

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH



LÊ THỊ THÚY AN

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

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP.HỒ CHÍ MINH, 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

LÊ THỊ THÚY AN

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

CHUYÊN NGÀNH: THẦN KINH

Mã số: 62720147

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

PGS. TS. NGUYỄN THỊ HÙNG

GS. TS. NGUYỄN VĂN TUẤN

TP. HỒ CHÍ MINH - 2024

LỜI CẢM ƠN

Với tất cả lòng kính trọng tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

Ban giám hiệu, Phòng đào tạo Sau đại học, các Khoa, Bộ môn và Quý Thầy Cô Đại học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận án.

Xin chân thành cảm ơn sâu sắc đến Thầy PGS.TS. Nguyễn Thi Hùng và GS.TS. Nguyễn Văn Tuấn - người đã trực tiếp hướng dẫn, tận tình chỉ bảo tôi trong suốt quá trình học tập, thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám Đốc, Lãnh đạo khoa Nội Thần kinh và Khoa chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu Bệnh viện Chợ Rẫy Thành phố Hồ Chí Minh đã giúp đỡ, tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong học tập cũng như thu thập số liệu và thực hiện luận án.

Xin cảm ơn những Bệnh nhân đã tin tưởng và tham gia vào nghiên cứu giúp tôi hoàn thành luận án.

Sau cùng, tôi muốn bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến những người thân trong gia đình đã luôn bên cạnh ủng hộ, động viên vượt qua những khó khăn trong quá trình học tập. Cảm ơn các anh chị em đồng nghiệp - những người luôn đồng hành cùng tôi, động viên và chia sẻ trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận án này.

TP. Hồ Chí Minh, ngày 11 tháng 11 năm 2024

Tác giả

Lê Thị Thúy An

LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên là Lê Thị Thúy An, là Nghiên cứu sinh ngành Thần kinh, khóa 2017-2024, xin cam đoan:

(1) Luận án là do chính bản thân tôi thực hiện, dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Nguyễn Thị Hùng và GS.TS. Nguyễn Văn Tuấn;

(2) Các tài liệu tham khảo được tôi xem xét, chọn lọc kỹ lưỡng, trích dẫn và liệt kê tài liệu tham khảo đầy đủ;

(3) Kết quả trình bày trong luận án được hoàn thành dựa trên các kết quả nghiên cứu của bản thân tôi và các kết quả của nghiên cứu này chưa được dùng cho bất cứ đề tài cùng cấp nào khác.

TP.HCM, ngày 11 tháng 11 năm 2024

Người hướng dẫn

Tác giả thực hiện

PGS.TS Nguyễn Thị Hùng

Lê Thị Thúy An

GS.TS Nguyễn Văn Tuấn

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN.....	i
LỜI CAM ĐOAN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC BẢNG.....	viii
DANH MỤC HÌNH.....	ix
DANH MỤC BIỂU ĐỒ.....	x
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Bệnh Parkinson	3
1.2. Bệnh Parkinson khởi phát sớm	18
1.3. Yếu tố môi trường và gen trong bệnh Parkinson khởi phát sớm	20
1.4. Vai trò của biểu thể di truyền (<i>epigenetics</i>) trong bệnh Parkinson khởi phát sớm.....	25
1.5. Tình hình nghiên cứu về các yếu tố môi trường và biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson	33
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	38
2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	38
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	38
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	39
2.4. Cỡ mẫu của nghiên cứu.....	39
2.5. Định nghĩa biến số và xác định biến số độc lập, phụ thuộc.....	41
2.6. Kỹ thuật đo lường và tiêu chuẩn chẩn đoán trong nghiên cứu phân tích biểu thể di truyền (<i>epigenetics</i>).....	49

2.7. Các quy trình trong nghiên cứu.....	58
2.8. Phương pháp phân tích số liệu	60
2.9. Đạo đức trong nghiên cứu	61
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	62
3.1. Mô tả lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm	62
3.2. Mối liên quan giữa các yếu tố dân số xã hội và môi trường với bệnh Parkinson khởi phát sớm.....	70
3.3. Biểu thể di truyền đánh giá mức độ methyl hóa trên toàn bộ bộ gen	73
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	86
4.1. Đặc điểm lâm sàng ở nhóm bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm	86
4.2. Mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và bệnh Parkinson khởi phát sớm	93
4.3. Biểu thể di truyền.....	95
KẾT LUẬN.....	106
KIẾN NGHỊ.....	105
DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

TỪ VIẾT TẮT	TIẾNG ANH	TIẾNG VIỆT
2,4-D	Axit 2,4-Dichlorophenoxyacetic	
ATP	Adenosine Triphosphate	
AD	Autosomal Dominant	Nhiễm sắc thể thường dạng trội
AR	Autosomal Recessive	Nhiễm sắc thể thường dạng lặn
CpG	5'—C—phosphate—G—3'	
CYP	Cytochrome P450	
CMA	Chaperone Mediated Autophagy	Thực bào qua trung gian chaperone
DMC	Differentially Methylated Cytosine	Khác biệt methyl hóa cytosin
DMR	Differentially Methylated Region	Vùng khác biệt methyl hóa
DNMT	DNA Methyltransferases	
EOPD	Early Onset Parkinson Disease	Bệnh Parkinson khởi phát sớm
EWAS	Epigenome Wide Association Analysis	Phân tích toàn bộ biểu thể di truyền
FDR	False Discovery Rate	Tỷ lệ phát hiện nhầm
GPX	Glutathione Peroxidase	
GST	Glutathione-S-transferase	
GWAS	Genome Wide Association Analysis	Phân tích toàn bộ bộ gen
JP	Juvenile Parkinson Disease	Bệnh Parkinson tuổi thiếu niên
HAT	Histone Acetyltransferase	
HDAC	Histone Deacetylase	

LID	Levodopa Induced Dyskinesia	Loạn động gây ra do levodopa
LOPD	Late Onset Parkinson Disease	Bệnh Parkinson khởi phát muộn
LRRK	Leucine-Rich-Repeatkinase	
MAPT	Microtubule - Associated Protein Tau	
MDS- UPDRS	Movement Disorders Society- Modified Unified Parkinson's Disease Rating Scale	Thang đo đánh giá bệnh Parkinson hợp nhất của Hiệp hội rối loạn vận động thể giới
MFN2	Mitofusin 2	
MPP+	1-Methyl-4-Phenylpyridinium	
MPTP	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6- Tetrahydropyridine	
miRNAs	MicroRNAs	
NMDA	N-Methyl-D-Aspartate	
NOS	Nitric Oxide Synthase	
PCA	Principal Component Analysis	Phân tích thành phần chính
PD	Parkinson Disease	Bệnh Parkinson
PINK	PTEN-Induced Kinase	
ROS	Reactive oxygen species	Các loại phản ứng oxy hóa
SAM	S-adenosyl Methionine	
SNCA	Synuclein Alpha	
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Điểm đa hình nucleotide đơn
SNpc	Substantia Nigra Pars Compacta	Phần đặc chất đen
SOD	Superoxide Dismutase	
TH	Tyrosine Hydroxylase	
UPS	Ubiquitin-Proteasome	
VPS	Vacuolar Protein Sorting	
WHO	World Health Organization	Tổ chức y tế thế giới

WGBS	Whole Genome Bisulfite Sequencing	Giải trình tự bisulfite toàn bộ bộ gen
YOPD:	Young Onset Parkinson Disease	Bệnh Parkinson khởi phát trẻ

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. 1: Các chất độc môi trường liên quan đến bệnh Parkinson	22
Bảng 1. 2: Danh sách những gen có liên quan đến bệnh Parkinson	24
Bảng 1. 3: Thay đổi mức độ miRNA trong bệnh Parkinson.....	29
Bảng 1. 4: Tổng hợp những thay đổi biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson ...	36
Bảng 3. 1: Thời gian khởi phát bệnh và chẩn đoán bệnh.....	62
Bảng 3. 2: Nhóm triệu chứng chậm vận động	63
Bảng 3. 3: Nhóm triệu chứng ngoài vận động	64
Bảng 3. 4: Biến chứng vận động	64
Bảng 3. 5: Thời gian điều trị theo từng loại thuốc	66
Bảng 3. 6: Điểm số rối loạn vận động thang điểm MDS-UPDRS III	66
Bảng 3. 7: Yếu tố môi trường liên quan điểm MDS-UPDRS III.....	67
Bảng 3. 8: Thời gian bệnh liên quan điểm MDS-UPDRS III	67
Bảng 3. 9: Triệu chứng khởi phát bệnh liên quan điểm MDS-UPDRS III.....	68
Bảng 3. 10: Triệu chứng ngoài vận động liên quan điểm MDS-UPDRS III	69
Bảng 3. 11: Giai đoạn Hoehn-Yahr liên quan điểm MDS-UPDRS III.....	69
Bảng 3. 12: Thuốc điều trị liên quan điểm MDS-UPDRS III	70
Bảng 3. 13: Tuổi và bệnh Parkinson khởi phát sớm	71
Bảng 3. 14: Các yếu tố nguy cơ và bệnh Parkinson khởi phát sớm.....	71
Bảng 3. 15: Tỷ số số chênh các yếu tố nguy cơ liên quan với bệnh Parkinson khởi phát sớm	73
Bảng 3. 16: Vùng gen liên quan đến các vị trí CpGs methyl hóa bất thường và toàn bộ CpGs.....	76
Bảng 3. 17: Vùng CpG island liên quan đến vị trí CpGs methyl hóa bất thường và toàn bộ CpGs.....	77
Bảng 3. 18: Vùng khác biệt methyl hóa (DMRs) liên quan đến các yếu tố lâm sàng	82
Bảng 4. 1: Số lượng CpGs ở mỗi gen và các vùng gen khác nhau trên 7 gen liên quan đến bệnh Parkinson.....	100
Bảng 4. 2: Vị trí của các gen ở các nghiên cứu khác nhau.....	101

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1: Các bước gây ra sự tích tụ synuclein alpha (SNCA)	6
Hình 1. 2: Quá trình chết của tế bào bởi rối loạn ty thể ở bệnh nhân Parkinson ...	7
Hình 1. 3: Rối loạn ty thể và stress oxy hóa trong bệnh Parkinson	8
Hình 1. 4: Ngộ độc glutamat dẫn đến hoại tử và chết tế bào thần kinh	10
Hình 1. 5: Cơ chế viêm thần kinh trong bệnh Parkinson	11
Hình 1. 6: Liên kết giữa tuổi, môi trường, gen trong bệnh Parkinson	20
Hình 1. 7: Vai trò của methyl hóa DNA trong bệnh Parkinson	26
Hình 1. 8: Quá trình acetyl hóa histon và ảnh hưởng trên sao chép gen	28
Hình 1. 9: Tác động của yếu tố môi trường và gen đối với EOPD.....	30
Hình 1. 10: Sơ đồ về tác động của các yếu tố môi trường đối với biểu thể di truyền ở bệnh Parkinson.....	31
Hình 2. 1: Quy trình chuẩn bị thư viện cho việc giải trình tự toàn bộ hệ gen đã được bisulfite của bộ kit Zymo-Seq WGBS Library	51
Hình 2. 2: Xử lý với bisulfite	52
Hình 2. 3: Phương pháp của Bismark trong định vị (mapping) và xác định các vị trí methyl hóa.	54
Hình 2. 4: Cách xác định hệ số methyl hóa cho từng vị trí CpGs.....	55
Hình 2. 5: Mô tả vị trí khác biệt methyl hóa (DMCs) và vùng khác biệt methyl hóa (DMRs).....	56
Hình 2. 6: Các vùng chú giải cho vùng gen và CpGs.	57
Hình 4. 1: So sánh mức độ methyl hóa giữa hai nhóm trên các vùng gen khác nhau của SNCA.....	102

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3. 1: Triệu chứng khởi phát bệnh.....	63
Biểu đồ 3. 2: Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr	65
Biểu đồ 3. 3: Thuốc điều trị	65
Biểu đồ 3. 4: Giới tính và bệnh Parkinson khởi phát sớm	70
Biểu đồ 3. 5: Biểu đồ miêu tả giá trị beta của toàn bộ CpGs được xác định trên tất cả các mẫu	74
Biểu đồ 3. 6: 1338 DMCs có sự khác biệt methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.....	75
Biểu đồ 3. 7: Biểu đồ mô tả những DMCs ở những vùng gen và các vùng CpGs khác nhau cho các DMCs khác nhau và toàn bộ CpGs trên nhiễm sắc thể	77
Biểu đồ 3. 8: 226 DMRs được chọn lọc từ 1338 DMCs và sự phân bố số lượng CpGs trong các DMRs trong và ngoài vùng gen.	78
Biểu đồ 3. 9: Biểu đồ miêu tả số lượng các DMRs ở các vùng gen và vùng CpGs khác nhau.....	79
Biểu đồ 3. 10: Biểu đồ vị trí của các DMRs trên các nhiễm sắc thể khác nhau...	80
Biểu đồ 3. 11: Biểu đồ mô tả giá trị methyl hóa của 1 DMR nằm ở nhiễm sắc thể số 2 chứa 28 DMCs có giá trị khác biệt methyl hóa giữa hai nhóm bệnh nhân và nhóm chứng.....	80
Biểu đồ 3. 12. Các đường sinh học liên quan đến các DMRs - vùng khác biệt methyl hóa	81
Biểu đồ 3. 13. Vùng khác biệt methyl hóa bị ảnh hưởng bởi việc tiếp xúc với thuốc trừ sâu.	83
Biểu đồ 3. 14. Vùng khác biệt methyl hóa bị ảnh hưởng bởi việc sống ở vùng nông thôn.....	84
Biểu đồ 3. 15: Biểu đồ giảm chiều bằng phương pháp PCA dựa trên dữ liệu methyl hóa của 1338 CpGs	85

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson được bác sĩ James Parkinson phát hiện lần đầu vào năm 1817, là một bệnh thoái hóa thần kinh thường gặp và đứng hàng thứ hai (sau bệnh Alzheimer) trong các bệnh lý thần kinh¹. Khoảng 1-2% người trên 65 tuổi và 4-5% trên 85 tuổi mắc bệnh Parkinson. Tuy nhiên, khoảng 10% bệnh Parkinson xảy ra ở những người trẻ tuổi (20-50), và nam giới có xu hướng mắc bệnh cao hơn (1,5 lần) so với nữ giới².

Cơ chế bệnh học chính của bệnh Parkinson là sự suy giảm các tế bào dopamin (dopaminergic neurons) trong 'chất đen' (substantia nigra). Cho tới nay, chưa có thuốc ức chế sự suy giảm tế bào dopamin, và chưa có phương pháp điều trị tận gốc. Do đó, mục tiêu kiểm soát triệu chứng và tối thiểu hoá các biến chứng bằng cách tăng nồng độ dopamin trong não qua các thuốc có chức năng sản sinh dopamin³.

Bệnh Parkinson thuộc vào nhóm các bệnh phức tạp, vì chịu sự ảnh hưởng của các yếu tố môi trường và di truyền³. Phơi nhiễm thuốc trừ sâu có liên quan đến nguy cơ bệnh Parkinson. Tiếp xúc với 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), paraquat hoặc kim loại nặng (mangan, chì) làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson⁴. Các gen gây ra bệnh Parkinson đã được phát hiện, bao gồm *SNCA*, *LRRK2*, *GBA*, *PINK1*. Một số gen có liên quan đến nguy cơ mắc bệnh Parkinson, bao gồm các biến thể của nhóm gen (haplotype) *MAPT H1* vùng khởi động của *SNCA*, tính đa hình chung của *UCHL1* và một biến thể của *LRRK2*. Các gen liên quan đến vận chuyển và chuyển hóa dopamin, stress oxy hóa và chuyển hóa xenobiotics (*CYP2D6* và *GSTs*)⁵.

Biểu thể di truyền (tạm dịch từ thuật ngữ "epigenetics") liên quan đến những thay đổi trong biểu hiện của gen mà không có ảnh hưởng đến trình tự DNA, đóng một vai trò quan trọng trong sinh lý bệnh của các bệnh thoái hóa thần kinh, bao gồm cả bệnh Parkinson, là một cơ chế rất có ích để nghiên cứu về ảnh hưởng của môi trường tác động đến gen trong bệnh Parkinson và có thể giải thích thêm các ca bệnh. Tất cả các tế bào trong cơ thể con người có cùng một cấu trúc gen và hệ

gen, nhưng sản phẩm của gen trong các tế bào lại rất khác nhau. Lý do của sự khác nhau là do tương tác giữa gen và môi trường trong tế bào, gọi là *biểu thể di truyền*²⁶. Có nhiều bằng chứng khoa học gần đây cho thấy cơ chế biến đổi gen có ảnh hưởng đến nguy cơ mắc bệnh Parkinson. Tuy nhiên, nghiên cứu về sự tương tác giữa gen và môi trường qua biểu thể di truyền đến bệnh Parkinson trên thế giới rất ít và những nghiên cứu này không thể áp dụng cho người Việt Nam và chưa có nghiên cứu ở người Á châu.

Bệnh Parkinson thường xảy ra ở người trên 65 tuổi, đa số do thoái hóa thần kinh, một số trường hợp bệnh Parkinson khởi phát ở người trẻ tuổi (20-50), gọi là bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD), thường là do đột biến gen¹. Bệnh cảnh lâm sàng của bệnh Parkinson khởi phát sớm tương tự như bệnh Parkinson thể khởi phát người lớn tuổi, đáp ứng tốt với điều trị levodopa. Tuy nhiên, những trường hợp bệnh nhân có mang gen bệnh Parkinson nhưng lại không biểu hiện bệnh Parkinson, phải chăng có những yếu tố môi trường tác động đến gen làm thay đổi biểu hiện của gen và những chức năng khác của gen, quá trình này được gọi là biểu thể di truyền. Và biểu thể di truyền có tác động lên bệnh Parkinson khởi phát sớm hay không? Vai trò của biểu thể di truyền tác động lên bệnh Parkinson khởi phát sớm như thế nào? Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Đặc điểm lâm sàng, yếu tố nguy cơ và biểu thể di truyền của bệnh Parkinson khởi phát sớm” với các mục tiêu sau:

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

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Bệnh Parkinson

1.1.1. Giới thiệu

Bệnh Parkinson (PD: Parkinson disease) được Bác sĩ James Parkinson mô tả là một bệnh lý lạ trong tiểu luận kinh điển "An Essay on the shaking palsy" xuất bản vào năm 1817. Mô tả của ông dựa trên quan sát từ 6 người, kể cả 3 bệnh nhân do ông khám. Ông mô tả một cách chi tiết các biểu hiện chính như run, chậm vận động và mất ổn định tư thế. Cho đến thế kỷ 19, Charcot đã mô tả bệnh rõ hơn dựa trên những mô tả của Parkinson, mà ông gọi là chòm sao triệu chứng Parkinson. Năm 1879, tiêu chuẩn phân giai đoạn lâm sàng của Hoehn và Yahr lần đầu tiên được đưa ra, ghi lại quá trình tiến triển bệnh Parkinson với 5 giai đoạn và tới năm 1967 hệ thống phân giai đoạn của Hoehn và Yahr lần đầu tiên được quốc tế công nhận^{1,6}.

Bệnh Parkinson được định nghĩa là một hội chứng lâm sàng được xác định bởi sự hiện diện của các triệu chứng vận động như run, đơ cứng và chậm vận động. Sự hiện diện của hai trong ba triệu chứng vận động chính và đáp ứng tốt với một liều thích hợp L-dopa, được khám bởi các chuyên gia thần kinh trong lĩnh vực bệnh Parkinson và được chẩn đoán phân biệt với các nguyên nhân khác của hội chứng Parkinson (như teo đa hệ thống, liệt trên nhân tiến triển). Bệnh Parkinson chiếm 75% các trường hợp hội chứng Parkinson⁶.

Bệnh Parkinson được đặc trưng bởi hai quá trình bệnh học chính: Mất các tế bào thần kinh tạo ra dopamin, sự tích tụ của các thể Lewy bao gồm α -synuclein bị gấp cuộn sai và tích tụ trong nhiều hệ thống của bệnh nhân Parkinson. Nguyên nhân chính xác của bệnh vẫn chưa rõ ràng, được cho sự kết hợp của các yếu tố môi trường và gen, dẫn đến làm bất thường protein α -synuclein, góp phần làm chết tế bào. Hiện nay, chẩn đoán bệnh Parkinson vẫn chỉ dựa trên các triệu chứng lâm sàng, chẩn đoán xác định phải dựa vào mô bệnh học, với các thể Lewy chứa α -synuclein hoặc tế bào thần kinh Lewy⁷.

Điều trị chủ yếu là kiểm soát triệu chứng, bằng các loại thuốc nhằm khôi phục tế bào dopamin trong thể vân hoặc tác động lên các thụ thể dopamin sau synap thần kinh. Tuy nhiên, do dopamin không phải là chất dẫn truyền thần kinh duy nhất liên quan đến bệnh Parkinson, nhiều loại thuốc khác cũng đang được sử dụng để điều trị các triệu chứng khác như trầm cảm hoặc sa sút trí tuệ⁷.

1.1.2. Tỷ lệ mắc bệnh

Tỷ lệ mắc bệnh Parkinson tăng mạnh theo độ tuổi, 2,6% ở những người từ 85-89 tuổi. Ở phương Tây, tuổi khởi phát bệnh Parkinson trung bình là từ đầu đến giữa những năm 60 tuổi, nhưng 3-5% trường hợp khởi phát sớm hơn, trước 40 tuổi. Ở Nhật Bản, tỷ lệ mắc bệnh Parkinson khởi phát sớm cao hơn từ 10% đến 14% (nguyên nhân có thể do di truyền). Dựa vào tuổi khởi phát của bệnh Parkinson, có thể phân loại là: khởi phát tuổi thiếu niên (<21 tuổi), khởi phát sớm (21-50 tuổi) và khởi phát muộn (thường > 60 tuổi). Sự khác biệt về gen và lâm sàng, cũng được xác định giữa bệnh Parkinson khởi phát sớm và bệnh Parkinson khởi phát muộn⁵.

Bệnh Parkinson là bệnh phổ biến thứ hai sau bệnh Alzheimer và là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ 14 ở Hoa Kỳ. Một nghiên cứu mới vào năm 2021 cho thấy tỷ lệ mắc bệnh Parkinson ở người lớn tuổi cao hơn 50% so với ước tính hiện tại là 60.000 ca được chẩn đoán hàng năm. Số lượng người bệnh mắc bệnh Parkinson có thể sẽ tăng gấp đôi vào năm 2030 và sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe của hàng triệu người trên toàn thế giới nói chung và ảnh hưởng đến khoảng 1% số dân trên 60 tuổi tại Mỹ⁸. Đối với tỷ lệ nam/nữ thì tỷ lệ người bệnh nam có nguy cơ mắc bệnh Parkinson cao hơn nữ. Theo tổ chức Y tế thế giới (WHO)⁹, tỷ lệ mắc bệnh Parkinson đã tăng gấp đôi trong 25 năm qua. Ước tính toàn cầu vào năm 2019 cho thấy hơn 8,5 triệu người mắc bệnh Parkinson. Tỷ lệ mắc bệnh Parkinson cao hơn đã được báo cáo ở các nước phát triển, do sự gia tăng dân số già. Bệnh Parkinson xảy ra rất thấp ở những người dưới 40 tuổi và thường gặp ở độ tuổi từ 70-80 tuổi. Những người có một hoặc nhiều người thân mắc bệnh Parkinson, có nguy cơ mắc

bệnh cao hơn, nhưng tổng nguy cơ vẫn chỉ là 2-5%, trừ khi gia đình có đột biến gen liên quan với căn bệnh này¹⁰.

Tại Châu Á, sáu trong số nhiều nhất các nước đông dân ở châu Á (Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Pakistan, Bangladesh và Nhật Bản) và số lượng người bệnh mắc Parkinson ở các nước này dự kiến sẽ tăng từ 2,57 triệu vào năm 2005 lên 6,17 triệu vào năm 2030¹¹. Tuy nhiên, do quá trình diễn tiến lâu dài nên nhóm tuổi khởi phát sớm chiếm 3-5% trong tổng số những người mắc Parkinson và tỷ lệ này tăng 10% ở Nhật Bản. Khoảng 50% bệnh Parkinson khởi phát sớm được ghi nhận mang gen đột biến Parkin di truyền từ gia đình¹².

1.1.3. Tuổi trong bệnh Parkinson

Tuổi là yếu tố nguy cơ lớn nhất đối với bệnh Parkinson, với độ tuổi khởi phát trung bình là 60 tuổi. Tỷ lệ mắc bệnh tăng theo tuổi lên 93,1 (trên 100.000 người/năm) ở nhóm tuổi từ 70 đến 79².

