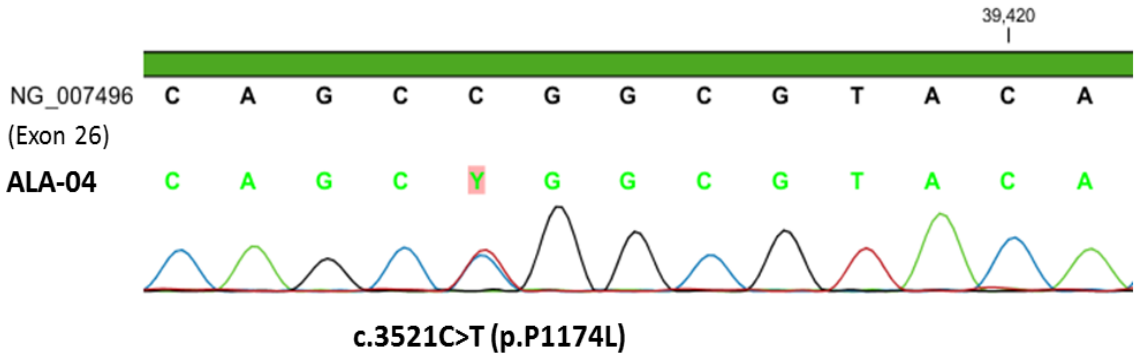


Hình 2.4. Kết quả giải trình tự exon 6 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS

(Thay thế nucleotide 765 C thành T)



Hình 2.5. Kết quả giải trình tự exon 11 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS



Hình 2.6. Kết quả giải trình tự exon 26 trên gen *JAG1* ở bệnh nhân ALGS

2.3.4.2. Phân tích đột biến gen *NOTCH2*

Nghiên cứu được thực hiện tại Viện Di truyền Y học TP.HCM. ADN được tách chiết và được chuẩn bị thư viện giải trình tự bằng bộ kit New England Biolabs (Hoa Kỳ). Các phân mảnh ADN trong vùng gen mục tiêu sẽ được làm giàu sử dụng mẫu dò đặc hiệu IDT (Hoa Kỳ), sau đó được giải trình tự trên hệ thống giải trình tự thế hệ mới NextSeq, Illumina (Hoa Kỳ) với độ phủ trung bình khoảng 100x. Tối thiểu 95% vùng gen mục tiêu có độ phủ trên 10x. Kết quả giải trình tự sẽ được xếp giống cột với bộ gen tham chiếu GRCh37/hg19 để nhận biết các biến di truyền. Dựa trên cơ sở dữ liệu hiện có của người Việt Nam (bao gồm kế hoạch 1000 bộ gen, ESP), các biến thể hiếm

có tần suất dưới 1% trong quần thể sẽ được tiếp tục phân lớp. Các biến thể được phân lớp dựa trên cơ sở dữ liệu ClinVar của Viện sức khỏe quốc gia Hoa Kỳ được cập nhật tới thời điểm trả kết quả. Biến thể được chia làm 3 nhóm: (i) nhóm gây bệnh và gần giống gây bệnh (gọi tắt là Gây bệnh): là biến thể đã có đầy đủ chứng cứ khoa học hoặc chứng cứ đã rõ ràng nhưng còn hạn chế liên quan tới bệnh; (ii) nhóm biến thể chưa rõ chức năng (gọi tắt là Chưa rõ): là nhóm mà chứng cứ nguy cơ gây bệnh chưa đầy đủ hoặc mâu thuẩn nhau; (iii) nhóm biến thể lành tính hoặc gần giống lành tính (gọi tắt là Lành tính): là nhóm đã có đầy đủ chứng cứ khoa học hoặc chứng cứ đã rõ ràng nhưng còn giới hạn về khả năng KHÔNG làm gia tăng nguy cơ bệnh. Chỉ biến thể gây bệnh (còn gọi là đột biến gây bệnh) có khả năng liên quan đến triệu chứng lâm sàng của người tham gia xét nghiệm sẽ được thông báo trong bảng trả kết quả.

Giới hạn của xét nghiệm: các biến thể di truyền được khảo sát bao gồm đột biến điểm, mất đoạn và chèn đoạn ngắn (dưới 20 nucleotide) trong vùng mã hóa và vùng lân cận với intron (-20/+10 nucleotide từ exon) của gen này. Các biến đổi di truyền khác bao gồm: các biến thể di truyền nằm ngoài vùng mã hóa, những đoạn lặp ngắn liên tục, vùng giàu CG, vùng có trình tự tương đồng cao và các biến thể dạng khảm có thể không đủ tin cậy để phát hiện trong xét nghiệm này. Xét nghiệm cũng không khảo sát các gen trong ti thể.

2.3.5. Kiểm soát sai lệch số liệu

Để đảm bảo có thể hiểu đầy đủ về bệnh nên chúng tôi loại các trường hợp không thu thập đầy đủ số liệu cho nghiên cứu. Ngoài ra, chúng tôi tuân thủ nghiêm ngặt tiêu chí chọn bệnh và tiêu chí loại trừ.

Các bước thu thập thông tin được tác giả đề tài trực tiếp thực hiện cẩn trọng trên từng bệnh nhi. Phiếu dữ liệu được ghi chép theo mẫu với các tiêu chí định trước.

Xét nghiệm máu được điều dưỡng đã được huấn luyện thực hiện, thể tích theo quy định của bệnh viện Nhi đồng 1, trung tâm Y sinh học phân tử, Viện Di truyền Y học.

Phân tích đột biến được thực hiện tại Trung tâm Y Sinh học Phân tử - Đại học Y Dược TP. HCM và tại Viện Di truyền Y học TP.HCM.

2.4. XỬ LÝ VÀ PHÂN TÍCH SỐ LIỆU

Số liệu được kiểm tra tính hoàn thiện và đối chiếu với bệnh án gốc khi cần thiết để đảm bảo số liệu chính xác. Tất cả số liệu được mã hóa, ví dụ 1=nam và 0=nữ. Sau đó, số liệu được nhập liệu bằng phần mềm Epidata 3.1. Để đảm bảo số liệu được nhập chính xác thì sau khi nhập xong, chúng tôi kiểm tra lại phân phối và tính phù hợp của dữ liệu, ví dụ căn cứ vào giá trị nhỏ nhất và lớn nhất để xem có đúng với thực tế hay không. Số liệu sau đó được chuyển sang và phân tích số liệu bằng Stata 13.

Về thống kê mô tả, các biến liên tục được mô tả bằng trung bình, độ lệch chuẩn nếu có phân phối bình thường và trung vị, khoảng tứ vị nếu có phân phối không bình thường.

Các biến danh định, nhị giá, thứ tự được phân tích và trình bày theo tần số và tỷ lệ (%).

Mối liên quan kiểu gen - kiểu hình được phân tích bằng kiểm định chính xác Fisher để đảm bảo tính chính xác và vì các yêu cầu về vọng trị và tần số không thỏa mãn cho kiểm định Chi bình phương. Khi so sánh các trị số định lượng thì chúng tôi sử dụng kiểm định phi tham số Wilcoxon.

Để xác định khả năng tiên lượng bệnh gan theo thời gian, chúng tôi tiến hành phân tích bằng đường cong Kaplan Meier và kiểm định Log-rank. Tất cả các kiểm định được xem là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.5. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Thông tin bệnh nhân hoàn toàn bảo mật, không xâm hại bệnh nhân.

Tất cả cha mẹ bệnh nhi đều tự nguyện tham gia nghiên cứu, được thông tin đầy đủ trước khi tham gia nghiên cứu.

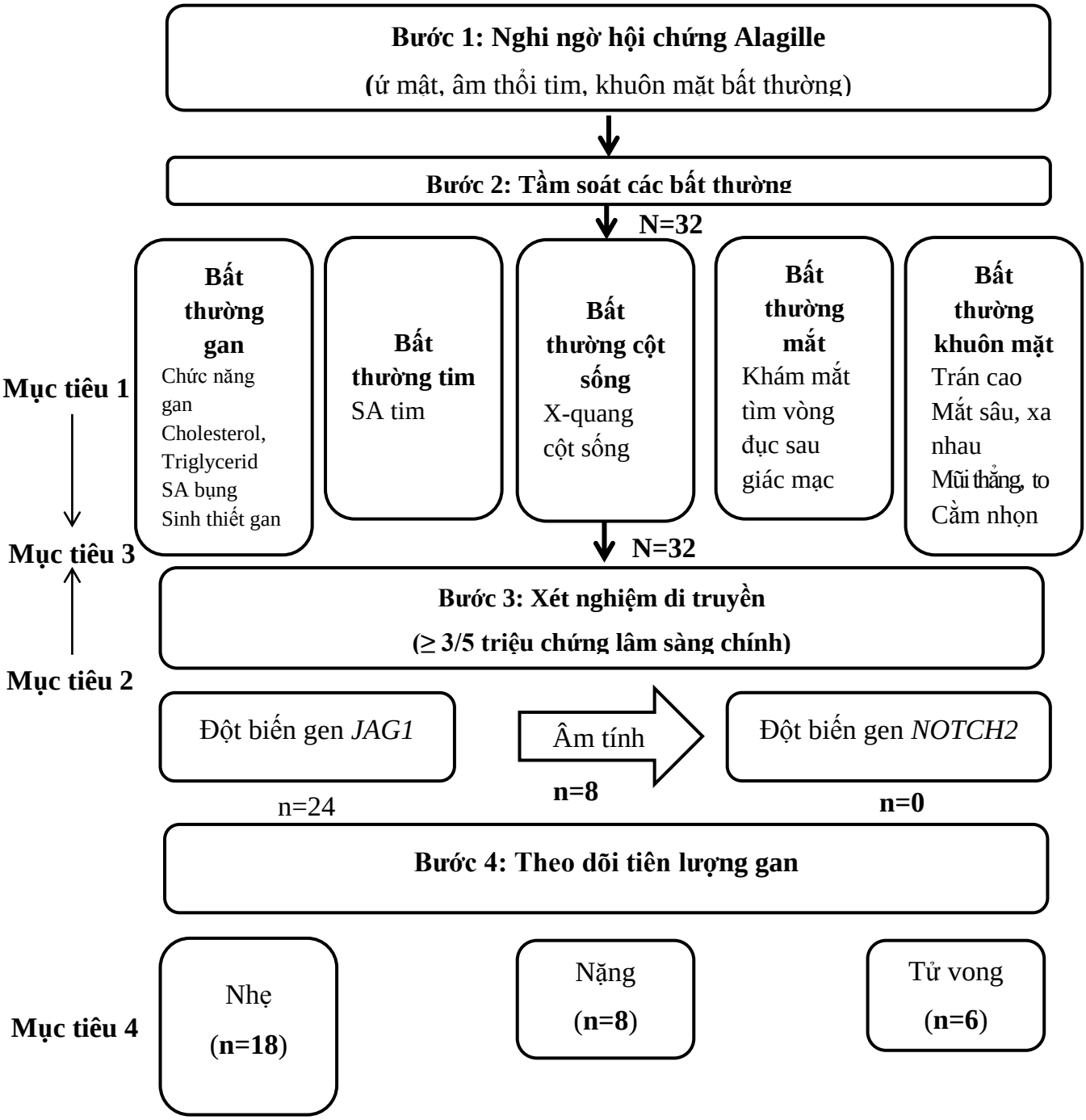
Chi phí thực hiện xét nghiệm phân tích di truyền do nghiên cứu viên tự chi trả.

Đã thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học - Đại học Y dược Tp. Hồ Chí Minh (số 222/ĐHYD-HĐ) và Hội đồng khoa học Bệnh viện Nhi đồng 1.

Nghiên cứu không có mục đích nào khác ngoài mục đích phục vụ y học và nghiên cứu y học khoa học.

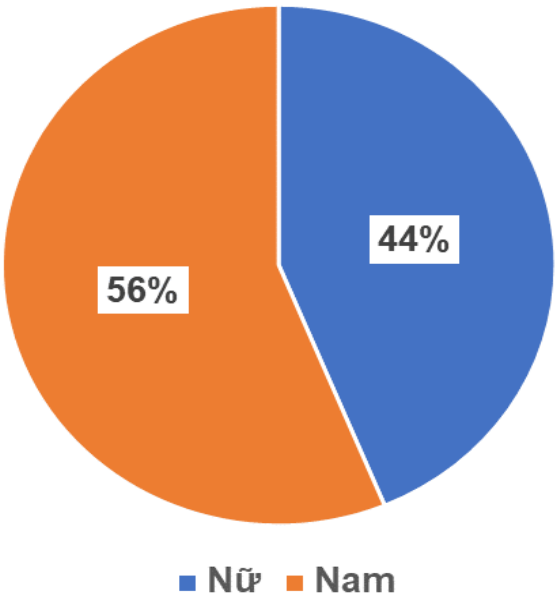
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 2/2015 đến tháng 12/2018, chúng tôi đã chọn lọc được 32 bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng là ALGS.



Sơ đồ 3.1. Kết quả nghiên cứu

3.1. ĐẶC ĐIỂM MẪU NGHIÊN CỨU



Biểu đồ 3.1. Phân bố giới tính của đối tượng tham gia nghiên cứu

Nhận xét: Tỷ lệ nam nhiều hơn nữ 1,3 lần.

Bảng 3.1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu (N=32)

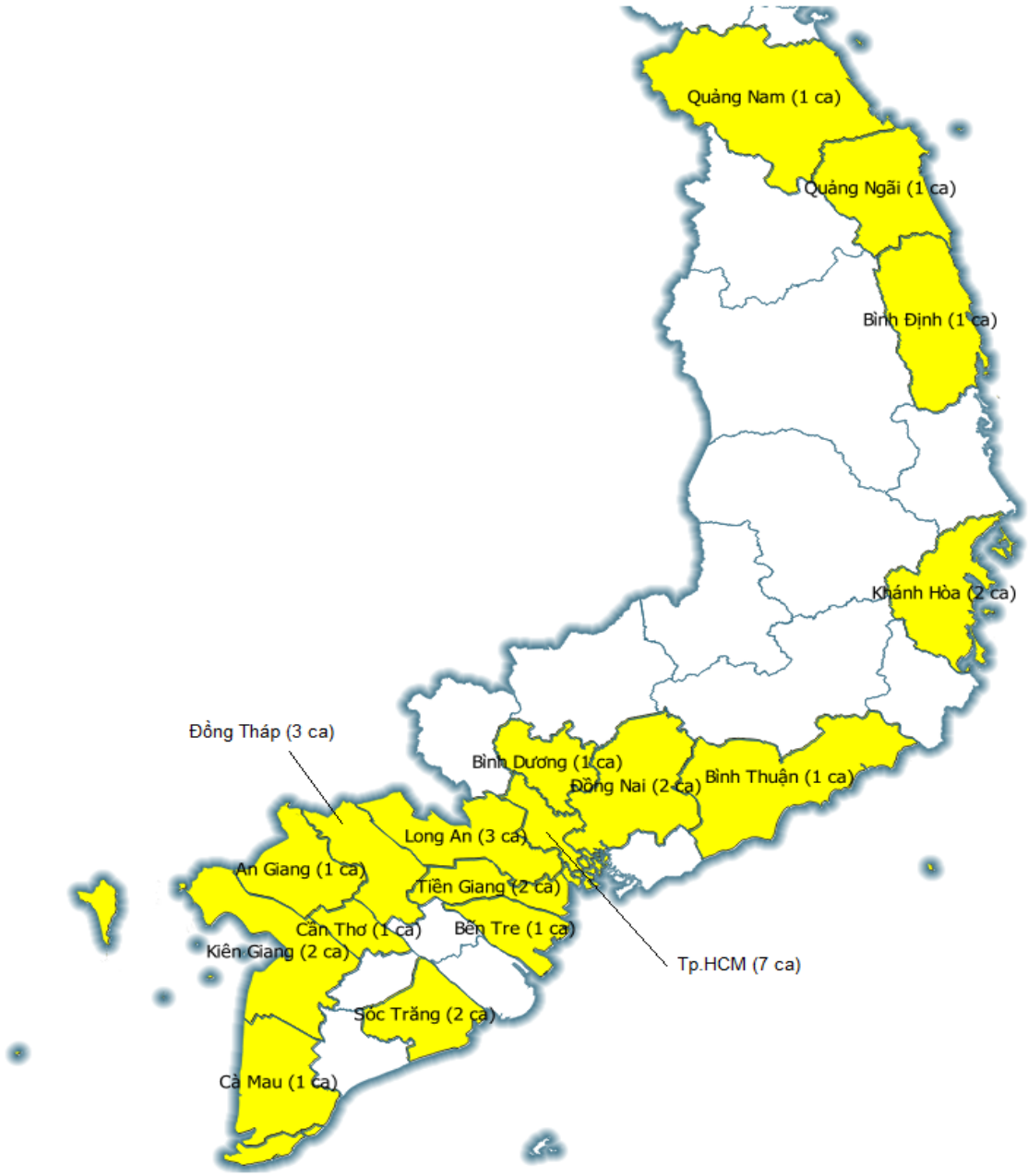
Đặc điểm	Giới			P
	Tổng	Nữ	Nam	
Tuổi (tháng)[§]	6,5 (2 - 51,5)	3,5 (2 - 31)	20 (4 - 112)	0,035
Nhóm tuổi (tháng)				
>4	17 (53,1)	5 (35,7)	12 (66,7)	0,082[¢]
≤4	15 (46,9)	9 (64,3)	6 (33,3)	
Địa chỉ				
Tp.HCM	7 (21,9)	4 (28,6)	3 (16,7)	0,669[¢]
Tỉnh/thành khác	25 (78,1)	10 (71,4)	15 (83,3)	

[§]Báo cáo trung vị và khoảng tứ vị

[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Tuổi: là tuổi phát hiện bệnh, tại thời điểm được chẩn đoán lâm sàng là hội chứng Alagille

Nhận xét: Bệnh nhân có tuổi trung vị là 6,5 tháng. Trong đó, thấp nhất là 1 tháng và cao nhất là 143 tháng. Có sự khác nhau giữa tuổi ở bệnh nhân nam và nữ, trong đó bệnh nhân nam có tuổi phát hiện bệnh cao hơn nữ.



Biểu đồ 3.2: Phân bố bệnh nhân theo địa chỉ

Nhận xét: Bệnh nhân trong mẫu nghiên cứu chủ yếu đến từ các tỉnh thành phía nam Việt Nam. Trong đó, nhiều nhất là TP. HCM với 7 ca (21,9%).

3.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Bảng 3.2. Phân bố lý do nhập viện (N=32)

Lý do nhập viện	Tần số	Tỷ lệ %
Vàng da	21	65,6
Ngứa	4	12,5
Báng bụng	4	12,5
Khác *	3	9,4

***** *khò khè, gan to, tăng lipid máu*

Nhận xét: Phần lớn bệnh nhân nhập viện vì vàng da với 21 ca (65,6%).

Bảng 3.3. Tần suất biểu hiện các triệu chứng lâm sàng chính (N=32)

Tần suất xuất hiện	Tần số	Tỷ lệ %
3 triệu chứng*	8	25,0
4 triệu chứng*	17	53,1
5 triệu chứng*	7	21,9

* *bất thường gan, bất thường tim, cột sống, mắt, khuôn mặt đặc trưng*

Nhận xét: Tần suất biểu hiện 4 triệu chứng lâm sàng là nhiều nhất với 17 ca (53,1%).

Bảng 3.4. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính biểu hiện đồng thời (N=32)

Bất thường					Tần số	Tỷ lệ %
Gan	Tim	Cột sống	Mắt	Mặt đặc trưng		
X	X	X		X	10	31,3
X	X	X	X	X	7	21,9
X			X	X	3	9,4
X	X			X	3	9,4
X	X	X	X		3	9,4

X		X	X	X	3	9,4
		X	X	X	1	3,1
X		X	X		1	3,1
X	X		X	X	1	3,1

Nhận xét: Trong nhóm biểu hiện 4 triệu chứng lâm sàng thường là sự phối hợp bất thường gan, tim, cột sống và khuôn mặt.

Bảng 3.5. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính (N=32)

Đặc điểm	Tần số	Tỷ lệ %
Bất thường gan	31	96,9
Bất thường tim	24	75,0
Bất thường cột sống	25	78,1
Bất thường mắt	19	59,4
Khuôn mặt đặc trưng	28	87,5
Bất thường thận *	2	6,3

***** *thận loạn sản đa nang, suy thận*

Nhận xét: Trong các bất thường lâm sàng chính, bất thường gan thường gặp nhất với 31 ca (96,9%).

Bảng 3.6. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính phân theo giới (N=32)

Đặc điểm	Giới		P
	Nữ	Nam	
Bất thường gan			
Có	14 (100)	17 (94,4)	0,999[¢]
Không	0 (0)	1 (5,6)	
Bất thường tim			
Có	14 (100)	10 (55,6)	0,004[¢]
Không	0 (0)	8 (44,4)	

Bất thường cột sống			
Có	12 (85,7)	13 (72,2)	0,426[¢]
Không	2 (14,3)	5 (27,8)	
Bất thường mắt			
Có	7 (50,0)	12 (66,7)	0,341[¢]
Không	7 (50,0)	6 (33,3)	
Khuôn mặt đặc trưng			
Có	12 (85,7)	16 (88,9)	0,999[¢]
Không	2 (14,3)	2 (11,1)	

[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ bất thường tim phân ở hai giới (p<0,05). Trong đó, tất cả (100%) nữ có bất thường tim trong khi chỉ có hơn ½ nam giới có bất thường.

Bảng 3.7. Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính phân theo nhóm tuổi

Đặc điểm	Nhóm tuổi (tháng)		P
	≤4	>4	
Bất thường gan			
Có	15 (100)	16 (94,1)	0,999[¢]
Không	0 (0)	1 (5,9)	
Bất thường tim			
Có	12 (80,0)	12 (70,6)	0,691[¢]
Không	3 (20,0)	5 (29,4)	
Bất thường cột sống			
Có	13 (86,7)	12 (70,6)	0,402[¢]
Không	2 (13,3)	5 (29,4)	

Bất thường mắt			
Có	8 (53,3)	11 (64,7)	0,513[¢]
Không	7 (46,7)	6 (35,3)	
Khuôn mặt đặc trưng			
Có	14 (93,3)	14 (82,4)	0,603[¢]
Không	1 (6,7)	3 (17,6)	

[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Đặc điểm các bất thường lâm sàng chính phân theo nhóm tuổi không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Bảng 3.8. Các đặc điểm bất thường gan (N=32)

Bất thường gan		**Tần số**	**Tỷ lệ %**
Ứ mật		31	96,9
Siêu âm bụng	Bình thường	10	31,2
	Gan to ± lách to	11	34,4
	Túi mật co nhỏ	4	12,5
	Xơ gan	5	15,6
	Bất thường khác *	2	6,2
	Dấu TC (-)	32	100
Sinh thiết gan (n=10)	Thiểu sản ống mật trong gan	10	100

* *thận loạn sản đa nang, bướu máu gan gan*

Nhận xét: Tất cả bất thường gan là tình trạng ứ mật, dấu TC (-) trên siêu âm.

Bảng 3.9. Các đặc điểm bất thường tim (N=32)

Bất thường tim		**Tần số**	**Tỷ lệ %**
Âm thổi tim		21	65,6
Siêu âm tim	Bình thường	8	25,0
	Hẹp nhánh ĐMP (T)	1	3,1

Bất thường tim		Tần số	Tỷ lệ %
	Hẹp nhánh ĐMP (P)	2	6,3
	Hẹp 2 nhánh ĐMP	5	15,6
	Hẹp van ĐMP	1	3,1
	Hẹp van ĐMP và bất thường khác *	14	43,8
	Bất thường khác (TOF)	1	3,1

** VSD, CIA, PDA, hở 2 lá, hở 3 lá, hở van ĐMC, hẹp van ĐMC*

Nhận xét: Có 21 trường hợp khám tim có âm thổi. Kết quả siêu âm tim cho thấy bất thường tim chủ yếu liên quan động mạch phổi bao gồm hẹp tại van động mạch phổi và hẹp các nhánh động mạch phổi. Chỉ có một trường hợp tim phức tạp là tứ chứng Fallot.

Bảng 3.10. Các đặc điểm bất thường mắt (N=32)

Bất thường mắt	Tần số	Tỷ lệ %
Không	13	40,6
Vòng đục sau giác mạc	18	56,3
Khuyết một mắt	1	3,1

Nhận xét: Bất thường mắt chủ yếu là vòng đục sau giác mạc. Có một trường hợp là bất thường khuyết một mắt.

Bảng 3.11. Các đặc điểm bất thường cột sống (N=32)

Bất thường cột sống		Tần số	Tỷ lệ %
Bất thường cột sống	Không	7	21,9
	Đốt sống hình cánh bướm	25	78,1
	Số đốt sống ảnh hưởng		
	1	14	56
	2	9	36
	3	2	8

Bất thường cột sống		Tần số	Tỷ lệ %
	Đốt sống ảnh hưởng		
	Đốt sống ngực 3	1	2,6
	Đốt sống ngực 6	5	13,1
	Đốt sống ngực 7	16	42,1
	Đốt sống ngực 8	10	26,3
	Đốt sống ngực 9	6	15,8

Nhận xét: Có 25 trường hợp có bất thường cột sống là đốt sống hình cánh bướm, thường chỉ ảnh hưởng một đốt sống (14/25), tập trung chủ yếu đốt sống ngực 7 (16 trường hợp) và đốt sống ngực 8 (10 trường hợp).

Bảng 3.12. Các đặc điểm cận lâm sàng (N=32)

Đặc điểm	Kết quả		Số lần cao hơn bình thường
BTP (µmol/L)			**7,5**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	174,7	155,3	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	153	68,3 - 202,3	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	12	783,5	
Phân nhóm BTP (µmol/L) n (%)			
≥20,52	30	93,8 %	
<20,52	2	6,2 %	
BTT (µmol/L)			**24,3**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	87,9	72,4	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	83,1	35,1 - 104	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	1,1	348,4	

Đặc điểm	Kết quả		Số lần cao hơn bình thường
Phân nhóm BTT (µmol/L) n (%)			
≥3,42	31	96,9 %	
<3,42	1	3,1 %	
AST (U/L)			**3,6**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	271,9	155,3	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	218	178 - 347,2	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	71	684,6	
Phân nhóm AST (U/L) n (%)			
≥60	32	100 %	
ALT (U/L)			**4,7**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	236,5	153	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	213,3	99,2 - 305	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	48,5	618,9	
Phân nhóm ALT (U/L) n (%)			
≥45	32	100 %	
ALP (U/L)			**1,4**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	573,5	266,5	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	482,3	396,3 - 739,9	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	180,7	1393,7	
Phân nhóm ALP (U/L) n (%)			
≥345	13	40,6 %	
<345	19	59,4 %	

Đặc điểm	Kết quả		Số lần cao hơn bình thường
GGT (U/L)			**21,4**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	657,2	531,8	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	470,9	229,7 - 1099	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	25,4	1943,3	
Phân nhóm GGT (U/L) n (%)			
≥22	32	100 %	
Cholesterol (mmol/L)			**1,3**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	9,5	7,5	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	6,5	5,4 - 12,8	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	2,1	32	
Phân nhóm Cholesterol (mmol/L) n (%)			
≥5,2	25	78,1 %	
<5,2	7	21,9 %	
Triglycerid (mmol/L)			**1,5**
Trung bình (Độ lệch chuẩn)	3,6	4,3	
Trung vị (Khoảng tứ vị)	2,5	2,1 - 3,9	
Phạm vi (Nhỏ nhất - Lớn nhất)	1,4	26,3	
Phân nhóm Triglycerid (mmol/L) n (%)			
≥1,71	29	90,6 %	
<1,71	3	9,4 %	

Nhận xét: Các chỉ số sinh hóa BTP, BTT, AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol, Triglycerid đều tăng, cao hơn ngưỡng giá trị bình thường từ 1,3

đến 24,3 lần. Trong đó, BTT và GGT là hai chỉ số tăng nhiều nhất so với ngưỡng giá trị bình thường (> 20 lần).

Bảng 3.13. Các đặc điểm cận lâm sàng phân theo giới (N=32)

Đặc điểm	Giới		P
	Nữ	Nam	
BTP (µmol/L)[¥]	178 (153,6 - 272,7)	133,1 (50,5 - 158,3)	0,042
Phân nhóm BTP (µmol/L) n (%)			
≥20,52	14 (100)	16 (88,9)	0,492[¢]
<20,52	0 (0)	2 (11,1)	
BTT (µmol/L)[¥]	97,9 (86 - 150,4)	48 (28,7 - 83,4)	0,017
Phân nhóm BTT (µmol/L) n (%)			
≥3,42	14 (100)	17 (94,4)	0,999[¢]
<3,42	0 (0)	1 (5,6)	
AST (U/L)[¥]	298,3 (204,3 - 414)	203,5 (139 - 251,2)	0,053
Phân nhóm AST (U/L) n (%)			
≥60	14 (100)	18 (100)	-
ALT (U/L)[¥]	213,3 (89,4 - 370,6)	198 (100,7 - 302)	0,599
Phân nhóm ALT (U/L) n (%)			
≥45	14 (100)	18 (100)	-
ALP (U/L)[¥]	476,4 (361,4 - 774,9)	520,6 (399,8 - 694,5)	0,666
Phân nhóm ALP (U/L) n (%)			
≥345	6 (42,9)	7 (38,9)	0,821[¢]
<345	8 (57,1)	11 (61,1)	
GGT (U/L)[¥]	255,5 (75,7 - 1103,5)	552,6 (284,8 - 999,7)	0,735
Phân nhóm GGT (U/L) n (%)			
≥22	14 (100)	18 (100)	-

Cholesterol (mmol/L)[¥]	5,7 (3,1 - 10)	7,7 (5,7 - 14,3)	0,048
Phân nhóm Cholesterol (mmol/L) n (%)			
≥5,2	10 (71,4)	15 (83,3)	0,669[¢]
<5,2	4 (28,6)	3 (16,7)	
Triglycerid (mmol/L)[¥]	2,4 (2,3 - 3,7)	2,7 (1,8 - 3,9)	0,469
Phân nhóm Triglycerid (mmol/L) n (%)			
≥1,71	14 (100)	15 (83,3)	0,238[¢]
<1,71	0 (0)	3 (16,7)	

[¥]Báo cáo trung bình và độ lệch chuẩn
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: BTP, BTT, Cholesterol phân theo giới khác biệt có ý nghĩa thống kế (p<0,05).

Bảng 3.14. Các đặc điểm cận lâm sàng phân theo nhóm tuổi (N=32)

Đặc điểm	Nhóm tuổi (tháng)		p
	≤4	>4	
BTP (µmol/L)[¥]	158,3 (137,6 - 206,2)	95,3 (50,5 - 198,4)	0,957
Phân nhóm BTP (µmol/L) n (%)			
≥20,52	15 (100)	15 (88,2)	0,486[¢]
<20,52	0 (0)	2 (11,8)	
BTT (µmol/L)[¥]	89,9 (76 - 108,5)	42,5 (28,7 - 86)	0,633
Phân nhóm BTT (µmol/L) n (%)			
≥3,42	15 (100)	16 (94,1)	0,999[¢]
<3,42	0 (0)	1 (5,9)	
AST (U/L)[¥]	220,8 (204,3 - 434,9)	187,8 (139 - 275,6)	0,082
Phân nhóm AST (U/L) n (%)			
≥60	15 (100)	17 (100)	-

ALT (U/L)[¥]	174 (96,9 - 370,6)	231 (109,2 - 302)	0,745
Phân nhóm ALT (U/L) n (%)			
≥45	15 (100)	17 (100)	-
ALP (U/L)[¥]	553,5 (361,4 - 774,9)	475,8 (399 - 694,5)	0,951
Phân nhóm ALP (U/L) n (%)			
≥345	7 (46,7)	6 (35,3)	0,513[¢]
<345	8 (53,3)	11 (64,7)	
GGT (U/L)[¥]	788,8 (229,4 - 1136,1)	403,3 (230 - 1094,5)	0,416
Phân nhóm GGT (U/L) n (%)			
≥22	15 (100)	17 (100)	-
Cholesterol (mmol/L)[¥]	5,7 (5 - 7,9)	8,7 (5,7 - 14,3)	0,155
Phân nhóm Cholesterol (mmol/L) n (%)			
≥5,2	11 (73,3)	14 (82,4)	0,678[¢]
<5,2	4 (26,7)	3 (17,6)	
Triglycerid (mmol/L)[¥]	3,1 (2 - 4,1)	2,4 (2,1 - 3,1)	0,635
Phân nhóm Triglycerid (mmol/L) n (%)			
≥1,71	15 (100)	14 (82,4)	0,229[¢]
<1,71	0 (0)	3 (17,6)	

[¥]Báo cáo trung bình và độ lệch chuẩn
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Các cận lâm sàng phân theo nhóm tuổi khác biệt không có ý nghĩa.

3.3. ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Có 32 trường hợp được chẩn đoán lâm sàng là ALGS được tiến hành phân tích đột biến gen *JAG1* và *NOTCH2*. Kết quả có 24 trường hợp (75%) được phát hiện có đột biến gen gây bệnh *JAG1*. Không có trường hợp nào được phát hiện có đột biến gen *NOTCH2*.

Bảng 3.15. Đặc điểm đột biến gen trẻ ALGS (N=24)

Bệnh nhân	Gen đột biến	Vị trí Exon	Đột biến *	Protein ảnh hưởng	Miền ảnh hưởng**	Nguồn gốc	Kiểu đột biến
1.	*JAG1*	Ex2	c.110T>C	p.L37S	NL	KXĐ	SN
2.	*JAG1*	Ex2	c.247C>T	p.Q83X	NL	Mới	VN
3.	*JAG1*	Ex4	c.550C>T	p.R184C	DSL	KXĐ	SN
4.	*JAG1*	Ex4	c.550C>T	p.R184C	DSL	Mới	SN
5.	*JAG1*	Ex4	c.550C>T	p.R184C	DSL	KXĐ	SN
6.	*JAG1*	Ex4	c.590delA	p.197fs	DSL	Mới	LK
7.	*JAG1*	Ex4	c.551G>A	p.R184H	DSL	Mới	SN
8.	*JAG1*	Ex4	c.551G>A	p.R184H	DSL	KXĐ	SN
9.	*JAG1*	Ex6	c.839G>A	p.W280X	KXĐ	Mới	VN
10.	*JAG1*	Ex8	IVS8-12C>T	r. spl?	EGF	Mới	CN
11.	*JAG1*	Ex8	c.1022-1023delTC	p.L342X	EGF	Mới	VN
12.	*JAG1*	Ex9	c.1156G>A	p.G386R	EGF	Mới	SN
13.	*JAG1*	Ex10	c.1326G>A	p.W442X	EGF	KXĐ	VN
14.	*JAG1*	Ex10	c.1349-1G>T	r. spl?	EGF	Cha	CN
15.	*JAG1*	Ex12	c.1456-1457insA	p.R486fsX490	EGF	Cha	LK
16.	*JAG1*	Ex15	c.1914T>A	p.C638X	EGF	Mới	VN
17.	*JAG1*	Ex16	c.2074-2079del	p.D692-C693del	EGF	Cha	MĐ
18.	*JAG1*	Ex18	c.2271-2272insGG	p.T758fsX820	EGF	Mới	LK
19.	*JAG1*	Ex18	c.2274-2275delAT	p.759fs	EGF	KXĐ	LK

20.	*JAG1*	Ex20	c.2419G>T	p.E807X	EGF	Mới	VN
21.	*JAG1*	Ex20	c.2422-2423insG	p.C808fsX8	EGF	Mới	LK
22.	*JAG1*	Ex21	c.2473C>T	p.Q825X	EGF	KXĐ	VN
23.	*JAG1*	Ex23	c.2916+1G>A	r. spl?	KXĐ	Mới	CN
24.	*JAG1*	Ex24	c3031G>T	p.E1011X	KXĐ	Mẹ	VN

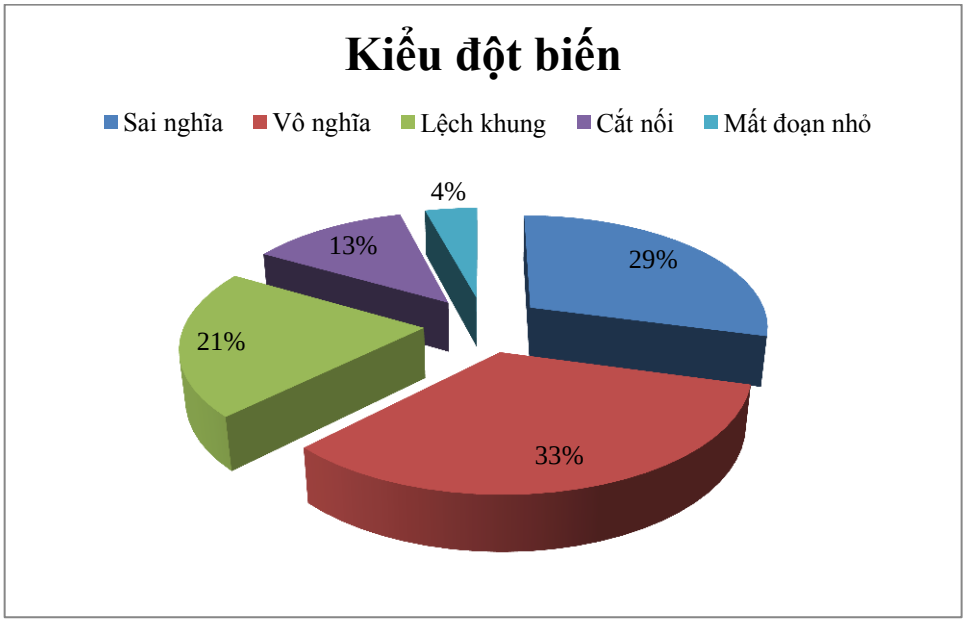
**: dựa theo GenBank RefSeq: NM_000214.1*

***: dựa theo GenBank RefSeq: NP_000205.1*

SN: sai nghĩa, VN: vô nghĩa, LK: lệch khung, CN: cắt nối, MĐ: mất đoạn

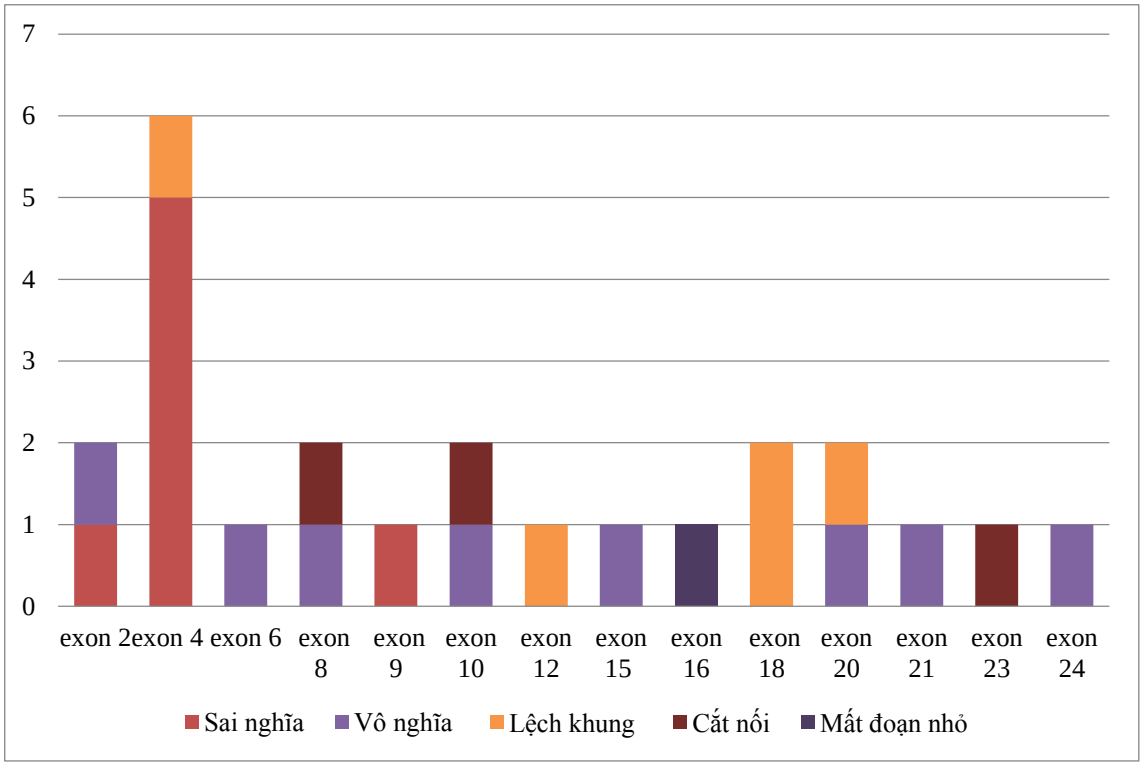
NL: Notch ligand, DSL: Delta serrate ligand, KXĐ: không xác định, EGF: epidermal growth factor, r.spl?: đột biến vị trí cắt nối

C: Cysteine, D: Aspartate, E: Glutamate, H: Histidine, L: Leucine, Q: Glutamine, R: Arginine, S: Serine, T: Threonine, W: Trytophan



Biểu đồ 3.3. Các kiểu đột biến gen *JAG1* (N=24)

<u>Nhận xét:</u> Các kiểu đột biến gen *JAG1* được phát hiện bao gồm đột biến vô nghĩa, sai nghĩa, lệch khung, cắt nối và mất đoạn nhỏ.



Biểu đồ 3.4. Vị trí đột biến gen *JAG1* (N=24)

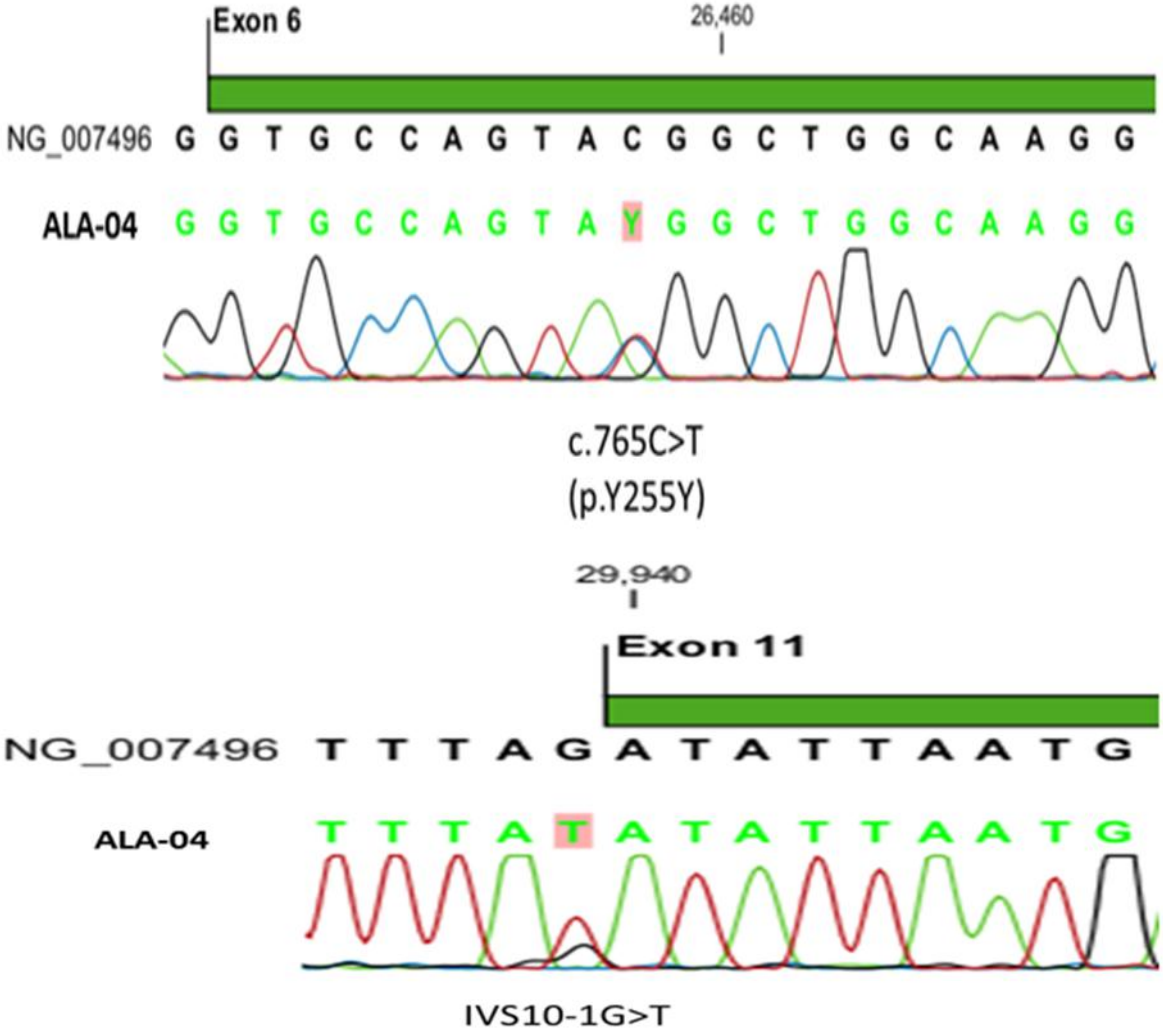
Nhận xét: Đột biến phân bố hầu hết trên các exon gen *JAG1*.