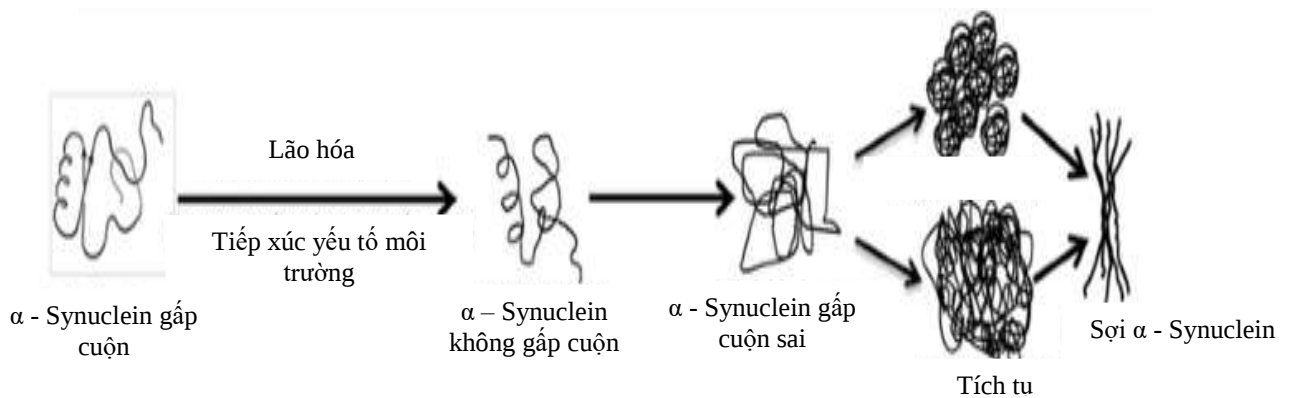
Lão hóa là một quá trình tự nhiên, liên quan đến sự rối loạn điều hòa của nhiều con đường như stress oxy hóa, rối loạn chức năng ty thể, thực bào và viêm thần kinh, trong số đó có liên quan đến thoái hóa thần kinh. Ở người, trọng lượng não lớn nhất ở tuổi thiếu niên và tương đối ổn định cho đến 50 tuổi. Từ 50-90 tuổi, trọng lượng não mất đi khoảng 2-3% mỗi thập niên. Theo đó, khối lượng chất đen cũng bị giảm khi lão hóa. Người ta ước tính, số lượng tế bào chất đen (SNpc: Substantia nigra pars compacta) giảm từ 7 đến 9,8% mỗi 10 năm ở người khỏe mạnh¹³. Sự mất sắc tố này, liên quan trực tiếp đến sự chết của các tế bào sản xuất ra dopamin trong SNpc và tế bào noradrenergic trong nhân lục².

1.1.4. Cơ chế bệnh sinh

1.1.4.1. Sự tích tụ và sắp xếp sai của α -synuclein

Alpha-synuclein (α -synuclein) là một protein do gen SNCA sản sinh. Ở người khỏe mạnh và bình thường, α -synuclein giúp cho các tín hiệu di chuyển trong hệ thống thần kinh và não bộ. Do đó, có thể nói rằng, α -synuclein đóng vai trò điều phối chức năng của não bộ.

Để cơ thể vận hành đúng, α -synuclein phải gấp theo một hình thể chuẩn. Các protein α -synuclein bị gấp lệch khỏi mô hình chuẩn sẽ dẫn đến rối loạn trong chức năng não (Hình 1. 1). Trong điều kiện gen SNCA bị đột biến, các protein α -synuclein bị gấp lệch khỏi mô hình chuẩn và theo thời gian các protein bị gấp sai sẽ tích lũy và liên kết với các protein khác (như tau và beta-amyloid) tạo nên thể Lewy (Lewy bodies). Thật ra, thể Lewy bao gồm hơn 70 protein, nhưng protein chủ yếu vẫn là α -synuclein. Mỗi thể Lewy có đường kính từ 5 đến 30 μ m.



Hình 1. 1: Các bước gây ra sự tích tụ synuclein alpha (SNCA)

(Nguồn: Maiti, et al. 2017)¹⁰

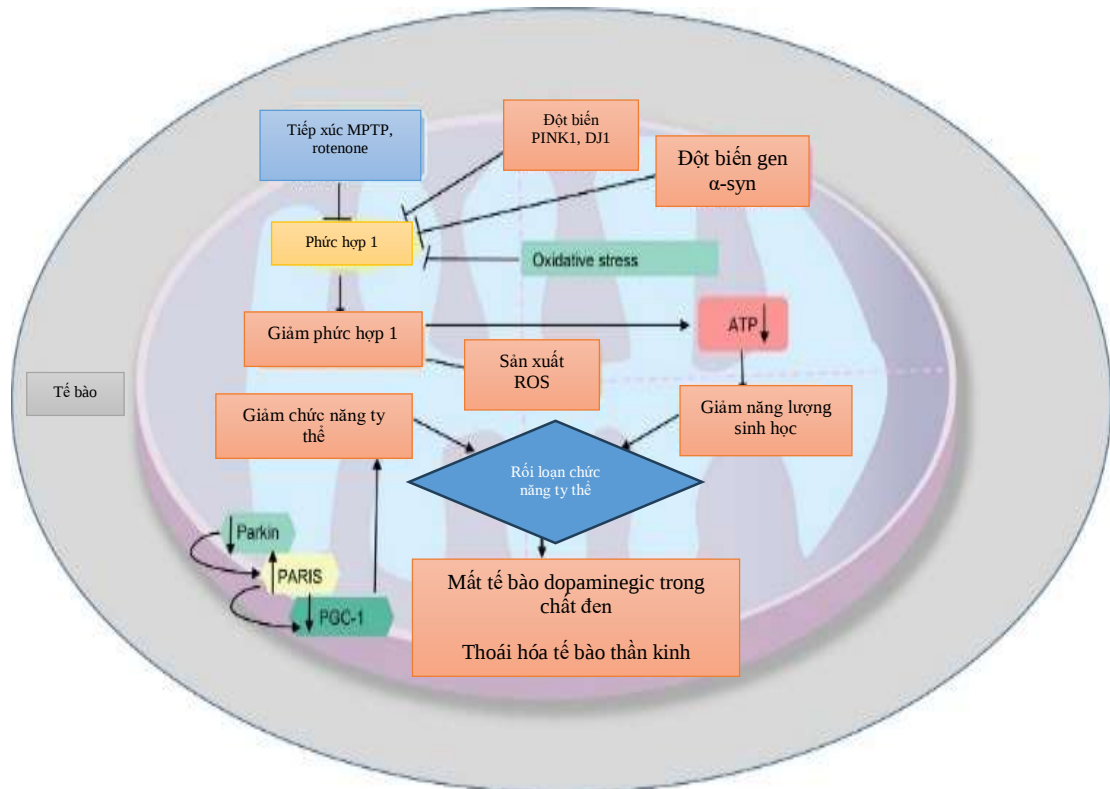
SNCA bình thường, dưới sự tác động của yếu tố môi trường hoặc stress oxy hóa, bị thay đổi cấu trúc và lắng đọng dưới dạng các α -synuclein oligomer, tích tụ cụm nhỏ hoặc các sợi fibril. Sự lắng đọng này đóng vai trò quan trọng trong việc mất tế bào thần kinh dopamin trong bệnh Parkinson¹⁰.

1.1.4.2. Rối loạn chức năng ty thể

Ty thể là “nhà máy nội bào”, có chức năng thực hiện các phản ứng sinh học quan trọng trong tế bào, bao gồm sản xuất năng lượng thông qua chuỗi hô hấp ty thể, điều chỉnh quá trình chết của tế bào, chuyển hóa canxi và sản xuất các dạng oxy phản ứng ROS (reactive oxygen species). Ty thể là một nguồn chính của các gốc tự do trong tế bào, dẫn đến stress oxy hóa¹⁴.

Rối loạn ty thể được xem là một yếu tố chủ yếu trong quá trình gây bệnh Parkinson (Hình 1. 2). Những nghiên cứu trên tử thi phát hiện tình trạng thiếu phức

hợp ty thể I (mitochondrial complex-I) ở bệnh nhân Parkinson. Phức hợp ty thể I là một bộ phận có chức năng vận chuyển electron trong não¹⁴.



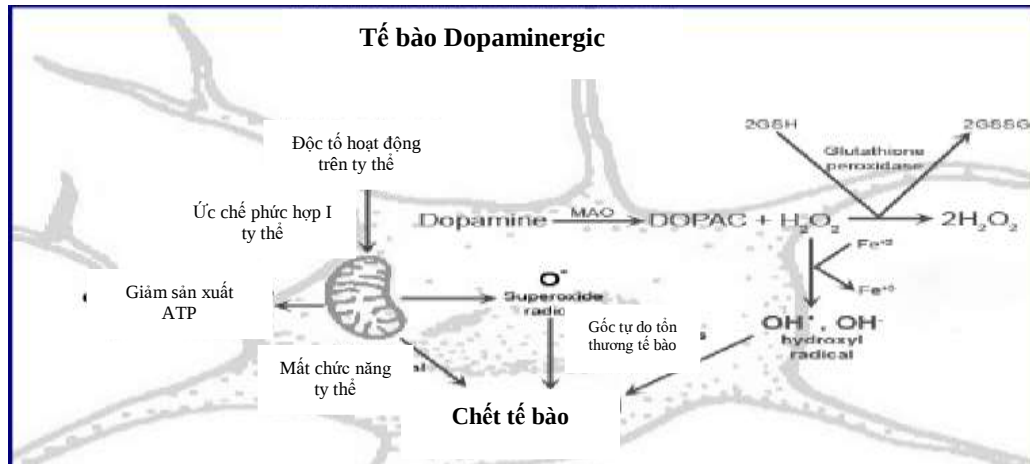
Hình 1. 2: Quá trình chết của tế bào bởi sự rối loạn ty thể ở bệnh nhân Parkinson

(Nguồn: Bose & Beal, 2016)¹⁴

Những thay đổi trong quá trình hoạt động của ty thể trong bệnh Parkinson: Tổn thương trong quá trình oxy hóa phosphoryl hóa gây ra bởi độc tố thần kinh ảnh hưởng đến ty thể (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridin, MPTP, rotenone hoặc maneb), sự biểu hiện quá mức của α -synuclein, đột biến gen *PINK1* hoặc *DJ1*, gây ra các khiếm khuyết quá trình oxy hóa phosphoryl hóa dẫn đến ức chế phức hợp I, làm cạn kiệt ATP (Adenosine triphosphate), hoặc suy giảm năng lượng sinh học. Sự thoát ra điện tử từ chuỗi hô hấp tế bào, gây ra sự gia tăng sản xuất ROS. Thiếu Parkin dẫn đến tăng tích tụ chất tương tác Parkin, dẫn đến peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 α (PGC-1 α) bị giảm, dẫn đến giảm quá trình sinh học của ty thể (Hình 1. 2) ^{10,14}.

1.1.4.3. Stress oxy hóa

Não của bệnh nhân Parkinson có các dấu hiệu tổn thương oxy hóa cao, cho thấy rằng stress oxy hóa đóng một vai trò quan trọng trong bệnh Parkinson¹⁵.



Hình 1.3: Rối loạn ty thể và stress oxy hóa trong bệnh Parkinson

(Nguồn: Thrash, 2007)¹⁵

Quá trình oxy hóa dopamin và các phản ứng hóa học dẫn đến sự chết của tế bào. Superoxide ($O_2^{\cdot-}$) là dạng phản ứng chính được giải phóng từ ty thể, bắt nguồn từ phức hợp I, khi ATP không được sản xuất. Bình thường Superoxide được chuyển đổi bởi superoxide dismutase (SOD) thành hydrogen peroxide (H_2O_2) ít độc hơn trong ty thể. H_2O_2 là một hợp chất tương đối không hoạt động được giải phóng từ ty thể vào tế bào và nhân tế bào, nơi nó góp phần gây ra stress oxy hóa. Ở điều kiện bình thường, H_2O_2 được khử độc bởi catalase hoặc glutathione peroxidase (GPX), duy trì cân bằng nội môi giữa ty thể bình thường. Sự gia tăng phản ứng stress oxy hóa, có thể là do tăng sản xuất hoặc suy giảm khả năng khử độc hoặc kết hợp cả hai (Hình 1. 3)¹⁵.

Bệnh nhân mắc bệnh Parkinson giảm lượng glutathion. Glutathion loại bỏ hydrogen peroxide hiện diện ở mức độ thấp hơn trong não của bệnh nhân Parkinson. Khi Glutathion giảm thì chất đen trong bệnh Parkinson giảm khoảng 50%. Bởi vì thiếu hụt trong glutathion, do đó có mức hydrogen peroxide cao hơn bình thường trong tế bào thần kinh. Hydrogen peroxide này bị phân hủy thành các gốc tự do hydroxyl bằng phản ứng Fenton^{15,16}.

1.1.4.4. Rối loạn chức năng hệ thống thanh thải protein

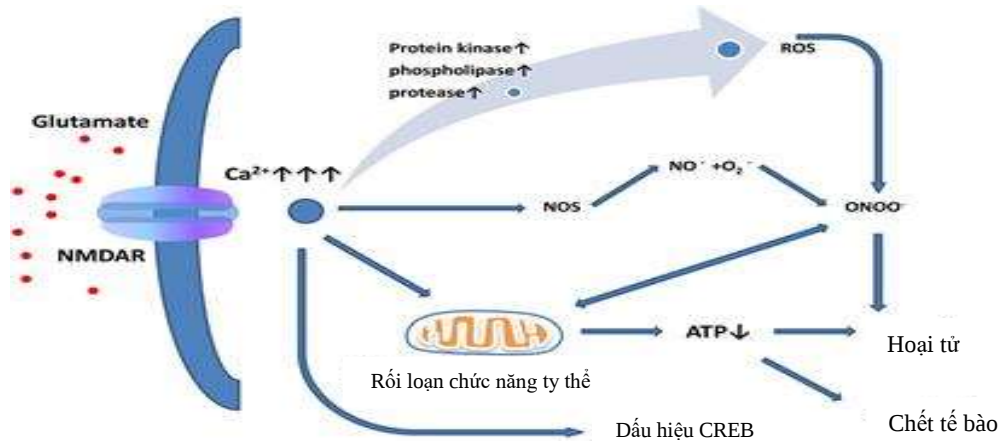
Có hai hệ thống kiểm soát sự đào thải protein: hệ thống ubiquitin-proteasome (UPS) và autophagy-lysosome (có thể hiểu như là “*tự thực tiêu thể*”)¹⁰.

Hệ thống UPS chủ yếu có chức năng tiêu hủy các protein bất thường. Phương thức của UPS là dán nhãn ubiquitin vào các protein đó và vận chuyển đến hệ thống proteasome để tiêu hủy. Hệ thống tự thực tiêu thể được chia thành 3 thành tố: macroautophagy (đại thực bào), microautophagy (tiểu thực bào), và chaperone-mediated autophagy (CMA). Đại thực bào bao gồm các protein cytosolic bị bao phủ bởi tự thực bào (autophagosome), một thực thể gắn kết với tiêu thể, dẫn đến tiêu hủy các thành phần trong protein. Bên cạnh đại thực bào, còn có tiểu thực bào vốn là một tiêu thể có chức năng tiêu hủy các thành tố bên trong của một protein. Sau cùng là thành tố CMA là một quy trình mang tính chọn lọc mà theo đó có chức năng vận chuyển các tiêu thể đến proteasome để tiêu hủy protein. Một số bằng chứng về vai trò của UPS còn qua những nghiên cứu về các gen *PARK* (đặc biệt là gen *PARK2* và *PARK5*), vì các gen này có cơ chế kiểm soát sự vận hành của UPS¹⁰.

Hệ thống tự thực tiêu thể (autophagy-lysosome system) cũng giống như hệ thống UPS bao gồm một số thành tố ảnh hưởng đến biểu hiện sinh học bệnh Parkinson. Marker tự thực tiêu thể LC3-II tăng ở bệnh nhân Parkinson so với người bình thường, và đó là chứng cứ cho thấy sự tích tụ của các không bào (vacuoles). Ngược lại, các protein tiêu thể màng như LAMP1, LAMP2 và protein chaperones (giúp các protein “gấp cuộn”) giảm thấp ở bệnh nhân Parkinson. Ngoài ra, một số nghiên cứu gần đây về gen *PARK2*, *PARK6*, và *GBA1* cho thấy giả thuyết về sự rối loạn tiêu thể có ảnh hưởng đến quá trình sinh bệnh Parkinson¹⁰.

1.1.4.5. Vai trò của độc tố thần kinh trong bệnh Parkinson

Thuật ngữ “độc tố kích thích” lần đầu tiên được đề cập trong y văn vào năm 1986, để mô tả quá nhiều glutamat ngoại bào, giết chết tế bào thần kinh bằng cách hoạt hóa NMDARs¹⁷.



Hình 1. 4: Ngộ độc glutamat dẫn đến hoại tử và chết tế bào thần kinh

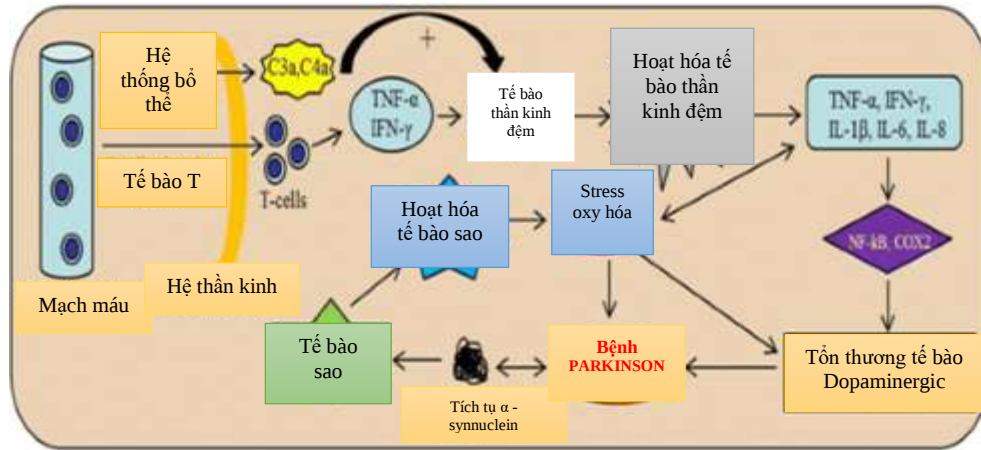
(Nguồn: Wang J, 2020)¹⁷

Nồng độ glutamat ngoại bào tăng lên, dẫn đến hoạt động quá mức của NMDAR và gây ra dòng Ca^{2+} . Dòng Ca^{2+} làm tăng hoạt động nitric oxide synthase (NOS). Thông qua enzyme này, NO có thể phản ứng với các gốc superoxide để tạo ra ONOO-, do đó gây ra tổn thương oxy hóa nặng đối với tế bào.

Ngoài ra, các ty thể bị tổn thương do quá trình oxy hóa, dẫn đến cạn kiệt ATP và làm chết tế bào. Hoạt hóa quá mức các NMDAR ngoài synap dẫn đến giảm quá trình hô hấp tế bào, dẫn đến mất điện thế màng ty thể và chết tế bào, trong khi các NMDAR synap ảnh hưởng đến quá trình hô hấp tế bào nhưng không gây ra quá trình chết tế bào (Hình 1. 4)¹⁷.

1.1.4.6. Viêm thần kinh

Nghiên cứu trên tử thi của bệnh nhân Parkinson phát hiện sự tích tụ các mảng amyloid-beta và xâm nhập của T-lymphocyt, làm tăng nồng độ các cytokin gây viêm (pro-inflammatory cytokines).



Hình 1. 5: Cơ chế viêm thần kinh trong bệnh Parkinson

(Nguồn: Maiti P, 2017)¹⁰.

Tế bào lympho T và các hệ thống bổ thể có thể hoạt hóa vi tế bào thần kinh đệm tiết ra một số cytokin, gây tổn thương tế bào thần kinh dopamin. Tương tự, SNCA tổng hợp cũng có thể hoạt hóa các tế bào hình sao, gây ra stress oxy hóa, dẫn đến tổn thương tế bào thần kinh (Hình 1. 5)¹⁰.

1.1.5. Chẩn đoán

1.1.5.1. Các triệu chứng vận động

Run

Run là triệu chứng thường gặp nhất của bệnh Parkinson, vì vậy tên của bệnh này ban đầu được gọi là liệt run (shaking palsy). Chiếm khoảng 75% bệnh nhân. Diễn hình là run khi nghỉ ngơi, biểu hiện rõ hơn khi bệnh nhân ngồi và thư giãn. Run với tần số từ 3,5-7 Hz. Run bắt đầu ở một bàn tay, hoặc một ngón tay bị ảnh hưởng ban đầu, sau đó lan rộng cánh tay. Run có thể xuất hiện đối bên hoặc chân cùng bên^{6,18}.

Đơ cứng

Đơ cứng được định nghĩa là sự kháng lại các chuyển động thụ động, xảy ra khi gấp và duỗi trong suốt phạm vi chuyển động. Trong bệnh Parkinson, đơ cứng kiểu của bánh xe răng cưa, thuật ngữ này là khi cử động chỉ một cách thụ động, thì

có đề kháng dừng lại và bắt đầu theo trình tự lặp lại khi cử động chi trong suốt phạm vi chuyển động. Đơ cứng thường bắt đầu một bên. Sau đó, lan sang bên đối diện^{6,18}.

Chậm vận động

Chậm vận động là giảm khả năng vận động. Đây là triệu chứng gây tàn tật trong bệnh Parkinson và thường không thể đứng lên từ ghế, bắt đầu đi bộ hoặc xoay người trên giường. Có thể nhận thấy khuôn mặt mặt nạ. Tần suất nháy mắt giảm, bệnh nhân có vẻ như đang nhìn chăm chăm. Giọng nói trở nên nhẹ hơn, nói lắp bắp. Nuốt chậm vì thể nước bọt có xu hướng đọng lại trong miệng và khi bệnh tiến triển nặng nước dãi chảy ra ngoài liên tục. Khi bệnh Parkinson nặng, khuôn mặt mặt nạ với miệng luôn mở, do đó làm tăng chảy nước dãi. Bệnh nhân khó cài cúc áo và móc áo. Chữ viết trở nên nhỏ (chữ nhỏ) và cuối cùng viết không đọc được. Khó đánh máy, lật trang giấy, đánh răng, lấy tiền từ túi hoặc ví và gõ cửa^{6,18}.

Mất ổn định tư thế

Mất ổn định tư thế thường là một dấu hiệu muộn của bệnh Parkinson, ít đáp ứng với điều trị thuốc. Mất ổn định tư thế là do đơ cứng trong bệnh Parkinson, gấp cổ và thân về phía trước và gấp khuỷu tay làm thay đổi trọng tâm và đẩy người về phía trước và khom xuống. Phản xạ tư thế bị mất, dễ té ngã. Bệnh nhân có thể có xu hướng ngã về phía trước (đẩy) hoặc lùi (lùi lại) tùy vào hướng của lực tác dụng lên^{6,18}.

1.1.5.2. Các triệu chứng ngoài vận động

Rối loạn giấc ngủ

Rối loạn giấc ngủ là triệu chứng thường gặp ở những bệnh nhân Parkinson, ảnh hưởng đến 74%-98%. Những triệu chứng vận động như run hoặc đơ cứng, có thể làm bệnh nhân khó ngủ. Loạn động vào buổi sáng sớm có thể đánh thức bệnh nhân khỏi giấc ngủ. Hội chứng chân không yên được thấy ở một nhóm nhỏ bệnh nhân Parkinson và có thể là nguyên nhân dẫn đến rối loạn giấc ngủ. Hội chứng này

thường đáp ứng với điều trị bằng đồng vận dopamin, L-dopa ban đêm hoặc benzodiazepin^{6,18}.

Rối loạn thần kinh tự chủ

Bệnh nhân có rối loạn cương dương, bàng quang trống không hoàn toàn, tiểu gấp, chóng mặt tư thế. Trong giai đoạn sớm của bệnh, phản xạ tim mạch bị rối loạn vì suy giảm cơ chế điều chỉnh thần kinh phó giao cảm. Hạ huyết áp tư thế thường được thấy trong bệnh Parkinson. Bệnh nhân đồng thời bị tăng huyết áp, có thể thấy không cần điều trị hạ huyết áp khi bệnh Parkinson tiến triển.

Rối loạn chức năng tình dục. Ở nam, bao gồm mất hứng thú, trầm cảm hoặc mất chức năng tình dục do chậm vận động hoặc do rối loạn vận động khác. Ở phụ nữ bệnh Parkinson, thường suy giảm hoạt động tình dục do lo lắng, ức chế, đau âm đạo và đi tiểu không tự chủ^{6,18}.

Rối loạn tiêu hóa

Rối loạn chức năng tiêu hóa là một triệu chứng thường gặp của bệnh Parkinson. Chậm vận động ảnh hưởng đến hệ thống vận động dạ dày ruột và gây ra táo bón. Táo bón là một than phiền hơn 50% ở bệnh nhân Parkinson.

Khó nuốt là một than phiền thường gặp của bệnh nhân Parkinson. Hơn 50% bệnh nhân bị khó nuốt. Bệnh nhân than phiền vì nghẹn thức ăn hoặc cảm thấy thức ăn bị mắc kẹt trong họng. Vận động vùng lưỡi bị suy giảm, do đó đẩy thức ăn đến phía sau của họng bị chậm và rất khó khăn. Nhu động thực quản cũng bị giảm. Thuốc kháng Parkinson không cải thiện triệu chứng khó nuốt^{6,18}.

Rối loạn đường tiết niệu

Rối loạn tiết niệu thường gặp ở bệnh Parkinson, ảnh hưởng 58% đến 71% bệnh nhân. Tiểu đêm thường là triệu chứng sớm và thường gặp nhất. Khi bệnh tiến triển, bệnh nhân than phiền về tần suất tiểu nhiều vào ban ngày và tiểu gấp^{6,18}.

Da liễu

Viêm da tiết bã thường liên quan đến bệnh Parkinson. Tăng tiết bã nhờn có thể xuất hiện trên mặt, da đầu và xuất hiện như bong tróc da với các mảng màu đỏ bên dưới. Tái phát thường xuyên và gây ra khó chịu cho bệnh nhân^{6,18}.

Rối loạn thị giác

Rối loạn thị giác cũng là một triệu chứng thường gặp trong bệnh Parkinson. Bệnh nhân than phiền nhìn mờ, nhìn đôi và tập trung nhìn rất khó khăn. Giảm khả năng phân biệt màu. Rối loạn thị giác là do thiếu dopamin trong võng mạc và con đường thị giác, bao gồm vỏ não thị giác^{6,18}.