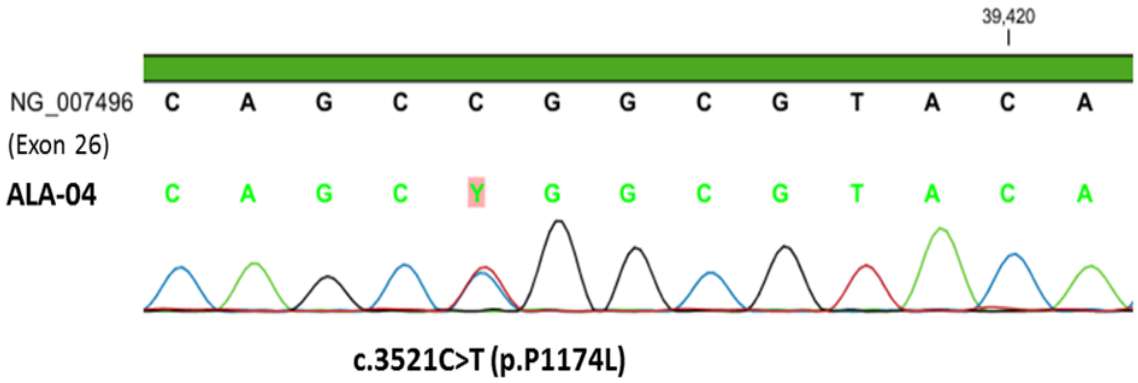
Bảng 3.16. Đặc điểm tính đa hình nucleotide đơn

Tính đa hình nucleotide đơn	Vị trí
IVS1-85C>T	Vùng tiếp nối exon 1
IVS2 +85C>T	Vùng tiếp nối exon 2
c.247C>T (p.Q83X) (rs1051415)	Exon 2
IVS3-15T>C	Vùng tiếp nối exon 3
c.526G>A (p.V176I)	Exon 4
IVS11+11T>G	Vùng tiếp nối exon 11
IVS12+68T>G	Vùng tiếp nối exon 12
IVS12 -136T>A	Vùng tiếp nối exon 12
IVS19+80T>A	Vùng tiếp nối exon 19
g.32770-32771insA	Exon 22

c.2612C>G(p.P871R)(rs35761929)	Intron 23
p.P1174L	Exon 26

Nhận xét: Tính đa hình nucleotide đơn rất đa dạng, có thể xảy ra ở nhiều vị trí khác nhau như exon, intron hay vùng tiếp nối.





Hình 3.1. Tính đa hình nucleotide đơn trên một bệnh nhân Alagille

Bảng 3.17. Tần suất phát hiện đột biến gen *JAG1* ở thân nhân bệnh nhân ALGS (N=17)

Thân nhân (n=26)	**Tần số**	**Tỷ lệ %**
Cha (n=9)	3	17,6
Mẹ (n=15)	1	5,9
Anh chị em ruột (n=2)	0	0
Tổng cộng	4	23,5

Nhận xét: Có 26 thân nhân từ 17 bệnh nhân ALGS đã biết có đột biến gây bệnh gen *JAG1* đồng ý tham gia tầm soát đột biến gen *JAG1*. Kết quả, tỷ lệ phát hiện đột biến *JAG1* rất thấp, gồm 4 trường hợp (3 trường hợp từ cha và 1 trường hợp từ mẹ).

3.4. MỐI LIÊN QUAN KIỂU GEN - KIỂU HÌNH CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Bảng 3.18. Mối liên quan giữa các đặc điểm nền với đột biến gen (N=32)

Đặc điểm	Đột biến		P
	Có (n=24) n (%)	Không (n=8) n (%)	
Tuổi (tháng)[§]	4,0 (2,0 - 43,5)	31,5 (6,5 – 91,0)	0,083
Nhóm tuổi (tháng)			
>4	10 (41,7)	7 (87,5)	0,041[¢]
≤4	14 (58,3)	1 (12,5)	
Giới			
Nam	12 (50,0)	6 (75,0)	0,412[¢]
Nữ	12 (50,0)	2 (25,0)	
Lý do nhập viện			
Vàng da	17 (70,8)	4 (50,0)	0,519[¢]
Ngứa	3 (12,5)	1 (12,5)	
Báng bụng	2 (8,3)	2 (25,0)	
Khác	2 (8,3)	1 (12,5)	

[§]Báo cáo trung vị và khoảng tứ vị
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Có mối liên quan giữa nhóm tuổi phát hiện bệnh với đột biến gen.

Bảng 3.19. Mối liên quan giữa các bất thường lâm sàng chính với đột biến gen (N=32)

Đặc điểm	Đột biến		P
	Có (n=24) n (%)	Không (n=8) n (%)	
Bất thường gan			
Có	24 (100)	7 (87,5)	0,25¢
Không	0 (0)	1 (12,5)	
Bất thường tim			
Có	19 (79,2)	5 (62,5)	0,378¢
Không	5 (20,8)	3 (37,5)	
Bất thường cột sống			
Có	19 (79,2)	6 (75)	0,999¢
Không	5 (20,8)	2 (25)	
Bất thường mắt			
Có	12 (50,0)	7 (87,5)	0,101¢
Không	12 (50,0)	1 (12,5)	
Khuôn mặt đặc trưng			
Có	21 (87,5)	7 (87,5)	0,999¢
Không	3 (12,5)	1 (12,5)	
Số bất thường			
3	5 (20,8)	3 (37,5)	0,078¢
4	15 (62,5)	2 (25,0)	
5	4 (16,7)	3 (37,5)	

¢Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các bất thường chính trên lâm sàng (bất thường gan, bất thường tim, bất thường cột sống, bất thường mắt, khuôn mặt đặc trưng, số bất thường) với đột biến gen (p>0,05).

Bảng 3.20. Mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với đột biến gen (N=32)

Đặc điểm	Đột biến		P
	Có (n=24) n (%)	Không (n=24) n (%)	
BTP (µmol/L)[§]	155,3 (68,3 - 206,5)	144,9 (72,9 - 166,6)	0,514
Phân nhóm BTP (µmol/L)			
≥20,52	23 (95,8)	7 (87,5)	0,444[¢]
<20,52	1 (4,2)	1 (12,5)	
BTT (µmol/L)[§]	84,5 (37,5 - 111,4)	67,3 (33,2 - 87,9)	0,433
Phân nhóm BTT (µmol/L)			
≥3,42	24 (100)	7 (87,5)	0,25[¢]
<3,42	0 (0)	1 (12,5)	
AST (U/L)[§]	210,5 (178 - 360,1)	263,4 (171,8 - 347,2)	0,862
Phân nhóm AST (U/L)			
≥60	24 (100)	8 (100)	-
ALT (U/L)[§]	178,1 (98,8 - 275,2)	293,6 (171,7 - 365)	0,296
Phân nhóm ALT (U/L)			
≥45	24 (100)	8 (100)	-
ALP (U/L)[§]	473,5 (377,5 - 767)	545,9 (443,9 - 709,6)	0,542
Phân nhóm ALP (U/L) n (%)			
≥345	10 (41,7)	3 (37,5)	0,999[¢]
<345	14 (58,3)	5 (62,5)	

GGT (U/L)[§]	470,9 (229,7 - 1047,1)	538,8 (219,9 - 1210,3)	0,663
Phân nhóm GGT (U/L) n (%)			
≥22	24 (100)	8 (100)	-
Cholesterol (mmol/L)[§]	5,8 (5,4 - 9,3)	12,8 (5,8 - 17,9)	0,199
Phân nhóm Cholesterol (mmol/L) n (%)			
≥5,2	19 (79,2)	6 (75,0)	0,999[¢]
<5,2	5 (20,8)	2 (25,0)	
Triglycerid (mmol/L)[§]	2,8 (2,2 – 4,0)	2,3 (1,8 - 3,1)	0,24
Phân nhóm Triglycerid (mmol/L) n (%)			
≥1,71	23 (95,8)	6 (75)	0,147[¢]
<1,71	1 (4,2)	2 (25)	

[§]Báo cáo trung vị và khoảng tứ vị
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng như BTP, BTT, AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol, Triglycerid với đột biến gen (p>0,05).

3.5. CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN DIỄN TIẾN BỆNH GAN Ở TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Bảng 3.21. Thời gian theo dõi và diễn tiến bệnh gan (N=32)

Thời gian theo dõi (tháng) * (TV, KTV): 28 (17,5 : 38,5)		**Tần số**	**Tỷ lệ %**
Diễn tiến bệnh gan	Gan nhẹ	18	56,3
	Gan nặng	14	43,7

** Thời gian theo dõi được tính từ lúc bệnh nhân được chẩn đoán bệnh cho đến khi kết thúc nghiên cứu hoặc lần cuối cùng bệnh nhân được theo dõi.*

Nhận xét: Trung vị thời gian theo dõi là 28 tháng. Có 18 trường hợp diễn tiến gan nhẹ và 14 trường hợp diễn tiến gan nặng.

Bảng 3.22. Phân bố diễn tiến bệnh gan (N=32)

	Bệnh gan nhẹ (n = 18)
Bất thường sinh hóa nhưng không ứ mật	0
Ứ mật nhưng không ngứa	8
Ứ mật và ngứa đáp ứng điều trị	10
	Bệnh gan nặng (n = 14)
Ứ mật nặng và ngứa, không đáp ứng điều trị	5
Ứ mật nặng với xơ gan và tăng áp cửa	3
Chuyển vị đường mật	0
Ghép gan	0
Tử vong *	6

* *bệnh nhân tử vong do bệnh gan nặng*

Nhận xét: Đa số bệnh nhân diễn tiến gan nhẹ (18/28). Bệnh gan nhẹ chủ yếu là ứ mật nhưng không ngứa hoặc là ứ mật và ngứa đáp ứng điều trị. Bệnh gan nặng bao gồm ứ mật nặng và ngứa, không đáp ứng điều trị; ứ mật nặng với xơ gan và tăng áp cửa. Có 6 trường hợp tử vong do bệnh gan nặng.

Bảng 3.23. Mối liên quan giữa các đặc điểm nền với diễn tiến bệnh gan (N=32)

Đặc điểm	**Diễn tiến bệnh gan**		**P**
	Nặng/Tử vong	**Nhẹ**	
Tuổi (tháng)[§]	15 (2 - 54)	5 (2 - 49)	0,954
Nhóm tuổi (tháng)			
>4	8 (57,1)	9 (50,0)	0,688[¢]
≤4	6 (42,9)	9 (50,0)	
Giới			
Nam	8 (57,1)	10 (55,6)	0,928[¢]

Nữ	6 (42,9)	8 (44,4)	
Lý do nhập viện			
Vàng da	9 (64,3)	12 (66,7)	0,037[¢]
Ngứa	1 (7,1)	3 (16,7)	
Báng bụng	4 (28,6)	0 (0)	
Khác	0 (0)	3 (16,7)	

[§]Báo cáo trung vị và khoảng tứ vị
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các đặc điểm nền như tuổi, nhóm tuổi, giới, lý do nhập viện với diễn tiến bệnh gan.

Bảng 3.24. Mối liên quan giữa lý do nhập viện với diễn tiến bệnh gan

		Diễn tiến bệnh gan		P	PR (KTC 95%)
		Nhẹ	Nặng		
Lý do nhập viện	Vàng da	12 (66,7)	9 (64,3)		1
	Ngứa	3 (16,7)	1 (7,1)	0,87	0,85 (0,13 – 5,6)
	Báng bụng	0	4 (28,6)	0,001	3,4 (1,6 – 7,2)
	Khác	3 (16,7)	0	< 0,001	0,00 (0,0001 – 0,001)

Nhận xét: Báng bụng có liên quan diễn tiến bệnh gan nặng (<0,05).

Bảng 3.25. Mối liên quan giữa các bất thường lâm sàng chính với diễn tiến bệnh gan (N=32)

Đặc điểm	Diễn tiến bệnh gan		P
	Nặng/Tử vong	Nhẹ	
Bất thường gan			
Có	14 (100)	17 (94,4)	0,999[¢]
Không	0 (0)	1 (5,6)	

Bất thường tim			
Có	11 (78,6)	13 (72,2)	0,999[¢]
Không	3 (21,4)	5 (27,8)	
Bất thường cột sống			
Có	11 (78,6)	14 (77,8)	0,999[¢]
Không	3 (21,4)	4 (22,2)	
Bất thường mắt			
Có	7 (50,0)	12 (66,7)	0,341[¢]
Không	7 (50,0)	6 (33,3)	
Khuôn mặt đặc trưng			
Có	11 (78,6)	17 (94,4)	0,295[¢]
Không	3 (21,4)	1 (5,6)	
Số bất thường			
3	4 (28,6)	4 (22,2)	0,721[¢]
4	8 (57,1)	9 (50,0)	
5	2 (14,3)	5 (27,8)	

[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các bất thường chính trên lâm sàng với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Bảng 3.26. Mối liên quan giữa các đặc điểm bất thường gan với diễn tiến bệnh gan (N=32)

Đặc điểm	Diễn tiến bệnh gan		P
	Nặng/Tử vong	Nhẹ	
Ứ mật			
Có	14 (100)	17 (94,4)	0,999[¢]
Không	0 (0)	1 (5,6)	

Siêu âm bụng			
Bất thường	11 (78,6)	11 (61,1)	0,446[¢]
Bình thường	3 (21,4)	7 (38,9)	

[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các đặc điểm bất thường gan với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Bảng 3.27. Mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan (N=32)

Đặc điểm	Diễn tiến bệnh gan		P
	Nặng/Tử vong n (%)	Nhẹ n (%)	
BTP (µmol/L)[§]	179,5 (95,3 - 316,9)	147,6 (55,2 - 173,4)	0,111
Phân nhóm BTP (µmol/L) n (%)			
≥20,52	14 (100)	16 (88,9)	0,492[¢]
<20,52	0 (0)	2 (11,1)	
BTT (µmol/L)[§]	98,9 (51,2 - 152,2)	73,2 (32,6 - 89,9)	0,074
Phân nhóm BTT (µmol/L) n (%)			
≥3,42	14 (100)	17 (94,4)	0,999[¢]
<3,42	0 (0)	1 (5,6)	
AST (U/L)[§]	218,4 (187,8 - 306,1)	214,3 (169 - 395,3)	0,649
Phân nhóm AST (U/L) n (%)			
≥60	14 (100)	18 (100)	-
ALT (U/L)[§]	168,8 (97,6 - 245,8)	236,7 (109,2 - 308)	0,362
Phân nhóm ALT (U/L) n (%)			
≥45	14 (100)	18 (100)	-
ALP (U/L)[§]	646,8 (302,8 - 792,3)	476,4 (399,8 - 720,9)	0,82

Phân nhóm ALP (U/L) n (%)			
≥345	7 (50,0)	6 (33,3)	0,341[¢]
<345	7 (50,0)	12 (66,7)	
GGT (U/L)[§]	470,9 (281 - 1094,5)	449,7 (229,4 - 1103,5)	0,761
Phân nhóm GGT (U/L) n (%)			
≥22	14 (100)	18 (100)	-
Cholesterol (mmol/L)[§]	6,1 (5,3 - 10)	6,7 (5,4 - 14)	0,939
Phân nhóm Cholesterol (mmol/L) n (%)			
≥5,2	11 (78,6)	14 (77,8)	0,999[¢]
<5,2	3 (21,4)	4 (22,2)	
Triglycerid (mmol/L)[§]	2,4 (2,1 - 3,7)	2,7 (2 - 4,1)	0,531
Phân nhóm Triglycerid (mmol/L) n (%)			
≥1,71	13 (92,9)	16 (88,9)	0,999[¢]
<1,71	1 (7,1)	2 (11,1)	

[§]Báo cáo trung vị và khoảng tứ vị
[¢]Kiểm định chính xác Fisher

Nhận xét: Không thấy mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Bảng 3.28. Diện tích dưới đường cong R.O.C, điểm cắt, độ nhạy, độ đặc hiệu của các chỉ số cận lâm sàng (N=32)

	Diện tích dưới đường cong R.O.C	Điểm cắt	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
BTP (µmol/L)	0,67	206,75	50,0	100
BTT (µmol/L)	0,69	114,35	50,0	100
AST (U/L)	0,55	182,92	85,7	38,9
ALT (U/L)	0,60	96,92	85,7	22,2
ALP (U/L)	0,52	689,46	50,0	72,2

	Diện tích dưới đường cong R.O.C	Điểm cắt	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
GGT (U/L)	0,53	281,02	78,6	38,9
Cholesterol (mmol/L)	0,49	5	85,7	22,2
Triglycerid (mmol/L)	0,56	2,1	78,6	27,8

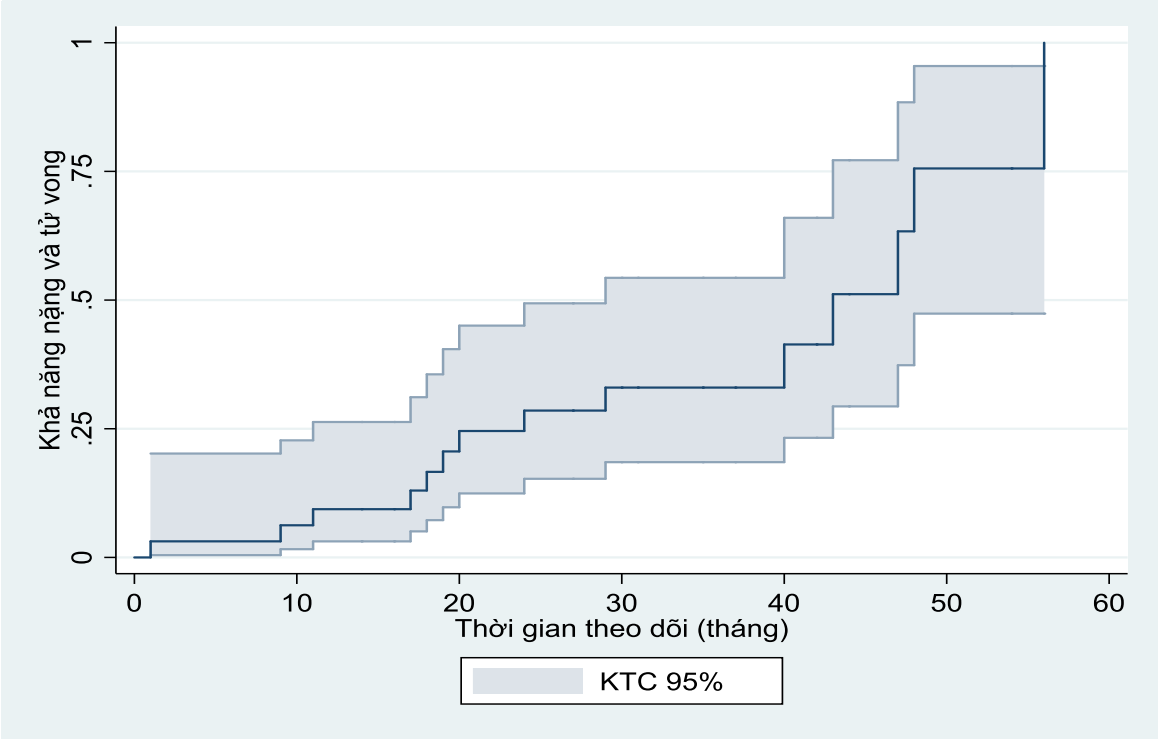
Nhận xét: Chỉ có chỉ số BTP, BTT có diện tích dưới đường cong khá tốt (>0,65), với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 50% và 100%.

Bảng 3.29. Mối liên quan giữa chỉ số cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan (N=32)

		Tiên lượng gan		P
		Nhẹ	Nặng	
BTP (µmol/L)	< 206,75	18 (100)	7 (50,0)	**0,001**
	≥ 206,75	0	7 (50,0)	
BTT (µmol/L)	< 114,35	18 (100)	7 (50,0)	**0,001**
	≥ 114,35	0	7 (50,0)	
AST (U/L)	< 182,92	11 (61,1)	12 (85,7)	0,130
	≥ 182,92	7 (38,9)	2 (14,3)	
ALT (U/L)	< 96,92	14 (77,8)	12 (85,7)	0,46
	≥ 96,92	4 (22,2)	2 (14,3)	
ALP (U/L)	< 689,46	5 (27,8)	7 (50,0)	0,18
	≥ 689,46	13 (72,2)	7 (50,0)	
GGT (U/L)	< 281,02	11 (61,1)	11 (78,6)	0,25
	≥ 281,02	7 (38,9)	3 (21,4)	
Cholesterol (mmol/L)	< 5	14 (77,8)	12 (85,7)	0,46
	≥ 5	4 (22,2)	2 (14,3)	

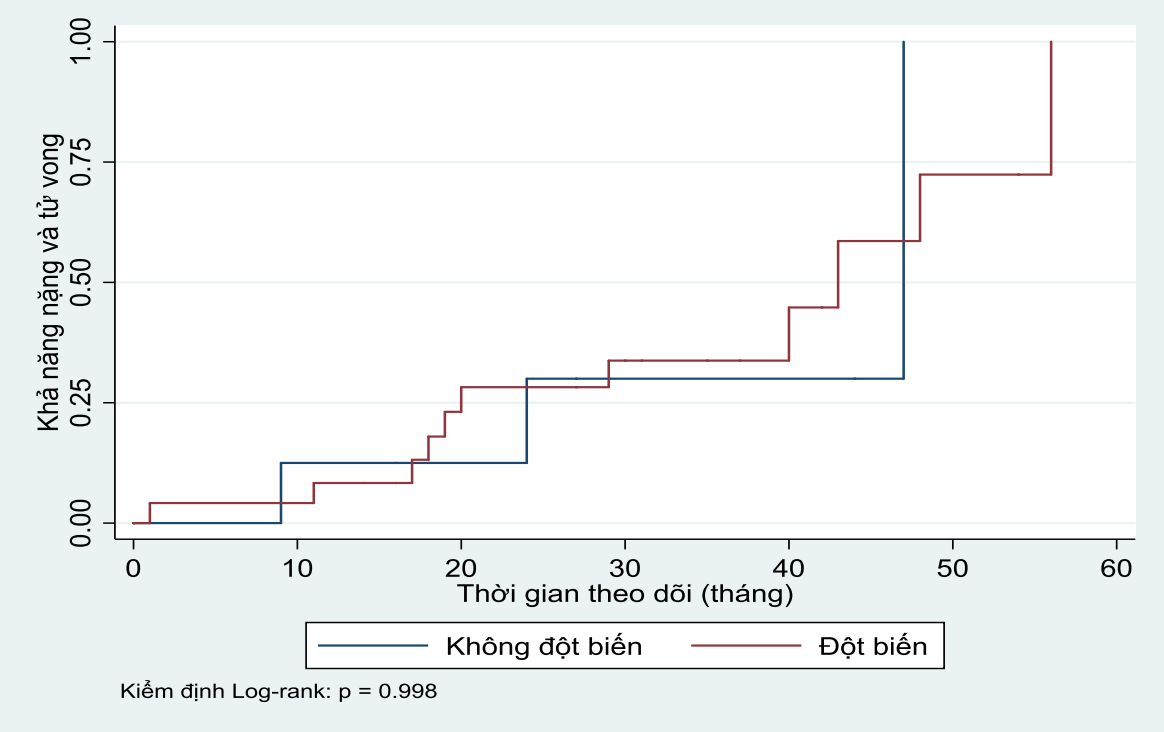
		Tiên lượng gan		P
		Nhẹ	Nặng	
Triglycerid (mmol/L)	< 2,1	13 (72,2)	11 (78,6)	0,5
	≥ 2,1	5 (27,8)	3 (21,4)	

Nhận xét: Với điểm cắt BTP (206,75µmol/L) và BTT (114,35µmol/L) cho thấy có sự liên quan BTP và BTT với tiên lượng gan (p < 0,05).



Biểu đồ 3.5. Đường cong Kaplan Meier xác suất nặng và tử vong theo thời gian

Nhận xét: Sau 24 tháng theo dõi thì khoảng 25% số trẻ ALGS có chuyển nặng và tử vong và đến 48 tháng thì có đến 75% số trẻ ALGS chuyển nặng và tử vong.



Biểu đồ 3.6. Đường cong Kaplan Meier xác suất nặng và tử vong theo thời gian phân theo đột biến gen

Nhận xét: Có 25% bệnh nhân không đột biến chuyển nặng và tử vong sau 24 tháng, trong khi chỉ cần 20 tháng thì cũng đã có 25% bệnh nhân ở nhóm có đột biến chuyển nặng và tử vong.