Các triệu chứng tâm thần

Trầm cảm là triệu chứng thường gặp ở bệnh Parkinson, lên đến 40% bệnh nhân. Trầm cảm có thể là một trong những triệu chứng báo trước khởi phát triệu chứng vận động ở bệnh Parkinson^{6,18}.

Rối loạn lo âu. Bệnh nhân hoặc các thành viên trong gia đình ban đầu nghĩ rằng lo lắng là do run, nhưng theo thời gian rối loạn lo âu trở nên rõ ràng hơn. Trên 40% bệnh nhân có các dạng lo âu như các cuộc tấn công hoảng sợ, ám ảnh xã hội hoặc lo âu toàn thể. Thường lo âu kèm với trầm cảm.

Rối loạn tâm thần bao gồm ảo giác thị giác, ban đầu lành tính không gây nguy hiểm. Thường xuất hiện dưới dạng những giấc mơ sống động về đêm, bệnh nhân có thể không biết. Trong giai đoạn nặng hơn, ảo giác trở nên đáng sợ. Rối loạn tâm thần gây ra do thuốc sẽ biến mất nếu liều lượng thuốc được giảm xuống vừa đủ^{6,18}.

Rối loạn nhận thức

Sa sút trí tuệ xảy ra ở người lớn tuổi. Tỷ lệ sa sút trí tuệ trong bệnh Parkinson khác nhau từ 7%-85%. Sự giảm phân biệt thị giác, chức năng điều hành thùy trán và trí nhớ là điển hình của bệnh sa sút trí tuệ dưới vỏ trong bệnh Parkinson. Nhận dạng khuôn mặt bị suy giảm. Trí nhớ làm việc bị suy giảm, định hướng không gian

khó khăn. Bệnh nhân khó có thể đọc bản đồ hoặc các chỉ dẫn để đi từ nơi này đến nơi khác. Trí nhớ gần và xa bị ảnh hưởng. Bệnh nhân gặp khó khăn trong các bài kiểm tra nhắc lại cả ngày tháng và các sự việc xa xưa. Bệnh nhân khó khăn trong việc lập kế hoạch, bắt đầu và thực hiện các nhiệm vụ và theo dõi hành vi của họ.

Sa sút trí tuệ thường xảy ra muộn. Nếu xảy ra sớm trong quá trình của bệnh, một chẩn đoán khác nên được đặt ra. Trầm cảm cũng thường gặp ở bệnh Parkinson^{6,18}.

Đau

Đau cũng là triệu chứng thường gặp trong bệnh Parkinson. Các triệu chứng cảm giác được báo cáo trên 40% bệnh nhân Parkinson. Đau, kiến bò, tê, lạnh, nóng rất là than phiền thường gặp. Cảm giác đau có thể xảy ra trước hoặc trùng với triệu chứng vận động. Đau kiểu vọp bẻ là một biểu hiện của loạn trương lực cơ cũng được thấy. Thời gian đau loạn trương lực cơ thường xảy ra vào buổi sáng sớm ở cả bệnh nhân được điều trị và không được điều trị^{6,18}.

Rối loạn chức năng khứu giác

Rối loạn chức năng khứu giác, thường xảy ra trước khi bắt đầu các triệu chứng vận động và không được bệnh nhân chú ý. Giảm mùi được tìm thấy trong việc xác định mùi, phân biệt và phát hiện mùi. Xác định mùi không cải thiện khi điều trị thuốc kháng bệnh Parkinson^{6,18}.

1.1.6. Thang điểm đánh giá bệnh Parkinson

Thang điểm phổ biến nhất được miêu tả bởi Hoehn và Yahr vào năm 1967. Thang điểm đánh giá mức độ nặng của bệnh, nhưng không có độ nhạy cao để đánh giá về sự tiến triển của bệnh hoặc đáp ứng với điều trị trên cơ sở thăm khám. Một thang điểm khác, MDS-UPDRS phần III đang được sử dụng và là một thang điểm nhạy hơn, để đánh giá bệnh nhân và đáp ứng với điều trị¹⁹.

Thang điểm Hoehn và Yahr

- Giai đoạn 1: Triệu chứng 1 bên.

- Giai đoạn 2: Triệu chứng 2 bên, còn phản xạ tư thế.
- Giai đoạn 3: Triệu chứng 2 bên, rối loạn phản xạ tư thế nhưng còn khả năng di chuyển độc lập.
- Giai đoạn 4: Triệu chứng trầm trọng đòi hỏi sự giúp đỡ.
- Giai đoạn 5: Giai đoạn cuối, nằm tại giường hoặc di chuyển trên xe lăn.

Thang điểm MDS-UPDRS

Thang điểm MDS-UPDRS gồm 4 phần như sau:

- Phần I: các triệu chứng ngoài vận động trong sinh hoạt hằng ngày.
- Phần II: các triệu chứng vận động trong sinh hoạt hằng ngày.
- Phần III: khám vận động.
- Phần IV: các biến chứng của vận động.

Thang điểm mỗi phần được cho điểm từ 0 đến 4 (0 - bình thường, 1 - nhẹ, 2 - nhẹ, 3 - trung bình và 4 - nặng). Tất cả các điểm đều được cộng vào để được tổng điểm (điểm cao hơn tương ứng với mức độ tàn tật cao hơn)²⁰.

1.1.7. Điều trị

1.1.7.1. Điều trị triệu chứng

Levodopa

Điều trị bệnh Parkinson hiện tại vẫn là L-Dopa để thay thế dopamin bị giảm trong thể vân. Bắt đầu bằng liều thấp, sau đó tăng liều dần tùy thuộc vào đáp ứng của bệnh nhân để tránh tác dụng phụ. Hiệu quả lâm sàng của levodopa rất nhanh và có thể kéo dài nhiều giờ, đặc biệt trong giai đoạn sớm bệnh. Tuy nhiên, khi bệnh tiến triển nặng, hiệu quả của thuốc thường biến mất sau khoảng thời gian ngắn và phải yêu cầu tăng liều. Tác dụng phụ quan trọng bao gồm các biến chứng vận động và các rối loạn tâm thần kinh²¹.

Đồng vận dopamin

Các chất đồng vận thường được sử dụng có chứa một gốc ethanolamin, chúng được phân loại dựa trên các đặc tính của thụ thể¹⁰. Những loại thuốc này kích thích hoạt động của hệ thống dopamin bằng cách gắn với các thụ thể dopaminergic, không giống như levodopa, không cần chuyển đổi thành dopamin.

Chất đồng vận dopamin thường được dùng như một liệu pháp ban đầu cho bệnh Parkinson, đặc biệt là những bệnh nhân trẻ tuổi. Tác dụng phụ quan trọng nhất của chất đồng vận dopamin là rối loạn hành vi xung động và cưỡng chế như: tăng hoạt động tình dục, nghiện chơi bài, ăn uống vô độ, nghiện mua sắm, nghiện sử dụng internet²¹.

Thuốc kháng cholinergic

Là thuốc được sử dụng để điều trị bệnh Parkinson hoạt động theo cơ chế không phải dopaminergic. Những thuốc này làm giảm hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine, bằng cách hoạt động như chất đối kháng tại các thụ thể cholinergic. Mất tế bào thần kinh tạo ra dopamin, dẫn đến rối loạn cân bằng bình thường giữa dopamin và acetylcholin trong não. Thuốc kháng cholinergic có thể dẫn đến hồi phục và duy trì sự cân bằng giữa hai chất dẫn truyền thần kinh này, cải thiện đơ cứng và run ở bệnh Parkinson²¹.

1.1.7.2. Kích thích não sâu

Hầu hết bệnh nhân đáp ứng tốt với levodopa. Tuy nhiên, 40-50% bệnh nhân dao động vận động và loạn động sẽ xuất hiện trong vòng 5 năm điều trị levodopa, 70-80% sau 10 năm điều trị. Vì thế phẫu thuật kích thích não sâu được đặt ra.

Đáp ứng với kích thích não sâu tương đương với đáp ứng tốt nhất với điều trị levodopa, nhưng hiệu quả hơn điều trị thuốc trong việc cải thiện thời gian “mở” mà không có loạn động⁷.

1.1.7.3. Điều trị phục hồi chức năng

Bệnh nhân đi bộ, xoay người hoặc đứng ở các tư thế khác nhau, giúp giữ thăng bằng, bước những bước nhỏ khi quay đầu, những bước lớn và nhanh khi đi về phía trước. Ngoài ra, rối loạn chức năng nhận thức và cảm xúc có thể được giảm bằng cách tham gia vào các sở thích đòi hỏi sự tập trung như làm mộc, câu cá, chơi bài, tập “Yoga” hoặc các bài tập thở sâu và thư giãn¹⁰.

1.1.7.4. Điều trị bệnh Parkinson dựa vào biểu thể di truyền

Mục đích của điều trị cải biến biểu thể di truyền là thay đổi tiến triển tự nhiên của bệnh. Hiện tại, có nhiều loại thuốc dựa vào biểu thể di truyền đang được nghiên cứu bao gồm ức chế HDAC (Histone deacetylase). Thuốc ức chế DNMT như 5-

aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC), giảm methyl hóa do 5-aza-dC gây ra, cho kết quả mâu thuẫn không những làm tăng biểu hiện gen *tyrosine hydroxylase (TH)*, gen liên quan đến sản xuất levodopa mà còn làm biểu hiện của gen *α -synuclein* và *UCHL1*, hai gen góp phần trong sinh bệnh học của bệnh Parkinson.

Trichostatin A, hoạt động như một chất ức chế HDAC dẫn đến tăng acetyl hóa H3, ngăn ngừa rối loạn chức năng ty thể và ức chế sự mất tế bào thần kinh trong bệnh Parkinson, bằng cách tăng điều chỉnh biểu hiện gen *MFN2 (mitofusin 2)*. Suberoylanilide hydroxamic acid, chất ức chế HDAC đầu tiên được chấp thuận trong điều trị ung thư, cũng được chứng minh có hiệu quả trong bảo vệ chống lại sự thoái hóa tế bào thần kinh tạo ra dopamin, bằng cách tăng cường sự phóng thích các yếu tố dinh dưỡng thần kinh từ tế bào hình sao.

Axit valproic, một là thuốc chống động kinh, hoạt động như một chất ức chế HDAC và tăng quá trình acetyl hóa H3, bằng chứng tiền lâm sàng cho thấy axit valproic có thể ức chế quá trình viêm thần kinh và thúc đẩy biểu hiện yếu tố có nguồn gốc từ tế bào thần kinh đệm và yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc từ não, dẫn đến bảo vệ tế bào thần kinh tạo ra dopamin do MPTP và rotenone gây ra.

Curcumin, một chất hóa học đã được chứng minh có tác dụng trong điều trị bệnh Parkinson. Curcumin hoạt động như một chất điều chỉnh HATs, HDAC, DNMT và miRNA chuyên biệt, có liên quan đến nhiều biến đổi biểu thể di truyền.

Loạn động gây ra do levodopa (LID), là một biến chứng muộn của điều trị levodopa ở bệnh nhân Parkinson, đặc trưng bởi các cử động không chủ ý, thường xảy ra ở liều đỉnh với điều trị levodopa. LID có liên quan đến giảm methyl hóa của H3, cũng như khử acetyl hóa histone H4 tại K5, K8, K12 và K16 trong thể vân ở các mô hình động vật có LID².

1.2. Bệnh Parkinson khởi phát sớm

Bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD: Early-onset Parkinson disease), thường được gọi là bệnh Parkinson khởi phát ở người trẻ (YOPD), là nhóm bệnh Parkinson rất được quan tâm. Khả năng người nhà của bệnh nhân EOPD bị ảnh hưởng bởi bệnh cao hơn nhiều so với gia đình có người LOPD (Late-onset

Parkinson disease); Các bằng chứng hiện có cho thấy các thành phần di truyền đóng một vai trò rất lớn đối với nguồn gốc phát sinh của EOPD. Ngoài ra, EOPD ảnh hưởng trực tiếp đến người trong độ tuổi lao động và thường mang lại gánh nặng kinh tế xã hội lớn hơn khi so sánh với nhóm bệnh khởi phát muộn LOPD.

Các đặc điểm lâm sàng của EOPD nói chung tương tự như LOPD, nhưng có xu hướng bệnh tiến triển chậm hơn và không liên quan nhiều đến suy giảm nhận thức như LOPD. Ngược lại, nhiều bệnh nhân EOPD có sự xuất hiện các biến chứng rối loạn vận động sớm hơn, như dao động vận động, loạn động, đơ cứng, rối loạn vận động có thể trở nặng dẫn đến các tình trạng khó lường và nghiêm trọng thậm chí tàn phế. Mặc dù, EOPD có quá trình tiến triển của các đặc điểm vận động chậm hơn và sự xuất hiện của suy giảm nhận thức muộn hơn, tỷ lệ tử vong ở EOPD ít nhất gấp hai lần trung bình của bệnh Parkinson thông thường và tỷ lệ này còn cao hơn khi so sánh với LOPD. Thời gian sống thêm trung bình ở bệnh nhân EOPD là khoảng 20 năm với sự thay đổi lớn từ 10 năm đến 40 năm²².

Chẩn đoán EOPD tương tự như LOPD dựa vào triệu chứng lâm sàng, tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson, nhưng phải loại trừ các nguyên nhân thứ phát tương tự như các triệu chứng bệnh Parkinson. Một số nguyên nhân thứ phát này bao gồm bệnh Wilson, loạn trương lực cơ đáp ứng levodopa, bệnh Parkinson do thuốc, rối loạn tích tụ sắt. Để loại trừ những nguyên nhân thứ phát này, như bệnh Parkinson do thuốc, hỏi lại tiền sử việc sử dụng thuốc an thần và thuốc chống nôn, trong bệnh Wilson đo nồng độ đồng trong huyết thanh và nước tiểu tìm vòng Kayser–Fleischer. Trong bệnh loạn trương lực cơ đáp ứng levodopa, có thể sử dụng phương pháp chụp PET scan với chất phóng xạ fluro- dopa (tiền chất của dopamin). Bệnh Parkinson sẽ giảm hấp thu fluro- dopa trong thể vân, trong bệnh loạn trương lực cơ đáp ứng levodopa mức hấp thu bình thường⁵.

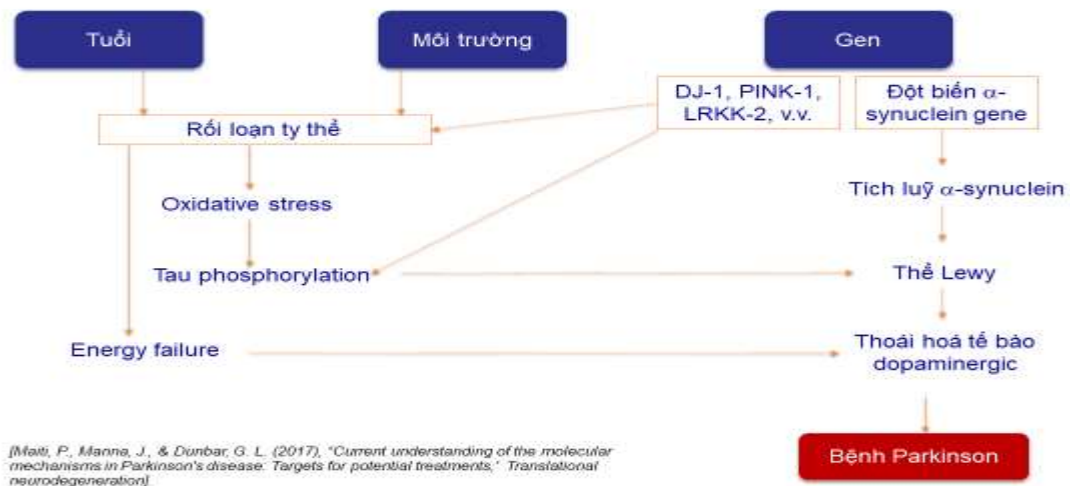
Những nghiên cứu ban đầu về các cặp sinh đôi và việc phát hiện một số gia đình có biểu hiện kiểu di truyền theo Mendel đã đưa ra những bằng chứng về nguyên nhân di truyền của bệnh Parkinson, đỉnh điểm là việc tìm ra gen đầu tiên liên quan đến bệnh Parkinson, *α -synuclein (SNCA)* vào năm 1997. Một năm sau

đó, đột biến trên *Parkin* (*PRKN* hay *PARK2*), liên kết với dạng lặn trên nhiễm sắc thể thường tiếp tục được xác định. Với sự tiến bộ của các kỹ thuật di truyền và các nghiên cứu quần thể, hơn 20 dạng đơn gen của bệnh Parkinson đã được mô tả và hơn 100 locus đã được xác định là yếu tố nguy cơ đối với bệnh Parkinson.

Bên cạnh đó, có một sự gia tăng nhanh chóng danh sách các đột biến liên quan đến bệnh EOPD. Theo ước tính, hơn 50% số trường hợp EOPD và khoảng 2-3% số trường hợp LOPD có liên quan đến di truyền. Việc phát hiện các đột biến gen liên quan đến EOPD có tính chất gia đình đã xác nhận vai trò quan trọng của chúng trong quá trình phát triển bệnh Parkinson và giúp chúng ta hiểu cơ chế bệnh sinh phân tử của bệnh Parkinson một cách dễ dàng hơn²².

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

Bệnh Parkinson là một bệnh nhiều yếu tố nguy cơ, trong đó yếu tố di truyền và môi trường đóng vai trò quan trọng. Tuổi cũng là yếu tố nguy cơ lớn đối với bệnh Parkinson, với độ tuổi khởi phát trung bình là 60 tuổi². Sự khác biệt giữa EOPD và LOPD, EOPD nguyên nhân đa số là do yếu tố di truyền⁵.



Hình 1. 6: Liên kết giữa tuổi, môi trường, gen trong bệnh Parkinson.

(Nguồn: Maiti P, 2017)¹⁰.

1.3.1. Yếu tố môi trường

❖ Lối sống

Hút thuốc lá làm giảm nguy cơ mắc bệnh Parkinson chưa được hiểu đầy đủ. Việc hoạt hóa các thụ thể nicotinic acetylcholine trên tế bào thần kinh tạo ra dopamin bởi nicotin hoặc các chất đồng vận chọn lọc, đã được chứng minh là có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh trong bệnh Parkinson.

Nhiều nghiên cứu cũng đã báo cáo giảm nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở những người uống cà phê. Có báo cáo giảm 25% nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở những người uống cà phê. Caffeine, một chất đối kháng của thụ thể adenosine A2a, đã được chứng minh có vai trò bảo vệ thần kinh, bằng cách làm tắc nghẽn thụ thể này.

❖ Nước giếng

Ở nước ta người dân còn sử dụng nước giếng khoan trong sinh hoạt khá phổ biến. Trong nước giếng khoan bao gồm các thành phần: chất khoáng hòa tan, sắt và mangan tồn tại ở dạng hòa tan, axit cacbonic, các chất khí (metan, H₂S, NH₃), các chất hóa học và kim loại nặng khác. Mối quan hệ giữa nguy cơ mắc bệnh Parkinson và sử dụng nước giếng khoan trong sinh hoạt đã được nghiên cứu rộng rãi và nhiều nghiên cứu báo cáo rằng, việc sử dụng nước giếng khoan có thể làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson.

Một nghiên cứu thống kê tổng hợp tìm mối liên quan giữa uống nước giếng khoan và bệnh Parkinson cho thấy những người uống nước giếng có nguy cơ mắc bệnh cao hơn những người sử dụng nguồn nước tốt (nước máy hoặc nước giếng đã lọc) với tỷ số odds [OR] là 1,16 (khoảng tin cậy [KTC] 95%: 0,97–1,39)²³ và trong phân tích phân nhóm theo khu vực địa lý, tỷ lệ sử dụng nước giếng khoan cao hơn đáng kể ở các nghiên cứu được thực hiện ở Châu Á. Một nghiên cứu bệnh chứng khác được thực hiện ở Belgrade cho thấy chỉ số chênh lệch mắc bệnh Parkinson ở những người sử dụng nước giếng khoan trong sinh hoạt (OR = 2,62; KTC 95%: 1,40–4,90) và người sử dụng suối trong sinh hoạt (OR = 2,19; KTC

95%: 1,15–4,16) so với những người sử dụng nước máy trong sinh hoạt. Một giả thuyết được đưa ra là những người sử dụng nước giếng khoan trong sinh hoạt có nguy cơ mắc bệnh Parkinson cao hơn, bởi vì nguồn nước giếng bị phơi nhiễm và tích tụ thuốc trừ sâu²⁴.

❖ Thuốc trừ sâu

Năm 1983, Langston và cộng sự lần đầu tiên phát hiện MPTP có liên quan đến thoái hóa hệ thống vân đen, khi một số người xuất hiện các triệu chứng của bệnh Parkinson điển hình, sau khi tự tiêm thuốc có chứa MPTP. MPTP được chuyển hóa thành độc tố thần kinh, là chất ức chế phức hợp I của ty thể, gây tổn thương có chọn lọc các tế bào sản xuất dopamin ở chất đen. Việc xác định MPTP là nguyên nhân gây ra thoái hóa chất đen, cho thấy rằng bệnh Parkinson là do độc tố môi trường gây ra¹³.

Paraquat (một loại thuốc diệt cỏ có cấu trúc rất giống với MPP⁺), làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson gấp 3 lần và rotenone (một loại thuốc trừ sâu) làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson gấp 2,5 lần¹³, là những chất ức chế phức hợp I có chọn lọc và gây ra sự suy giảm tế bào sản xuất dopamin ở động vật bị bệnh Parkinson. Điều này cũng dẫn đến nhiều nghiên cứu khác bao gồm mối liên quan với nông nghiệp, uống nước giếng khoan, sống ở vùng nông thôn, hàn chì và tiếp xúc với kim loại nặng (ví dụ, sắt, đồng, chì, nhôm và kẽm) cũng được phát hiện có liên quan với nguy cơ gây ra bệnh Parkinson².

Bảng 1. 1: Các chất độc môi trường liên quan đến bệnh Parkinson².

Độc tố	Sử dụng	Phương thức hoạt động	Tác động vào hệ thống thần kinh
MPTP	Thuốc diệt cỏ	Ức chế sự vận chuyển điện tử	Hội chứng Parkinson
Rotenone	Thuốc trừ sâu	Ức chế hệ thống vận chuyển điện tử ty thể	Những triệu chứng tương tự như bệnh Parkinson

Paraquat	Thuốc diệt cỏ	Ức chế sự vận chuyển điện tử, sự quang hợp	Stress oxy hóa
Maneb	Thuốc diệt nấm	Ức chế chuyển hóa glucocorticoid	Những triệu chứng tương tự như bệnh Parkinson
Zineb	Thuốc trừ sâu	Chuyển hóa độc chất thần kinh carbon disulfide	Co giật, mệt mỏi, chóng mặt, đau đầu, nói lắp, mất ý thức
Ziram	Thuốc trừ sâu	Không rõ	Hít vào kéo dài gây ra rối loạn thần kinh thị giác
Thiram	Thuốc trừ sâu	Không rõ	Co giật, đau đầu, chóng mặt, mệt mỏi, buồn ngủ, lú lẫn
Nabam	Thuốc diệt nấm	Không rõ	Co giật, chóng mặt, lú lẫn

1.3.2. Gen và bệnh Parkinson

Ngoài các yếu tố độ tuổi và môi trường, gen cũng liên quan đến nguy cơ mắc bệnh. Người có tiền sử gia đình có nguy cơ mắc bệnh Parkinson cao hơn người không có tiền sử gia đình. Nghiên cứu trên 504 gia đình với 2828 người tham gia cho thấy hệ số di truyền (heritability index) là 0,41²⁵. Kết quả này cho thấy các yếu tố di truyền giải thích cho 40% nguy cơ mắc bệnh Parkinson giữa các cá nhân trong cộng đồng, và phần còn lại có thể do ảnh hưởng từ các yếu tố môi trường. Tuy nhiên, một nghiên cứu sử dụng phân tích toàn bộ bộ gen (GWAS) cho thấy hệ số di truyền ước tính từ các biến thể gen đã phát hiện là 11%.

Tổng hợp thống kê các gen ảnh hưởng đến bệnh Parkinson

Trong hơn ba thập niên qua, đã có nhiều công trình nghiên cứu nhằm tìm ra những gen cụ thể có liên quan đến bệnh Parkinson, và kết quả chính có thể tóm tắt trong bảng số liệu dưới đây (Bảng 1. 2). Tất cả các gen này nằm trong nhiễm sắc thể thường (autosomal chromosomes), và đa số có sự ảnh hưởng 'trội' (dominant) hơn là 'lặn' (recessive). Ảnh hưởng trội có nghĩa là chỉ cần đột biến 1 allele cũng đủ để gây bệnh. Gen gây ảnh hưởng 'lặn' cần đột biến 2 allele²⁵.

Một số gen có liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát sớm (dưới 50 tuổi). Các gen ảnh hưởng đến bệnh Parkinson theo mô thức Mendel được định danh theo công thức ‘*PARK*’ kèm theo chữ số thể hiện thứ tự thời gian khám phá. Chẳng hạn như *PARK1* được khám phá đầu tiên và *PARK4* được khám phá lần thứ tư (tuy cả hai gen này đều được biết đến là *SNCA*). Các gen có ảnh hưởng lớn đến nguy cơ mắc bệnh thường có tần số biến thể trong cộng đồng thấp²⁵.

Bảng 1. 2: Danh sách những gen có liên quan đến bệnh Parkinson²⁵

Tên chính thức của gen	Tên khác của gen	Thể di truyền	Loại bệnh Parkinson	Chứng cứ liên quan	Cơ chế
SNCA	<i>PARK1</i> , <i>PARK4</i> , <i>NCAP</i>	AD	Khởi phát sớm	Xác định	alpha-synuclein
VPS35	<i>PARK17</i> , <i>MEM3</i>	AD	Điển hình	Xác định	Retromer và endosomal
PINK1	<i>PARK6</i>	AR	Khởi phát sớm	Xác định	Mitochondrial
PARK7	<i>DJ-1</i>	AR	Khởi phát sớm	Xác định	Mitochondrial
PRKN	<i>PARK2</i> , <i>PARKIN</i>	AR	Khởi phát sớm	Xác định	Mitochondrial
PLA2G6	<i>PARK14</i> , <i>IPLA2</i>	AR	Khởi phát sớm, không điển hình	Xác định	Tế bào màng
APT12A2	<i>PARK9</i>	AR	Khởi phát sớm, không điển hình	Xác định	Lysosomal
FBXO7	<i>PARK15</i> , <i>FBX7</i>	AR	Khởi phát sớm, không điển hình	Xác định	Mitochondrial
POLG	<i>POLG1</i> , <i>POLGA</i>	AD	Khởi phát sớm, không điển hình	Xác định	Mitochondrial
DNAJC6	<i>PARK19</i> , <i>DJC6</i>	AR	Khởi phát sớm	Chưa đủ mạnh	Synapse
DNAJC13	<i>PARK21</i> , <i>RME8</i>	AD	Điển hình	Mâu thuẫn	Synapse
TMEM230	<i>C20ORF30</i>	AD	Điển hình	Mâu thuẫn	Synapse

SYNJ1	<i>PARK20</i>	AR	Khởi phát sớm, không điển hình	Xác định	Synapse
VPS13C	<i>PARK23</i>	AR	Khởi phát sớm	Xác định	Mitochondrial
CHCHD2		AD	Điển hình	Xác định	Chưa rõ
DCTN1		AD	Không điển hình	Xác định	Microtubule
LRRK2	<i>PARK8, DARDARIN</i>	AD	Điển hình	Xác định	Lysosomal, Mitochondrial, Microtubule
GBA	<i>GBA1</i>	AD	Điển hình	Xác định	Lysosomal
HTRA2		AD		Bất định	Mitochondrial
UCHL1	<i>PARK5</i>	AD		Bất định	Ubiquitin proteasome
GIGYF2	<i>PARK11</i>	AD		Bất định	Chưa rõ
EIF4G1		AD		Yếu	mRNA
LRP10	<i>LRP9</i>	AD		Bất định	Chưa rõ

AD: nhiễm sắc thể thường dạng trội (Autosomal Dominant);

AR = nhiễm sắc thể thường dạng lặn (Autosomal Recessive)

Mitochondrial: ty thể; **Lysosomal** = tiêu thể; **Microtubule** = vi ống.

1.4. Vai trò của biểu thể di truyền (*epigenetics*) trong bệnh Parkinson khởi phát sớm

1.4.1. Cơ chế về biểu thể di truyền

Thuật ngữ biểu thể di truyền lần đầu tiên được sử dụng vào năm 1942 bởi Conrad Waddington, là sự kết hợp của hai từ biểu sinh hay 'bề mặt' (epi) và di truyền (genetics)²⁶. Biểu thể di truyền có thể hiểu đơn giản là “bề mặt của gen”. Biểu thể di truyền được định nghĩa là nghiên cứu các yếu tố môi trường tác động đến sự ảnh hưởng của gen đối với một bệnh lý hay một đặc điểm lâm sàng.

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

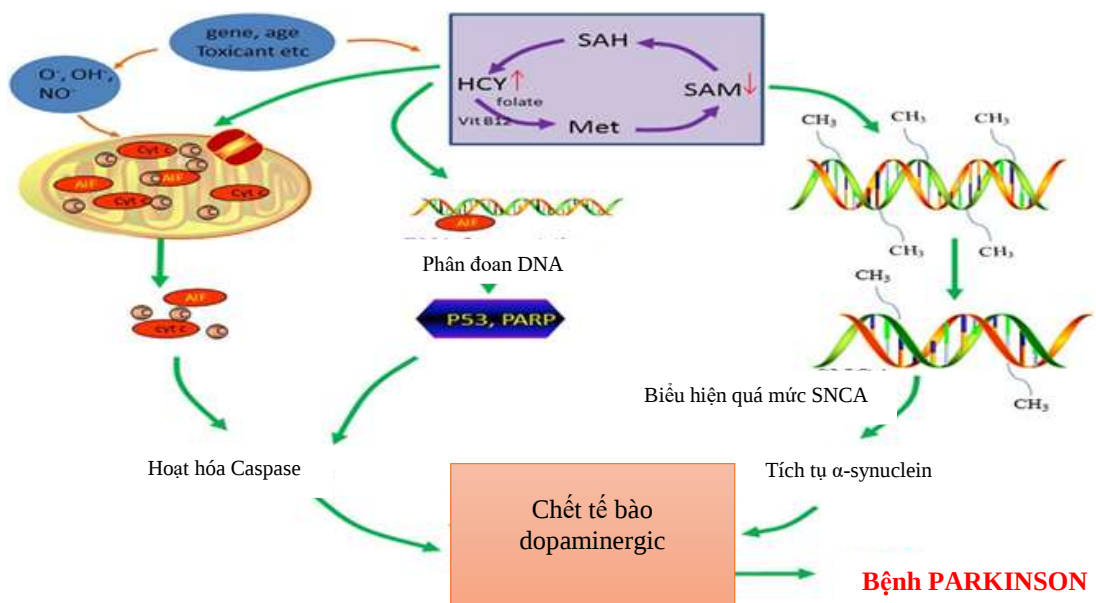
gồm sự methyl hóa DNA, sửa đổi histon sau sao chép và sự thay đổi microRNA và các RNA không mã hóa khác²⁷.

1.4.1.1. Methyl hóa DNA

Nhiều yếu tố kết hợp với methyl hóa DNA trong bệnh Parkinson

Biểu thể di truyền ở bệnh Parkinson được nghiên cứu nhiều nhất là methyl hóa DNA, đây là quá trình chuyển đổi nhóm methyl từ S-adenosyl methionine (SAM) để tạo thành 5-methylcytosine (SAM sẽ thay thế vào vị trí phân tử carbon số 5 của màng cytosine tại các đảo CpG nhờ vào men DNA methyltransferases). Đồng thời, S-adenosyl methionine cũng được chuyển đổi thành S-adenosylhomocysteine và cuối cùng là homocystein. Các đảo CpGs có thể trực tiếp ngăn cản sự liên kết của yếu tố sao chép và làm giảm biểu hiện của gen.

Sự methyl hóa DNA có thể ảnh hưởng lớn đến sự tương tác giữa DNA và histon. Vì vậy, quá trình methyl hóa DNA ở các vùng gen khởi động bị thay đổi, ảnh hưởng đến sự biểu hiện của gen, góp phần vào cơ chế bệnh học của bệnh Parkinson²⁷.



Hình 1. 7: Vai trò của methyl hóa DNA trong bệnh Parkinson.

(Nguồn: Feng, 2015)²⁸

Rối loạn chuyển hóa carbon sẽ làm giảm nồng độ SAM, dẫn đến giảm methyl hóa DNA và làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson. Giảm methyl hóa DNA

làm thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể và giúp cho chúng sao chép dễ dàng hơn, ví dụ như sự biểu hiện quá mức *SNCA* dẫn đến tích tụ α -synuclein và sau đó là thoái hóa tế bào thần kinh tạo ra dopamin. Ngoài ra, nồng độ homocystein cao có thể gây ra chết tế bào thần kinh, làm suy giảm chức năng ty thể và hoạt hóa gen liên quan đến quá trình tự tiêu tế bào, dẫn đến kích hoạt caspase và quá trình tự tiêu của tế bào thần kinh. Điều này gián tiếp tạo ra dopamin²⁸.

Methyl hóa DNA trong các gen liên quan đến bệnh Parkinson

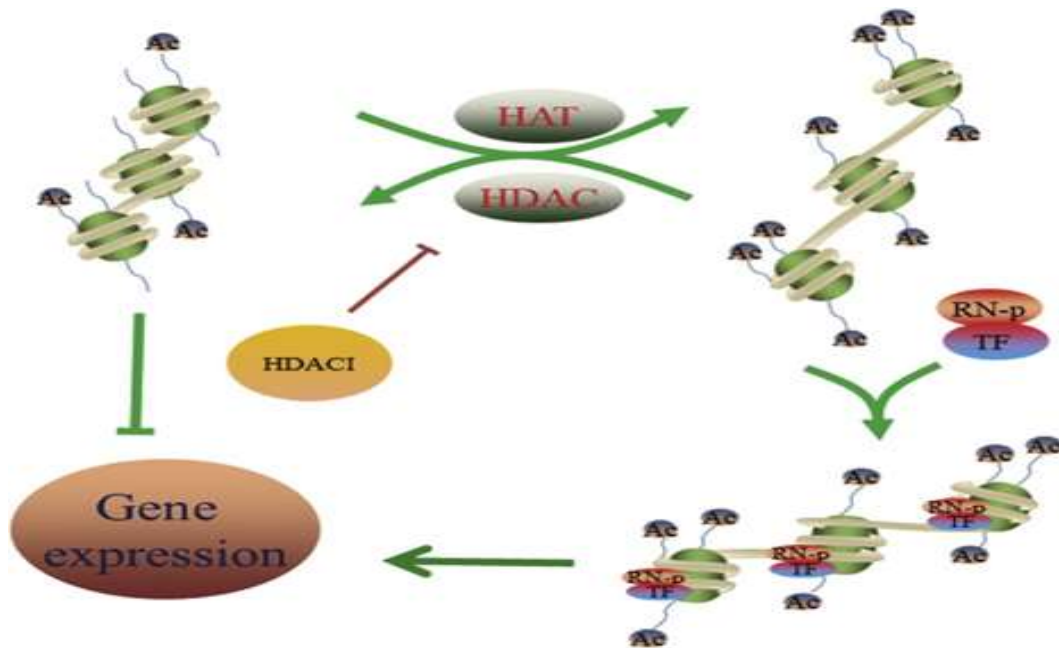
Biểu hiện của *SNCA*, một trong những gen nguy cơ quan trọng nhất của bệnh Parkinson, được điều chỉnh bởi quá trình methyl hóa DNA. Giảm methyl hóa *SNCA intron 1* đã được tìm thấy trong não bệnh Parkinson, có thể giải thích là do cơ chế phân tử làm giảm methyl hóa của *SNCA*.

Điều rất nổi bật là bệnh Parkinson xảy ra ở nam nhiều hơn nữ, có thể là do kiểu methyl hóa của gen đặc biệt về giới tính như *MAPT*²⁹. Mức methyl hóa *MAPT* được thấy trong bạch cầu của phụ nữ cao hơn nam. Methyl hóa quá mức của gen *MAPT* có thể dẫn đến giảm biểu hiện của gen này, điều này có thể giải thích tại sao phụ nữ có yếu tố nguy cơ mắc bệnh Parkinson thấp hơn nam.

Yếu tố hoại tử TNF- α , một yếu tố viêm quan trọng liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson. Pieper và cộng sự, cho thấy sự giảm methyl hóa của vùng gen khởi động TNF- α trong chất đen ở bệnh nhân Parkinson so với nhóm chứng, cho thấy rằng cơ chế này đóng vai trò trong quá trình viêm thần kinh quá mức trong bệnh Parkinson²⁶.

1.4.1.2. Thay đổi histon

Histon là thành phần quan trọng của tế bào nhiễm sắc thể ở động vật có vú với các đuôi N nhô ra khỏi các nucleosom. Vì vậy, chúng tương tác với các yếu tố khác và có thể dễ dàng sửa đổi. Các hoạt động sửa đổi xảy ra ở phần còn lại của đuôi histon như methyl hóa, acetyl hóa, phosphoryl hóa, ubiquitination và sumoyl hóa, trong đó acetyl hóa tại phần còn lại lysin ở đuôi N của protein histon là đặc biệt quan trọng²⁸.



Hình 1. 8: Quá trình acetyl hóa histon và ảnh hưởng trên sao chép gen

(Nguồn: Feng, 2015)²⁸

Quá trình acetyl hóa histon được thực hiện nhờ các enzym acetylase (HATs). Quá trình acetyl hóa histon tạo ra cấu trúc chất nhiễm sắc lỏng lẻo, sau đó hoạt hóa phiên mã. Trái lại quá trình khử acetyl histon tạo ra nhiễm sắc bất thường và sau đó ức chế phiên mã²⁸.

+ Acetyl hóa histon trong bệnh Parkinson

Acetyl hóa histon giúp giảm độc tính thần kinh của SNCA và ngăn ngừa tình trạng tiêu hủy của tế bào dopamin. Tăng acetyl hóa H3 hoặc H4 là mấu chốt của sự thay đổi biểu thể di truyền trong tế bào thần kinh tạo ra dopamin. Hơn nữa, chất ức chế HAT như anacardic acid, có thể làm giảm đáng kể sự thoái hóa tế bào thần kinh tạo ra dopamin do Diethylstilbestrol gây ra trong các tế bào thần kinh não giữa nguyên phát, hỗ trợ vai trò tăng acetyl hóa của H3 và H4 trong tế bào thần kinh bị chết sau khi tiếp xúc với độc tố. Vì vậy, rối loạn điều hòa của acetyl hóa H3 hoặc H4 được xem là một cơ chế quan trọng của mất tế bào thần kinh do thuốc trừ sâu gây ra trong bệnh Parkinson^{28,26,30}.

1.4.1.3. MicroRNA

MicroRNAs (miRNAs) một nhóm DNA gồm 21-24 nucleotide trong phần non-coding RNAs (không sản sinh ra protein) gắn vào vùng 3' chưa dịch mã (3'UTR) của RNAs đích, dẫn đến suy giảm hoặc ức chế dịch mã. Rối loạn điều hòa miRNAs là yếu tố quan trọng góp phần gây thoái hóa thần kinh trong bệnh Parkinson²⁸.

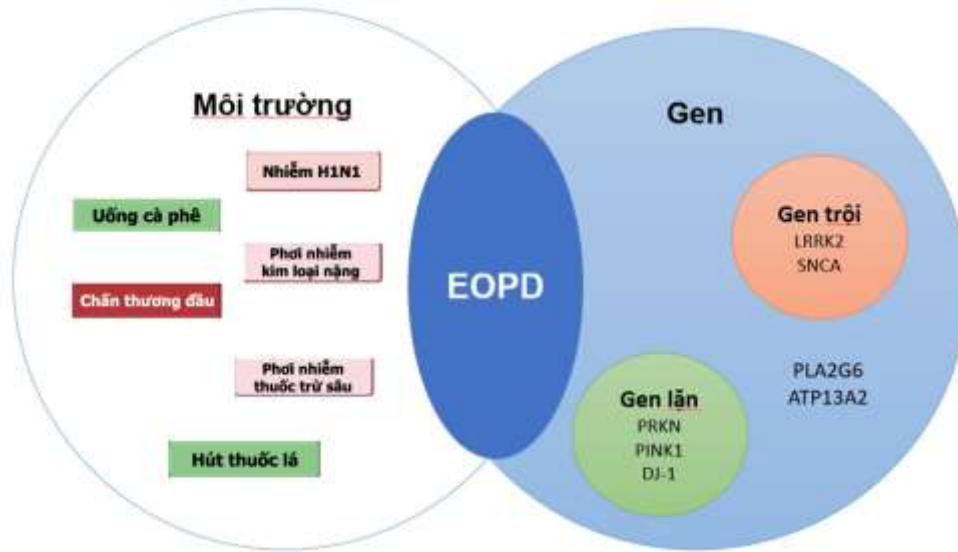
Bảng 1. 3: Thay đổi mức độ miRNA trong bệnh Parkinson²⁸.

miRNA	Mức thay đổi	Các hiệu ứng có thể
miR-133b	↓	Điều chỉnh tế bào thần kinh tạo ra dopamin, trưởng thành và chức năng
miR-132	↑	Giảm sự biệt hóa của tế bào thần kinh, điều chỉnh giảm Nurr1
miR-7	↓	Ức chế mức α -synuclein, vị trí đích 3'-UTR của SNCA
miR-153		
miR-106a	↑	Thực bào qua trung gian chaperon
miR-34b miR-34c	↓	Rối loạn chức năng ty thể, stress oxy hóa

1.4.2. Tác động của yếu tố môi trường vào cơ chế biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson khởi phát sớm (EOPD)

Tác động của yếu tố môi trường và gen đối với EOPD

Nhiều giả thuyết giải thích về bệnh Parkinson khởi phát sớm là do sự kết hợp của các yếu tố môi trường và gen gây ra bệnh. Yếu tố nguy cơ (màu đỏ, hồng hoặc in đậm) và yếu tố bảo vệ (màu xanh lá cây hoặc in nghiêng).



Hình 1. 9: Tác động của yếu tố môi trường và gen đối với EOPD

(Nguồn: Angelopoulou E, 2022)²⁷

Yếu tố môi trường

Việc tiếp xúc với các yếu tố môi trường có thể làm tăng nguy cơ bệnh Parkinson, và một điều đáng quan tâm là hút thuốc lá có tác dụng bảo vệ chống lại bệnh Parkinson (có liên quan chặt chẽ với tuổi khởi phát sớm hơn). Uống cà phê đã được báo cáo là yếu tố bảo vệ chống lại bệnh Parkinson. Tuy nhiên, vai trò của việc uống cà phê vẫn chưa được nghiên cứu rộng rãi trong EOPD.

Trong lịch sử, đại dịch cúm H1N1 năm 1917-1918 được xem là yếu tố môi trường gây ra bệnh Parkinson. Đặc biệt, bệnh viêm não von Economo là do H1N1 trực tiếp gây ra. Gần đây, việc tiếp xúc với H5N1 được xem là nguyên nhân gây bệnh Parkinson, xảy ra trong mô hình thực nghiệm về bệnh Parkinson. Sẽ cần có thêm các nghiên cứu chính xác trong tương lai để khám phá vai trò của đại dịch SARS-CoV-2 (Covid-19) hiện tại đối với nguy cơ mắc bệnh Parkinson, mặc dù các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các quá trình thoái hóa thần kinh có thể xảy ra³¹.



Hình 1. 10: Sơ đồ về tác động của các yếu tố môi trường đối với biểu thể di truyền ở bệnh Parkinson

(Nguồn: Angelopoulou E, 2022)²⁷

Hút thuốc lá, dùng cà phê, phơi nhiễm thuốc trừ sâu và diệt cỏ, và phơi nhiễm kim loại nặng có tác động đến methyl hoá DNA, microRNA và biến đổi histon. MicroRNA là một nhóm RNA có chức năng điều phối hoạt động của gen²⁷.

1.4.2.1. Thuốc lá

Nhiều nghiên cứu đã xác định có mối quan hệ đảo nghịch giữa hút thuốc lá và bệnh Parkinson, hút thuốc lá làm giảm nguy cơ bệnh Parkinson khoảng 50%. Về cơ chế phân tử, nicotin trong thuốc lá có thể bảo vệ thần kinh bằng cách tương tác với các thụ thể nicotinic acetylcholin. Có sự phân bố khác biệt ở cả vùng giảm methyl hóa và tăng methyl hóa giữa những người hút thuốc và những người không hút thuốc. Ngoài ra, hút thuốc lá cũng ảnh hưởng đến quá trình giảm acetyl hóa histon và ảnh hưởng đến sự biểu hiện của miRNA trong các mô không phải thần kinh. Do đó, sự methyl hóa DNA có thể làm trung gian cho tác động của việc hút thuốc trong bệnh Parkinson.

Sự tăng methyl hóa DNA của gen *CYP2D6*, gen *GST* (*Glutathione-S-transferase*), gen *GSTM1*, gen *SLC6A3* và gen *LINE-1* (*Interspersed Nucleotide*

Element-1) có mối liên quan nghịch với nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở người hút nhiều thuốc lá²⁷.

1.4.2.2. Phơi nhiễm thuốc trừ sâu và thuốc diệt côn trùng

Dieldrin, một hợp chất clo hữu cơ và là một chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy được sử dụng rộng rãi như một thuốc diệt côn trùng, có liên quan đến tăng nguy cơ bệnh Parkinson. Dieldrin làm tăng sản xuất các loại oxy phản ứng (Reactive oxygen species) và stress oxy hóa, tổn thương ty thể, giải phóng cytochrome c và hoạt hóa caspase 3, dẫn đến chết tế bào dopamin. Rotenon hoạt động như một chất độc thần kinh, bằng cách ức chế phức hợp I của ty thể, làm tăng các loại oxy phản ứng và ức chế sản xuất ATP.

Nhiều loại thuốc trừ sâu đã được xác định liên quan đến cơ chế của bệnh Parkinson thông qua quá trình methyl hóa DNA của các gen *Glutathione S-transferase pi (GSTP1)*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *DAT*, *DDAH2*²⁷.

1.4.2.3. Cà phê

Nguy cơ mắc bệnh Parkinson đã được chứng minh là thấp hơn ở những người uống cà phê. Caffeine là hoạt động như một chất đối vận thụ thể adenosine A2A, ức chế quá trình viêm thần kinh và stress oxy hóa. Tác động của cà phê đến biến đổi biểu thể di truyền, là liên quan giữa tình trạng methyl hóa DNA ở các vị trí CpG ở một số gen gây ra bệnh Parkinson gia đình như *GBA*, *Parkin* và *PINK1* trong máu của những người không mắc bệnh Parkinson²⁷.

1.4.2.4. Phơi nhiễm với kim loại nặng

Tăng tiếp xúc với các kim loại nặng như mangan, đồng, thủy ngân, kẽm, chì, nhôm, asen và sắt, có thể dẫn đến thoái hóa tế bào thần kinh tạo ra dopamin, làm tăng nguy cơ bệnh Parkinson. Phơi nhiễm mangan quá mức kéo dài, có thể dẫn đến các triệu chứng của bệnh Parkinson. Mangan góp phần vào bệnh Parkinson bằng cách làm giảm methyl hóa *DRD2*. Ngoài ra, hoạt động gen *Parkin* và *PINK1* cũng bị ảnh hưởng bởi sự tăng methyl hóa DNA khi tiếp xúc với mangan²⁷.

Tiếp xúc với chì cũng liên quan đến việc tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson. Sự giảm mức độ methyl hóa của vùng khởi động *LINE-1*, có liên quan với tiếp xúc

chì. Nguy cơ bệnh Parkinson tăng cao cũng liên quan đến việc tiếp xúc với mức độ cao asen trong đất của trang trại, bao gồm sự giảm methyl hóa *LINE-1*²⁷.

1.5. Tình hình nghiên cứu về các yếu tố môi trường và biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson

1.5.1. Trong nước

Tại Việt Nam, cho đến nay có rất nhiều nghiên cứu về người bệnh Parkinson. Nhưng rất ít nghiên cứu về bệnh Parkinson khởi phát người trẻ như nghiên cứu về “Lâm sàng trên 30 trường hợp bệnh Parkinson khởi phát người trẻ” tại bệnh viện Đại Học Y Dược TPHCM³². Tuy nhiên, chúng tôi chưa ghi nhận được nhiều nghiên cứu về mối liên quan giữa các yếu tố môi trường với bệnh Parkinson và chưa có nghiên cứu về phân tích biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson.

1.5.2. Nước ngoài

Có rất nhiều nghiên cứu về mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và phân tích biểu thể di truyền.

1.5.2.1. Nghiên cứu về mối liên quan giữa yếu tố môi trường và bệnh Parkinson

Năm 2019, Nicole Ball và cộng sự thực hiện một báo cáo tổng hợp với mục đích tìm hiểu cơ chế các yếu tố môi trường tác động đến não, nhằm xác định các nguyên nhân của bệnh Parkinson. Tương tác giữa gen với môi trường được xem là nguyên nhân cơ bản của bệnh Parkinson vô căn. Do tính đa dạng của bộ gen mà mỗi người khi tiếp xúc với cùng một yếu tố môi trường sẽ bị ảnh hưởng khác nhau, dẫn đến các kiểu hình bệnh khác nhau. Cho tới nay, đã có nhiều độc chất môi trường được chứng minh có liên quan đến bệnh Parkinson, nhưng dữ liệu chưa thống nhất. Trong báo cáo này, tác giả sẽ tổng hợp kết quả và các cơ chế từ nhiều nghiên cứu được đăng trên các tạp chí uy tín để đưa ra các kết luận về mối liên quan giữa môi trường và bệnh Parkinson³³.

Kim loại nặng

Đồng góp phần gây ra stress oxy hóa. Tuy nhiên, đồng có hai phương thức hoạt động, phản ứng Fenton-Haber-Weiss và chu trình oxy hóa khử 6-OHDA (6-

hydroxydopamine). Sự tích tụ đồng trong não dẫn đến giảm dopamin, tập hợp alpha-synuclein và giảm yếu tố bảo vệ tế bào thần kinh, superoxide dismutase 1. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, những nghề nghiệp tiếp xúc với đồng nhiều làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson. Người bị phơi nhiễm đồng mãn tính có nguy cơ mắc bệnh Parkinson tăng gấp 2,5 lần so với người bình thường (OR = 2,49; KTC 95% = 1,06-5,89 và $p < 0,05$)³³.

Mangan có thể làm tăng nguy cơ bệnh Parkinson, thông qua độc tính mangan dẫn đến suy giảm chức năng vận động, tổn thương chất đen và các nhân hạch nền khác. Phơi nhiễm có thể xảy ra có thể do chế độ ăn uống, nghề nghiệp và môi trường.