Bảng 3.30. Đặc điểm trẻ ALGS tử vong trong mẫu nghiên cứu (N=6)

		Tần số (%)
Thời gian theo dõi * (tháng)	16,5 (9 : 47)	
Tuổi tử vong * (tháng)	20,5 (9 : 47)	
Đặc điểm dịch tễ		
Tuổi phát hiện bệnh	≤4 tháng	1 (16,7)
	>4 tháng	5 (83,3)
Giới	Nữ	2 (33,3)
	Nam	4 (66,7)
Địa chỉ	TP.HCM	0

		Tần số (%)
	Tỉnh thành khác	6 (100)
Tần suất xuất hiện triệu chứng	3 TC	3 (50)
	4 TC	2 (33,3)
	5 TC	1 (16,7)
Lý do nhập viện	Vàng da	4 (66,7)
	Ngứa	0
	Báng bụng	2 (33,3)
	Khác	0
Triệu chứng lâm sàng		
Bất thường gan		6 (100)
Bất thường tim		4 (66,7)
Bất thường cột sống		4 (66,7)
Bất thường mắt		4 (66,7)
Khuôn mặt đặc trưng		4 (66,7)
Bất thường thận		2 (33,3)
Bất thường sinh hóa*		
BTP (µmol/L)		301,92 (136,2 - 466,04)
BTT (µmol/L)		150,64 (82,73 - 234,36)
AST (U/L)		245,99 (204,72 - 306,12)
ALT (U/L)		126,54 (96,92 - 245,81)
ALP (U/L)		646,81 (302,78 - 698,42)
GGT (U/L)		452,22 (63,55 - 674,3)
Cholesterol (mmol/L)		9,3 (5 - 21,74)
Triglycerid (mmol/L)		2,15 (1,8 - 3,13)
Đột biến gen		

		Tần số (%)
Kiểu đột biến	Sai nghĩa	1 (33,3)
	Vô nghĩa	2 (66,7)
Vị trí đột biến	Exon 4	1 (33,3)
	Exon 8	1 (33,3)
	Exon 10	1 (33,3)
Nguyên nhân tử vong		
Xơ gan, tăng áp cửa		6 (100)

** Trung vị, khoảng tứ vị*

Nhận xét: Đặc điểm nhóm tử vong: trung vị tuổi tử vong là 20,5 tháng, đa số xảy ra sau 4 tháng, nam nhiều hơn nữ, tất cả từ các tỉnh thành khác, đa số biểu hiện 3 triệu chứng lâm sàng chính, phần lớn nhập viện vì vàng da, tất cả đều có bất thường gan, chỉ số sinh hóa BTT và GGT tăng rất cao. Kiểu đột biến là sai nghĩa và vô nghĩa trên exon 4, 8 và 10. Nguyên nhân tử vong do xơ gan giai đoạn cuối, tăng áp cửa.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM MẪU NGHIÊN CỨU

Trong mẫu nghiên cứu 32 trường hợp trẻ ALGS tại bệnh viện Nhi đồng 1 từ tháng 2/2015 đến tháng 12/2018, chúng tôi nhận thấy các đặc điểm sau:

Về giới tính, chúng tôi nhận thấy nam nhiều hơn nữ 1,3 lần. Trong đó, có 14 nữ (44%), 18 nam (56%). Kết quả này tương tự nghiên cứu của Ahn KJ khi có 18 bé gái (44%) và 23 bé trai (56%). Theo y văn, do đặc điểm ALGS là bệnh di truyền theo tính trội nhiễm sắc thể thường nên không thấy có sự biệt về giới [116]. Một số nghiên cứu khác như nghiên cứu Cho JM (2015) cho thấy tỷ lệ nữ nhiều hơn nam [21]. Sự thay đổi này có thể do các nghiên cứu có cỡ mẫu nhỏ.

Về tuổi phát hiện bệnh, trung vị là 6,5 tháng. Tuổi phát hiện bệnh là tuổi của bệnh nhân tại thời điểm được chẩn đoán hội chứng Alagille. Khi phân tích đặc điểm tuổi theo giới, chúng tôi thấy có sự khác biệt theo nữ, nam (p=0,035). Trong đó, tuổi phát hiện bệnh của nam muộn hơn so với tuổi phát hiện bệnh của nữ (20 tháng so với 3,5 tháng). Chúng tôi chia thành 2 nhóm tuổi (≤4 tháng và >4 tháng) vì trước 4 tháng là thời điểm quan trọng can thiệp phẫu thuật Kasai có hiệu quả cho trẻ teo đường mật. Sau thời gian này trẻ diễn tiến xơ gan và phẫu thuật không còn hiệu quả nữa. Trong giai đoạn này, cần chẩn đoán phân biệt sớm ALGS và các bệnh gan ứ mật khác nhất là teo đường mật do các bệnh lý này thường có biểu hiện tương tự nhau nhất là giai đoạn nhũ nhi. Điều này sẽ giúp trẻ ALGS tránh được các can thiệp không cần thiết, làm ảnh hưởng tiên lượng về sau của trẻ. Theo bảng 3.1, nhóm tuổi >4 tháng (17 trường hợp) nhiều hơn nhóm ≤4 tháng (15 trường hợp). Trong đó, nhóm ≤4 tháng từ TP.HCM là 3 trường hợp (43%) không khác biệt với cùng nhóm tuổi này từ các tỉnh thành khác là 12 trường hợp (48%). Điều đó cho thấy địa lý không là nguyên nhân làm trẻ phát hiện bệnh trễ. So với nghiên

cứu của tác giả Ahn KJ, Hàn Quốc (2015) khi nghiên cứu 41 trẻ ALGS, tuổi trung bình phát hiện rất sớm 1 tháng tuổi, trong đó có 6 ca phát hiện giai đoạn bào thai và chỉ có 2 ca là phát hiện sau 4 tháng [2]. Như vậy, chẩn đoán ALGS tại bệnh viện Nhi đồng 1 là muộn mặc dù đây là cơ sở y tế Nhi khoa tuyến cuối. Điều này có thể do thân nhân bệnh nhân chưa nhận thức được bệnh của trẻ nên khám bệnh muộn và cũng có thể do hạn chế trong chẩn đoán bệnh của bác sĩ như chưa có kinh nghiệm hoặc chưa đủ phương tiện chẩn đoán xác định bệnh. Đây là vấn đề quan trọng vì sẽ ảnh hưởng tiên lượng về sau của trẻ ALGS. Trong nghiên cứu chúng tôi, tuổi kết thúc nghiên cứu là 47 tháng, trong đó có 6 trường hợp tử vong. Tỷ lệ tử vong này là khá cao so với tác giả Ahn KJ, khi nghiên cứu 30 năm chỉ có 8 trường hợp tử vong trong số 41 ca ALGS [2]. Nguyên nhân do bệnh viện Nhi Đồng 1 chưa thực hiện được ghép gan và phẫu thuật chuyển vị đường mật ra ngoài một phần cho những bệnh nhân có chỉ định. Đây là một hạn chế lớn trong việc điều trị ALGS, làm ảnh hưởng chất lượng cuộc sống cho trẻ Alagille.

Đa số bệnh nhân đến từ các tỉnh thành khác (78,1%) ngoài thành phố Hồ Chí Minh (21,9%). Các tỉnh thành khác là các tỉnh Tây Nam bộ (Long An, Tiền Giang, Bến Tre, Đồng Tháp, Sóc Trăng, Cần Thơ, An Giang, Kiên Giang, Cà Mau), Đông Nam bộ (Bình Dương, Đồng Nai) và Nam Trung bộ (Bình Thuận, Khánh Hòa, Bình Định, Quảng Nam, Quảng Ngãi). Do đặc điểm bệnh viện Nhi đồng 1 là tuyến cuối trong điều trị Nhi khu vực phía Nam Việt Nam nên đại đa số bệnh nhân đến từ các tỉnh lân cận. Chúng tôi không thấy sự khác biệt địa chỉ bệnh nhân theo giới ($p>0,05$).

Tóm lại, về đặc điểm mẫu nghiên cứu 32 trẻ ALGS của chúng tôi cho thấy bé trai nhiều hơn bé gái, trẻ thường được phát hiện bệnh muộn sau 4 tháng (nam muộn hơn so với nữ), bệnh nhân phần lớn từ các tỉnh thành khác ngoài thành phố Hồ Chí Minh.

4.2. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

4.2.1. Đặc điểm lâm sàng

Theo kết quả phân bố lý do nhập viện (bảng 3.2), trẻ nhập viện phần lớn vì vàng da (65,6%). Số còn lại nhập viện vì ngứa (12,5%), báng bụng (12,5%) và 3 trường hợp nhập viện vì tăng lipid máu, gan to, khò khè. Đây là những vấn đề liên quan bất thường gan mật và là đặc điểm giúp cha mẹ có thể nhận diện và đưa trẻ khám bệnh. Tuy nhiên, do thói quen người Việt, trẻ thường được ủ kín, nằm trong phòng tối trong những tháng đầu đời nên thường được phát hiện vàng da muộn. Ngoài ra, có thể do kinh nghiệm sai lầm của cha mẹ khi cho rằng vàng da giai đoạn này là bình thường. Điều này làm ảnh hưởng đến việc chẩn đoán bệnh sớm.

Theo tiêu chuẩn chọn bệnh của chúng tôi, bệnh nhân ALGS phải có biểu hiện ít nhất ba triệu chứng lâm sàng chính (bất thường gan, bất thường tim, bất thường mắt, bất thường cột sống và khuôn mặt đặc trưng). Kết quả cho thấy, 53,1% bệnh nhân có 4 triệu chứng lâm sàng chính. Còn lại, bệnh nhân có 3 triệu chứng lâm sàng chính (25%) và 5 triệu chứng lâm sàng chính (21,9%). Đặc điểm này tương tự nghiên cứu 80 ca ALGS của tác giả Alagille D (1987) với biểu hiện 4 triệu chứng lâm sàng là 42 trường hợp (52,5%), 26 trường hợp có 5 triệu chứng (32,5%) và 12 trường hợp có 3 triệu chứng (15%) [7]. Một kết quả tương tự trong nghiên cứu của Emerick KM (1999), trong 92 trẻ ALGS có 53% trẻ có 4 triệu chứng lâm sàng, 25% trẻ có 5 triệu chứng và 22% trẻ biểu hiện 3 triệu chứng [37]. Phân tích sự kết hợp các bất thường lâm sàng chính cho thấy, nhóm 4 triệu chứng lâm sàng thường là sự kết hợp của bất thường gan, bất thường tim, bất thường cột sống và khuôn mặt đặc trưng. Trong khi đó, nhóm có 3 triệu chứng lâm sàng thường là sự kết hợp của bất thường gan, mắt và khuôn mặt đặc trưng hoặc là sự kết hợp của

bất thường gan, tim và khuôn mặt đặc trưng. Kết quả này giúp gợi ý trong việc tầm soát các bất thường lâm sàng khi nghi ngờ bệnh nhân ALGS.

Về đặc điểm lâm sàng, chúng tôi ghi nhận bất thường gan là bất thường hay gặp nhất (96,9%), tiếp theo là bất thường khuôn mặt (87,5%), bất thường cột sống (78,1%), bất thường tim (75%) và thấp nhất là bất thường mắt (59,4%). Chỉ có hai trường bất thường thận (6,3%) được phát hiện với một biểu hiện thận loạn sản đa nang hai bên trên siêu âm nhưng chức năng thận bình thường và một trường hợp suy thận cấp (urê và creatinin tăng). Có thể vì chúng tôi thực hiện nghiên cứu chủ yếu tại khoa Tiêu hóa nên đa số trẻ đều có biểu hiện bất thường tại gan. Tuy nhiên, có một số bệnh nhân ban đầu nhập khoa khác như Tim mạch, Sơ sinh, một trường hợp phẫu thuật TOF tại Viện Tim, sau đó được hội chẩn liên khoa, liên viện và chuyển khoa Tiêu hóa điều trị tiếp. Vì vậy, nghiên cứu của chúng tôi vẫn mang tính đại diện cho bệnh nhân bệnh viện Nhi Đồng 1 chứ không đơn thuần tập trung tại khoa Tiêu hóa như nghiên cứu trước đây của tác giả Lin HC và Hoàng Lê Phúc. Ngoài ra, một số bệnh nhân được khám và điều trị ngoại trú. Phân tích sự khác biệt các đặc điểm lâm sàng theo giới và theo tuổi cho thấy có sự khác biệt bất thường tim theo giới (p=0,004). Kết quả này cho thấy nữ có bất thường tim nhiều hơn nam. Tuy nhiên, do cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ nên cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để kết luận mối liên quan này.

Bảng 4.1. So sánh kết quả đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS của chúng tôi và các tác giả [7], [21], [37], [89], [126]

Nghiên cứu	Chúng tôi (2018)	Cho (2015) [21]	Lin HC (2012) [89] *	Subramaniam (2011) [126]	Emerick (1999) [37]	Alagille (1987) [7]
Cỡ mẫu	32	19	21	117	92	80
Bất thường	31	17	18/18	104	68/81	73

Nghiên cứu	Chúng tôi (2018)	Cho (2015) [21]	Lin HC (2012) [89] *	Subramaniam (2011) [126]	Emerick (1999) [37]	Alagille (1987) [7]
gan	(96,9%)	(89%)	(100%)	(89%)	(85%)	(91%)
Bất thường tim	24 (75%)	18 (95%)	17/18 (94,4%)	107 (91%)	90/92 (97%)	68 (85%)
Bất thường cột sống	25 (78,1%)	9 (47%)	16/17 (94,1%)	44 (39%)	37/71 (51%)	70 (87%)
Bất thường mắt	19 (59,4%)	8/15 (53%)	2/2 (100%)	72 (61%)	65/83 (78%)	71 (88%)
Bất thường khuôn mặt	28 (87,5%)	19 (100%)	11/18 (61%)	91 (77%)	86/92 (96%)	76 (95%)

**Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng của 18 trẻ ALGS đột biến gen JAG1*

Trong các nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng trẻ ALGS, cỡ mẫu của chúng tôi (n=32) lớn hơn cỡ mẫu nghiên cứu của Cho JM (n=19) và Lin HC – Hoàng Lê Phúc (n=21) nhưng nhỏ hơn tác giả Alagille D (n=80), Emerick (n=92) và Subramaniam (n=117). Sự khác biệt này có thể sẽ tạo nên sự khác biệt kết quả giữa các nghiên cứu. Tương tự giữa các nghiên cứu trên, bất thường gan rất thường gặp, dao động từ 85% (Emerick KM, 1999) đến 100% trong nghiên cứu của Lin HC và Hoàng Lê Phúc (2012). Có thể do nghiên cứu của Lin HC chỉ nhận bệnh nhân tại khoa Tiêu hóa nên tất cả đều có bất thường gan (100%). Bất thường tim trong nghiên cứu chúng tôi thấp hơn nhiều so với các tác giả khác, chỉ chiếm 75%, trong khi các nghiên cứu khác ≥ 85%. Sự khác biệt này có thể do cách chọn mẫu. Nghiên cứu chúng tôi chủ yếu thực hiện tại khoa Tiêu hóa nên đa số bệnh nhân có bất thường gan. Ngoài ra, có thể do khác biệt cỡ mẫu hoặc do khác biệt chủng tộc. Bất thường cột sống có sự dao động khá lớn từ 39% (Subramaniam, 2011) đến 94,1%

(Lin HC, 2012). Tượng tự nghiên cứu của Lin HC và Hoàng Lê Phúc, bất thường cột sống (78,1%) trong nghiên cứu chúng tôi cao hơn các tác giả khác. Đây có thể là đặc điểm thường gặp của trẻ ALGS Việt Nam. Trong khi đó, bất thường mắt của chúng tôi (59,4%) lại rất thấp so với các tác giả Emerick (78%), Alagille D (88%), Lin HC (100%) nhưng tương đương với tác giả Cho JM (53%) và Subramaniam (61%). Tuy nhiên, do nghiên cứu của Lin HC và Hoàng Lê Phúc chỉ quan sát 2 trường hợp nên tần suất 100% là không phản ánh chính xác tần suất bất thường mắt, không mang tính chất đại diện cho mẫu nghiên cứu. Bất thường khuôn mặt trong nghiên cứu của chúng tôi là 87,5%. Đây là bất thường hay gặp trong nghiên cứu của Cho JM (100%), Emerick (96%) và Alagille D (95%). Mặc dù, trong nghiên cứu của Lin HC về trẻ Alagille Việt Nam (2012), bất thường khuôn mặt là đặc điểm ít gặp với độ nhạy và độ đặc hiệu thấp, khó nhận dạng chỉ chiếm 61%. Tuy nhiên, kết quả này thấp có thể do bất thường khuôn mặt được đánh giá bởi các chuyên gia hình thái học đơn thuần, không có kinh nghiệm trong điều trị dân số bệnh này, chỉ nhận dạng qua hình ảnh nên khó nhận dạng sự khác biệt. Bên cạnh đó là hạn chế cỡ mẫu nhỏ của nghiên cứu này (n=21) nên chưa đánh giá toàn diện về dân số trẻ ALGS Việt Nam. Như vậy, nhìn chung, trong 5 đặc điểm lâm sàng chính trẻ ALGS, nghiên cứu chúng tôi cho thấy bất thường gan và bất thường khuôn mặt là hai bất thường thường gặp nhất, bất thường tim và bất thường mắt thì ít gặp hơn nhưng bất thường cột sống thì tần suất xuất hiện cao hơn so với các tác giả khác. Đây có thể là đặc điểm của dân số trẻ ALGS Việt Nam hoặc do sự khác biệt về cỡ mẫu nghiên cứu và đối tượng nghiên cứu [7], [21], [37], [89], [126]. Ngoài những đặc điểm lâm sàng chính, trẻ ALGS còn có những bất thường khác ít gặp hơn như bất thường thận. Nghiên cứu chúng tôi chỉ có 2 trường hợp bất thường thận (6,3%), thấp hơn các nghiên cứu khác Cho JM (21%), Lin HC (27,3%), Subramaniam (23%), Emerick (40%). Ngoài ra, tác giả Alagille D (1987) còn nhận thấy bệnh nhân

ALGS có thể có chậm tăng trưởng (50%) và chậm phát triển tâm thần (16%). Trong nghiên cứu Emerick KM (1999), chậm phát triển tâm thần, vận động và suy tụy lần lượt là 2%, 16% và 41%. Đây là những đặc điểm mà trong nghiên cứu của chúng tôi không có đánh giá do hạn chế về phương tiện chẩn đoán. Ngoài ra, do hai bất thường thận và mạch máu (thường là đầu và cổ) là những biểu hiện quan trọng trong ALGS nên một số tác giả đề nghị mở rộng tiêu chuẩn chẩn đoán ALGS là 3 trong 7 triệu chứng lâm sàng, thay vì 3 trong 5 triệu chứng lâm sàng chính như hiện nay [116], [129]. Các tai biến về mạch máu có thể gặp hơn 15% các trường hợp [37], và là nguyên nhân tử vong trong 34% trường hợp ALGS [66]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trên thế giới và nghiên cứu của chúng tôi không khảo sát bất thường này. Vì vậy, rất cần thêm nghiên cứu về bất thường này. Điều này rất quan trọng vì sẽ góp phần tầm soát bất thường mạch máu trên những bệnh nhân không có biểu hiện lâm sàng cũng như có kế hoạch theo dõi cho những bệnh nhân có bất thường mạch máu.

Về bất thường gan, theo Bảng 3.8 cho thấy tất cả trẻ có ứ mật mạn tính (n=3). Đây là đặc điểm nổi bật trong nghiên cứu của chúng tôi khi phần lớn trẻ nhập viện với biểu hiện vàng da vàng mắt kèm tiêu phân bạc màu và nước tiểu vàng sậm. Một số khác trẻ có ngứa và u vàng. Kết quả siêu âm cho thấy 11 trường hợp có gan to dựa vào chiều cao gan (34,4%), 4 trường hợp túi mật co nhỏ (12,5%), 5 trường hợp xơ gan (15,6%) và 1 trường hợp thận loạn sản đa nang 2 bên, 1 trường hợp bướu máu gan. Tất cả các trường hợp đều có dấu TC (-). Kết quả này cũng tương tự tác giả Hyun-Hae Cho (2016) khi nghiên cứu đặc điểm siêu âm 23 trẻ ALGS, cho thấy túi mật co nhỏ là 57% và không có bệnh nhân nào có dấu TC (+) [59]. Nghiên cứu của Han S (2017) cũng cho thấy TC (-) và ít thấy túi mật co nhỏ là đặc điểm thường gặp của trẻ ALGS [50]. Vì vậy, khi siêu âm trẻ không thấy hình ảnh điển hình của teo đường mật (túi mật co nhỏ, dấu TC (+)) cần nhanh chóng tầm soát các bất

thường khác để chẩn đoán ALGS. Khi tiến hành sinh thiết gan 10 trường hợp không đáp ứng điều trị, cả 10 trường hợp đều có hình ảnh thiểu sản đường mật trong gan trên mô học (tỷ lệ đường mật khoảng cửa < 0,4 trong 10 khoảng cửa). Tỷ lệ thiểu sản đường mật cũng rất cao trong nghiên cứu Cho JM (14/15 trường hợp) [21], thời điểm trung bình sinh thiết gan 2 tháng tuổi; 100% trong nghiên cứu Lin HC (4/4 trường hợp) [89], 85% trường hợp trong nghiên cứu Emerick KM (69/81) [37]. Nhìn chung, tỷ lệ thiểu sản đường mật trên mẫu sinh thiết gan của chúng tôi và các tác giả khác là rất cao (≥ 85%). Tuy nhiên, do đây là thủ thuật xâm lấn và cùng với sự phát triển di truyền học, kỹ thuật này ngày càng ít sử dụng trong chẩn đoán ALGS.

Về bất thường tim, bảng 3.9 cho thấy có 21 trường hợp có âm thổi tâm thu ở tim. Kết quả siêu âm tim cho thấy, đa số trẻ đều có bất thường động mạch phổi, trong đó một trường hợp hẹp nhánh trái ĐMP, 2 trường hợp hẹp nhánh phải ĐMP, 5 trường hợp hẹp cả hai nhánh, 15 trường hợp hẹp van động mạch phổi (một trường hợp hẹp van đơn thuần và 14 trường hợp hẹp van kết hợp bất thường khác như ASD, VSD, hẹp hở van 2 lá, hở 3 lá). Chỉ một trường hợp bệnh tim phức tạp là tứ chứng Fallot. Như vậy, hẹp van động mạch phổi là đặc điểm thường gặp trong nghiên cứu chúng tôi và TOF rất ít gặp. Kết quả này khác với tác giả Silberbach (1994) [122] và Emerick KM (1999) [37] khi cả hai nghiên cứu cho thấy hẹp động mạch phổi ngoại biên đơn độc thường gặp nhất (71%, 67%) và tứ chứng Fallot là bệnh tim phức tạp thường gặp nhất (8%, 11%). Sự khác biệt này có thể do sự khác biệt chủng tộc hoặc do sự khác biệt lớn về cỡ mẫu (Silberbach, n=102; Emerick, n=92).