Tiếp xúc với chì có thể tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson, một phân tích tìm mối liên quan giữa nguy cơ mắc bệnh Parkinson với tình trạng phơi nhiễm chì, kết quả cho thấy nhóm phơi nhiễm chì tăng nguy cơ mắc bệnh lên 2,27 lần (KTC 95% = 1,13-4,55 và $p = 0,021$) và nhóm phơi nhiễm chì mạn tính tăng nguy cơ mắc bệnh lên 3,21 lần (KTC 95% = 1,11–5,93 và $p = 0,03$). Phân tích sử dụng phương pháp đo nồng độ chì trong xương là một công cụ đáng tin cậy³³.

Thuốc trừ sâu

Một phân tích về chất độc da cam cho thấy, thành phần trong chất độc là Axit 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D) làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson (OR = 2,59; KTC 95% = 1,03-6,48 và $p = 0,04$). Một mô hình đa biến đã chứng minh có mối liên quan đáng kể giữa bệnh Parkinson và phơi nhiễm với 1 trong 8 loại thuốc trừ sâu phổ biến sau (2,4-D, paraquat, permethrin, dieldrin, diquat, maneb, mancozeb, và rotenone) với OR = 2,20; KTC 95% = 1,02-4,75 và $p = 0,04$ ³³.

Nghiên cứu của Tsai và cộng sự, về mối liên quan giữa yếu tố môi trường và bệnh Parkinson khởi phát sớm. Đây là nghiên cứu bệnh chứng, bao gồm 60 bệnh nhân Parkinson, trong đó 30 bệnh nhân khởi phát trước 40 tuổi (nữ:nam=10:20). Bệnh nhân sống vùng nông thôn, uống nước giếng trong phạm vi 3 km, trong vòng 1 năm. Tác giả nhận thấy, uống nước giếng

là những yếu tố nguy cơ gây ra bệnh Parkinson khởi phát sớm. Tác giả kết luận rằng, việc tiếp xúc sớm với uống nước giếng có thể gây ra sự xuất hiện nhanh của các triệu chứng bệnh Parkinson⁷³.

1.5.2.2. Các nghiên cứu về biểu thể di truyền liên quan đến bệnh Parkinson

Nghiên cứu của tác giả San-xi Ai thực hiện với trên 100 bệnh nhân bệnh Parkinson (45 nữ và 55 nam) và 95 bệnh nhân đối chứng (45 nữ và 50 nam), mục tiêu của nghiên cứu là so sánh quá trình methyl hóa giữa 2 nhóm. Đối tượng nghiên cứu là bệnh nhân của khoa thần kinh, bệnh viện Xiangya. Tác giả thực hiện so sánh mức độ methyl hóa DNA của *SNCA intron-1* giữa 2 nhóm bệnh bằng phân tích hồi quy tuyến tính điều chỉnh theo kiểu gen, tuổi và giới tính. Kết quả cho thấy mức độ methyl hóa trung bình của *SNCA intron-1* ở bệnh nhân Parkinson thấp hơn so với nhóm đối chứng ($p=0,033$) và sự giảm methyl hóa ở bệnh Parkinson tại vị trí CpG 6,8,9³⁴.

Nghiên cứu của Tan và cộng sự thực hiện tại bệnh viện Ruijin, nghiên cứu tuyển chọn 100 bệnh nhân Parkinson (được chọn từ phòng khám rối loạn vận động tại khoa thần kinh) và 100 đối tượng nhóm chứng bình thường đã được tuyển chọn từ các nghiên cứu dịch tễ học trước đó. Các đối tượng tham gia sẽ được khai thác dữ liệu thông tin cá nhân như tên, giới tính, tuổi và đặc điểm lâm sàng (tuổi khởi phát, thời gian mắc bệnh). Sau đó sẽ lấy 5ml mẫu máu của bệnh nhân để tiến hành xét nghiệm. Kết quả cho thấy không ghi nhận có sự khác biệt về CpG-1 của *SNCA* hoặc *LRRK2*. Phân tích định lượng sâu hơn bằng xét nghiệm cho thấy có sự giảm methyl hóa của *SNCA intron-2*, có sự khác biệt giữa nhóm bệnh Parkinson và nhóm chứng (5,9% so với 7,69%, $p=0,034$). Hơn nữa, trong các nhóm bệnh Parkinson, mức độ methyl hóa giảm nhiều hơn ở nhóm bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm so với nhóm khởi phát bình thường ($p<0,001$). Kiểm tra RT-PCR cho thấy *SNCA* mRNA tăng ở nhóm bệnh nhân Parkinson so với nhóm đối chứng ($p=0,003$)³⁵.

Một nghiên cứu trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm về tình trạng methyl hóa của gen *SNCA* và *PARK2*. Nhóm bệnh là 91 bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có tuổi trung bình là 48,83 tuổi và tuổi khởi phát bệnh trung bình là 41,67 tuổi. Tỷ lệ nam và nữ ở nhóm bệnh lần lượt là 54,5% và 45,5%. Nhóm chứng là

52 người khỏe mạnh có tuổi trung bình là 45,78 (24 người nữ và 29 người nam). Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật PCR để đánh giá tình trạng methyl hóa vùng khởi động của các gen *SNCA* và *PARK2*. Kết quả cho thấy quá trình methyl hóa các vùng gen *SNCA* và *PARK2* ở người bệnh EOPD thấp hơn đáng kể so với nhóm đối chứng với $p=0,013$ và $p=0,03$. Ngoài ra, tác giả cũng nhận thấy rằng tình trạng methyl hóa của gen *SNCA* có thể liên quan đến tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson ($p=0,042$)³⁶.

Bảng 1. 4: Tổng hợp những thay đổi biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson³⁶.

	Sự thay đổi	Tác động	Nghiên cứu chứng minh
Tăng methyl hóa DNA	<i>MAPT</i>	Liên quan đến tuổi khởi phát bệnh và những trường hợp bệnh vô căn	1. Masliah (2013) ³⁷ 2. Coupland (2014) ³⁸ 3. Su (2015) ³⁹
	Gen <i>PGC-1α</i>	Rối loạn lo âu và gia tăng các tín hiệu viêm	
mRNA methyl hóa	<i>KCNJ6</i>	Gia tăng bất thường chức năng m6A trên mRNA, ảnh hưởng đến dẫn truyền tín hiệu dopaminergic	Labbe (2016) ⁴⁰
	<i>GRIN1</i>		
	<i>DRD3</i>		
Giảm methyl hóa DNA	<i>VTRNA2-1</i>	Gây ra những thay đổi trong quá trình phiên mã	1. Minones-Moyano (2013) ⁴¹ 2. Eryilmaz (2017) ⁴²
	<i>TNF-α</i>	Cytokin gây viêm dẫn đến chết tế bào dopaminergic	
	Gen <i>SNCA</i>	Rối loạn chức năng ty thể α -synuclein	
Giảm acetyl hóa	<i>Tyrosine Hydroxylase</i>	Giảm khả năng tổng hợp monoamin	1. Harrison (2018) ⁴³ 2. Su (2015) ³⁹ 3. Wen (2016) ⁴⁴
	Gen <i>PGC-1α</i>	Methyl hóa cytosine của gen <i>PGC-1α</i> , ảnh hưởng đến chất đen	
MicroRNA	miR – 133b	Ảnh hưởng đến sự phát triển và chức năng của dopaminergic tế bào thần kinh não giữa	1. Kanagaraj (2014) ⁴⁵ 2. Xiong (2014) ⁴⁶

	miR – 132	Giảm biểu hiện Nurr1, làm tăng tính dễ bị tổn thương của các tế bào thần kinh	3. Alvarez-Erviti (2013) ⁴⁷
	miR – 124	Tham gia vào quá trình biệt hóa tế bào thần kinh	
	miR7	Điều chỉnh mức độ biểu hiện của protein α -synuclein	
	miR – 34b	Tác động <i>Parkin</i> và <i>Dj-1</i>	
	miR – 21	Tác động đến đường dẫn tín hiệu của thực bào	
	miR – 205	Tác động <i>LRRK2</i>	

Nhìn chung, các nghiên cứu về biểu thể di truyền trong bệnh Parkinson có tiềm năng cung cấp chứng cứ khoa học về sự tương tác giữa gen và môi trường trong việc phát sinh bệnh Parkinson. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu về biểu thể di truyền được thực hiện ở các nước châu Âu, nơi mà môi trường rất khác với Việt Nam. Kết quả nghiên cứu ở các quần thể phương Tây có thể không áp dụng cho Việt Nam. Việt Nam là một nước có tốc độ phát triển kinh tế nhanh, dẫn đến thay đổi về lối sống và môi trường sống. Do đó, một nghiên cứu ở quần thể người Việt có thể cung cấp chứng cứ khoa học về biểu thể di truyền ở bệnh nhân Parkinson ở Việt Nam.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu bệnh chứng, mô tả cắt ngang.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Dân số mục tiêu

Tất cả những người dưới hay ở tuổi 50.

2.2.2. Dân số chọn mẫu

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

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

2.2.3. Tiêu chuẩn chọn bệnh và loại trừ

Nhóm bệnh

Tiêu chuẩn chọn vào

- Bệnh Parkinson khởi phát dưới hay ở tuổi 50;
- Được chẩn đoán bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease 2015 (MSD-PD)⁴⁸.
- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

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

Nhóm chứng

Tiêu chuẩn chọn vào

- Dưới hay ở tuổi 50

- Không có dấu hiệu của hội chứng Parkinson
- Đồng ý tham gia nghiên cứu

Tiêu chuẩn loại ra

Bệnh nhân không hợp tác trong khai thác thông tin.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

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

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

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

2.4. Cỡ mẫu của nghiên cứu

Việc ước tính cỡ mẫu được thực hiện dựa vào mục tiêu nghiên cứu. Mục tiêu 1 là mô tả đặc điểm lâm sàng và mục tiêu 2 là xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ bệnh Parkinson khởi phát sớm. Chúng tôi lấy phơi nhiễm thuốc trừ sâu làm điểm tham chiếu. Mục tiêu 3 là mô tả đặc điểm biểu thể di truyền ở nhóm bệnh Parkinson khởi phát sớm, giúp cho việc tiên lượng bệnh. Gọi p_1 là tỷ lệ phơi nhiễm thuốc trừ sâu ở nhóm chứng; và OR là tỷ số odds liên quan đến bệnh Parkinson ở người bị phơi nhiễm thuốc trừ sâu; và $z_{\alpha/2}$ và z_β là hằng số của phân bố chuẩn (Normal distribution) tương ứng với sai số loại I và sai số loại II, cỡ mẫu tối thiểu cần thiết cho một nghiên cứu bệnh chứng có thể ước tính như sau⁴⁹:

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

Trong đó, tỷ lệ phơi nhiễm ở nhóm bệnh là $p_2 = \frac{p_1 \times OR}{1 + p_1 \times (OR - 1)}$, và tỷ lệ trung bình là $p = (p_1 + p_2)/2$.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi lấy tỷ lệ phơi nhiễm ở nhóm chứng là 21% (theo nghiên cứu của Anais và các cộng sự⁵⁰), và OR là 2,5 (theo nghiên cứu của Jordan và các cộng sự⁵¹).

Sai số I và II được xác định là 5% và 20% theo như quy ước chung trong nghiên cứu bệnh chứng. Với các tham số trên, số cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm là 92 người. Chúng tôi sẽ chọn 100 người cho mỗi nhóm trong nghiên cứu của chúng tôi, vì chúng tôi nghĩ sẽ có một số bệnh nhân bỏ cuộc trong lúc nghiên cứu.

Đối với mục tiêu 3 (nghiên cứu biểu thể di truyền), hầu hết các nghiên cứu trước đây trong y văn đều có cỡ mẫu dao động trong khoảng 5 đến 30 bệnh nhân cho nhóm chứng và nhóm bệnh. Đây là nghiên cứu mới và là nghiên cứu khám phá. Trong nghiên cứu này, chúng tôi ước tính cỡ mẫu cho nghiên cứu biểu thể di truyền dựa trên tham số 'beta' được định nghĩa như sau: $\beta = \text{signal} / (\text{signal} + \text{non} - \text{signal}) \times 100$; trong đó 'signal' có nghĩa là tín hiệu methyl hoá, 'non-signal' là tín hiệu không methyl hoá. Mức độ khác biệt về β giữa nhóm bệnh và nhóm chứng được giả định là dao động từ 10% đến 20% (vì không có con số chính xác). Dựa vào phương pháp ước tính cỡ mẫu mô tả trong bài báo của Tsai và Bell (Power and sample size estimation for epigenome-wide association scans to detect differential DNA methylation. *Int J Epidemiol* 2015;44:1429-41) chúng tôi ước tính rằng với cỡ mẫu 10 người mỗi nhóm thì độ nhạy (power) của nghiên cứu là từ 80% trở lên để phát hiện một khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Do đó, chúng tôi quyết định phân tích biểu thể di truyền dựa trên 20 mẫu, trong đó 10 bệnh nhân và 10 người chứng. Và 20 mẫu này được lấy ngẫu nhiên trong 100 bệnh nhân Parkinson và 100 người chứng trong mục tiêu 1 và mục tiêu 2.

Phương pháp chọn mẫu

Lấy mẫu thuận tiện liên tục tất cả bệnh nhân đến khám tại phòng khám nội thần kinh và phòng khám chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu tại Bệnh Viện Chợ Rẫy trong thời gian nghiên cứu thỏa các tiêu chí chọn mẫu cho đến khi đủ số lượng mẫu cần thiết.

2.5. Định nghĩa biến số và xác định biến số độc lập, phụ thuộc

2.5.1. Công cụ thu thập dữ liệu

Bộ câu hỏi bao gồm 70 câu hỏi chia thành 5 phần: (a) Những thông tin hành chính của bệnh nhân gồm 5 câu hỏi; (b) Những thông tin về tiền căn của bệnh nhân gồm 14 câu hỏi; (c) Những thông tin về tình trạng bệnh của bệnh nhân gồm 40 câu hỏi; (d) Phân chia giai đoạn bệnh của bệnh nhân gồm 1 câu hỏi; và (e) Những thông tin về khám vận động của bệnh nhân gồm 23 câu hỏi.

2.5.2. Biến số nghiên cứu

Phần 1: Nhóm biến số đặc điểm xã hội học

Giới tính: được xác định là giới tính sinh học của bệnh nhân, xem trực tiếp trên hồ sơ khám bệnh, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị: nữ hoặc nam.

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

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

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

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

Tiền sử gia đình: được xác định bằng việc trong gia đình có quan hệ huyết thống đã từng có người mắc bệnh Parkinson, hỏi trực tiếp bệnh nhân và xem trực tiếp trên hồ sơ khám bệnh, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Yếu tố nguy cơ nguồn nước sử dụng: được xác định bằng cách hỏi trực tiếp người bệnh nguồn nước của người bệnh sử dụng hàng ngày, sử dụng liên tục trong vòng 6 tháng hoặc hơn²³, biến danh định, có 4 giá trị:

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

Yếu tố nguy cơ tiếp xúc hóa chất hoặc kim loại nặng, thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ: được xác định bằng nơi ở hoặc nơi làm việc của bệnh nhân có sự tiếp xúc với hóa chất hoặc kim loại nặng, thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ trong vòng 3 km, trong khoảng thời gian liên tục trong 1 năm⁵⁰, khai thác thông tin trực tiếp từ bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Sống ở vùng nông thôn: được xác định bằng nơi cư trú/nơi hiện tại đang sinh sống của bệnh nhân là vùng nông thôn, là nơi làm nghề trồng trọt hoặc chăn nuôi gia súc và có thời gian sinh sống ít nhất 1 năm²⁴, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Sống ở vùng công nghiệp: được xác định bằng nơi cư trú/nơi hiện tại đang sinh sống của bệnh nhân là vùng công nghiệp, và có thời gian sinh sống ít nhất 1 năm, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Hút thuốc lá: được xác định bằng việc có sử dụng thuốc lá trong quá khứ, bệnh nhân đã/ đang hút thuốc ít nhất 1 điếu/ tuần trong thời gian ít nhất 1 năm⁷³, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Uống rượu/bia: được xác định bằng việc có sử dụng rượu bia trong quá khứ, có uống hơn một lượng rượu tiêu chuẩn/ tuần trong thời gian 1 năm (lượng rượu tiêu chuẩn=17g alcohol, khoảng 1 lon bia 5% 375ml)⁷³, là biến nhị giá, hỏi trực tiếp bệnh nhân, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Uống cà phê: được xác định bằng việc có sử dụng cà phê trong quá khứ, và có thời gian sử dụng ít nhất 1 năm, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Sử dụng oestrogen: được xác định bằng việc có sử dụng oestrogen trong quá khứ, và có thời gian sử dụng ít nhất 1 năm, hỏi trực tiếp bệnh nhân và xem trực tiếp trên hồ sơ khám bệnh, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Luyện tập thể dục: được xác định bằng việc có luyện tập thể dục trong quá khứ, và có thời gian luyện tập liên tục ít nhất 1 năm, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Phần 2: Nhóm biến số tiền sử

Tuổi khởi phát bệnh: dựa vào lời khai chủ quan của bệnh nhân, là tuổi của bệnh nhân tại thời điểm bắt đầu xuất hiện triệu chứng bệnh Parkinson (bằng năm xuất hiện triệu chứng-năm sinh), biến định lượng.

Thời gian được chẩn đoán: được xác định là độ tuổi mà bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Parkinson bởi bác sĩ, xem hồ sơ khám bệnh Parkinson lần đầu của bệnh nhân hoặc khai thác thông tin trực tiếp từ bệnh nhân, là biến định lượng.

Tiền căn chấn thương đầu: được xác định bằng việc có tiền căn chấn thương đầu trong quá khứ, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Tiền căn gia đình có bệnh Parkinson: được xác định bằng việc gia đình của bệnh nhân có tiền căn mắc bệnh Parkinson, hỏi trực tiếp bệnh nhân, là biến nhị giá, gồm 2 giá trị:

- Có
- Không

Phần 3: Nhóm biến số đặc điểm lâm sàng

Thời gian có triệu chứng khởi phát bệnh lần đầu đến nghiên cứu: được xác định bằng hiệu số năm giữa thời điểm bệnh nhân có triệu chứng khởi phát bệnh lần đầu và thời điểm bệnh nhân được thu thập số liệu. Biến danh định:

- Dưới 3 năm
- Từ 4 đến 6 năm
- Từ 7 năm trở lên

Thời gian được chẩn đoán bệnh cho đến nghiên cứu: được xác định bằng hiệu số năm giữa thời điểm bệnh nhân được chẩn đoán xác định và thời điểm bệnh nhân được thu thập số liệu. Biến danh định:

- Dưới 3 năm
- Từ 4 đến 6 năm
- Từ 7 năm trở lên

Mức bệnh Parkinson: được xác định khi bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria

for Parkinson's Disease 2015 (MSD-PD)⁴⁸ khởi phát dưới hay ở tuổi 50, được chẩn đoán bởi 3 bác sĩ lâm sàng chuyên ngành thần kinh. Biến nhị giá:

- Có
- Không

Triệu chứng khởi phát bệnh: được xác định là những triệu chứng xuất hiện trên bệnh nhân khi khởi phát bệnh (dựa theo PDQ-39⁵²), dựa vào hỏi bệnh và được khám bởi 3 bác sĩ chuyên ngành về thần kinh, biến danh định, gồm 5 giá trị:

- Khởi phát 1 bên
- Khởi phát 1 bên lan sang 2 bên
- Run khi nghỉ
- Đơ cứng
- Chậm vận động
- Mất phản xạ tư thế

Các triệu chứng chậm vận động: được xác định là những triệu chứng chậm vận động, hỏi trực tiếp bệnh nhân và được khám bởi 3 bác sĩ chuyên ngành về thần kinh, biến danh định gồm các giá trị:

- Khó khăn việc xách giỏ đi chợ
- Khó khăn trong công việc nhà cửa
- Khó khăn khi đi lại
- Khó khăn khi viết
- Khó khăn khi chăm sóc bản thân
- Khó khăn trong giọng nói
- Khó khăn trong ăn, uống nước

Các triệu chứng ngoài vận động: được xác định là những triệu chứng ngoài các triệu chứng vận động, bao gồm các triệu chứng tâm thần kinh, hỏi trực tiếp bệnh nhân, biến danh định gồm các giá trị:

- Trầm cảm

- Lo âu
- Rối loạn giấc ngủ
- Cảm giác dễ khóc
- Cảm giác dễ giận dữ
- Mất tập trung
- Giảm trí nhớ
- Đau (Cơ, khớp)
- Rối loạn đi tiểu
- Táo bón
- Khó nuốt
- Đỏ da
- Rối loạn thị giác
- Rối loạn mùi
- Choáng váng do tư thế đứng

Số thuốc điều trị bệnh Parkinson: được xác định bằng số thuốc điều trị bệnh hiện tại của bệnh nhân, biến định lượng.

Biến chứng vận động: được xác định khi bệnh nhân có một trong những triệu chứng như dao động vận động, loạn động, được khám bởi 3 bác sĩ chuyên ngành về thần kinh; biến danh định, gồm 3 giá trị:

- Dao động vận động
- Loạn động

Đặc điểm điều trị: được xác định bằng các loại thuốc mà bệnh nhân đang sử dụng để điều trị bệnh, biến danh định gồm 3 giá trị:

- Levodopa
- Anticholinergic
- Đồng vận dopamin

Thời gian điều trị Levodopa: được xác định bằng thời gian bệnh nhân sử dụng Levodopa để điều trị bệnh, biến định lượng.

Thời gian điều trị Anticholinergic: được xác định bằng thời gian bệnh nhân sử dụng Anticholinergic để điều trị bệnh, biến định lượng.

Thời gian điều trị đồng vận dopamin: được xác định bằng thời gian bệnh nhân sử dụng đồng vận dopamin để điều trị bệnh, biến định lượng.

Thời gian bị biến chứng vận động: được xác định dựa vào lời khai chủ quan của bệnh nhân, biến định lượng.

Giai đoạn Hoehn và Yahr: được xác định dựa trên chẩn đoán lâm sàng của bác sĩ, được khám bởi 3 bác sĩ chuyên ngành về thần kinh, biên danh định gồm 5 giá trị:

- Giai đoạn 1
- Giai đoạn 2
- Giai đoạn 3
- Giai đoạn 4
- Giai đoạn 5

Điểm MDS-UPDRS (Movement Disorders Society Modified Unified Parkinson's Disease Rating Scale): được xác định dựa trên việc đánh giá các dấu hiệu vận động của bệnh nhân bằng thang điểm MDS-UPDRS phần III, được thực hiện bởi 3 bác sĩ chuyên ngành về thần kinh, biến định lượng.

Phần 4: Nhóm biến số biểu thể di truyền

Hệ số methyl hóa: các giá trị DNA methyl hóa của từng CpG (~28 triệu), được thiết kế trước, được tính toán bằng công cụ MethylDackel v.0.5.0, biến định lượng.

Khác biệt methyl hóa Cytosin (DMCs): được định nghĩa là tại vị trí CpGs đó mức độ methyl hóa giữa hai nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (FDR < 0,05). Biến nhị giá:

- Có

- Không

Vùng khác biệt methyl hóa (DMR): vùng methyl hóa khác biệt là vùng DNA có mức độ methyl hóa giữa hai nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($FDR < 0,05$). Biến nhị giá:

- Có
- Không

Mức độ thay đổi methyl hóa: được xác định dựa trên giá trị khác biệt (Δ) khi so sánh giá trị beta của nhóm bệnh với nhóm chứng. Biến nhị giá:

- Tăng mức độ methyl hóa
- Giảm mức độ methyl hóa

Vùng gen liên quan tới vị trí có thay đổi bất thường methyl hóa: được xác định bằng cách xem xét sự bất thường methyl hóa ở các vị trí CpGs của các vùng gen liên quan. Biến danh định:

- Vùng promoter: là trình tự DNA nằm ở thượng nguồn (upstream) của gen, nơi enzyme RNA polymerase liên kết và khởi đầu quá trình phiên mã.
- Vùng intron: là trình tự nucleotide không có chức năng mã hóa protein trong một gen. Intron xen kẽ giữa các exon, là những đoạn DNA được mã hóa thành protein.
- Vùng exon: là một đoạn DNA được lưu giữ trong RNA thông tin trưởng thành (mRNA) sau khi quá trình cắt nối RNA diễn ra. Nó mang thông tin mã hóa cho protein.
- Vùng đảo CpGs (CpG Island): là vùng DNA có tỷ lệ CpG cao hơn so với DNA trung bình. CpG Island thường nằm ở vùng promoter của gen, nơi điều khiển hoạt động của gen.
- CpG Shore: vùng lân cận CpG Island, nằm trong vòng 2 kb tính từ bờ 5' hoặc 3' của CpG Island. Mật độ CpG thấp hơn so với CpG Island nhưng cao hơn so với DNA trung bình.

- CpG Self: vùng DNA không nằm trong CpG Island hoặc CpG Shore. Mật độ CpG thấp tương tự như DNA trung bình.
- CpG Inter: vùng DNA nằm giữa các CpG Island. Mật độ CpG thay đổi.

Biến số độc lập:

(i) Nhóm biến số đặc điểm xã hội học: giới tính, nghề nghiệp, trình độ học vấn, tiền sử gia đình, yếu tố nguy cơ nguồn nước sử dụng; yếu tố nguy cơ tiếp xúc hóa chất hoặc kim loại nặng, thuốc trừ sâu hoặc thuốc diệt cỏ trong vòng 3 km, trong khoảng thời gian liên tục trong 1 năm; yếu tố nguy cơ nơi cư trú.

(ii) Nhóm biến số tiền sử: tuổi khởi phát bệnh, thời gian được chẩn đoán.

(iii) Nhóm biến số đặc điểm lâm sàng: triệu chứng khởi phát bệnh, các triệu chứng ngoài vận động, số thuốc điều trị bệnh Parkinson, biến chứng vận động, thời gian bị biến chứng vận động, giai đoạn Hoehn và Yahr.

Biến số phụ thuộc:

(i) Mắc bệnh Parkinson

(ii) Điểm MDS-UPDRS

(iii) Nhóm biến số biểu thể di truyền

2.6. Kỹ thuật đo lường và tiêu chuẩn chẩn đoán trong nghiên cứu phân tích biểu thể di truyền (*epigenetics*)

Phương pháp tách chiết DNA

Mẫu máu được trữ ở -20°C cho đến khi được thực hiện tách chiết DNA hệ gen với bộ kit QiAmp DNA Blood Mini của công ty QIAGEN (Hilden, Germany). Genomic DNA của các tế bào bạch cầu trong máu toàn phần được tách chiết trong vòng 24 giờ bằng bộ kit GeneJet™ whole blood genomic DNA purification (Thermo Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất cụ thể như sau:

Quá trình ly giải: Dung dịch đệm ly giải về cơ bản đều chứa các muối chaotropic có tác dụng ly giải màng tế bào, biến tính protein, DNA và các đại phân

tử khác, bất hoạt nuclease, thúc đẩy quá trình gắn acid nucleic vào silic. Ngoài ra, sự có mặt của enzyme (proteinkinase hoặc lysozyme) làm tăng hiệu quả hòa tan protein và quá trình ly giải.

Gắn DNA vào cột: sử dụng ethanol giúp gắn DNA vào cột.

Rửa DNA: loại bỏ các thành phần như protein, polysaccharide và muối. Làm khô loại ethanol: ethanol ảnh hưởng đến hiệu suất tách chiết nên bị loại bỏ bằng ly tâm làm khô cột.

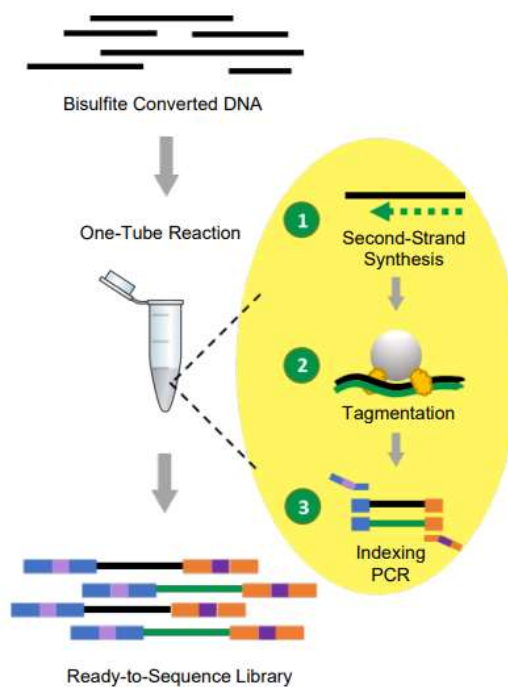
Tách DNA khỏi cột: sử dụng dịch rửa giải chứa Tris-HCl 10mM (pH = 8-9) ở màng vài phút trước khi ly tâm thu DNA.

Đánh giá chất lượng và định lượng nồng độ DNA sau khi tách chiết: Nồng độ DNA được xác định bằng phương pháp đo quang phổ. Theo đó, các acid nucleic trong dung dịch hấp thụ ánh sáng tia cực tím trong dải từ 210 nm đến 300 nm với độ hấp thụ cực đại ở 260 nm. Dựa vào sự hấp thụ mạnh ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 260 nm và 280 nm của các base purin và pyrimidin.

Bảo quản: Các mẫu DNA sẽ được lưu trữ tại nhiệt độ -20°C cho đến khi được phân tích ở các bước tiếp theo.

Phương pháp giải trình tự DNA sau khi xử lý với bisulfite:

DNA đủ chuẩn sau khi tinh sạch sẽ trải qua ba bước xử lý sau khi tách chiết và kiểm chuẩn: Ủ với bisulfite, chuẩn bị thư viện DNA đã được ủ với bisulfite bằng bộ kit Zymo-Seq WGBS Library và giải trình tự trên hệ thống máy Illumina tại công ty Zymo Research.



Hình 2. 1: Quy trình chuẩn bị thư viện cho việc giải trình tự toàn bộ hệ gen đã được bisulfite của bộ kit Zymo-Seq WGBS Library

(Nguồn: Felix Krueger, 2011)⁵³

Xử lý với bisulfite: Xử lý với bisulfite là quá trình quan trọng trong nghiên cứu DNA methylation, trong đó DNA được xử lý bằng bisulfite để chuyển đổi cytosin không methyl hóa thành uracil. Phương pháp này cho phép phân biệt các cytosin đã và chưa được methyl hóa trong chuỗi DNA. Cụ thể, các cytosin không methyl hóa sẽ được chuyển đổi thành uracil và sau đó đọc là thymine (T) trong quá trình giải trình tự, trong khi các cytosin đã methyl hóa vẫn được nhận diện là cytosine (C). Quá trình này được minh họa cụ thể ở hình sau:

Bisulphite Sequencing

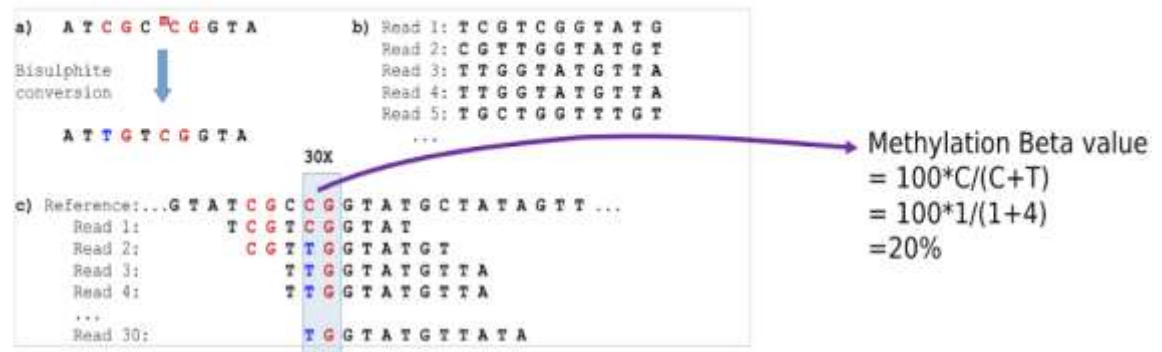


Figure 1. a) Sodium bisulphite converts unmethylated cytosines to thymines. b) The converted DNA is sequenced. c) Alignment and aggregation of these short sequence can be used to quantify the ratio of methylated (C) to unmethylated (converted T) cytosines from a population of cells at a single locus.

Total_cov_matrix_CpG.txt				
	A	B ^t	C	D
1 chr	pos	nmDNA1	nmDNA2	
2 chr2	133031228	56	55	
3 chr2	133031240	74	81	
4 chr2	133031244	82	79	
5 chr2	133031249	64	70	
6 chr2	133031265	65	69	
7 chr2	133031268	67	56	

Meth_cov_matrix_CpG.txt				
	A	B ^t	C	D
1 chr	pos	nmDNA1	nmDNA2	
2 chr2	133031228	41	28	
3 chr2	133031240	29	19	
4 chr2	133031244	47	47	
5 chr2	133031249	35	24	
6 chr2	133031265	19	21	
7 chr2	133031268	24	16	

Perc_cov_matrix_CpG.txt				
	A	B ^t	C	D
1 chr	pos	nmDNA1	nmDNA2	
2 chr2	133031228	73	51	
3 chr2	133031240	39	23	
4 chr2	133031244	57	59	
5 chr2	133031249	55	34	
6 chr2	133031265	29	30	
7 chr2	133031268	36	29	

Hình 2. 2: Xử lý với bisulfite

(Nguồn: Felix Krueger, 2011)⁵³

Chuẩn bị thư viện: Sau khi hoàn thành quá trình xử lý với bisulfite, DNA được chuẩn bị thư viện để chuẩn bị cho quá trình giải trình tự. Ở giai đoạn này, các mẫu DNA sẽ được gắn với adapter, làm giàu DNA đã xử lý bisulfite lên bằng phương pháp PCR, rồi thực hiện việc kiểm tra chất lượng và định lượng nồng độ DNA có trong thư viện trước khi đưa vào giải trình tự ở bước tiếp theo.

Giải trình tự: Quá trình giải trình tự cho toàn bộ bộ gen sau xử lý bisulfite đã trải qua quá trình chuyển đổi bisulfite được thực hiện trên hệ thống giải trình tự Illumina HiSeq2500.

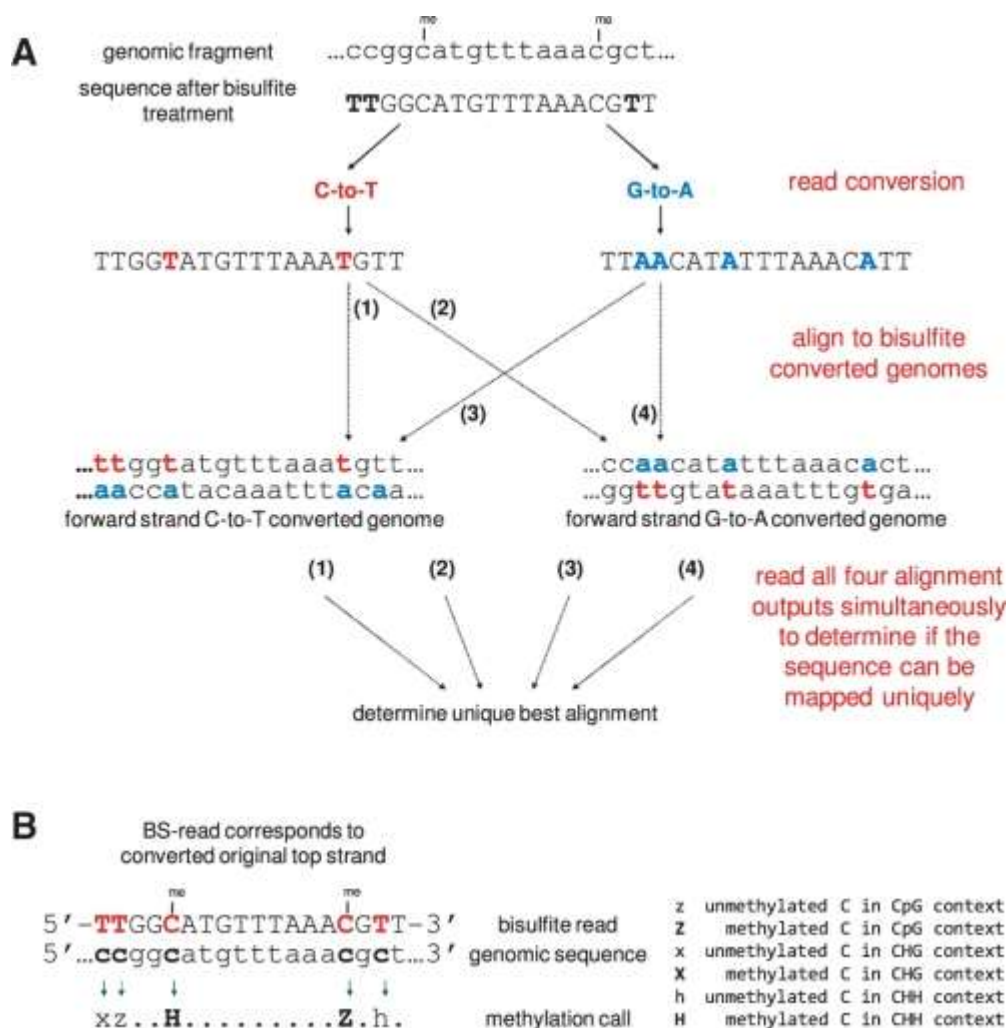
Xác định giá trị beta methyl hóa.

Sau khi hoàn thành quá trình giải trình tự, kết quả được lưu dưới dạng các file fastq. Mỗi đoạn DNA ngắn tầm 150 bp được giải trình tự được gọi là một read trong file fastq. Đối với mỗi mẫu, có hai file fastq tương ứng cho việc giải trình tự cả hai đầu của các đoạn DNA (150 bp paired-end sequencing), được gọi là read1 và read2.

Sau đó, các file fastq này sẽ trải qua quá trình kiểm tra chất lượng bằng phần mềm fastqc v0.11.9 để đánh giá chất lượng giải trình tự. Các trình tự không đạt yêu cầu sẽ tiếp tục được xử lý thông qua phần mềm trimgalore v.0.6.4_dev để "cắt tỉa". Kết quả cuối cùng sẽ là các file fastq có chất lượng giải trình tự đạt yêu cầu cao nhất sẽ được phân tích ở các bước tiếp theo.

Sau khi các file fastq chứa trình tự đã được kiểm tra chất lượng, chúng sẽ được sắp giống cột (alignment or mapping) lên bộ gen tham chiếu của người hg19 để xác định vị trí và mức độ methyl hóa của từng vị trí. Quá trình này được thực hiện bằng phần mềm Bismark v0.22.3, một công cụ quan trọng và phổ biến trong nghiên cứu DNA methyl hóa.

Bismark được sử dụng để sắp giống cột (align) các đoạn trình tự ngắn (reads) lên bộ gen tham chiếu ở người hg19, đồng thời tính toán giá trị beta methyl hóa cho toàn bộ vị trí CpG trên toàn bộ bộ gen (~28 triệu vị trí CpG trên bộ gen người). Phần mềm này có khả năng nhận biết các biến đổi do bisulfite gây ra, đảm bảo độ chính xác trong quá trình sắp giống cột và xác định giá trị beta methyl hóa của mỗi vị trí CpG trên hg19. Điều này giúp đảm bảo tính chính xác và đáng tin cậy trong việc phân tích DNA methyl hóa.



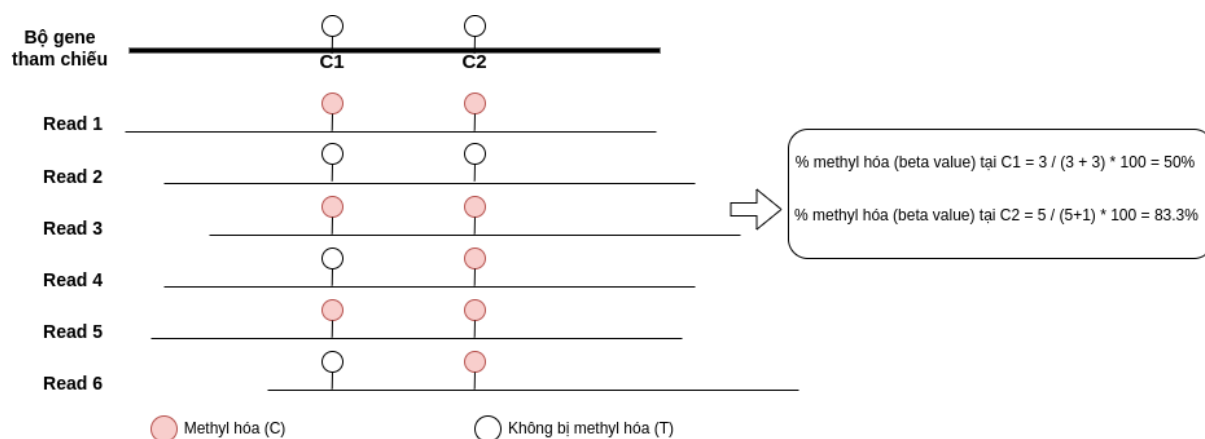
Hình 2. 3: Phương pháp của Bismark trong định vị (mapping) và xác định các vị trí methyl hóa.

(Nguồn: Felix Krueger, 2011)⁵³

(A) Các đoạn đọc ngắn (reads) được chuyển đổi thành phiên bản C thành T và G thành A, sau đó được sắp giống cột căn chỉnh với các phiên bản của genome tham chiếu, trong nghiên cứu này hg19 được sử dụng, cũng đã được chuyển đổi tương ứng. (B) Trạng thái DNA methyl hóa của các vị trí liên quan đến cytosin được xác định bằng cách so sánh chuỗi trình tự (reads) với chuỗi hệ gen tham chiếu hg19 tương ứng⁵³.

Sau khi xác định trạng thái DNA methyl hóa của từng vị trí liên quan đến cytosin, các vị trí sẽ được xác định giá trị beta DNA methyl hóa (beta value) thông qua công thức: Beta value (% methyl hóa) = 100 * methylated Cs / (methylated

Cs + unmethylated Cs); trong đó, methylated Cs là số lượng trình tự (reads) tại vị trí CpG có methyl hóa, unmethylated Cs là số lượng reads tại vị trí CpG không có methyl hóa. Như vậy, giá trị beta DNA methyl hóa của từng vị trí sẽ chạy trong ngưỡng từ 0 cho đến 100.



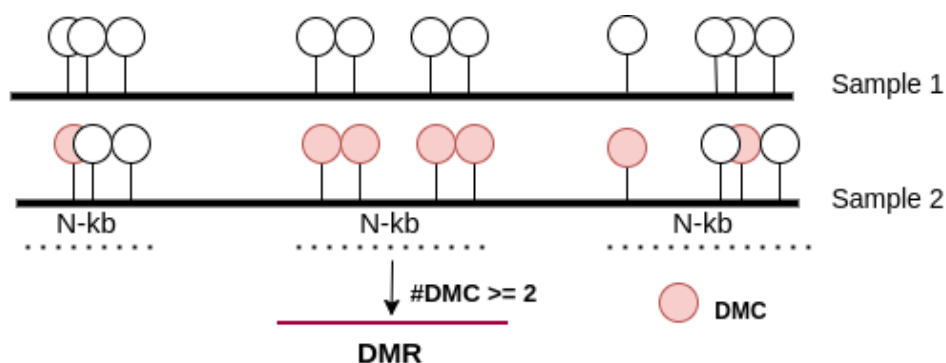
Hình 2. 4: Cách xác định hệ số methyl hóa cho từng vị trí CpGs

Phân tích methyl hóa:

Để nghiên cứu sự khác biệt trong quá trình methyl hóa giữa hai nhóm bệnh và chứng, chúng tôi đã thực hiện phân tích dựa trên hệ số methyl hóa của mỗi mẫu và áp dụng ngôn ngữ lập trình R. Trong quá trình này, hai thư viện chính đã được sử dụng là DSS v.2.46.0^{54,55} và DMRcate v.2.12.0⁵⁶.

Thư viện DSS được áp dụng để phát hiện các vị trí có sự khác biệt về methyl hóa (DMC - Differentially Methylated Cytosine) giữa hai nhóm bằng phương pháp kiểm định Ward. Kết quả thu được cung cấp thông tin về mức độ khác biệt về methyl hóa (delta beta value) giữa hai nhóm, cũng như giá trị FDR (False Discovery Rate – Tỷ lệ phát hiện sai) cho toàn bộ vị trí CpGs. Các vị trí được xác định là có sự khác biệt về methyl hóa đáng kể và có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm (DMCs) nếu có giá trị khác biệt lớn hơn hoặc bằng 0,2 (20%) và giá trị FDR nhỏ hơn 0,05. Sau đó, các vị trí này sẽ được nhóm lại thành các vùng có sự khác biệt methyl hóa, được gọi là DMRs (Differentially Methylated Regions). Trong đó, mỗi vùng DMRs có chứa ít nhất hai DMCs (Hình 2. 5).

Để xem xét mối tương quan của các yếu tố yếu lâm sàng trên 20 bệnh nhân với các DMCs và DMRs, thư viện DSS v.2.46.0 được áp dụng để thực hiện phân tích này.



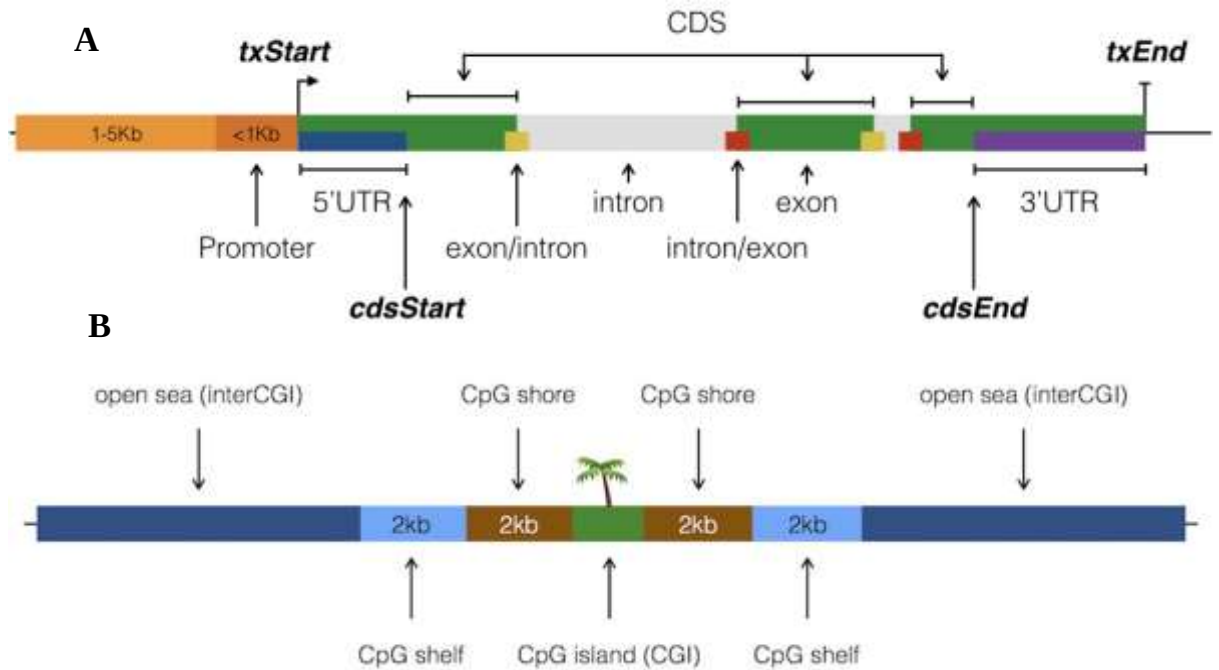
Hình 2. 5: Mô tả vị trí khác biệt methyl hóa (DMCs) và vùng khác biệt methyl hóa (DMRs)

Chú giải các vị trí (DMCs) và vùng (DMRs) khác biệt methyl hóa

Để xác định vai trò và ảnh hưởng của các vị trí khác biệt methyl hóa này đối với bộ gen, cũng như vùng khác biệt tương ứng, chúng tôi đã sử dụng thư viện annotatr (v1.26.0)⁵⁷. Thư viện này cho phép chú giải vị trí của các vùng gen dựa trên dữ liệu từ các nguồn (packages) TxDb và org.db.

Việc chú giải vị trí của gen sẽ xác định các gen đặc trưng trên các vùng như sau: Vùng 1-5Kb thượng nguồn của TSS (vị trí bắt đầu của quá trình phiên mã), vùng promoter, vùng 5'UTR, exon, intron, vùng 3'UTR, và vùng giữa các gen (intergenic) (Hình 2. 6).

Đối với chú giải các vị trí CpGs sẽ lấy vị trí đảo CpG (CpG islands) làm cơ sở cho tất cả các chú giải CpG khác, và dữ liệu chú giải này được lấy từ AnnotationHub. Vùng bờ CpG (CpG shores) được xác định là 2Kb ở phía trước/phía sau so với đầu và cuối của các vị trí đảo CpG. Vùng CpG shelves được xác định là 2Kb nữa ở phía trước/phía sau của các giới hạn xa nhất ở phía trước/phía sau của các vùng bờ CpG. Các vùng genomic còn lại tạo thành vùng CpG inter (Hình 2. 6).



Hình 2. 6: Các vùng chú giải cho vùng gen và CpGs.

(A) Các vùng gen, (B) Các vùng CpGs

(Nguồn: Cavalcante, 2017)⁵⁷

Xác định các con đường sinh học liên quan

Các vùng methyl hóa khác biệt (DMRs) thường xuất hiện trên nhiều gen khác nhau, và các gen này thường liên quan đến nhiều con đường sinh học quan trọng trong cơ thể, có thể liên quan đến các cơ chế sinh bệnh. Để hiểu rõ hơn về mối quan hệ này, việc xem xét các con đường sinh học có liên quan đến DMRs là vô cùng quan trọng. Trong phân tích này, thư viện missMethyl (v.1.28.0)⁵⁸ được sử dụng để thực hiện phân tích. Thư viện này giúp xác định vị trí của các DMR và các gen có liên quan, từ đó phân loại chúng và tìm ra các con đường sinh học có liên quan thông qua hai nguồn dữ liệu lớn là Gene Ontology (GO) và Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes (KEGG).

Phân tích biến thể DNA

Phân tích biến thể DNA được thực hiện bằng phần mềm GATK (4.4.0) và EpiDiverse (V1.0) trên dữ liệu DNA methyl hóa trên 7 gen liên quan trực tiếp đến

bệnh Parkinson bao gồm PARK7, PINK1, GBA, SNCA, PRKN, LRRK2, VPS35 trên tất cả 20 mẫu bệnh. Các biến thể được xác định sau đó được chú thích và giải thích bằng các cơ sở dữ liệu uy tín như SNPeff, ClinVar và VEF.