Về bất thường mắt, chúng tôi phát hiện 19 trường hợp bất thường. Trong đó, 18 trường hợp là vòng đục sau giác mạc và một trường hợp là khuyết một mắt. So với các nghiên cứu trước đây, tỷ lệ bất thường mắt của chúng tôi khá thấp. Bên cạnh vòng đục sau giác mạc là đặc điểm thường gặp, chúng tôi còn thấy bệnh nhân có biểu hiện thoái hóa sắc tố võng mạc kèm

theo. Tuy nhiên, đặc điểm vòng đục sau giác mạc có thể gặp khoảng 15% dân số bình thường, gần 70% bệnh nhân mắc hội chứng mất đoạn 22q11. Vì vậy, nếu chỉ dựa vào đặc điểm vòng đục sau giác mạc thì không đủ để chẩn đoán ALGS [94]. Đặc biệt, nghiên cứu chúng tôi có một trường hợp khuyết một mắt, là đặc điểm hiếm gặp mà chúng tôi chưa thấy báo cáo trước đây.

Về bất thường cột sống, chúng tôi nhận thấy đốt sống hình cánh bướm là đặc điểm chủ yếu thường gặp (25/32 trường hợp). Đây là tình trạng chẻ dọc một hay nhiều đốt sống ngực, có thể nhìn thấy trên phim Xquang cột sống thẳng trước sau, do sự bất thường hợp nhất của cung trước đốt sống. Bất thường này rất hiếm gặp ở nhiều bệnh lý khác, ngoại trừ hội chứng mất đoạn 22q11 [128]. Số đốt sống ảnh hưởng có thể là một, hai hoặc ba nhưng thường gặp nhất là một đốt sống ảnh hưởng (> 50%). Đốt sống bị ảnh hưởng thường thấy là đốt sống ngực 7 và đốt sống ngực 8. Các bất thường khác như chẻ kín cột sống, khuyết đốt sống, hẹp gian đốt sống, khuyết xương sườn và mất xương sườn không gặp trong nghiên cứu chúng tôi. Ngoài ra, chúng tôi cũng không ghi nhận trường hợp nào về bệnh xương chuyển hóa như gãy xương và loãng xương.

Tóm lại, trẻ nhập viện nhiều nhất vì vàng da, thường biểu hiện 4 TCLS chính. Bất thường gan và khuôn mặt đặc trưng là hai đặc điểm thường gặp nhất trong nghiên cứu chúng tôi. Hạn chế của nghiên cứu là chưa khảo sát hết các bất thường ít gặp khác như bất thường mạch máu, bất thường tụy, chậm phát triển tâm thần vận động do thiếu phương tiện chẩn đoán.

4.2.2. Đặc điểm các xét nghiệm sinh hóa

Các xét nghiệm sinh hóa được thực hiện trên 32 bệnh nhân ALGS bao gồm BTP, BTT, AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol, Triglycerid. Kết quả cho thấy tất cả các giá trị trên đều tăng so với ngưỡng bình thường. Tuy nhiên, phạm vi các giá trị (giá trị nhỏ nhất và giá trị lớn nhất) dao động rất lớn. Trong đó, hai chỉ số BTT và GGT tăng rất cao so với ngưỡng bình

thường, lần lượt tăng 24,3 lần và 21,4 lần. Điều này phù hợp với sinh lý bệnh, phản ánh đúng tình trạng ứ mật của trẻ ALGS. Giá trị trung vị BTP và BTT trong nghiên cứu chúng tôi lần lượt là 153µmol/L (8,9mg/dL) và 83,1µmol/L (4,8mg/dL). Kết quả này tương tự với kết quả của tác giả Cho JM (2014) khi nghiên cứu 19 trẻ ALGS Hàn Quốc, BTP và BTT là 8,5 ± 2,7mg/dL và 4,9 ± 1,6mg/dL [21]. Trong nghiên cứu Subramaniam (2011), Cholesterol huyết thanh >5 mmol/L thấy ở 52/86 (60,4%) bệnh nhân [126]. Chúng tôi cũng có kết quả tương tự với trung vị Cholesterol huyết thanh là 6,55mmol/L. Mặc dù cholesterol có thể tăng cao trong một số trường hợp ALGS nhưng chủ yếu là lipid trọng lượng phân tử thấp, có tác dụng ngăn sự oxy hóa nên chống sự xơ hóa mạch máu. Vì vậy, Cholesterol tăng cao không làm tăng nguy cơ bệnh lý tim mạch nên không cần điều trị. Từ đó, chúng tôi nhận thấy rằng, trong các xét nghiệm sinh hóa, sự tăng cao của BTT và GGT là dấu hiệu cần lưu ý cho chẩn đoán ALGS. Trong nghiên cứu chúng tôi, có một trường hợp ALGS có giá trị GGT không tăng cao (giá trị trong ngưỡng bình thường, 25,3U/L). Đây là bé gái 4 tuổi nhập viện vì vàng da/xơ gan giai đoạn cuối. Bé có gan to, hẹp van động mạch phổi kèm hẹp nhẹ van 2 lá, hở 2 lá, hở 3 lá và khuôn mặt đặc trưng. Siêu âm bụng có hình ảnh xơ gan. Các giá trị sinh hóa AST, ALT, ALP, Cholesterol và Triglycerid đều tăng cao, ngoại trừ GGT. Phân tích đột biến cho thấy có đột biến vô nghĩa exon 10. Bé tử vong trong bệnh cảnh xuất huyết tiêu hóa, tăng áp cửa, xơ gan giai đoạn cuối. Như vậy, GGT thường tăng cao, phản ánh tình trạng ứ mật ở bệnh nhân ALGS. Tuy nhiên, trường hợp tử vong này có GGT bình thường. Có khả năng GGT không tăng là dấu hiệu chỉ điểm tiên lượng nặng cho bệnh nhân ALGS. Vì đây chỉ là trường hợp riêng lẻ nên chúng tôi chưa thể kết luận mối liên quan này.

Phân tích các đặc điểm lâm sàng phân theo giới và theo tuổi cho thấy, có mối liên quan trung vị BTP, BTT, Cholesterol theo giới. Trong đó, nữ có

trung vị BTP, BTT cao hơn so với nam (p<0,05). Ngược lại, nam có giá trị Cholesterol cao hơn so với nữ (7,7mmol/L so với 5,7mmol/L) (p=0,048). Tuy nhiên, do mẫu nghiên cứu còn nhỏ nên cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để kết luận mối liên quan này.

Nhìn chung, giá trị sinh hóa tăng cao so với ngưỡng bình thường và phạm vi dao động lớn. BTT và GGT là hai chỉ số tăng cao nhất. Có sự khác biệt trung vị BTP, BTT, Cholesterol theo giới.

4.3. ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN CỦA TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

4.3.1. Tỷ lệ đột biến gen *JAG1*

Tiến hành phân tích di truyền 32 trường hợp hội chứng Alagille, chúng tôi tìm thấy 24 đột biến gây bệnh *JAG1* (75%) và không thấy đột biến *NOTCH2* nào. Trong đó, tỷ lệ phát hiện đột biến gen *JAG1* trên nhóm bệnh nhân có biểu hiện 3 triệu chứng lâm sàng chính, 4 triệu chứng lâm sàng chính, 5 triệu chứng lâm sàng chính lần lượt là 5/8 (63%), 15/17 (88,2%), 4/7 (57,2%). Kết quả này cho thấy tần suất triệu chứng lâm sàng không ảnh hưởng tỷ lệ phát hiện đột biến gen *JAG1*. Tỷ lệ đột biến gen *JAG1* trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với các tác giả Li L (76,9%) [87], Jurkiewicz D (74,3%) [61], Cho JM (74%) [21], cao hơn tác giả Crosnier C (63%) [27], Krantz ID (69%) [78] và thấp hơn tác giả Lin HC (86%) [89]. So với tác giả Lin HC và Hoàng Lê Phúc (2012) cùng nghiên cứu về dân số trẻ ALGS Việt Nam, tỷ lê phát hiện đột biến gen của chúng tôi thấp hơn, 75% so với 86%. Nguyên nhân có thể do hạn chế trong kỹ thuật phân tích đột biến. Nghiên cứu chúng tôi chỉ thực hiện phân tích đột biến điểm bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger thông qua việc khuếch đại sản phẩm ngắn và sản phẩm dài, không phân tích được các kiểu đột biến mất đoạn dài và mất toàn bộ gen bằng

kỹ thuật MLPA (multiplex ligationdependent probe amplification) hay SNP như trong nghiên cứu của Lin HC và Hoàng Lê Phúc. Nhìn chung, tỷ lệ phát hiện đột biến gen *JAG1*của chúng tôi và các tác giả thực tế không cao như mong đợi so với y văn (> 90%) [86], [102]. Mặc dù đã tiến hành khảo sát đột biến gen *NOTCH2* từ 8 trường hợp không có đột biến gen *JAG1* bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới, chúng tôi không phát hiện được trường hợp nào đột biến gen *NOTCH2*. Điều này có thể do tỷ lệ đột biến gen *NOTCH2* rất thấp (< 1%) [93] và cỡ mẫu nghiên cứu chúng tôi còn nhỏ. Một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân biểu hiện đầy đủ tiêu chuẩn chẩn đoán ALGS nhưng không có đột biến *JAG1* hay *NOTCH2*. Một hội chứng giống Alagille, di truyền tính trội nhiễm sắc thể thường, không liên quan gen *JAG1* hay *NOTCH2*, đã được báo cáo từ một gia đình Canada bản địa. Những người mắc bệnh này có biểu hiện thiểu sản đường mật, ứ mật và hẹp động mạch phổi [119]. Ngoài ra, trong nghiên cứu chúng tôi chưa khảo sát được sự mất đoạn lớn và mất toàn bộ gen *JAG1*. Vì vậy, bên cạnh về vấn đề hạn chế cỡ mẫu, hạn chế kỹ thuật phân tích di truyền, cần phải có thêm nhiều nghiên cứu hơn nữa về sinh bệnh học ALGS.

Đặc điểm đột biến mẫu nghiên cứu là đặc điểm đột biến của 24 đột biến gen *JAG1*. Dựa vào ngân hàng gen NCBI, cho thấy với nhiều kiểu đột biến khác nhau trên nhiều vị trí khác nhau làm ảnh hưởng nhiều protein khác nhau. Kết quả là các vùng protein ảnh hưởng bao gồm NL (Notch ligand), DSL (Delta serrate ligand), EGF (Epidermal growth factor) và vùng không xác định. Các đột biến này thường là đột biến mới xảy ra, một số ít thừa hưởng di truyền từ cha hoặc mẹ, số còn lại không rõ do chưa tầm soát từ cha mẹ bệnh nhân ALGS (do thân nhân không đồng ý tham gia tầm soát di truyền).

4.3.2. Các kiểu đột biến gen *JAG1*

Bảng 4.2. So sánh kết quả các kiểu đột biến gen *JAG1* của chúng tôi và các tác giả [21], [27], [61], [78], [87], [89]

Kiểu đột biến	Sai nghĩa	Vô nghĩa	Cắt nối	Lệch khung	Mất đoạn
Li L (n=70) (2015)	6 (9,4%)	16 (22,9%)	8 (11,4%)	35 (50,0%)	5 (7,1%)
Jurkiewicz (n=26) (2014)	4 (15,4%)	5 (19,2%)	2 (7,7%)	7 (26,9%)	8 (30,7%)
Cho JM (n=14) (2014)	3 (21,4%)	3 (21,4%)	0	8 (57,2%)	0
Lin HC (n=18) (2012)	3 (16,6%)	1 (5,6%)	2 (11,1%)	9 (50,0%)	3 (16,7%)
Crosnier C (n=69) (1999)	13 (18,8%)	14 (20,3%)	11 (16,0%)	31 (44,9%)	0
Krantz ID (n=35) (1998)	2 (6,0	9 (26,0%)	4 (11,4%)	20 (57,0%)	0
Chúng tôi (n=24) (2018)	7 (29,0%)	**8 (33,0%)**	3 (13,0%)	5 (21,0%)	1 (4,0%)

Kết quả phân tích di truyền học của chúng tôi có 5 kiểu đột biến, bao gồm 7 đột biến sai nghĩa (29%), 8 đột biến vô nghĩa (33%), 3 đột biến cắt nối (13%), 5 đột biến lệch khung (21%) và một trường hợp mất đoạn nhỏ (4%) (p.del D692-C693 - Ex16). Các dạng đột biến này cũng tương tự với các báo cáo trước đây. Hầu hết các nghiên cứu cho thấy đột biến lệch khung thường gặp nhất, khác với nghiên cứu chúng tôi thường gặp nhất là đột biến vô nghĩa. Điều này quan trọng vì đột biến vô nghĩa thường ảnh hưởng nhiều đến cấu trúc protein liên quan so với đột biến lệch khung. Bên cạnh đó, chúng tôi còn

phát hiện một trường hợp mất đoạn nhỏ (4%) và không có trường hợp mất đoạn lớn (nghiên cứu chúng tôi chưa khảo sát được). Tần suất này thấp hơn tác giả Li L (7,1%), Jurkiewicz D (30,7%), Lin HC (16,7%). Trong khi đó, các tác giả Cho JM, Krantz ID, Crosnier C không phát hiện trường hợp nào mất đoạn. Giải thích cho sự khác biệt trên có thể do sự khác biệt về kỹ thuật phân tích di truyền (chưa khảo sát được đột biến mất đoạn dài và mất toàn bộ gen), khác biệt cỡ mẫu hoặc do khác biệt chủng tộc.

Trong một nghiên cứu gộp của Spiner (2001), tác giả tổng hợp 233 bệnh nhân ALGS [124]. Số liệu được lấy từ 7 trung tâm xét nghiệm khác nhau ở châu Âu, Mỹ, Úc và Nhật. Có khoảng 60-75% bệnh nhân chẩn đoán lâm sàng ALGS (có ít nhất ba triệu chứng lâm sàng chính) có đột biến gen *JAG1*. Trong đó, 3-7% mất toàn bộ gen và còn lại là đột biến trong gen. Trong số 168 bệnh nhân đột biến, có nhiều đột biến lệch khung dẫn đến chấm dứt mã hóa protein sớm. Có 13% đột biến sai nghĩa. Như vậy, so với các nghiên cứu khác, tỷ lệ phát hiện đột biến (75%) của chúng tôi là tương đối cao. Tỷ lệ đột biến vô nghĩa của nghiên cứu chúng tôi là nhiều nhất 33%, trong khi các nghiên cứu khác là đột biến lệch khung. Đột biến sai nghĩa (29%) cao hơn các nghiên cứu khác là 13%. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi không có trường hợp nào mất toàn bộ gen và mất đoạn gen lớn (do chúng tôi chưa thực hiện được), chủ yếu là đột biến trong gen, trong đó đột biến vô nghĩa chiếm tỷ lệ nhiều nhất. Tuy nhiên, hạn chế của nghiên cứu chúng tôi là cỡ mẫu còn tương đối nhỏ nên cần thiết có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để phản ánh đúng tính chất đột biến của trẻ ALGS Việt Nam.

Các đột biến tromg nghiên cứu chúng tôi không có đột biến mới. Điều này có thể do trước đây đã có công bố của nhóm tác giả Lin H.C và Hoàng Lê Phúc về đặc điểm di truyền trẻ ALGS Việt Nam.

4.3.3. Phân bố vị trí đột biến gen *JAG1*

Về vị trí đột biến, chúng tôi nhận thấy exon 4 (6 trường hợp) thường bị ảnh hưởng hơn so với các exon khác như exon 2, 6, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 18, 20, 21, 23, 24 nhưng nhìn chung là tất cả các exon đều có thể bị ảnh hưởng. Kết quả này cũng tương tự với các tác giả Li L(2015), Jurkiewicz D (2014), Cho JM(2014), Lin HC (2012), Crosnier C (1999), Krantz ID (1998) [21], [27], [61], [78], [87], [89]. Theo y văn, không có vị trí đặc biệt nào của gen mà là toàn bộ các vùng vị trí mã hóa đều có thể liên quan [114], [124]. Điều này cho thấy, đột biến có thể xảy ra trên bất kỳ vị trí nào trên gen *JAG1*, không có sự tập trung ở một vài exon đặc biệt.

4.3.4. Đặc điểm tính đa hình nucleotide đơn

Khi giải trình tự trực tiếp gen *JAG1*, có một số biến đổi cấu trúc gen được ghi nhận nhưng những cấu trúc này được xem là bình thường vì nó gặp ở người khỏe mạnh và sản phẩm protein tổng hợp của nó không bị ảnh hưởng chức năng. Đặc điểm những thay đổi cấu trúc này được gọi là đa kiểu hình nucleotide đơn. Chúng tôi phát hiện được 12 kiểu đa kiểu hình gen ở các trẻ ALGS này, chủ yếu tập trung trên các exon 1,2, 3, 4, 11, 12, 19, 22, 26 và một trường hợp ở intron 23. Điều này góp phần làm nên tính đa dạng của kiểu gen *JAG1* ở trẻ em ALGS Việt Nam. Kết quả này tương tự với nghiên cứu trước đây của Lin HC và Hoàng Lê Phúc (2012).

Kết quả khảo sát đột biến trên bệnh nhân ALGS-04 cho thấy gen *JAG1* của bệnh nhân này có mang 3 đột biến điểm, trong đó 2 đột biến đã được báo cáo là SNP không gây bệnh: p.Y255Y (rs1131695) - Ex6 - dị hợp tử và p.P1174L (rs775363555) - Ex26 - dị hợp tử. Đột biến IVS10-1G>T chưa từng được báo cáo, có nghĩa là đột biến mới phát hiện nhưng có khả năng cao là đột biến gây bệnh vì vị trí đột biến là vị trí bảo tồn cho việc nhận diện cắt nối intron-exon. Do đó có khả năng cao nó sẽ ảnh hưởng đến việc trưởng thành

mRNA của gen *JAG1* dẫn đến sự thay đổi protein gen này. Tuy nhiên, do kỹ thuật hiện tại của chúng tôi chưa thể phân tích được protein liên quan bị ảnh hưởng như thế nào nên chưa thấy được hậu quả của đột biến này.

4.3.5. Tần suất phát hiện đột biến gen *JAG1* ở thân nhân bệnh nhân ALGS

Chúng tôi tiến hành tầm soát 26 thân nhân bệnh nhân (9 cha, 15 mẹ, 2 anh em ruột), không có biểu hiện lâm sàng bất thường (không ghi nhận bệnh sử có bất thường gan, tim, mắt, cột sống, thận, khuôn mặt) từ 17 trẻ ALGS đã xác định có đột biến gây bệnh *JAG1*. Tầm soát này hoàn toàn trên cơ sở tự nguyện của thân nhân sau khi đã được giải thích bệnh cũng như ý nghĩa của việc tầm soát. Phần lớn thân nhân bệnh nhân không đồng ý tham gia do tâm lý sợ phát hiện bệnh. Vì vậy, nếu không có sự đồng ý của thân nhân, chúng tôi sẽ không tiến hành tầm soát. Kết quả, có 4 trường hợp được phát hiện có gen đột biến *JAG1* (3 cha, 1 mẹ) bao gồm các đột biến IVS10-1G>T (đột biến cắt nối), c.1456-1457insA- Ex12 (đột biến lệch khung), c3031G>T (p.E1011X) - Ex24 (đột biến vô nghĩa), p.del D692-C693 - Ex16 (đột biến mất đoạn nhỏ) và không có trường hợp anh em ruột nào được phát hiện. Kết quả này cho thấy không có trường hợp đột biến sai nghĩa được phát hiện khi tầm soát di truyền từ thân nhân bệnh nhân có đột biến gen *JAG1* đã biết. Có khả năng chỉ có đột biến vô nghĩa, cắt nối, lệch khung và mất đoạn là có khả năng di truyền và đột biến sai nghĩa thường là đột biến mới xảy ra. Tuy nhiên, do cỡ mẫu phân tích nhỏ nên chúng tôi chưa thể kết luận vấn đề này. Điều này cần lưu ý khi có điều kiện thực hiện với cỡ mẫu lớn hơn. Tần suất phát hiện đột biến gen *JAG1* ở thân nhân bệnh nhân là 23,5%. Như vậy, phần lớn đột biến mới xuất hiện. Tương tự với nghiên cứu của Lin HC và Hoàng Lê Phúc, 9/9 trường hợp đột biến được khảo sát là mới, không di truyền từ bố mẹ. Theo y văn, khoảng 30%-50% cá thể có gen gây bệnh di truyền và 50% - 70% có gen gây bệnh mới. Thể khảm có thể xảy ra với tần suất 8% [27], [78], [124]. Việc tầm soát đột biến sẽ giúp

phát hiện bệnh ở các cá thể không có biểu hiện lâm sàng. Từ đó, sẽ góp phần theo dõi các bất thường tìm ẩn của ALGS cũng như giúp tham vấn di truyền. Cha mẹ có con mắc bệnh do gen gây bệnh mới thì nguy cơ xảy ra bệnh cho các đứa con tiếp theo là rất thấp nhưng cao hơn so với dân số chung do khả năng thể khảm [43], [82]. Con của bệnh nhân ALGS có nguy cơ 50% mắc bệnh. Nếu gen gây bệnh ảnh hưởng các thành viên trong gia đình đã được xác định thì có thể thực hiện xét nghiệm trước sinh cho thai phụ. Tuy nhiên, xét nghiệm trước sinh không tiên đoán được khả năng xảy ra cũng như mức độ nặng nhẹ của các biểu hiện lâm sàng.

Nhìn chung, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chỉ có đột biến gen *JAG1*, thường gặp nhất là đột biến vô nghĩa, xảy ra trên nhiều exon khác nhau làm ảnh hưởng nhiều vùng protein khác nhau. Đặc điểm tính đa hình nucleotide đơn gen *JAG1* rất đa dạng. Đại đa số đột biến gen là mới xảy ra, chỉ số ít là di truyền từ bố hoặc mẹ. Phần lớn thân nhân bệnh nhân không đồng ý tham gia tầm soát di truyền sau khi đã được thông tin đầy đủ.

4.4. MỐI LIÊN QUAN KIỂU GEN - KIỂU HÌNH Ở TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Để đánh giá mối liên quan kiểu gen - kiểu hình ở trẻ ALGS, chúng tôi tiến hành phân tích 2 nhóm có đột biến và không có đột biến gen *JAG1*. Về kiểu hình, chúng tôi đánh giá các đặc điểm nền bao gồm tuổi phát hiện bệnh, nhóm tuổi (≤4 tháng và >4 tháng), giới, lý do nhập viện; các bất thường lâm sàng chính bao gồm bất thường gan, bất thường tim, bất thường mắt, bất thường cột sống, khuôn mặt đặc trưng và số bất thường; các đặc điểm cận lâm sàng bao gồm BTP, BTT, AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol, Triglycerid. Có 24 trường hợp đột biến gen gây bệnh *JAG1* được phát hiện. Từ đó, chúng tôi đánh giá mối liên quan kiểu gen - kiểu hình.

Đánh giá mối liên quan giữa các đặc điểm nền với đột biến gen cho thấy có sự liên quan giữa đột biến gen và nhóm tuổi phát hiện bệnh (p=0,041). Tuy nhiên, nhóm tuổi phát hiện lại phụ thuộc vào nhận thức của cha mẹ cũng như kinh nghiệm chẩn đoán bệnh của bác sĩ. Vì vậy, mối liên quan này là không khách quan, chưa thể kết luận được. Các đặc điểm nền còn lại không cho thấy có mối liên quan với đột biến gen (p>0,05). Tóm lại, chúng tôi chưa thấy có sự liên quan giữa đột biến gen *JAG1* với kiểu hình.

Bảng 3.19 cho thấy không có mối liên quan giữa đột biến gen *JAG1* với bất thường gan, bất thường tim, bất thường mắt, bất thường cột sống, khuôn mặt đặc trưng và số bất thường (p>0,05).

Tương tự, bảng 3.20 cho thấy không có mối liên quan giữa đột biến gen *JAG1* và các đặc điểm cận lâm sàng (BTP, BTT, AST, ALP, ALP, GGT, Cholesterol, Triglycerid) (p>0,05).

Như vậy, theo kết quả phân tích ban đầu, chúng tôi chưa thấy được mối liên quan giữa kiểu gen - kiểu hình của trẻ ALGS. Kết quả này cũng tương tự với các tác giả trước đây Krantz (1998) [78], Crosnier (1999) [27], Spinner (2001) [124], Colliton RP (2001) [25], Kamath BM (2010) [69]. Năm 2002, McElhinney DB tiến hành phân tích kiểu hình tim mạch và mối liên quan kiểu gen - kiểu hình ở trẻ ALGS. Tác giả hồi cứu 200 bệnh nhân được chẩn đoán ALGS. Có 187 bệnh nhân (94%) có bất thường tim mạch. Trong đó, 150 bệnh nhân bất thường trên siêu âm tim và 37 bệnh nhân có âm thổi hẹp động mạch phổi ngoại biên với điện tâm đồ bình thường hoặc không có siêu âm tim. Kiểu hình hẹp nhánh động mạch phổi khác nhau giữa 2 nhóm có và không có đột biến gen *JAG1*. Trong nhóm đột biến gen *JAG1*, không có sự liên quan giữa kiểu đột biến, vị trí đột biến với tần suất và kiểu bất thường tim mạch. Như vậy, mặc dù hơn 90% bệnh nhân ALGS có bất thường tim mạch, nhưng không thấy có sự liên quan giữa kiểu hình tim mạch và kiểu đột biến, vị trí

đột biến gen *JAG1*. Tuy nhiên, theo báo cáo Eldadah (2001), Le Caignec (2002), khi nghiên cứu hai gia đình có đột biến sai nghĩa bệnh lý gen *JAG1*, tác giả đã phát hiện bất thường tim mạch mặc dù nhóm bệnh nhân không có bất thường gan mật. Tác giả cho rằng đột biến gen *JAG1* đóng vai trò quan trọng trong biểu hiện thường gặp bệnh tim phải tắc nghẽn [83]. Ngoài ra, có nghiên cứu cho thấy đột biến G274D được tìm thấy có liên quan bệnh tim cấu trúc đơn độc trong một gia đình, trong khi các trường hợp còn lại có biểu hiện tứ chứng Fallot (TOF) toàn phần hoặc bán phần [36]. Tuy nhiên, đây chỉ là báo cáo riêng lẽ nên khó có thể xác định mối liên quan kiểu gen kiểu hình này. Ngoài ra, mất đoạn gen được tìm thấy trong 7% trường hợp và thường xuất hiện ở một vùng chính yếu 5,4 Mb, nhờ vậy mà kiểu hình không có sự khác biệt. Tuy nhiên, nếu mất đoạn lớn thường liên quan nhiều vấn đề khác như khó khăn trong học tập [67]. Trong nghiên cứu chúng tôi chỉ phát hiện một trường hợp mất đoạn nhỏ (p.del D692-C693 - Ex16) nên chưa thấy sự thay đổi kiểu hình ALGS.

Tóm lại, ngoài các trường hợp báo cáo riêng lẽ, theo kết quả phân tích ban đầu của chúng tôi cũng như các báo cáo trong y văn cho thấy không có mối liên quan giữa kiểu gen với kiểu hình ở trẻ ALGS. Điều này cho thấy, bên cạnh vấn đề gen còn phải có các yếu tố khác ngoài gen như môi trường, yếu tố tác động lên gen góp phần tác động lên kiểu hình trẻ ALGS. Theo một nghiên cứu trên thực nghiệm chuột, Andersson và cộng sự cho thấy đồng hợp tử đột biến sai nghĩa gen *JAG1* cho ra phổ kiểu hình ALGS rất đa dạng, thông qua cơ chế mất chức năng protein. Theo mô hình mới và các dữ liệu liên quan cho thấy một bước quan trọng sau đó trong vấn đề này. Có thể sự hiện diện của Igf1 sẽ cải thiện sự chậm tăng trưởng ở chuột và ở người ALGS. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa rõ cơ chế nào giúp cải thiện chức năng đường mật ở chuột trưởng thành cũng như gen nào đóng vai trò chính trong bệnh lý

đường mật ALGS. Việc có thêm các bằng chứng khoa học về vấn đề này sẽ giúp chúng ta hiểu rõ hơn về cơ chế bệnh sinh của ALGS, để có thể điều trị đặc hiệu cho ALGS bên cạnh việc điều trị hỗ trợ như hiện nay [1]. Vì vậy, cần có thêm nghiên cứu về vấn đề này.

Trong nghiên cứu chúng tôi do không phát hiện trường hợp nào đột biến gen *NOTCH2* nên chúng tôi không xác định được mối liên quan giữa đột biến gen *NOTCH2* với kiểu hình ALGS. McDaniell Ryan (2006), trong nghiên cứu 5 bệnh nhân ALGS có đột biến gen *NOTCH2*, cho thấy đều có bất thường thận (trong đó có hai trường hợp suy thận nặng đang chờ ghép thận). Tác giả cho rằng bệnh nhân ALGS có đột biến gen *NOTCH2* có xu hướng tăng tần suất mắc bệnh thận hơn so với nhóm ALGS có đột biến *JAG1* [93]. Có thể có sự liên quan giữa đột biến *NOTCH2* và tổn thương thận. Tuy nhiên, do số trường hợp báo cáo còn quá ít nên chưa thể kết luận được mối liên quan này và vấn đề này cần phải tiếp tục nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn [116]. Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai trường hợp có bất thường thận (một bất thường chức năng và một bất thường thận đa nang trên siêu âm) nhưng cả hai trường hợp này đều có đột biến gen *JAG1*. Vì vậy, để kết luận liệu có sự liên quan giữa tổn thương thận và đột biến gen *NOTCH2* thì cần phải tiếp tục nghiên cứu.

4.5. CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN DIỄN TIẾN BỆNH GAN Ở TRẺ MẮC HỘI CHỨNG ALAGILLE

Trong nghiên cứu này, thời gian theo dõi được tính từ lúc bệnh nhân được chẩn đoán bệnh cho đến khi kết thúc nghiên cứu hoặc lần cuối cùng bệnh nhân được theo dõi. Sau thời gian theo dõi trung bình 28 tháng, chúng tôi ghi nhận có 18 trường hợp gan nhẹ, 8 trường hợp gan nặng và 6 trường hợp tử vong do bệnh lý gan nặng. Hầu hết bệnh nhân của chúng tôi đều có biểu hiện ứ mật.

Trong nhóm gan nhẹ tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, có 8 trường hợp ứ mật nhưng không ngứa; 10 trường hợp ứ mật và ngứa nhưng đáp ứng với điều trị nội khoa. Nhóm gan nặng có 5 trường hợp ứ mật và ngứa không đáp ứng điều trị nội khoa; 3 trường hợp ứ mật nặng với xơ gan và tăng áp cửa (Bảng 3.22). Không có trường hợp nào phẫu thuật chuyển vị đường mật hay ghép gan do hai kỹ thuật này chưa được thực hiện tại nơi chúng tôi tiến hành nghiên cứu. Từ đó, chúng tôi tiến hành phân tích tìm các yếu tố có liên quan đến diễn tiến bệnh gan của trẻ ALGS.

Theo Bảng 3.23, chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa tuổi, nhóm tuổi phát hiện bệnh (≤4 tháng và >4 tháng), giới với diễn tiến bệnh gan (nhẹ, nặng/tử vong) (p>0,05). Có sự liên quan giữa lý do nhập viện (vàng da, ngứa, báng bụng và khác) với diễn tiến bệnh gan (p=0,037). Chúng tôi thấy báng bụng có liên quan đến diễn tiến gan nặng về sau (p=0,001) (Bảng 3.24), khả năng xảy ra gấp 3,4 lần so với trẻ nhập viện vì vàng da.

Không thấy mối liên quan giữa các bất thường lâm sàng chính (bất thường gan, bất thường tim, bất thường cột sống, bất thường mắt, khuôn mặt đặc trưng), số bất thường với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Tương tự, theo Bảng 3.26 cho thấy không có mối liên quan giữa các đặc điểm bất thường gan với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Bảng 3.27 cũng cho thấy không có mối liên quan giữa các đặc điểm cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan (p>0,05).

Theo Bảng 3.28, chúng tôi phân tích các giá trị cận lâm sàng có liên quan với tiên lượng gan. Có 2 chỉ số BTP và BTT có diện tích dưới đường cong khá tốt so với các chỉ số khác (diện tích dưới đường cong R.O.C > 0,65) tại điểm cắt 206,75 µmol/L và 114,35 µmol/L tương ứng với độ nhạy và độ đặc hiệu là 50% và 100%. Từ các điểm cắt gợi ý, chúng tôi tiếp tục tìm mối liên quan giữa các chỉ số cận lâm sàng với diễn tiến bệnh gan. Kết quả, chỉ có hai giá trị BTP (điểm cắt 206,75

µmol/L) và BTT (điểm cắt 114,35 µmol/L) là có liên quan diễn tiến bệnh gan (nhẹ, nặng) (p = 0,001) (Bảng 3.25).

Như vậy, trong nghiên cứu chúng tôi, báng bụng, BTP (≥ 206,75µmol/L) và BTT (≥114,35µmol/L) có liên quan diễn tiến bệnh gan nặng về sau. Từ đó, chúng ta sẽ có kế hoạch chăm sóc và theo dõi tốt hơn cho những bệnh nhân ALGS có những dấu hiệu gợi ý trên. Tuy nhiên, do nghiên cứu chúng tôi là mô tả hàng loạt ca nên các giá trị này chỉ mang tính chất tham khảo, không phải là yếu tố quyết định trong việc theo dõi bệnh nhân ALGS. Emerick KM (1999) hồi cứu 92 bệnh nhân ALGS để xác định các đặc điểm lâm sàng có liên quan tiên lượng, ghép gan, tử vong. Bệnh nhân chia thành 2 nhóm nhũ nhi (n = 45) và trẻ lớn (n = 12). Trong các triệu chứng lâm sàng, chỉ có bất thường cấu trúc tim nhũ nhi là có liên quan làm tăng tỷ lệ tử vong (p<0,001). BTT >5mg% có liên quan tử vong, trong khi đó BTT <5mg% không liên quan tử vong (p = 0,013). Tuy nhiên, nhóm bệnh nhân có BTT >5mg% có nhiều bệnh tim phức tạp hơn so với nhóm BTT <5 mg%. Vì vậy, khi tiếp tục nghiên cứu sâu hơn, loại trừ những bệnh nhân có bệnh tim bẩm sinh phức tạp, sự liên quan giữa nồng độ BTT và tử vong không còn ý nghĩa thống kê (p=0,375) [37]. Như vậy, sau khi phân tích chi tiết và đầy đủ, tác giả không tìm được các yếu tố liên quan có thể ảnh hưởng tiên lượng bệnh nhân ALGS. Kamath BM và cộng sự (2010) tiến hành nghiên cứu giá trị tiên đoán hậu quả bệnh gan từ các xét nghiệm của 33 bệnh nhân ALGS. Bệnh gan ở trẻ ALGS thay đổi từ bất thường sinh hóa đến bệnh giai đoạn cuối. Khó có thể tiên lượng trẻ với biểu hiện ứ mật sẽ tiến triển theo chiều hướng cải thiện dần hay bệnh gan tiến triển nặng hơn. Điều này gây thách thức cho các nhà lâm sàng trong việc điều trị kịp thời. Mục tiêu của nghiên cứu này là phát hiện các xét nghiệm có thể tiên đoán được bệnh gan ở trẻ ALGS. Hồi cứu dữ liệu từ 33 trẻ ALGS, bệnh nhân được chia thành 2 nhóm bệnh gan nhẹ và nặng. Kết quả,

BTP>6,5mg/dL(111micromol/L) (p=0,0001), BTT>4,5mg/dL(77micromol/L) (p=0,007) và Cholesterol>520mg/dL(13,5mmol/L) (p=0,0022) có liên quan đến tiên lượng bệnh gan nặng về sau [69]. Khắc phục hạn chế cỡ mẫu nhỏ của các nghiên cứu trước đây, Mouzaki M và cộng sự (2015) tiến hành nghiên cứu đa trung tâm nhằm phát hiện các chỉ điểm sớm giúp tiên lượng bệnh gan trẻ ALGS. Tác giả hồi cứu biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và hình ảnh học 144 bệnh nhân ALGS. Có 67 bệnh nhân có biểu hiện bệnh gan nhẹ và 77 bệnh nhân biểu hiện gan nặng. Phân tích đơn biến cho thấy tình trạng ứ mật (p = 0,041), xơ hóa trên sinh thiết gan (p=0,006) và biểu hiện u vàng (p=0,003) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm (p<0,05). Ngoài ra, ngưỡng BTP 3,8 mg/dL (65mmol/L) có liên quan tiên lượng bệnh gan (p=0,001). Như vậy, hậu quả bệnh gan về sau của bệnh nhân ALGS có thể tiên đoán dựa vào BTP, ứ mật, xơ hóa trên sinh thiết gan và hiện diện u vàng khi khám thực thể [98]. Tóm lại, các nghiên cứu về các yếu tố liên quan tiên lượng gan về sau còn khá ít, bước đầu cho thấy có vài yếu tố sinh hóa với điểm cắt khác nhau cũng như lý do nhập viện có liên quan tiên lượng gan. Vì vậy, cần có thêm nhiều nghiên cứu hơn nữa cũng như thời gian dõi dài hơn để có thể tìm được các yếu tố thật sự liên quan tiên lượng gan. Kết quả này sẽ rất quan trọng trong việc đánh giá, theo dõi và điều trị trẻ ALGS.

Biểu đồ 3.5 thể hiện xác suất chuyển nặng và tử vong của bệnh nhân ALGS kể từ khi được chẩn đoán bệnh. Kết quả cho thấy sau 24 tháng theo dõi thì khoảng 25% số trẻ ALGS có chuyển nặng và tử vong và đến 48 tháng thì có đến 75% số trẻ ALGS chuyển nặng và tử vong. Nếu căn cứ thêm vào khoảng tin cậy 95% thì khả năng này có thể còn cao hơn trong những trẻ do mắc bệnh tương tự. Thực tế cho thấy nghiên cứu có tổng thời gian theo dõi ở tất cả bệnh nhân là 895 tháng và có 14 trường hợp có chuyển nặng và tử vong. Vì vậy, tỉ suất mới mắc (số ca ALGS chuyển nặng và tử vong) (incidence

rate) được ước tính vào khoảng 18,8 trên 100 trẻ ALGS-năm, khoảng tin cậy 95% là 11,1 - 21,7. Kết quả này giúp chúng ta dự đoán được diễn tiến bệnh gan theo thời gian.

Biểu đồ 3.6 thể hiện xác suất chuyển nặng và tử vong kể từ khi được chẩn đoán bệnh và phân theo tình trạng có đột biến và không đột biến. Kết quả cho thấy 25% bệnh nhân không đột biến có chuyển nặng và tử vong vào 24 tháng trong khi chỉ cần 20 tháng thì cũng đã có 25% bệnh nhân ở nhóm có đột biến có chuyển nặng và tử vong. Ngược lại, có 75% bệnh nhân trong nhóm không đột biến có chuyển nặng và tử vong sau 47 tháng theo dõi trong khi đến 56 tháng sau theo dõi thì nhóm có biến chứng mới có 75% bệnh nhân chuyển nặng và tử vong. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê khi các đường thẳng xác suất theo thời gian giữa hai nhóm có đột biến và không đột biến cắt nhau và giá trị p của kiểm định Log-rank là 0,998 (>0,05). Thực tế cho thấy trong tổng thời gian theo dõi là 214 tháng ở những bệnh nhân không có đột biến thì có 3 trường hợp chuyển nặng và tử vong; trong khi theo dõi 681 tháng ở bệnh nhân có đột biến thì có 11 trường hợp chuyển nặng và tử vong. Kết quả cho thấy tỉ suất mới mắc (số ca ALGS chuyển nặng và tử vong) ở hai nhóm không đột biến và có đột biến lần lượt là 16,8 trên mỗi 100 trẻ ALGS-năm (KTC 95% 5,4 - 52,2) và 19,4 trên mỗi 100 trẻ ALGS-năm (KTC 95% 10,7 – 35,0). Như vậy, không thấy sự khác biệt giữa nhóm có đột biến và không đột biến với diễn tiến bệnh gan. Do đó, bệnh nhân ALGS có phát hiện đột biến hay không cũng cần theo dõi, có kế hoạch điều trị như nhau.

Trong nghiên cứu chúng tôi có 6 trường hợp tử vong. Trung vị tuổi tử vong là 20,5 tháng, sau thời gian theo dõi từ lúc phát hiện bệnh đến lúc tử vong là 16,5 tháng. Đa số là bé trai. Tất cả đều từ các tỉnh thành khác ngoài thành phố Hồ Chí Minh. Đa số có biểu hiện 3 triệu chứng lâm sàng chính, chủ yếu nhập viện vì vàng da. Tất cả đều có bất thường gan. Có 2 trường hợp bất

thường thận bao gồm một thận loạn sản đa nang trên siêu âm, một trường hợp suy thận. Điều này khá đặc biệt vì trong nghiên cứu chúng tôi chỉ có 2 trường hợp bất thường thận và cả hai trường hợp này đều tử vong. Đây phải chăng là dấu hiệu tiên lượng tử vong cho trẻ Alagille. Tuy nhiên cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn trước khi kết luận vấn đề này. Trong y văn, hiện tại chúng tôi cũng chưa thấy ghi nhận mối liên quan giữa bất thường thận và tử vong ở trẻ Alagille. Tất cả các chỉ số sinh hóa BTP, BTT, AST, ALT, ALP, GGT, Cholesterol và Triglycerid đều tăng. Trong đó, BTT và GGT tăng rất cao, tăng lần lượt 44 lần, 20 lần so với ngưỡng bình thường. Có 3 trường hợp có đột biến, gồm 2 đột biến vô nghĩa và 1 đột biến sai nghĩa, phân bố trên exon 4, 8 và 10. Tất cả các trường hợp này đều tử vong vì xơ gan giai đoạn cuối, tăng áp cửa. Đây là những trường hợp có chỉ định ghép gan. Theo tác giả Cardona J (1995) nghiên cứu 12 bệnh nhi ALGS được ghép gan, bệnh viện Bicêtre, Pháp cho thấy chất lượng cuộc sống cải thiện đáng kể sau ghép gan ở trẻ ALGS có bệnh gan nặng và có thể thực hiện trước khi trẻ đến tuổi đi học [19]. Đây là hạn chế của nghiên cứu khi tình hình hiện tại bệnh viện chưa thực hiện được ghép gan cho nhóm bệnh nhân có chỉ định nên chúng tôi chưa thể đánh giá được hiệu quả của ghép gan đối với tiên lượng bệnh nhân Alagille. Nhìn chung, đa số các trường hợp tử vong có đặc điểm là thường được phát hiện bệnh muộn, có bất thường thận, BTT tăng rất cao và tử vong vì bệnh lý gan nặng. Điều này cho thấy việc theo dõi diễn tiến bệnh gan là rất quan trọng, mang ý nghĩa quyết định tiên lượng tử vong muộn của trẻ ALGS. So với kết quả nghiên cứu 41 trẻ ALGS của tác giả Ahn KJ (2015), tuổi tử vong của nghiên cứu chúng tôi sớm hơn (20,5 tháng so với 48 tháng). Tuy nhiên, cả hai nghiên cứu đều cho thấy tử vong do các vấn đề liên quan bệnh gan nặng [2].

Những đóng góp mới của nghiên cứu:

- Góp phần nghiên cứu các đặc điểm lâm sàng, đặc điểm cận lâm sàng, đặc điểm di truyền học của trẻ mắc hội chứng Alagille cho y văn thế giới. Từ đó, góp phần chẩn đoán sớm bệnh, giúp chẩn đoán phân biệt các nguyên nhân khác, để từ đó có kế hoạch chăm sóc, theo dõi làm cải thiện tiên lượng bệnh.
- Góp phần tầm soát di truyền cho thân nhân bệnh nhân Alagille.
- Bước đầu xác định mối liên quan kiểu gen - kiểu hình của trẻ mắc hội chứng Alagille.
- Bước đầu phát hiện các yếu tố có liên quan diễn tiến bệnh gan, tiên đoán được khả năng diễn tiến gan nặng và tử vong theo thời gian của trẻ mắc hội chứng Alagille.
- So với nghiên cứu trước đây của tác giả Henry C. Lin và Hoàng Lê Phúc (2012), bệnh nhân hoàn toàn mới, nghiên cứu đã mô tả chi tiết và đầy đủ hơn các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ Alagille Việt Nam. Nghiên cứu đã khắc phục được hạn chế cỡ mẫu, kết quả cho thấy bất thường khuôn mặt có vai trò nhất định trong chẩn đoán bệnh và mở rộng tầm soát di truyền thân nhân bệnh nhân, khảo sát mối liên quan kiểu gen – kiểu hình và bước đầu gợi ý các yếu tố có liên quan tiên lượng bệnh gan của trẻ ALGS Việt Nam.

Hạn chế của nghiên cứu:

- Mẫu nghiên cứu còn tương đối nhỏ.
- Nghiên cứu hàng loạt ca nên chỉ mô tả được phân bố đặc điểm bệnh nhưng không thể kết luận được mối liên hệ nhân quả mặc dù có dựa trên các kiểm định thống kê.
- Nghiên cứu chỉ tiến hành tại một bệnh viện duy nhất là Bệnh viện Nhi Đồng 1, vốn là bệnh viện tuyến cuối nên hầu hết chỉ thu nhận những

trường hợp trễ và nặng. Vì vậy, cần tiến hành các nghiên cứu ở đa dạng các bối cảnh để có cái nhìn tổng quát, đại diện hơn bệnh này tại Việt Nam.

- Chưa nghiên cứu hết các đặc điểm lâm sàng ít gặp như bất thường mạch máu, bất thường tụy, chưa đánh giá dinh dưỡng, phát triển thể chất và tâm thần của trẻ mắc hội chứng Alagille.
- Do hạn chế về tài chính nên chưa thực hiện phân tích đột biến cho trẻ nghi ngờ hội chứng Alagille chỉ có biểu hiện một hay hai triệu chứng lâm sàng chính, chưa làm được xét nghiệm mất đoạn lớn hoặc mất toàn bộ gen bằng kỹ thuật MLPA hay SNP.
- Chưa tầm soát hết đột biến gen cho tất cả thân nhân bệnh nhân.
- Thời gian nghiên cứu chưa đủ dài để thấy rõ tiên lượng lâu dài của trẻ.
- Do bệnh viện chưa thực hiện được ghép gan, phẫu thuật chuyển vị đường mật ra ngoài một phần nên không đánh giá được hiệu quả của hai kỹ thuật này đối với tiên lượng tử vong, cải thiện ngứa ở bệnh nhân Alagille.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 32 trẻ mắc hội chứng Alagille tại bệnh viện Nhi đồng 1, từ tháng 02/2015 đến tháng 12/2018, chúng tôi rút ra các kết luận như sau:

1. Về đặc điểm mẫu nghiên cứu, tuổi trung bình phát hiện bệnh là 6,5 tháng. Nam mắc bệnh nhiều hơn nữ 1,3 lần. Tỷ lệ bệnh nhân đến từ các tỉnh thành phía Nam là 78,1%.