2.7. Các quy trình trong nghiên cứu

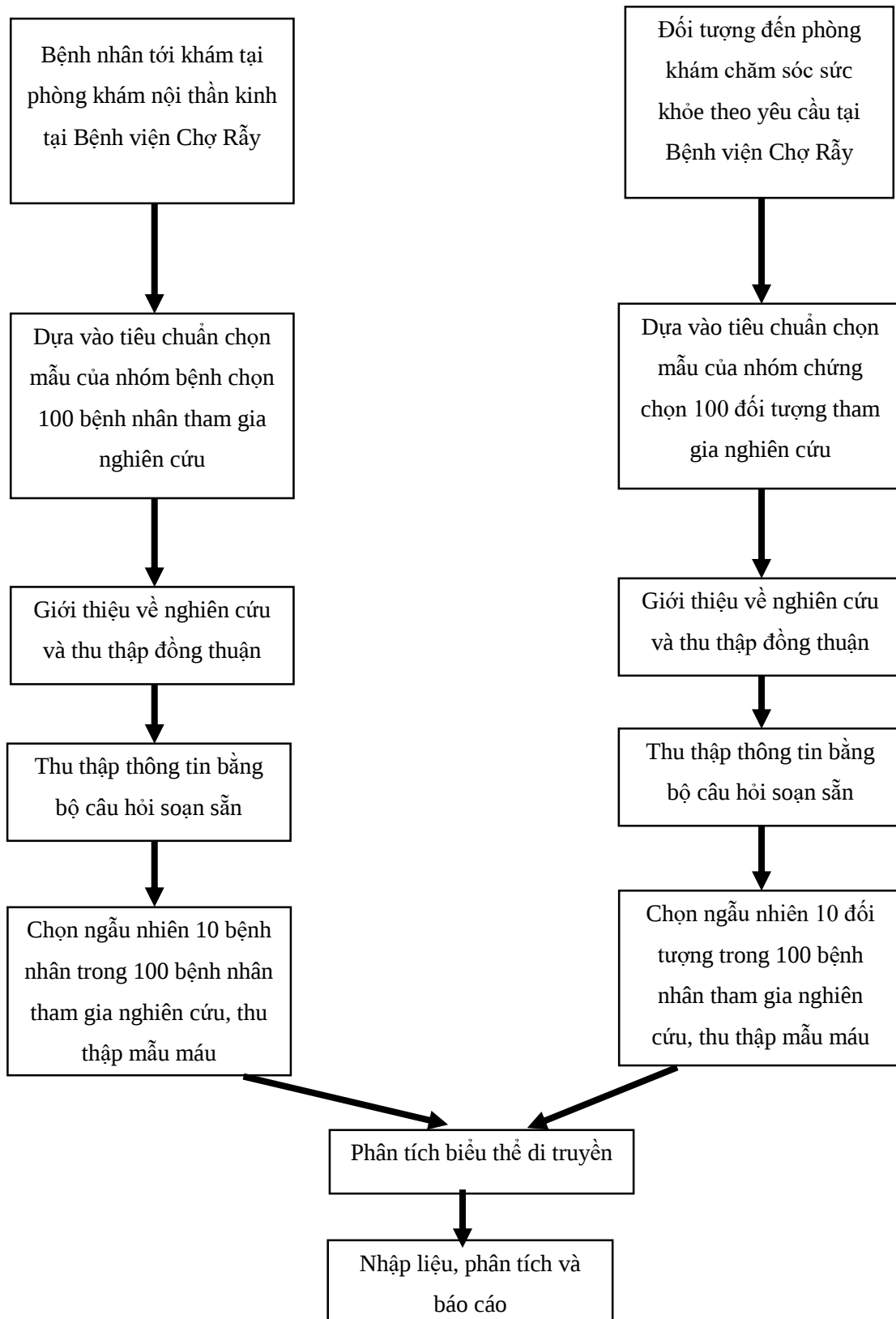
Bệnh nhân đến phòng khám nội thần kinh bệnh viện Chợ Rẫy được chẩn đoán bệnh Parkinson phù hợp với tiêu chuẩn chọn mẫu và được khám bởi 3 bác sĩ lâm sàng chuyên ngành về thần kinh, không có các tiêu chuẩn loại trừ và phòng khám chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu của bệnh viện Chợ Rẫy, không có dấu hiệu của hội chứng Parkinson, dưới hay ở tuổi 50. Tất cả bệnh nhân được tư vấn, giải thích về mục tiêu và quy trình của nghiên cứu.

Sau khi bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, bệnh nhân ký đồng ý tham gia nghiên cứu, tiến hành phỏng vấn theo bảng thu thập số liệu. Dữ liệu được thu thập theo bộ câu hỏi với sự trợ giúp của bác sĩ chuyên ngành thần kinh và điều dưỡng Bệnh viện Chợ Rẫy. Ngoài bộ câu hỏi, bệnh nhân còn hiến 2 ml máu theo quy trình như sau:

Bệnh nhân được ngồi nghỉ 15-20 phút, giải thích cho bệnh nhân trước khi lấy máu để bệnh nhân hợp tác, lấy máu bằng đường tĩnh mạch, lấy khoảng 2 ml máu, cho vào ống nghiệm có chất chống đông EDTA, lắc đều nhẹ nhàng, sau đó mẫu máu được gửi ngay ngay đến Trung tâm Y sinh học phân tử Đại Học Y Dược. TPHCM để chiết tách DNA và lưu trữ mẫu DNA đã chiết tách. Sau đó mẫu DNA đã chiết tách gửi đến phòng thí nghiệm của công ty Zymo Research (Irvine, CA, Hoa Kỳ) để phân tích methyl hóa DNA.

Sau đó nghiên cứu sinh sẽ thu thập số liệu, nhập liệu và phân tích số liệu.

SƠ ĐỒ THỰC HIỆN NGHIÊN CỨU



2.8. Phương pháp phân tích số liệu

Để giải đáp mục tiêu 1 (mô tả đặc điểm lâm sàng và các mối liên quan với điểm số rối loạn vận động) và mục tiêu 2 (mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ môi trường và bệnh), dữ liệu được phân tích bằng các phương pháp phân tích mô tả và phân tích suy luận. Dữ liệu của mỗi nhóm bệnh nhân được mô tả bằng các chỉ số như trung bình và độ lệch chuẩn (biến liên tục) hay tỷ lệ (đối với biến phân nhóm). Sự khác biệt giữa hai nhóm được kiểm định bằng phương pháp kiểm định t (t-test) đối với biến liên tục và phương pháp Ki bình phương đối với biến phân nhóm. Mỗi kiểm định với trị số $P < 0,05$ được xem là 'có ý nghĩa thống kê'.

Trong phân tích suy luận, mô hình hồi qui logistic được ứng dụng để đánh giá mối liên quan giữa mỗi yếu tố nguy cơ môi trường và bệnh Parkinson. Gọi p là xác suất mắc bệnh Parkinson, và x là yếu tố nguy cơ, mô hình hồi qui logistic phát biểu rằng: $\log(p/(1-p)) = \alpha + \beta x$; trong đó, β là tham số 'đo lường' mối liên quan và α là điểm khởi đầu khi $x = 0$. Chú ý rằng $\exp(\beta)$ là tỷ số odds (OR) liên quan đến yếu tố nguy cơ. Trong phân tích này, các yếu tố nguy cơ xem xét bao gồm tuổi, giới tính, học vấn, nghề nghiệp, tiền sử mắc bệnh Parkinson trong gia đình, nguồn nước, phơi nhiễm thuốc trừ sâu và nơi sống. Tất cả phân tích sử dụng ngôn ngữ R.

Đối với mục tiêu 3 (nghiên cứu biểu thể di truyền), một phân tích EWAS (epigenome-wide association analysis) được thực hiện dùng ngôn ngữ R. Hệ số methyl hoá (beta value) được ước tính cho mỗi CpG thông qua công thức sau: Beta value (% methyl hóa) = $100 * \text{methylated Cs} / (\text{methylated Cs} + \text{unmethylated Cs})$; trong đó, methylated Cs là số lượng trình tự (reads) tại vị trí CpG có methyl hóa, unmethylated Cs là số lượng reads tại vị trí CpG không có methyl hóa. Nghiên cứu này có ~28 triệu CpG. Do đó, 28 triệu kiểm định Ward được thực hiện để so sánh giá trị beta giữa nhóm chứng và nhóm bệnh. Bởi vì mỗi kiểm định giả thuyết có xác suất dương tính giả 0,05 và kiểm định càng nhiều giả thuyết dễ dẫn đến nhiều kết quả dương tính giả. Để khắc phục tình trạng dương tính giả, phương pháp hiệu chỉnh Bonferroni được áp dụng với trị số $P < 5 \times 10^{-8}$ (thay vì $P < 0,05$). Tuy

nhiên, một mối liên quan mang tính gợi ý có thể chấp nhận ở ngưỡng $P < 5 \times 10^{-5}$). Sau khi phát hiện các CpG có ý nghĩa thống kê theo tiêu chuẩn trên, một 'phân tích pathway' được thực hiện qua dữ liệu missMethyl trong ngôn ngữ R.

2.9. Đạo đức trong nghiên cứu

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

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

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

3.1. Đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm

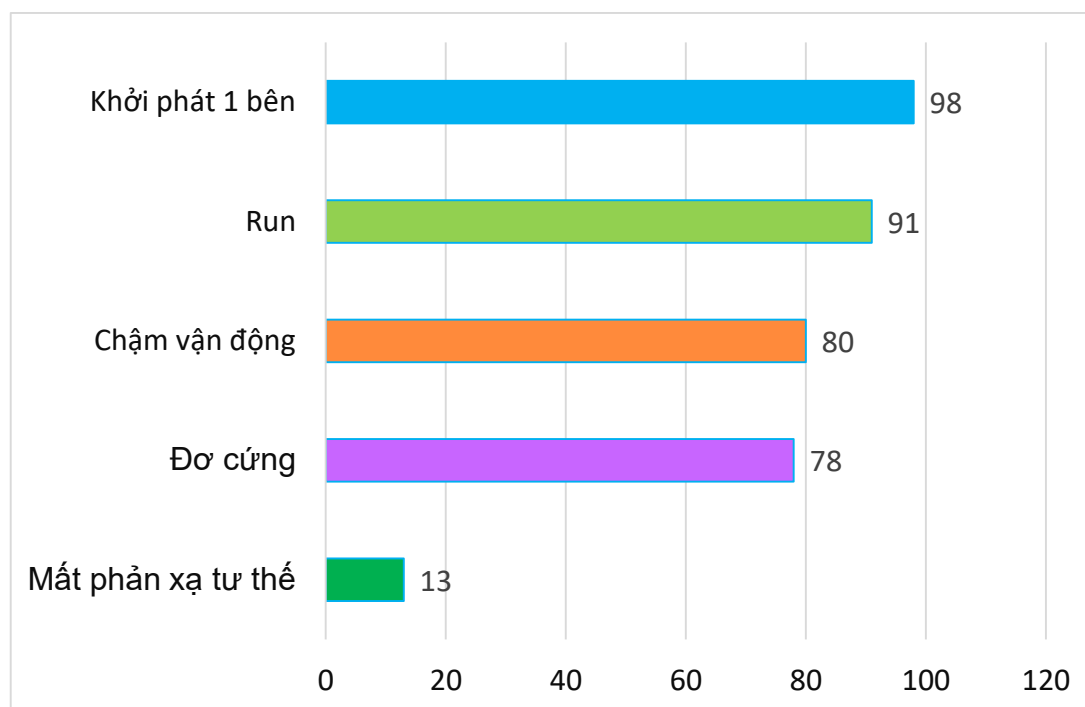
3.1.1. Thời gian khởi phát bệnh và chẩn đoán bệnh

Bảng 3. 1: Thời gian khởi phát bệnh và chẩn đoán bệnh (n=100)

Thời gian có triệu chứng khởi phát bệnh lần đầu đến nghiên cứu (năm)	Tần số	Tỷ lệ %
	Trung bình	4,5 ± 3,6
Dưới 3 năm	53	53
Từ 4 đến 6 năm	26	26
Từ 7 năm trở lên	21	21
Thời gian được chẩn đoán bệnh cho đến nghiên cứu (năm)	Trung bình	3,3 ± 3,1
	Dưới 3 năm	66
Từ 4 đến 6 năm	24	24
Từ 7 năm trở lên	10	10

Trong nghiên cứu, thời gian có triệu chứng khởi phát bệnh đến thời điểm nghiên cứu trung bình là 4,5 năm. Thời gian được chẩn đoán xác định bệnh cho đến thời điểm bệnh nhân tham gia nghiên cứu trung bình là 3,3 năm.

3.1.2. Triệu chứng khởi phát bệnh



Biểu đồ 3. 1: Triệu chứng khởi phát bệnh

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

Bảng 3. 2: Nhóm triệu chứng chậm vận động (n=100)

Đặc điểm	Tần số	Tỷ lệ %
Khó khăn việc xách giỏ đi chợ	82	82
Khó khăn trong công việc nhà cửa	82	82
Khó khăn khi đi lại	82	82
Khó khăn khi viết	81	81
Khó khăn khi chăm sóc bản thân	79	79
Khó khăn trong giọng nói	52	52
Khó khăn trong ăn, uống nước	12	12

Các triệu chứng chậm vận động đa phần có tỷ lệ từ 80% trở lên và triệu chứng khó khăn trong ăn, uống nước có tỷ lệ thấp nhất là 12%.

Bảng 3. 3: Nhóm triệu chứng ngoài vận động (n=100)

Triệu chứng ngoài vận động	Tần số	Tỷ lệ %
Rối loạn lo âu	71	71
Rối loạn giấc ngủ	51	51
Đau (Cơ, khớp)	46	46
Giảm trí nhớ	36	36
Choáng váng do tư thế đứng	34	34
Trầm cảm	26	26
Táo bón	13	13
Cảm giác dễ giận giữ	8	8
Rối loạn đi tiêu	6	6
Cảm giác dễ khóc	5	5
Rối loạn mùi	3	3
Khó nuốt	3	3
Rối loạn thị giác	2	2

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

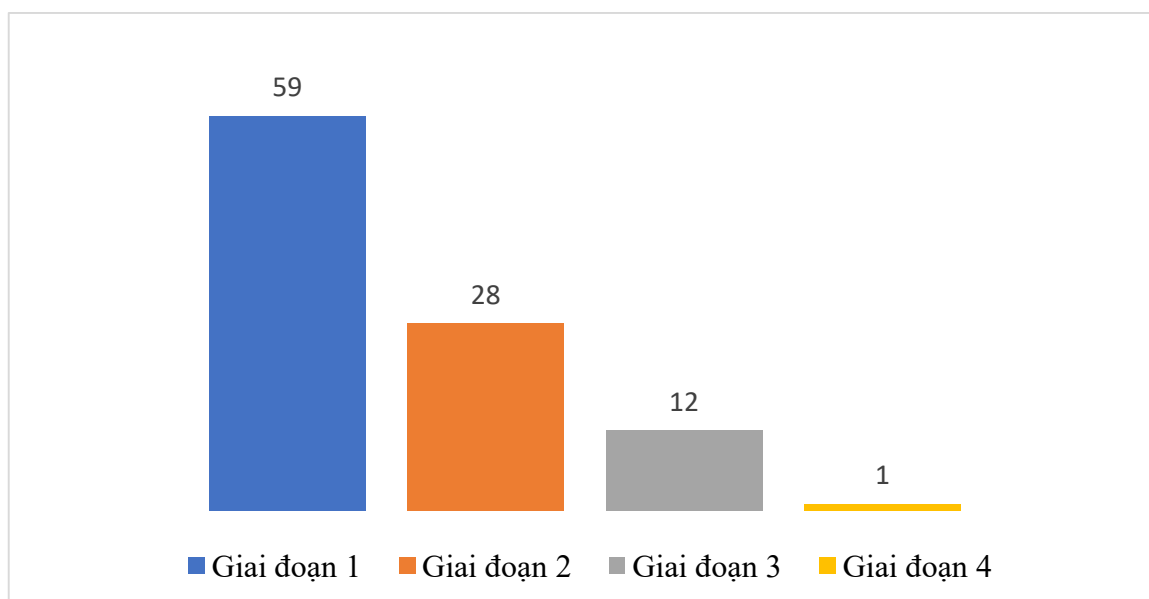
3.1.3. Biến chứng vận động

Bảng 3. 4: Biến chứng vận động (n=100)

Biến chứng vận động	Tần số	Tỷ lệ %
Dao động vận động	2	2
Loạn động	2	2

Các biến chứng vận động chiếm tỷ lệ thấp (2%)

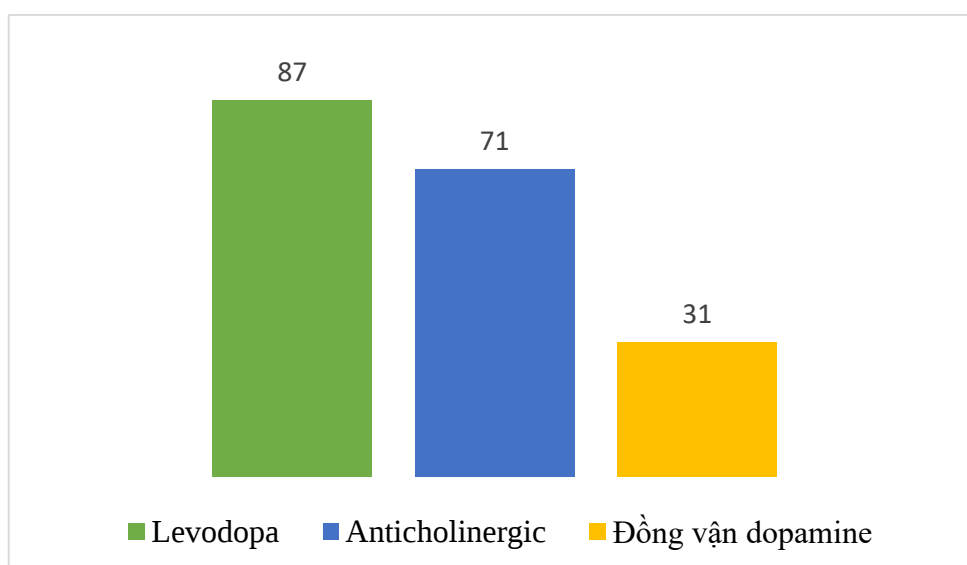
3.1.4. Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr



Biểu đồ 3. 2: Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr

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

3.1.5. Đặc điểm điều trị



Biểu đồ 3. 3: Thuốc điều trị

Gần 87% bệnh nhân được sử dụng levodopa trong phác đồ điều trị.

Bảng 3. 5: Thời gian điều trị theo từng loại thuốc (n=100)

Thời gian điều trị trung bình (năm)	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Levodopa	2,65 ± 2,84	0
Đồng vận dopamin	3,71 ± 3,32	0
Anticholinergic	3,03 ± 2,97	0

Thuốc đồng vận dopamin có thời gian điều trị trung bình dài nhất là 3,71 năm. Thuốc levodopa có thời gian điều trị trung bình ngắn nhất là 2,65 năm, với bệnh nhân điều trị ngắn nhất là mới bắt đầu điều trị và bệnh nhân điều trị dài nhất là 17 năm.

3.1.6. Điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS III và các yếu tố liên quan

Bảng 3. 6: Điểm số rối loạn vận động thang điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Thang điểm MDS-UPDRS phần III		
Chỉ số đo lường	Trung bình ± Độ lệch chuẩn	38,2 ± 18,4
	Trung vị [Tứ phân vị (25 – 75)]	35,5 [25,5 – 47,5]
	Giá trị nhỏ nhất	10,0
	Giá trị lớn nhất	89,0
Kiểm định Shapiro Wilk test	W	1,0
	V	3,8
	Z	3,0
	p-value	0,002

Điểm số trung bình rối loạn vận động MDS-UPDRS phần III trên nhóm bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm là 38,2 ± 18,4 điểm. Kiểm định Shapiro–Wilk test về quy luật phân phối điểm số MDS-UPDRS phần III cho thấy điểm số có phân phối không bình thường ($p < 0,05$).

3.1.6.1. Các yếu tố môi trường liên quan với điểm MDS-UPDRS III

Bảng 3. 7: Yếu tố môi trường liên quan điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB ± DLC)	Giá trị p-value
Hút thuốc lá	Có	36 ± 17,27	0,03
	Không	46,19 ± 20,8	
Có tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ	Có	41,6 ± 19,2	0,04
	Không	33,0 ± 16,0	

Kiểm định phi tham số Wilcoxon-Mann-Whitney

Nghiên cứu cho thấy nhóm bệnh nhân hút thuốc lá, tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ có điểm số rối loạn vận động trung bình cao hơn nhóm người không tiếp xúc, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.6.2. Liên quan giữa thời gian bệnh với điểm MDS-UPDRS III

Bảng 3. 8: Thời gian bệnh liên quan điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB ± DLC)	Giá trị p-value
Thời gian được chẩn đoán bệnh lần đầu đến lúc nghiên cứu (năm)	Hệ số tương quan	0,229	0,004
	Từ 1 đến 3 năm	33,89 ± 17,8	0,013
	Từ 4 đến 6 năm	39,85 ± 18,6	
	Từ 7 năm trở lên	46,81 ± 17,1	

Tương quan Spearman

Kiểm định phi tham số Kruskal-Wallis

Thời gian mắc bệnh càng lâu thì điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS III càng tăng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.6.3. Liên quan giữa triệu chứng khởi phát bệnh với điểm MDS-UPDRS III

**Bảng 3. 9: Triệu chứng khởi phát bệnh liên quan điểm MDS-UPDRS III
(n=100)**

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB ± ĐLC)	Giá trị p-value
Đơ cứng	Có	40,98 ± 18,25	0,003
	Không	28,1 ± 15,64	
Khó khăn việc xách giỏ đi chợ	Có	40,79 ± 18,21	0,002
	Không	26,11 ± 14,54	
Khó khăn trong công việc nhà cửa, nấu	Có	41,15 ± 18,0	<0,001
	Không	25,37 ± 14,5	
Khó khăn khi đi lại	Có	40,79 ± 18,21	0,002
	Không	26,11 ± 14,54	
Khó khăn khi chăm sóc bản thân	Có	41,39 ± 18,19	<0,001
	Không	25,95 ± 13,92	
Khó khăn khi viết	Có	40,94 ± 18,29	0,001
	Không	26,26 ± 14,07	
Khó khăn trong giọng nói	Có	45,94 ± 19,3	<0,001
	Không	29,71 ± 13,1	

Kiểm định phi tham số Wilcoxon-Mann-Whitney

Nhiều triệu chứng khởi phát bệnh trong nghiên cứu có mối liên quan với điểm số rối loạn vận động, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên, các triệu chứng khác như run, mất phản xạ tư thế chưa ghi nhận mối liên quan đến điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS III.

3.1.6.4. Liên quan giữa triệu chứng ngoài vận động với điểm MDS-UPDRS III

Bảng 3. 10: Triệu chứng ngoài vận động liên quan điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB ± DLC)	Giá trị p-value
Trầm cảm	Có	43,96 ± 22,42	0,140
	Không	36,1 ± 16,51	
Lo âu	Có	42,1 ± 18,41	<0,001
	Không	28,48 ± 14,77	
Rối loạn giấc ngủ	Có	40,96 ± 19,86	0,150
	Không	35,22 ± 16,52	
Đau (Cơ, khớp)	Có	41,69 ± 16,93	0,020
	Không	35,13 ± 19,26	
Choáng váng do tư thế đứng	Có	42,85 ± 19,62	0,130
	Không	35,73 ± 17,45	

Kiểm định phi tham số Wilcoxon-Mann-Whitney

Ở nhóm bệnh nhân xuất hiện những triệu chứng như lo âu và đau (cơ, khớp) có điểm số rối loạn vận động cao hơn nhóm bệnh nhân không có những triệu chứng này, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.6.5. Liên quan giữa giai đoạn Hoehn-Yahr với điểm MDS-UPDRS III

Bảng 3. 11: Giai đoạn Hoehn-Yahr liên quan điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB ± DLC)	Giá trị p-value
Giai đoạn Hoehn-Yahr	Hệ số tương quan	0,80	<0,001
	Giai đoạn 1	27,0 ± 10,6	<0,001
	Giai đoạn 2	47,6 ± 11,2	
	Giai đoạn 3	67,0 ± 12,1	
	Giai đoạn 4	85,0 ± 0,0	

Tương quan Spearman, Kiểm định phi tham số Kruskal-Wallis

Giai đoạn bệnh càng cao thì điểm số rối loạn vận động càng tăng, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.6.4. Liên quan giữa thuốc điều trị với điểm MDS-UPDRS III

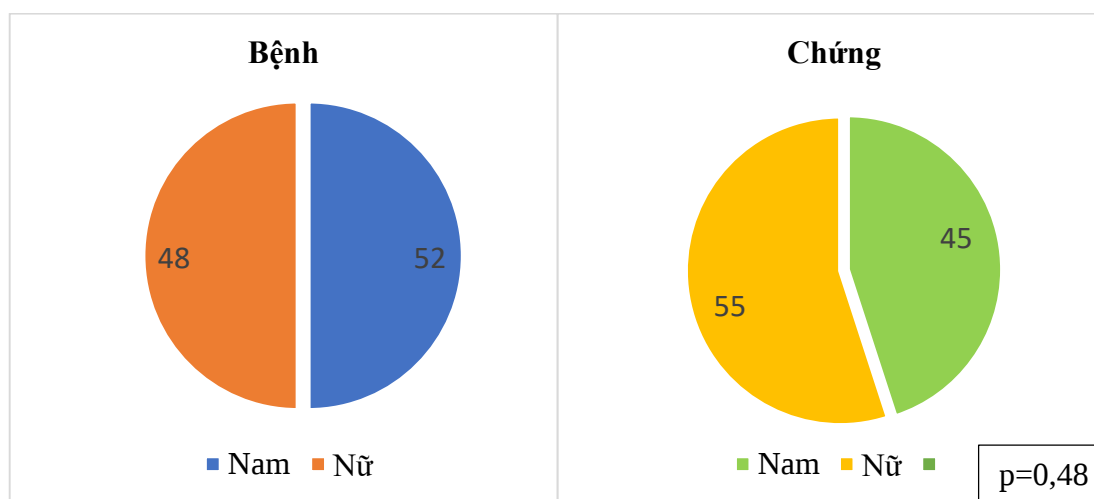
Bảng 3. 12: Thuốc điều trị liên quan điểm MDS-UPDRS III (n=100)

Đặc điểm		Điểm MDS-UPDRS III (TB $\pm$ ĐLC)	Giá trị p-value
Levodopa	Có	37,3 $\pm$ 19,6	0,180
	Không	41,0 $\pm$ 13,6	
Đồng vận dopamin	Có	47,6 $\pm$ 19,9	<0,001
	Không	34,1 $\pm$ 16,3	
Anticholinergic	Có	39,1 $\pm$ 18,7	0,423
	Không	36,4 $\pm$ 18,1	

Kiểm định phi tham số Wilcoxon-Mann-Whitney

Nhóm bệnh nhân sử dụng đồng vận dopamin có điểm số rối loạn vận động trung bình cao hơn nhóm không sử dụng, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

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

**Biểu đồ 3. 4: Giới tính và bệnh Parkinson khởi phát sớm**

Ở nhóm bệnh, nữ giới là 52% và nhóm chứng là 45%. Tuy nhiên sự khác biệt giữa hai nhóm về phân bố giới tính không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,48$).