Về đặc điểm lâm sàng, tỷ lệ bệnh nhân nhập viện vì vàng da là 65,6%. Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện 4 triệu chứng lâm sàng chính là 53,1%. Tỷ lệ bất thường gan, bất thường khuôn mặt, bất thường cột sống, bất thường tim, bất thường mắt lần lượt là 96,9%; 87,5%; 78,1%; 75%; 59,4%.

Các chỉ số sinh hóa Cholesterol, ALP, Triglycerid, AST, ALT, BTP, GGT, BTT tăng lần lượt là 1,3; 1,4; 1,4; 3,6; 4,7; 7,5, 21,4; 24,3 lần cao hơn so với ngưỡng bình thường. Tất cả ca siêu âm bụng đều có dấu TC (-).

2. Tỷ lệ phát hiện đột biến gen *JAG1* là 75%. Tỷ lệ kiểu đột biến vô nghĩa là 33%, sai nghĩa là 29%, lệch khung là 21%, cắt nối là 13%, mất đoạn nhỏ là 4%. Đột biến phân bố trên hầu hết các exon. Tỷ lệ tầm soát đột biến *JAG1* thân nhân bệnh nhân có đột biến là 23,5%.

3. Phân tích ban đầu chưa thấy mối liên quan kiểu gen - kiểu hình ở trẻ mắc hội chứng Alagille.

4. Tỷ lệ bệnh gan nặng là 43,7%. Tỷ lệ tử vong là 18,8%. Các yếu tố gợi ý có liên quan diễn tiến bệnh gan nặng là báng bụng, BTP ≥206,75µmol/L và BTT ≥114,35µmol/L. Không có sự khác biệt giữa nhóm có hay không có đột biến gen với xác suất chuyển bệnh gan nặng và tử vong theo thời gian. Tỉ suất ca ALGS chuyển nặng và tử vong mới mắc ở hai nhóm không đột biến và có đột biến lần lượt là 16,8 trên mỗi 100 trẻ ALGS-năm (KTC 95% 5,4 - 52,2) và 19,4 trên mỗi 100 trẻ ALGS-năm (KTC 95% 10,7 – 35,0).

KIẾN NGHỊ

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin kiến nghị:

- Có thể chẩn đoán sớm trẻ mắc hội chứng Alagille dựa vào biểu hiện lâm sàng có bất thường gan, bất thường tim, bất thường mắt, bất thường cột sống và khuôn mặt đặc trưng; cận lâm sàng có chỉ số Bilirubin trực tiếp, GGT tăng cao; di truyền có gen đột biến gây bệnh *JAG1* hoặc *NOTCH2*.
- Cần tiếp tục nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn, ở nhiều trung tâm, thời gian theo dõi lâu hơn để thấy mối liên quan kiểu gen – kiểu hình, để phát hiện các yếu tố góp phần tiên lượng bệnh gan.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ CÓ LIÊN QUAN TỚI ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. Nguyễn Việt Trường, Nguyễn Anh Tuấn, Tạ Văn Trầm (2017), "Mối liên quan giữa kiểu gen - kiểu hình và các yếu tố liên quan đến tiên lượng bệnh gan của trẻ mắc hội chứng Alagille tại Bệnh viện Nhi Đồng 1", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 460 (2), tr. 59-64.

2. Nguyễn Việt Trường, Tạ Văn Trầm, Nguyễn Anh Tuấn (2017), "Đặc điểm của trẻ mắc hội chứng Alagille tại Bệnh viện Nhi Đồng 1", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 460 (2), tr. 200-204.

3. Nguyễn Thế Vinh, Nguyễn Việt Trường, Hoàng Anh Vũ (2018), "Xây dựng quy trình khảo sát đột biến gen *JAG1* trong hội chứng Alagille", *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 22 (2), tr. 40-46.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adams JM, Jafar-Nejad H (2018), "A New Model of Alagille Syndrome with Broad Phenotypic Representation", *Gastroenterology*, 154 (4), 803-806.
2. Ahn KJ, Yoon JK, Kim GB, et al (2015), "Alagille syndrome and a *JAG1* mutation: 41 cases of experience at a single center", *Korean Journal of Pediatrics*, 58 (10), 392-397.
3. Akagi K, Tanaka T, Baba S (2018), "Successful living donor liver transplantation after stent implantation in a patient with Alagille syndrome and severe bilateral pulmonary artery stenosis", *Cardiology in the young*, 28 (12), 1465-1467.
4. Akdur A, Kirnap M, Ayvazoglu Soy Ebru H, et al (2017), "Unusual Indications for a Liver Transplant: A Single-Center Experience", *Experimental and clinical transplantation*, 15 (1), 128-132.
5. Alagille D, Habib EC, Thomassin N (1969), "L'atresie des voies biliaires intrahepatiques avec voies biliaires extrahepatiques permeables chez l'enfant", *Editions Medicales Flammarion, Paris*, 301-318.
6. Alagille D, Odièvre M, Gautier M, et al (1975), "Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental, and sexual development, and cardiac murmur", *The Journal of pediatrics*, 86 (1), 63-71.
7. Alagille D, Estrada A, Hadchouel M, Gautier M, et al (1987), "Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases", *The Journal of pediatrics*, 110 (2), 195-200.
8. Andreas E. Kremer, Ronald P. Oude Elferink, Ulrich Beuers (2011), "Pathophysiology and current management of pruritus in liver disease", *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 35 (2), 89-97.
9. Arnon R, Annunziato R, Miloh T, et al (2010), "Orthotopic liver transplantation for children with Alagille syndrome", *Pediatric transplantation*, 14 (5), 622-8.
10. Arvay JL, Zemel BS, Gallagher PR, et al (2005), "Body composition of children aged 1 to 12 years with biliary atresia or Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 40 (2), 146-50.

11. Baird LC, Smith ER, Ichord R, et al (2015), "Moyamoya syndrome associated with Alagille syndrome: outcome after surgical revascularization", *The Journal of pediatrics*, 166 (2), 470-3.
12. Bales CB, Kamath BM, Munoz PS, et al (2010), "Pathologic lower extremity fractures in children with Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 51 (1), 66-70.
13. Ben Ameur S, Chabchoub I, Telmoudi J, et al (2016), "Management of cholestatic pruritus in children with Alagille syndrome: Case report and literature review", *Archives de Pediatrie*, 23 (12), 1247-1250.
14. Berniczei-Royko A, Chałas R, Mitura I, et al (2014), "Medical and dental management of Alagille syndrome: a review", *Medical science monitor*, 20 (1), 476-80.
15. Berrocal T, Gamo E, Navalón J, et al (1997), "Syndrome of Alagille: radiological and sonographic findings. A review of 37 cases", *European Radiology*, 7 (1), 115-8.
16. Bloomer JR, Boyer JL (1975), "Phenobarbital effects in cholestatic liver diseases", *Annals of internal medicine*, 82 (3), 310-7.
17. Brodsky MC, Cunniff C (1993), "Ocular anomalies in the alagille syndrome (arteriohepatic dysplasia)", *Ophthalmology*, 100 (12), 1767-74.
18. Bucuvalas JC, Horn JA, Carlsson L, et al (1993), "Growth hormone insensitivity associated with elevated circulating growth hormone-binding protein in children with Alagille syndrome and short stature", *The journal of clinical endocrinology and metabolism*, 76 (6), 1477-82.
19. Cardona J, Houssin D, Gauthier F, et al (1995), "Liver transplantation in children with Alagille syndrome--a study of twelve cases", *Transplantation*, 60 (4), 339-42.
20. Carpenter CD, Linscott LL, Leach JL, et al (2018), "Spectrum of cerebral arterial and venous abnormalities in Alagille syndrome", *Pediatric Radiology*, 48 (4), 602-608.
21. Cho JM, Oh SH, Kim HJ, et al (2015), "Clinical features, outcomes, and genetic analysis in Korean children with Alagille syndrome", *Pediatrics international*, 57 (4), 552-7.
22. Chong SK, Lindridge J, Moniz C, et al (1989), "Exocrine pancreatic insufficiency in syndromic paucity of interlobular bile ducts", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 9 (4), 445-9.

23. Christopher M Grochowski, Kathleen M Loomes, Nancy B Spinner (2016), "Jagged1 (JAG1): Structure, expression, and disease associations", *Gene,* 576 (3), 381-4.
24. Cies JJ, Giamalis JN (2007), "Treatment of cholestatic pruritus in children", *American journal of health system pharmacy,* 64 (11), 1157-62.
25. Colliton RP, Bason L, Lu FM, et al (2001), "Mutation analysis of Jagged1 (JAG1) in Alagille syndrome patients", *Human mutation,* 17 (2), 151-2.
26. Couceiro J, Gómez B, Sanmartín M (2016), "Alagille's syndrome associated with proximal radio-ulnar synostosis: Clinical case and a literature review", *Revista Espanola De Cirugia Ortopedica Y Traumatologia,* 60 (1), 81-5.
27. Crosnier C, Driancourt C, Raynaud N, et al (1999), "Mutations in JAGGED1 gene are predominantly sporadic in Alagille syndrome", *Gastroenterology,* 115 (5), 1141-8.
28. Cynamon HA, Andres JM, Iafrate RP (1990), "Rifampin relieves pruritus in children with cholestatic liver disease", *Gastroenterology,* 98 (4), 1013-6.
29. Dahms BB, Petrelli M, Wyllie R, et al (1982), "Arteriohepatic dysplasia in infancy and childhood: a longitudinal study of six patients", *Hepatology,* 2 (3), 350-8.
30. Danks DM, Campbell PE, Jack I, et al (1977), "Studies of the aetiology of neonatal hepatitis and biliary atresia", *Archives of disease in childhood*, 52 (5), 360-367.
31. David W. Smith, John M. Opitz, Stanley L. Inhorn, et al (1965), "A syndrome of multiple developmental defects including polycystic kidneys and intrahepatic biliary dysgenesis in 2 siblings", *The journal of pediatrics*, 67 (4), 617-624.
32. Den Dunnen JT, Antonarakis SE (2000), "Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion", *Human mutation,* 15 (1), 7-12.
33. Deprettere A, Portmann B, Mowat AP, et al (1987), "Syndromic paucity of the intrahepatic bile ducts: diagnostic difficulty; severe morbidity throughout early childhood", *Journal pediatric gastroenterology nutrition,* 6 (6), 865-871.
34. Durray Shahwar Khan, Antonia Dastamani, Hannah Antell, et al (2018), "Congenital Hyperinsulinism in a Child with Alagille Syndrome", *European society for paediatric endocrinology*, 89 (1), 2-107.

35. El-Karaksy H, Hamed D, Fouad H, et al (2017), "Ocular findings in patients with cholestatic disorders of infancy: A single-centre experience", *Arab journal of gastroenterology,* 18 (2), 108-113.
36. Eldadah ZA, Hamosh A, Biery NJ, et al (2001), "Familial Tetralogy of Fallot caused by mutation in the Jagged1 gene", *Human molcular genetics,* 10 (2), 163-169.
37. Emerick KM, Rand EB, Goldmuntz E, et al (1999), "Features of Alagille syndrome in 92 patients: frequency and relation to prognosis", *Hepatology,* 29 (3), 822-829.
38. Emerick KM, Whitington PF (2002), "Partial external biliary diversion for intractable pruritus and xanthomas in Alagille syndrome", *Hepatology,* 35 (6), 1501-6.
39. Emerick KM, Krantz ID, Kamath BM, et al (2005), "Intracranial vascular abnormalities in patients with Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 41 (1), 99-107.
40. Emma RA, Indira VC, Simona H, et al (2018), "Mouse Model of Alagille Syndrome and Mechanisms of Jagged1 Missense Mutations", *Gastroenterology,* 154 (4), 1080–1095.
41. Fattouh AM, Mogahed EA, Abdel Hamid N, et al (2016), "The prevalence of congenital heart defects in infants with cholestatic disorders of infancy: a single-centre study", *Archives of Disease in Childhood,* 101 (9), 803-7.
42. Fujishiro J, Suzuki K, Watanabe M, et al (2018), "Outcomes of Alagille syndrome following the Kasai operation: a systematic review and meta-analysis", *Pediatric surgery international,* 34 (10), 1073-1077.
43. Giannakudis J, Ropke A, Kujat A, et al (2001), "Paternal mosaicism of JAG1 mutations in families with Alagille syndrome", *European Journal Human Genetics,* 9 (3), 209-216.
44. Gliwicz D, Jankowska I, Wierzbicka A, et al (2016), "Exocrine pancreatic function in children with Alagille syndrome", *Scientific Reports,* 6, 35229.
45. Gómez-Moyano E, Casaño AV, López VM, et al (2014), "Erythropoietic protoporphyria-like scars and xanthomas in a child with Alagille syndrome", *International journal of dermatology,* 53 (2), e112-4.
46. Gordon WR, Vardar-Ulu D, Histen G, et al (2007), "Structural basis for autoinhibition of Notch", *Nature strutural & molecular biology,* 14 (4), 295-300.

47. Gregorio G V, Ball C S, Mowat A P, et al (1993), "Effect of rifampicin in the treatment of pruritus in hepatic cholestasis", *Archives of Disease in Childhood*, 69 (1), 141–143.
48. Gridley T (2003), "Notch signaling and inherited disease syndromes", *Human molcular genetics*, 12 (1), 9-13.
49. Guegan K, Stals K, Day M, et al (2012), "JAG1 mutations are found in approximately one third of patients presenting with only one or two clinical features of Alagille syndrome", *Clinical genetics*, 82 (1), 33-40.
50. Han S, Jeon TY, Hwang SM, et al (2017), "Imaging findings of Alagille syndrome in young infants: differentiation from biliary atresia", *The British journal of radiology*, 90 (1077), 20170406.
51. Hashida Y, Yunis EJ (1988), "Syndromatic paucity of interlobular bile ducts: hepatic histopathology of the early and endstage liver", *Pediatric pathology*, 8 (1), 1-15.
52. Hedjoudje A, Torre S, Bekri S, et al (2017), "Zellweger syndrome", *Archives de Pediatrie*, 24 (7), 689-691.
53. Hegade VS, Kendrick SF, Rehman J, et al (2015), "Itch and liver: management in primary care", *The British journal of general practice*, 65 (635), 418-20.
54. Heritage ML, MacMillan JC, Anderson GJ (2002), "DHPLC mutation analysis of Jagged1 (JAG1) reveals six novel mutations in Australian alagille syndrome patients", *Human mutation*, 20 (6), 481.
55. Hingorani M, Nischal KK, Davies A, et al (1999), "Ocular abnormalities in Alagille syndrome", *Ophthalmology*, 106 (2), 330-7.
56. Hoffenberg EJ, Narkewicz MR, Sondheimer JM, et al (1995), "Outcome of syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome) with onset of cholestasis in infancy", *The Journal of pediatrics*, 127 (2), 220-4.
57. Hrusca A, Rachisan AL, Lucian B, et al (2015), "Ivemark syndrome-a rare entity with specific anatomical features", *Revista Medica de Chile*, 143 (3), 383-6.
58. Hwang SM, Jeon TY, Yoo SY, et al (2016), "Alagille Syndrome Candidates for Liver Transplantation: Differentiation from End-Stage Biliary Atresia Using Preoperative CT", *PLoS ONE*, 11 (2), e0149681.
59. Hyun-Hae Cho, Woo Sun Kim, Young Hun Choi, et al (2016), "Ultrasonography evaluation of infants with Alagille syndrome: In comparison with biliary atresia and neonatal hepatitis", *European journal of radiology*, 85 (6), 1045–1052.

60. Jurkiewicz D, Popowska E, Gläser C, et al (2005), "Twelve novel JAG1 gene mutations in Polish Alagille syndrome patients", *Human mutation,* 25 (3), 321.
61. Jurkiewicz D, Gliwicz D, Ciara E, et al (2014), "Spectrum of JAG1 gene mutations in Polish patients with Alagille syndrome", *Journal of applied genetics,* 55 (3), 329-336.
62. Kahn E (1991), "Paucity of interlobular bile ducts. Arteriohepatic dysplasia and nonsyndromic duct paucity", *Perspectives in pediatric pathology,* 14, 168-215.
63. Kamath BM, Loomes KM, Oakey RJ, et al (2002), "Facial features in Alagille syndrome: Specific or Alagille syndrome", *American journal of medical genetics,* 112 (2), 163-170.
64. Kamath BM, Stolle C, Bason L, et al (2002), "Craniosynostosis in Alagille syndrome", *American journal of medical genetics,* 112 (2), 176-80.
65. Kamath BM, Bason L, Piccoli DA, et al (2003), "Consequences of JAG1 mutations", *Journal of medical genetics,* 40 (12), 891-5.
66. Kamath BM, Spinner NB, Emerick KM, et al (2004), "Vascular anomalies in Alagille syndrome: a significant cause of morbidity and mortality", *Circulation,* 109 (11), 1354-8.
67. Kamath BM, Thiel BD, Gai X, et al (2009), "SNP array mapping of chromosome 20p deletions: genotypes, phenotypes, and copy number variation", *Human mutation,* 30 (3), 371-378.
68. Kamath BM, Schwarz KB, Hadzic N (2010), "Alagille syndrome and liver transplantation", *Journal of Pediatric Gastroenterol and Nutrition,* 50 (1), 11-5.
69. Kamath BM, Munoz PS, Bab N, et al (2010), "A longitudinal study to identify laboratory predictors of liver disease outcome in Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 50 (5), 526-530.
70. Kamath BM, Podkameni G, Hutchinson AL, et al (2012), "Renal anomalies in Alagille syndrome: A disease-defining feature", *American Journal of Medical Genetics,* 158 (A), 85–89.
71. Kamath BM, Chen Z, Romero R, et al (2015), "Quality of Life and Its Determinants in a Multicenter Cohort of Children with Alagille Syndrome", *The Journal of pediatrics,* 167 (2), 390-6.

72. Kamath BM (2016), "Alagille Syndrome", *Textbook of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: A Comprehensive Guide to Practice*, 671-679.
73. Kamath BM, Alastair Baker, Roderick Houwen, et al (2018), "Systematic Review: The Epidemiology, Natural History, and Burden of Alagille Syndrome", *Journal pediatric gastroenterology nutrition*, 67 (2), 148–156.
74. Kardorff R, Melter M, Rodeck B, et al (1996), "Long-term ursodeoxycholic acid treatment of cholestatic liver diseases in childhood--clinical and biochemical effects". *Klinische Padiatrie*, 208 (3), 118-22.
75. Kasahara M, Kiuchi T, Inomata Y, et al (2003), "Living-related liver transplantation for Alagille syndrome", *Transplantation*, 75 (12), 2147-50.
76. Kaye AJ, Rand EB, Munoz PS, et al (2010), "Effect of Kasai procedure on hepatic outcome in Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 51 (3), 319-321.
77. Krantz ID, Piccoli DA, Spinner NB (1997), "Alagille syndrome", *Journal of medical genetics*, 34 (2), 152-7.
78. Krantz ID, Colliton RP, Genin A, et al (1998), "Spectrum and frequency of Jagged1 (JAG1) mutations in Alagille syndrome patients and their families", *American journal of human genetics*, 62 (6), 1361-9.
79. Krantz ID, Smith R, Colliton RP, et al (1999), "Jagged1 mutations in patients ascertained with isolated congenital heart defects", *American journal of medical genetics*, 84 (1), 56-60.
80. Kremer AE, Gonzales E, Schaap FG, et al (2016), "Serum Autotaxin Activity Correlates With Pruritus in Pediatric Cholestatic Disorders", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 62 (4), 530-5.
81. Kronsten V, Fitzpatrick E, Baker A (2013), "Management of cholestatic pruritus in paediatric patients with alagille syndrome: the King's College Hospital experience", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 57 (2), 149-54.
82. Laufer-Cahana A, Krantz ID, Bason LD, et al (2002), "Alagille syndrome inherited from a phenotypically normal mother with a mosaic 20p microdeletion", *American journal of medical genetics* 112 (2), 190-3.
83. Le Caignec C, Lefevre M, Schott JJ, et al (2002), "Familial deafness, congenital heart defects, and posterior embryotoxon caused by cysteine substitution in the first epidermal-growth-factor-like domain of Jagged 1", *American journal of human genetics*, 71 (1), 180-6.

84. Lee HJ, Lee SM, Park WH, et al (2003), "Objective criteria of triangular cord sign in biliary atresia on US scans", *Radiology,* 229 (2), 395-400.
85. Lee HP, Kang B, Choi SY, et al (2015), "Outcome of Alagille Syndrome Patients Who Had Previously Received Kasai Operation during Infancy: A Single Center Study", *Pediatric gastroenteroly, hepatology & nutrition*, 18 (3), 175-9.
86. Li L, Krantz ID, Deng Y, et al (1997), " Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1", *Nature genetics,* 16 (3), 243-251.
87. Li L, Dong J, Wang X, et al (2015), "JAG1 Mutation Spectrum and Origin in Chinese Children with Clinical Features of Alagille Syndrome", *PLoS ONE* 10 (6), e0130355.
88. Libbrecht L, Cassiman D, Desmet V, et al (2002), "The correlation between portal myofibroblasts and development of intrahepatic bile ducts and arterial branches in human liver", *Liver,* 22 (3), 252-258.
89. Lin HC, Le Hoang P, Hutchinson A, et al (2012), "Alagille syndrome in a Vietnamese cohort: mutation analysis and assessment of facial features", *American journal of human genetics,* 158A (5), 1005-13.
90. Liu Y, Wang H, Dong C, et al (2018), "Clinical Features and Genetic Analysis of Pediatric Patients with Alagille Syndrome Presenting Initially with Liver Function Abnormalities", *Current medical science,* 38 (2), 304-309.
91. Lykavieris P, Hadchouel M, Chardot C, et al (2001), "Outcome of liver disease in children with Alagille syndrome: a study of 163 patients", *Gut,* 49 (3), 431-5.
92. Mattei P, Von Allmen D, Piccoli D, et al (2006), "Relief of intractable pruritus in Alagille syndrome by partial external biliary diversion", *Journal of pediatric surgery,* 41 (1), 104-7.
93. McDaniell R, Warthen DM, Sanchez-Lara PA, et al (2006), "NOTCH2 mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the Notch signaling pathway", *American journal of human genetics,* 79 (1), 169-173.
94. McDonald-McGinn DM, Kirschner R, Goldmuntz E, et al (1999), "The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients", *Genetic Counseling,* 10 (1), 11-24.
95. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE (2011), "Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome)", *Medicine,* 90 (1), 1-18.

96. McElhinney DB, Krantz ID, Bason L, et al (2002), "Analysis of cardiovascular phenotype and genotype-phenotype correlation in individuals with a JAG1 mutation and/or Alagille syndrome", *Circulation,* 106 (20), 2567-74.
97. Morris CA, Thomas IT, Greenberg F (1993), "Williams syndrome: autosomal dominant inheritance", *American journal of human genetics,* 47 (4), 478-81.
98. Mouzaki M, Bass LM, Sokol RJ, et al (2015), "Early Life Predictive Markers of Liver Disease Outcome in an International, Multi-Center Cohort of Children with Alagille Syndrome", *Liver international,* 36 (5), 755-760.
99. Murray KF, Carithers RL (2005), "AASLD practice guidelines: Evaluation of the patient for liver transplantation", *Hepatology,* 41 (6), 1407-32.
100. Narro-Donate JM, Méndez-Román P, Huete-Allut A, et al (2018), "Anterior Unilateral Plagiocephaly in Patient with Alagille Syndrome: Case Report", *World Neurosurgery,* 114 (1), 37-42.
101. Nischal KK, Hingorani M, Bentley CR, et al (1997), "Ocular ultrasound in Alagille syndrome: a new sign", *Ophthalmology,* 104 (1), 79-85.
102. Oda T, Elkahloun AG, Pike BL, et al (1997), "Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome", *Nature genetics,* 16 (3), 235-242.
103. Olsen IE, Ittenbach RF, Rovner AJ, et al (2005), "Deficits in size-adjusted bone mass in children with Alagille syndrome", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 40 (1), 76-82.
104. Pacheco MC, Monroe EJ, Horslen SP (2018), "Hepatic Adenoma Arising in a Patient With Alagille Syndrome: A Case Report", 21 (6), 585-589.
105. Pati GK, Singh A, Nath P, et al (2016), "A 10-year-old child presenting with syndromic paucity of bile ducts (Alagille syndrome): a case report", *Journal of medical case reports,* 10 (1), 342.
106. Penton AL, Leonard LD, Spinner NB (2012), "Notch signaling in human development and disease", *Seminars in cell & developmental biology,* 23 (4), 450-7.
107. Pietro Vajro, Lorenza Ferrante, Giulia Paolella (2012), "Alagille syndrome: An overview", *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology,* 36 (1), 275-277.
108. Pilia G, Uda M, Macis D, et al (1999), "Jagged-1 mutation analysis in Italian Alagille syndrome patients", *Human mutation,* 14 (5), 394-400.

109. Rebecca Loman Quinn Stein, Taylor Zuck (2018), "Genetic Counseling in Pediatrics", *Pediatrics in Review*, 39 (7), 323-329.
110. Ramachandran P, Shanmugam NP, Sinani SA, et al (2014), "Outcome of partial internal biliary diversion for intractable pruritus in children with cholestatic liver disease", *Pediatric surgery international*, 30 (10), 1045-9.
111. Riely CA, Cotlier E, Jensen PS, et al (1979), "Arteriohepatic dysplasia: a benign syndrome of intrahepatic cholestasis with multiple organ involvement", *Annals of internal medicine*, 91 (4), 520-7.
112. Robert ML, Lopez T, Crolla J, et al (2007), "Alagille syndrome with deletion 20p12.2-p12.3 and hypoplastic left heart", *Clinical Dysmorphology*, 16 (4), 241-6.
113. Rodriguez RM, Feinstein JA, Chan FP (2016), "CT-defined phenotype of pulmonary artery stenoses in Alagille syndrome", *Pediatric Radiology*, 46 (8), 1120-7.
114. Röpke A, Kujat A, Gräber M, et al (2003), "Identification of 36 novel Jagged1 (JAG1) mutations in patients with Alagille syndrome", *Human mutation*, 21 (1), 100.
115. Ryan RS, Myckatyn SO, Reid GD, et al (2003), "Alagille syndrome: case report with bilateral radio-ulnar synostosis and a literature review", *Skeletal Radiology*, 32 (8), 489-91.
116. Saleh Maha, Kamath BM, Chitayat David (2016), "Alagille syndrome: clinical perspectives", *Application of clinical genetics*, 9, 75-82.
117. Sanada Y, Naya I, Katano T, et al (2019), "Visceral artery anomalies in patients with Alagille syndrome", *Pediatric transplantation*, 23 (2), e13352.
118. Sanderson E, Newman V, Haigh SF, et al (2002), "Vertebral anomalies in children with Alagille syndrome: an analysis of 50 consecutive patients", *Pediatric Radiology*, 32 (2), 114-9.
119. Sarah Dyack, Marianne Cameron, Anthony Otley, et al (2007), "An autosomal recessive form of Alagille-like syndrome that is not linked to JAG1", *Genetics in Medicine*, 9 (1), 544-550.
120. Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Ponziani FR, et al (2013), "Use and indications of cholestyramine and bile acid sequestrants", *Internal and emergency medicine*, 8 (3), 205-10.
121. Schaefer B, Schaefer F, Wittmer D, et al (2012), "Molecular Adsorbents Recirculating System dialysis in children with cholestatic pruritus", *Pediatric nephrology*, 27 (5), 829-34.

122. Silberbach M, Lashley BA, Reller MD, et al (1994), "Arteriohepatic dysplasia and cardiovascular malformations", *American heart journal* 127 (3), 695-9.
123. Sokol RJ, Heubi JE, Balistreri WF (1983), "Intrahepatic 'cholestasis facies': is it specific for Alagille syndrome", *The Journal of pediatrics,* 103 (2), 205-208.
124. Spinner NB, Colliton RP, Crosnier C, et al (2001), "Jagged1 mutations in alagille syndrome", *Human mutation,* 17 (1), 18-33.
125. Stiehl A, Thaler MM, Admirand WH (1973), "Effects of phenobarbital on bile salt metabolism in cholestasis due to intrahepatic bile duct hypoplasia", *Pediatrics,* 51 (6), 992-7.
126. Subramaniam P, Knisely A, Portmann B, et al (2011), "Diagnosis of Alagille syndrome-25 years of experience at King's College Hospital", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 52 (1), 84-9.
127. Thébaut A, Habes D, Gottrand F, et al (2017), "Sertraline as an Additional Treatment for Cholestatic Pruritus in Children", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition,* 64 (3), 431-435.
128. Turnpenny PD, Alman B, Cornier AS, et al (2007), "Abnormal vertebral segmentation and the notch signaling pathway in man", *Developmental Dynamics,* 236 (6), 1456-74.
129. Turnpenny PD, Ellard S (2012), "Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management", *European Journal Human Genetics,* 20 (3), 251-257.
130. Wang KS, Tiao G, Bass LM, et al (2017), "Analysis of surgical interruption of the enterohepatic circulation as a treatment for pediatric cholestasis", *Hepatology,* 65 (5), 1645-1654.
131. Warthen DM, Moore EC, Kamath BM, et al (2006), "Jagged1 (JAG1) mutations in Alagille syndrome: increasing the mutation detection rate", *Human mutation,* 27 (5), 436-43.
132. Watson GH, Miller V, et al (1973), "Arterio-hepatic dysplasia. Familial pulmonary arterial stenosis with neonatal liver diseases", *Archives of Disease Childhood,* 48 (6), 459-466.
133. Whitington PF, Whitington GL (1988), "Partial external diversion of bile for the treatment of intractable pruritus associated with intrahepatic cholestasis", *Gastroenterology,* 95 (1), 130-6.

134. William E. Tidyman, Katherine A. Rauen (2009), "The RASopathies: Developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation", *Current Opinion in Genetics & Development*, 19 (3), 230–236.
135. Wolfhagen FH, Sternieri E, Hop WC, et al (1997), "Oral naltrexone treatment for cholestatic pruritus: a double-blind, placebo-controlled study", *Gastroenterology*, 113 (4), 1264-9.
136. Yerushalmi B, Sokol RJ, Narkewicz MR, et al (1999), "Use of rifampin for severe pruritus in children with chronic cholestasis", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 29 (4), 442-7.
137. Yilmaz S, Turhan T, Mutluer S, et al (2013), "The association of Alagille syndrome and craniosynostosis", *Pediatric neurology*, 48 (2), 146-8.
138. Zellos A, Roy A, Schwarz KB (1998), "Use of oral Naltrexone for severe pruritus due to cholestatic liver disease in children", *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 27 (4), 469.
139. Zemel BS (2017), "Influence of complex childhood diseases on variation in growth and skeletal development", *American journal of human biology*, 29 (2), 1-11.

PHỤ LỤC 1

BẢNG THU THẬP SỐ LIỆU

I. HÀNH CHÁNH:

- Số hồ sơ: ……..
- Họ tên bệnh nhân:……
- Năm sinh:…… … Nam / Nữ: …… .
- Địa chỉ: ……
- Cha: …….Nghề nghiệp:……..
- Mẹ: ……Nghề nghiệp:……
- Số điện thoại liên lạc:…… …….. . .

II. LÝ DO NHẬP VIỆN:

III. LÂM SÀNG:

Đặc điểm	**Mô tả**	**Ghi chú**
Vàng da		
Gan to		
Bất thường tim mạch		
Bất thường hệ xương		
Bất thường mắt		
Nét mặt đặc trưng		
Các bất thường khác		

IV. CẬN LÂM SÀNG:

Đặc điểm	**Mô tả**	**Ghi chú**
Siêu âm tim		
Siêu âm bụng		
AST		
ALT		
BILIRUBIN TP		
BILIRUBIN TT		
ALP		
GGT		
CHOLESTEROL		
TRYGLYCERID		
URE		
CREATININ		
XQ CỘT SỐNG		

V. KẾT QUẢ DI TRUYỀN:

VI. KẾT QUẢ SINH THIẾT:

VII. KẾT QUẢ THEO DÕI NGOẠI TRÚ:

Đặc điểm	Ngày	Ngày	Ngày	Ngày	Ngày
Vàng da					
Gan to					
Bất thường tim mạch					
Bất thường hệ xương					

Bất thường mắt					
Nét mặt đặc trưng					
Các bất thường khác					

Đặc điểm	Ngày	Ngày	Ngày	Ngày	Ngày
Siêu âm tim					
ECG					
Siêu âm bụng					
AST					
ALT					
BILIRUBIN TP					
BILIRUBIN TT					
ALP					
GGT					
CHOLESTEROL					
TRYGLYCERID					
XQ CỘT SỐNG					

VIII. CÁC LẦN NHẬP VIỆN:

IX. HÌNH ẢNH:

PHỤ LỤC 2

BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tên nghiên cứu: Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille tại bệnh viện Nhi Đồng 1

Nghiên cứu viên chính: Nguyễn Việt Trường

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

Mục đích và tiến hành nghiên cứu

• Nghiên cứu được tiến hành vì

1. Xác định tỷ lệ các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille.
2. Xác định tỷ lệ các đặc điểm đột biến gen của trẻ mắc hội chứng Alagille.
3. Xác định mối liên quan giữa kiểu gen với kiểu hình của trẻ mắc hội chứng Alagille.
4. Xác định các yếu tố liên quan diễn tiến bệnh gan của trẻ mắc hội chứng Alagille.

• Nghiên cứu sẽ được tiến hành như sau: trẻ được thăm khám nếu có đủ 3/5 triệu chứng lâm sàng chính của hội chứng Alagille sẽ được chọn. Sau đó, trẻ sẽ được lấy 1ml máu làm xét nghiệm di truyền học tại đơn vị Sinh học phân tử Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Khoảng thời gian tiến hành: tháng 5/2016 - 5/2018

Tiêu chí đưa vào:

- Tất cả trẻ nhập bệnh viện Nhi Đồng 1 có 3/5 triệu chứng lâm sàng chính của hội chứng Alagille.

- Cha/ mẹ/người giám hộ đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Thân nhân đồng ý tầm soát xét nghiệm di truyền.

Tiêu chí loại ra:

- Cha/ mẹ/người giám hộ trả lời không đầy đủ thông tin.
- Không đủ tiêu chuẩn lâm sàng.
- Trẻ đã xác định nguyên nhân khác, được chẩn đoán ALGS trước đó.
- Thân nhân không đồng ý tầm soát.

Những lợi ích có thể có đối với người tham gia:

- Chẩn đoán xác định trẻ mắc hội chứng Alagille
- Tham vấn di truyền cho các thành viên trong gia đình
- Người tham gia được làm xét nghiệm di truyền miễn phí

Bất lợi:

- Có thể gây đau, nhiễm trùng tại chổ khi lấy máu xét nghiệm nhưng có thể kiểm soát được bằng cách chọn kỹ thuật viên lấy máu có kinh nghiệm chuyên về nhi.

Những khoản sẽ được chi trả trong nghiên cứu: người tham gia sẽ không được trả tiền bồi dưỡng, thù lao nào khác ngoại trừ kinh phí xét nghiệm di truyền do nghiên cứu viên chi trả.

Người liên hệ

• Họ tên, số điện thoại người liên hệ: BS. Nguyễn Việt Trường (0906462926)

Sự tự nguyện tham gia

• Người tham gia được quyền tự quyết định, không hề bị ép buộc tham gia.

• Người tham gia có thể rút lui ở bất kỳ thời điểm nào mà không bị ảnh hưởng gì đến việc điều trị/chăm sóc mà họ đáng được hưởng.

Tính bảo mật

• Tên của trẻ và cha mẹ, người giám hộ sẽ được mã hóa. Kết quả xét nghiệm được tư vấn bởi nghiên cứu viên.

II. CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tôi đã đọc và hiểu thông tin trên đây, đã có cơ hội xem xét và đặt câu hỏi về thông tin liên quan đến nội dung trong nghiên cứu này. Tôi đã nói chuyện trực tiếp với nghiên cứu viên và được trả lời thỏa đáng tất cả các câu hỏi. Tôi nhận một bản sao của Bản thông tin cho đối tượng nghiên cứu và chấp thuận tham gia nghiên cứu này. Tôi tự nguyện đồng ý tham gia.

Chữ ký của cha/mẹ/ người giám hộ trẻ:

Họ tên_____ Chữ ký_____

Ngày tháng năm_____

Chữ ký của Nghiên cứu viên/người lấy chấp thuận:

Tôi, người ký tên dưới đây, xác nhận rằng cha/mẹ/ người giám hộ trẻ tham gia nghiên cứu ký bản chấp thuận đã đọc toàn bộ bản thông tin trên đây, các thông tin này đã được giải thích cặn kẽ cho Ông/Bà và Ông/Bà đã hiểu rõ bản chất, các nguy cơ và lợi ích của việc Ông/Bà tham gia vào nghiên cứu này.

Họ tên _____ Chữ ký_____

Ngày tháng năm_____

PHỤ LỤC 3

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH DI TRUYỀN HỌC

STT	Mã BN	Đột biến
1.	ALA-1	p.Leu37Ser - Ex2 - heterozygous
2.	ALA-2	p.R184C (pathogenic) - Ex4 - heterozygous
3.	ALA-3	p.R184H (pathogenic) - Ex4 - heterozygous
4.	ALA-4	IVS10-1G>T
5.	ALA-5	p.W442X (pathogenic) - Ex10 - heterozygous
6.	ALA-6	p.R184C (pathogenic) - Ex4 - heterozygous
7.	ALA-8	c.839G>A (p.W280X) - Ex6 - heterozygous
8.	ALA-9	c.1914T>A (p.C638X) - Ex15 - heterozygous
9.	ALA-10	c.590delA - Ex4 - heterozygous
10.	ALA-11	c.551G>A (p.R184H) - Ex4 - heterozygous
11.	ALA-12	c.2419G>T (p.E807X) - Ex20 - heterozygous
12.	ALA-14	g.29114-29115delAT - Ex18 - heterozygous
13.	ALA-15	c3031G>T (p.E1011X) - Ex24 - heterozygous
14.	ALA-18	c.1022-1023delTC (p.L342X) - Ex8
15.	ALA-20	c.247C>T (p.Q83X) - Ex2 - heterozygous
16.	ALA-21	c.2271-2272insGG - Ex18 - heterozygous
17.	ALA-22	c.1456-1457insA - Ex12 - heterozygous
18.	ALA-24	c.2473C>T (p.Q825X)-Ex21– heterozygous (pathogenic)
19.	ALA-25	c.550C>T (p.R184C) - (pathogenic) - Ex4 - heterozygous
20.	ALA-26	c.1156G>A (p.G386R) - rs863223650 (pathogenic) - Ex9
21.	ALA-27	IVS8-12C>T (heterozygous)
22.	ALA-28	IVS23+1 G>A (heterozygous)
23.	ALA-29	c.2422-2423insG - Ex20 - heterozygous
24.	ALA-32	p.del D692-C693 - Ex16 - heterozygous

PHỤ LỤC 4

Trình tự 19 cặp mồi sử dụng khuếch đại 26 exon gen *JAG1* và thông số

STT	Mồi xuôi (5'-3')		Mồi ngược (5'-3')		Kích thước sản phẩm (bp)	Vùng exon khuếch đại
	Tên mồi	Trình tự	Tên mồi	Trình tự		
1	*JAG1*_g1F	gaaagccgggaggtggaaga	*JAG1*_g1R	gtgcggaagaaatccgacga	615	1
2	*JAG1*_g2F	Gtcgccacctctatactcga	*JAG1*_g2R	aatccctctcgcaagggata	458	2
3	*JAG1*_g3F	Attttggaaagtcgaccctg	*JAG1*_g3R	gatccagctccaactggttg	184	3
4	*JAG1*_g4F	Gccaaaatggtcagggaaga	*JAG1*_g4R	tgctggtggggtgataaatg	389	4
5	*JAG1*_g5F	Tgcaatgggccattctcatg	*JAG1*_g5R	gaggcatagtcacaataaag	221	5
6	*JAG1*_g6F	Tgtacaggtgtctcttaacg	*JAG1*_g7R	gctgagtacagaaaaattag	580	6,7
7	*JAG1*_g8F	Tgtggtgtgggattcggttg	*JAG1*_g8R	acactggacaagcctaggta	288	8
8	*JAG1*_g9F	Agcccctcatgtaagaggtg	*JAG1*_g9R	ggctttgacaatcaaagcca	262	9
9	*JAG1*_g10F	Gagatgggggttgaacttca	*JAG1*_g11R	agctctcctagtgtcgcaca	702	10,11
10	*JAG1*_g12F	Tgaagccctgtgtttgtgga	*JAG1*_g12R	ggaaattccagacacaagag	345	12
11	*JAG1*_g13F	Ccagagaagttatcgtgaca	*JAG1*_g13R	gtagtaagtggggacaaaag	286	13

12	*JAG1*_g14F	Taggaatgccgcatctgtgg	*JAG1*_g14R	ttcaacaccaatgatcccag	318	14
13	*JAG1*_g15F	Gggagccatgaaaactgctg	*JAG1*_g15R	gttgaagtgggatccctcca	264	15
14	*JAG1*_g16F	Gtgaatggtcctggatctcg	*JAG1*_g18R	tgtcaggatctgctccgaca	713	16, 17, 18
15	*JAG1*_g19F	Aagaccgctttccctgttga	*JAG1*_g20R	gtgaggcatggaatgaagcg	719	19, 20
16	*JAG1*_g21F	Tctcaaaacattgccacaca	*JAG1*_g21R	aagtcaaatggtgactgcaa	241	21
17	*JAG1*_g22F	Ttgaaccccgatccggttca	*JAG1*_g23R	agcaagcaagcagacatcca	543	22, 23
18	*JAG1*_g24F	Gccttttgttcttcctctca	*JAG1*_g25R	gataatccctcgacctgatg	606	24, 25
19	*JAG1*_g26F	Tttctttctttcttggagag	*JAG1*_c8R	taaagaactacaagccctca	559	26

PHỤ LỤC 5

DANH SÁCH BỆNH NHÂN THAM GIA NGHIÊN CỨU

STT	SỐ HỒ SƠ	TÊN BỆNH NHÂN	NĂM SINH
1.	270473/12	NGÔ HỮU M	01/04/2012
2.	177745/11	NGÔ MINH T	11/10/2006
3.	274687/11	PHẠM NGUYỄN TRIỆU T	28/03/2011
4.	440057/15	PHẠM TRẦN BẢO A	06/07/2015
5.	504027/11	NGUYỄN KIM A	28/09/2011
6.	592880/13	TRẦN HẢI P	15/10/2005
7.	215337/15	NGUYỄN ĐỨC A	15/01/2016
8.	49613/08	NGUYỄN NGỌC TRÀ M	01/01/2008
9.	104166/16	LÝ NGỌC H	20/10/2015
10.	7926/15	TRẦN THANH BẢO H	06/11/2014
11.	302388/13	CAO TẤN L	01/05/2003
12.	449755/14	NGUYỄN THANH L	14/07/2014
13.	N2141205249	NGUYỄN HUY L	25/03/2014
14.	245273/14	HỒ BẢO C	07/12/2013
15.	134765/13	LÊ TRẦN THANH T	22/04/2012
16.	245352/16	TRẦN TUẤN V	19/10/2006
17.	133152/16	TRẦN THỊ ÁNH D	07/09/2015
18.	474716/13	PHẠM VĂN K	10/03/2011
19.	523652/13	NGUYỄN HOÀNG G	08/01/2008
20.	56734/17	NGUYỄN VĨNH THANH D	01/01/2002

21.	7266/17	HUỲNH QUỐC V	01/03/2004
22.	639185/16	BÙI NGUYỄN PHƯƠNG HỒNG N	31/10/2016
23.	399472/16	PHAN NGUYỄN TUẤN H	31/10/2007
24.	71798/17	VÕ THANH P	14/03/2015
25.	604050/16	NGUYỄN ĐẠI P	22/09/2016
26.	113506/17	PHẠM HUỲNH GIA B	17/01/2017
27.	13917/17	VŨ VÕ NGỌC L	23/11/2016
28.	243096/17	NGÔ ANH Đ	01/01/2006
29.	591569/12	LÊ NGỌC T	27/09/2017
30.	497250/15	LÊ BÙI MINH Đ	23/03/2015
31.	543267/17	TRẦN TÚ A	09/07/2017
32.	122900/17	NGUYỄN HOÀNG QUANG V	07/02/2017

TP. Hồ Chí Minh, ngày tháng năm 2019

Xác nhận của Bệnh viện Nhi Đồng 1

PHÓ GIÁM ĐỐC

BỆNH VIỆN NHI ĐỒNG 1 THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Ngô Ngọc Quang Minh

PHỤ LỤC 6

BỘ Y TẾ
ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HỒ CHÍ MINH

HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NCYSH

Số: 222 /ĐHYD-HĐ
V/v chấp thuận các vấn đề đạo đức NCYSH

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

TP Hồ Chí Minh, ngày 19 tháng 7 năm 2016

CHẤP THUẬN (CHO PHÉP) CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HỒ CHÍ MINH

Căn cứ quyết định số 1863/QĐ-BYT ngày 27 tháng 5 năm 2009 của Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;

Căn cứ quyết định số 5129/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2002 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế về tổ chức và hoạt động của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Căn cứ Quyết định số 1238/QĐ-ĐHYD-TC ngày 18 tháng 5 năm 2016 của Hiệu trưởng Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh về việc thành lập Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Trên cơ sở xem xét của thường trực Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược ngày 19/7/2016,

Nay Hội đồng đạo đức **chấp thuận (cho phép)** về các khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu đối với đề tài:

- Tên đề tài: *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ mắc hội chứng Alagille tại bệnh viện Nhi Đồng 1.*
- Mã số: 16174 - ĐHYD
- Chủ nhiệm đề tài: *Nguyễn Việt Trường - Nghiên cứu sinh*
- Đơn vị chủ trì: *Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.*
- Địa điểm triển khai nghiên cứu: *Bệnh viện Nhi Đồng 1.*
- Thời gian tiến hành nghiên cứu: từ *tháng 5/2016* đến *tháng 5/2018.*
- Phương thức xét duyệt: *Qui trình rút gọn.*

Ngày chấp thuận (cho phép): *Ngày 19/7/2016.*

Lưu ý: **HĐĐĐ có thể kiểm tra ngẫu nhiên trong thời gian tiến hành nghiên cứu**

TM. HỘI ĐỒNG
KT. Chủ tịch Hội đồng
Thường trực Hội đồng

PHÓ HIỆU TRƯỞNG

PGS.TS. Đỗ Văn Dũng