Bảng 3. 13: Tuổi và bệnh Parkinson khởi phát sớm

Đặc điểm	Nhóm chứng (n=100)	Tuổi khởi phát nhóm bệnh (n=100)	Tuổi tham gia nghiên cứu nhóm bệnh (n=100)
Tuổi (Trung bình $\pm$ SD)	36,0 $\pm$ 9,7	42,6 $\pm$ 5,9	48,11 $\pm$ 11,5

Kiểm định: Hồi qui logistic

Tính trung bình, nhóm bệnh có tuổi cao hơn nhóm chứng (42,6 và 36).

Bảng 3. 14: Các yếu tố nguy cơ và bệnh Parkinson khởi phát sớm

Đặc điểm	Bệnh (n=100)		Chứng (n=100)		p
	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	
Lao động					
Chân tay	80	80	36	36	<0,001
Trí óc	20	20	64	64	
Học vấn					
Tiểu học	15	15	6	6	<0,001
Trung học cơ sở	48	48	25	25	
Trung học phổ thông	17	17	8	8	
Cao đẳng/ đại học	20	20	61	61	
Hút thuốc lá					
Có	21	21	10	10	0,032
Không	79	79	90	90	
Uống rượu/bia					
Có	26	26	28	28	0,75
Không	74	74	72	72	
Uống cà phê					
Có	31	31	17	17	0,018
Không	68	68	83	83	

Đặc điểm	Bệnh (n=100)		Chứng (n=100)		p
	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	
Dùng oestrogen					
Có	8	8	2	2	0,052
Không	92	92	98	98	
Nguồn nước sử dụng hằng ngày					
Nước giếng	36	36	19	19	0,006
Nước máy	57	57	78	78	
Nước suối	7	7	3	3	
Sống ở vùng nông thôn					
Có	73	73	30	30	<0,001
Không	27	27	70	70	
Sống ở vùng công nghiệp					
Có	8	8	4	4	0,23
Không	92	92	96	96	
Có tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ					
Có	60	60	27	27	<0,001
Không	40	40	73	73	
Tiền căn chấn thương đầu					
Có	0	0	0	0	
Không	100	100	100	100	
Luyện tập thể dục					
Có	15	15	2	2	<0,001
Không	85	85	98	98	
Tiền căn gia đình có bệnh Parkinson					
Có	8	8	0	0	
Không	92	92	100	100	
Kiểm định chi bình phương					
Kiểm định Fisher					

Nghề nghiệp, trình độ học vấn, hút thuốc lá và uống cà phê giữa nhóm bệnh và nhóm chứng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Về môi trường sống, nguồn nước sử dụng, sống ở vùng nông thôn và tiếp xúc với hóa chất trừ sâu, diệt cỏ giữa nhóm bệnh và nhóm chứng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 3. 15: Tỷ số số chênh các yếu tố nguy cơ liên quan với bệnh Parkinson khởi phát sớm

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

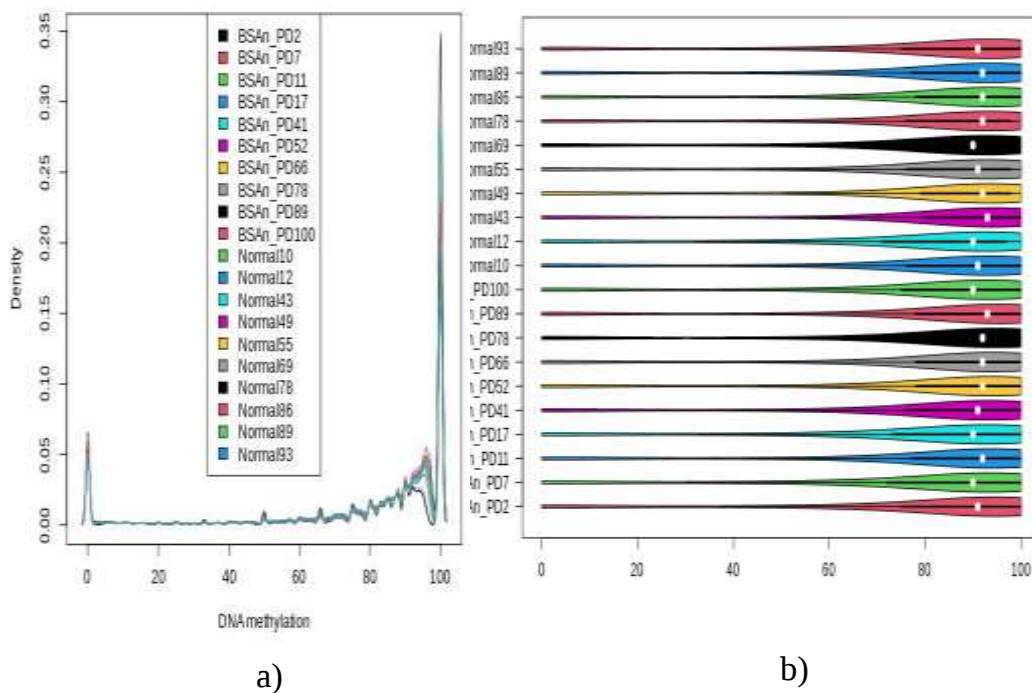
Kiểm định: Hồi qui logistic

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

3.3. Biểu thể di truyền đánh giá mức độ methyl hóa trên toàn bộ bộ gen

Nghiên cứu về biểu thể di truyền là để đánh giá sự tương tác giữa gen và môi trường với bệnh Parkinson khởi phát sớm. Đây là nghiên cứu mới và chỉ là nghiên cứu khám phá, chúng tôi tuyển chọn ngẫu nhiên 20 mẫu máu trong số 100 mẫu, bao gồm 10 cá thể khỏe mạnh (nhóm chứng) và 10 bệnh nhân Parkinson được giải trình tự và xác định vị trí methyl hóa trên toàn bộ bộ gen. Kết quả sau khi giải trình tự, có 27,779,984 vị trí methyl hóa được xác định ở tất cả các mẫu máu. Các vị trí methyl hóa này nằm ở các nhiễm sắc thể khác nhau, nhiễm sắc thể số 1 có số vị trí methyl hóa được xác định cao nhất là 2,253,045 vị trí CpG, trong khi đó nhiễm sắc thể số 22 chỉ có 571,709 vị trí CpG.

Tất cả các vị trí CpG sẽ được tính toán giá trị phần trăm methyl hóa (beta value) dựa trên số lượng đoạn trình tự (reads) bị methyl hóa và tổng số đoạn trình tự (reads) bao phủ tại một vị trí CpGs. Giá trị methyl hóa của các vị trí có giá trị từ 0 đến 100 hoặc 0 đến 1, giá trị càng cao (gần 1 hoặc gần 100) thì mức độ methyl hóa tại các vị trí đó càng cao. Sau khi tính toán tất cả các vị trí CpGs cho thấy giá trị beta của các vị trí CpGs khá cao nằm vào khoảng trên 80 và đồng đều ở các mẫu bao gồm cả mẫu bệnh và mẫu chứng (Biểu đồ 3. 5).



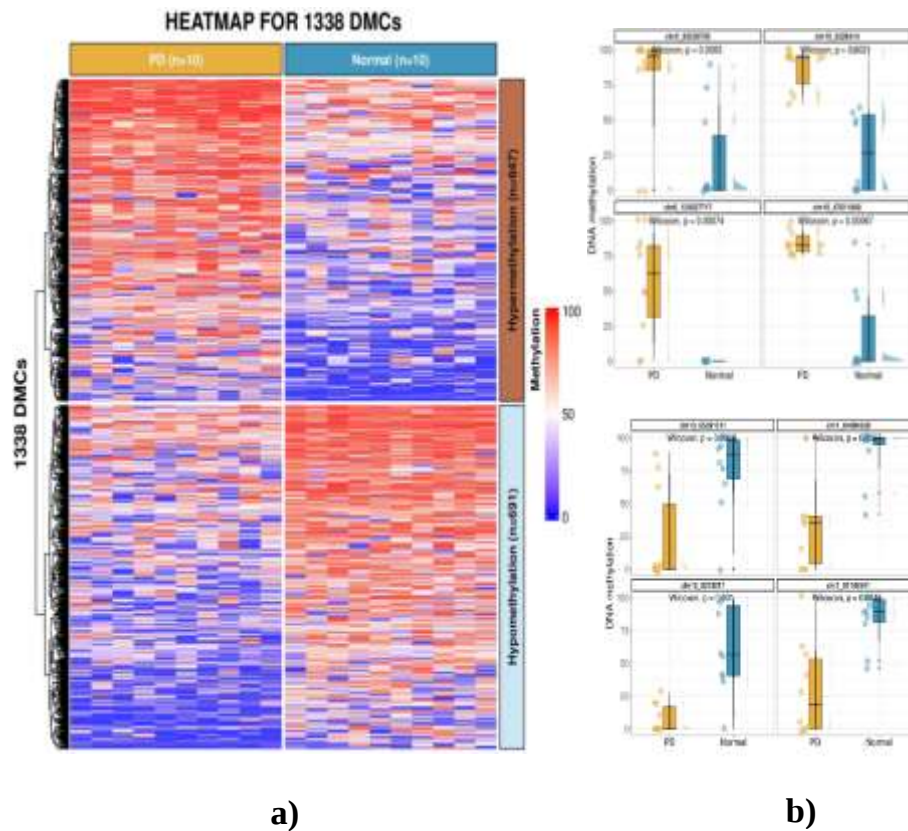
Biểu đồ 3. 5: Biểu đồ miêu tả giá trị beta của toàn bộ CpGs được xác định trên tất cả các mẫu

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

Có 20 mẫu bệnh và chứng được phân thành hai nhóm: nhóm bệnh Parkinson ($n = 10$) và nhóm chứng ($n = 10$) để tiến hành so sánh mức độ methyl hóa. Những vị trí khác biệt methyl hóa (DMCs) được định nghĩa là tại vị trí đó mức độ methyl hóa giữa hai nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($FDR < 0,05$). Với sự khác

biệt giá trị beta trung bình giữa hai nhóm là 20 và $FDR < 0,05$ và có 1338 vị trí CpGs trong tổng số 27 triệu vị trí được xác định có sự khác biệt mức độ methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.

Tiếp theo, dựa trên giá trị khác biệt (delta), 1338 vị trí được phân chia thành hai nhóm: nhóm tăng mức độ methyl hóa (hypermethylation) và nhóm giảm mức độ methyl hóa (hypomethylation) khi so sánh giá trị beta của nhóm bệnh với nhóm chứng. Từ 1338 vị trí DMC có 691 vị trí CpGs giảm mức độ methyl hóa - mức độ methyl hóa của người bệnh thấp hơn nhóm chứng và 647 vị trí CpGs tăng mức độ methyl hóa - mức độ methyl hóa của người bệnh cao hơn nhóm chứng (Biểu đồ 3.6 a,b).



Biểu đồ 3. 6: 1338 DMCs có sự khác biệt methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

a) Biểu đồ nhiệt miêu tả mức độ methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng (cột) và mức độ tăng giảm methyl hóa (hàng). b) Biểu đồ hộp thể hiện sự khác biệt methyl hóa của các vị trí CpG.

Nhằm xác định các vùng gen liên quan đến các vị trí có sự thay đổi bất thường methyl hóa, 1338 vị trí CpGs được xem xét trên cấu trúc của các vùng gen liên quan như vùng promoter, vùng intron, vùng exon. Ngoài ra, các vị trí có sự thay đổi methyl hóa cũng được xem có nằm trong vùng đảo CpGs (CpGs island) là vùng tập trung nhiều CpGs trên bộ gen. Đồng thời, tất cả vị trí CpGs được tìm thấy trên toàn bộ bộ gen, cũng được xem xét tương tự nhằm đánh giá một cách tổng quan sự bất thường methyl hóa ở các vị trí CpGs tìm được.

Kết quả cho thấy, ở nhóm bệnh nhân Parkinson trong vùng promoter có 25 CpGs (3,86%) tăng mức độ methyl hóa, ngược lại chỉ có 3 CpGs (0,4%) giảm methyl hóa. Hơn nữa, các vị trí tăng và giảm methyl tập trung nhiều ở vùng intergenic với 51,8% và 58,7% (Bảng 3. 16)

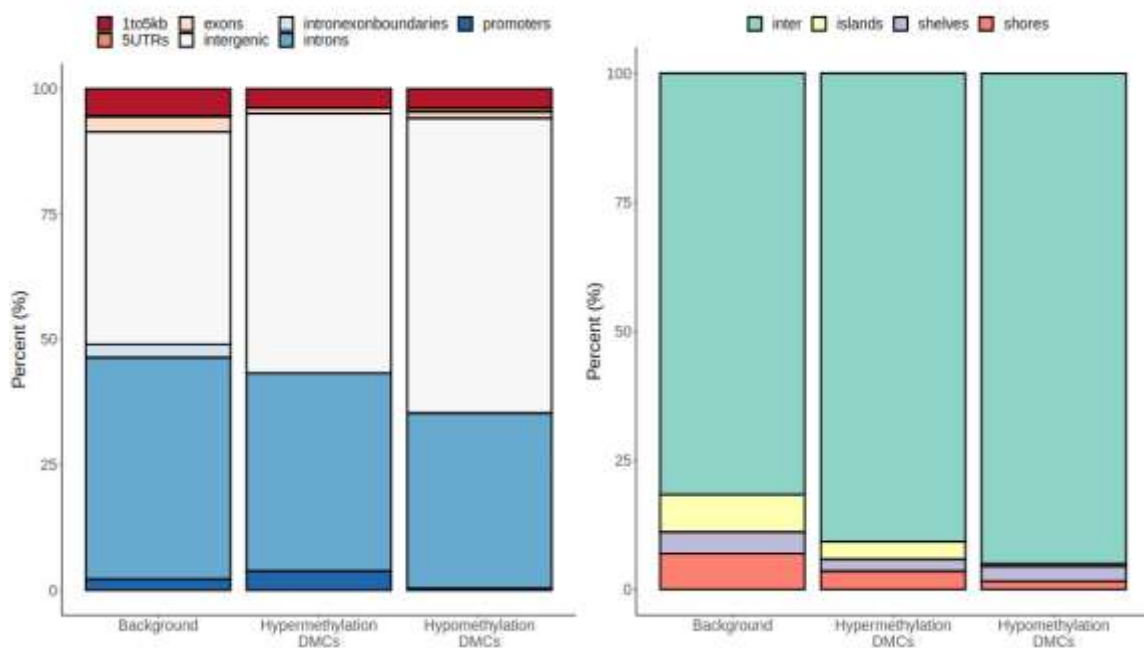
Bảng 3. 16: Vùng gen liên quan đến các vị trí CpGs methyl hóa bất thường và toàn bộ CpGs

	Toàn bộ CpGs	CpGs tăng methyl hóa	CpGs giảm methyl hóa
1to5kb	1.378.628 (5,4%)	25 (3,86%)	27 (3,91%)
5UTRs	66.556 (0,3%)	0	5 (0,72%)
exons	779.788 (3%)	7 (1%)	9 (1,3%)
intergenic	10.899.090 (42,3%)	335 (51,8%)	406 (58,7%)
intronexonboundaries	687.883 (2,67%)	0	0
introns	11.372.064 (44,2%)	255 (39,4%)	241 (34,9%)
promoters	568.146 (2,2%)	25 (3,86%)	3 (0,4%)

Hơn nữa, trong quá trình xác định các DMCs thuộc các vùng đảo CpGs, phần lớn các CpGs được tìm thấy ở vùng inter. Chỉ có khoảng 3,4% DMCs có sự tăng methyl hóa và 0,43% DMC có sự giảm methyl hóa trong các vùng đảo CpGs (CpGs islands) (Bảng 3. 17).

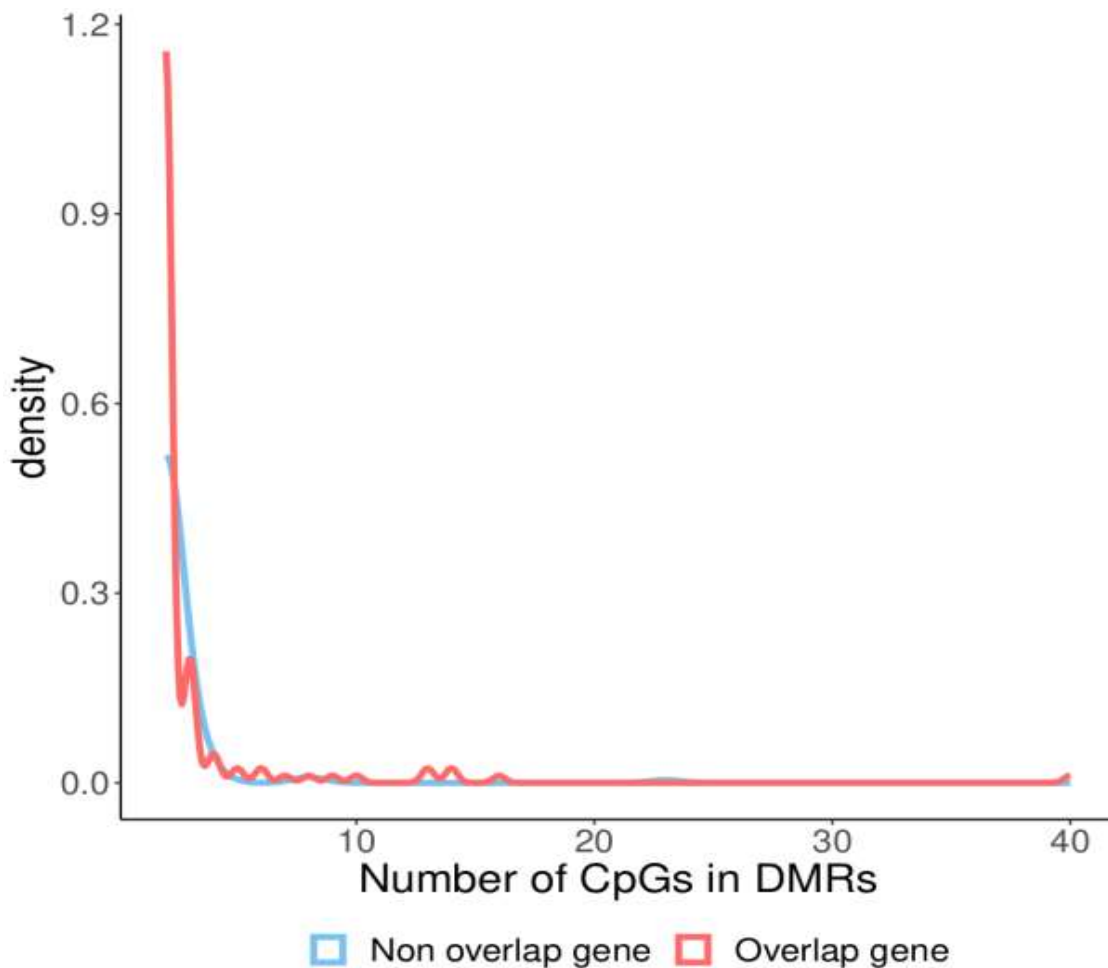
Bảng 3. 17: Vùng CpG island liên quan đến vị trí CpGs methyl hóa bất thường và toàn bộ CpGs

	Toàn bộ CpGs	CpGs tăng methyl hóa	CpGs giảm methyl hóa
inter	21.022.589 (81,6%)	587 (90,7%)	657 (95,1%)
islands	1.869.808 (7,3%)	22 (3,4%)	3 (0,4%)
shelves	1.059.922 (4,1%)	15 (2,3%)	20 (2,9%)
shores	1.799.836 (7%)	23 (3,5%)	11 (1,6%)



Biểu đồ 3. 7: Biểu đồ mô tả những DMCs ở những vùng gen và các vùng CpGs khác nhau cho các DMCs khác nhau và toàn bộ CpGs trên nhiễm sắc thể

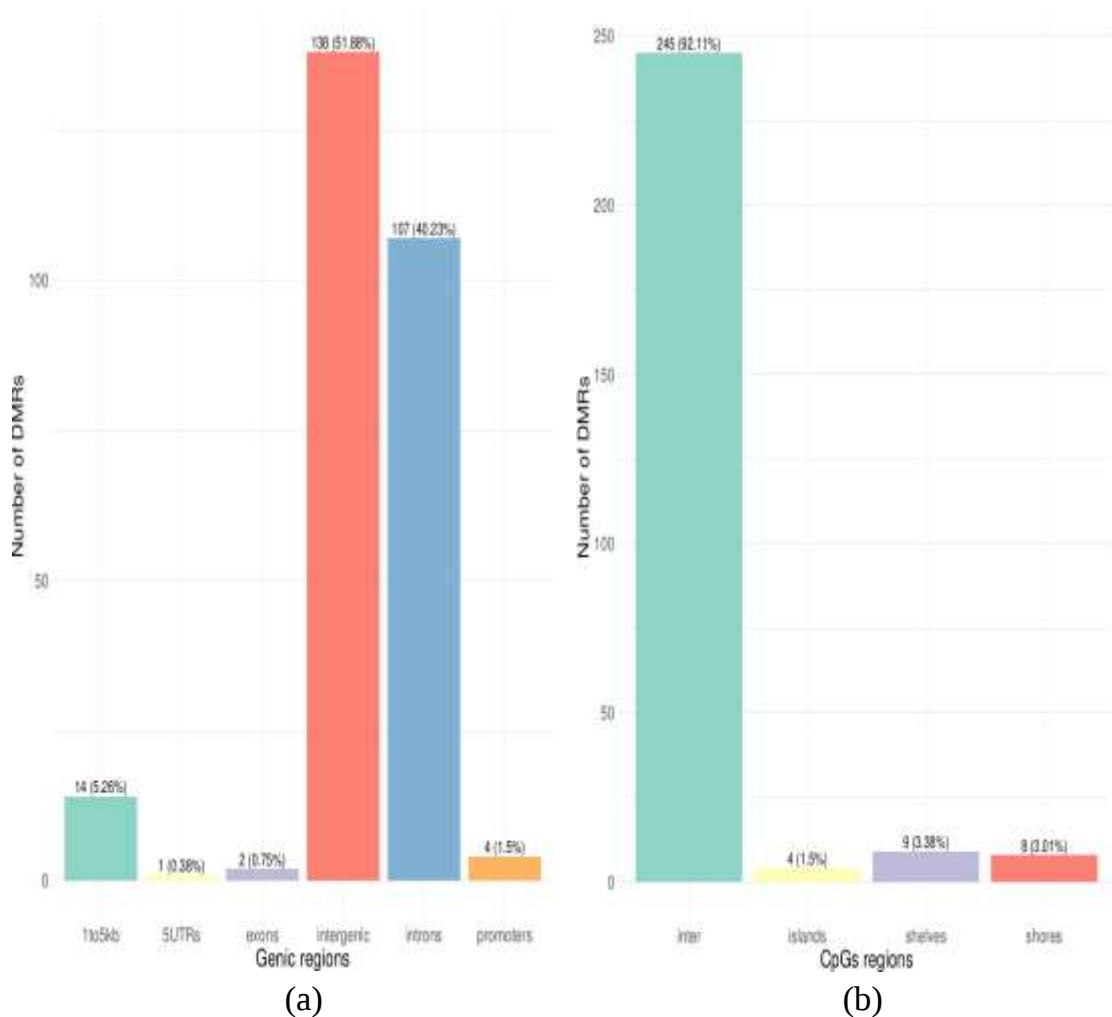
Khi xem xét sự phân bố của các CpGs bất thường (DMCs) với toàn bộ CpGs trong các vùng gen khác nhau và vùng đảo CpGs, thấy rằng tuy tỷ lệ phần trăm có sự thay đổi tuy nhiên vẫn không có sự thay đổi đáng chú ý - kiểm định F (Fisher, $p < 0,05$) (Biểu đồ 3. 7).



Biểu đồ 3. 8: 226 DMRs được chọn lọc từ 1338 DMCs và sự phân bố số lượng CpGs trong các DMRs trong và ngoài vùng gen.

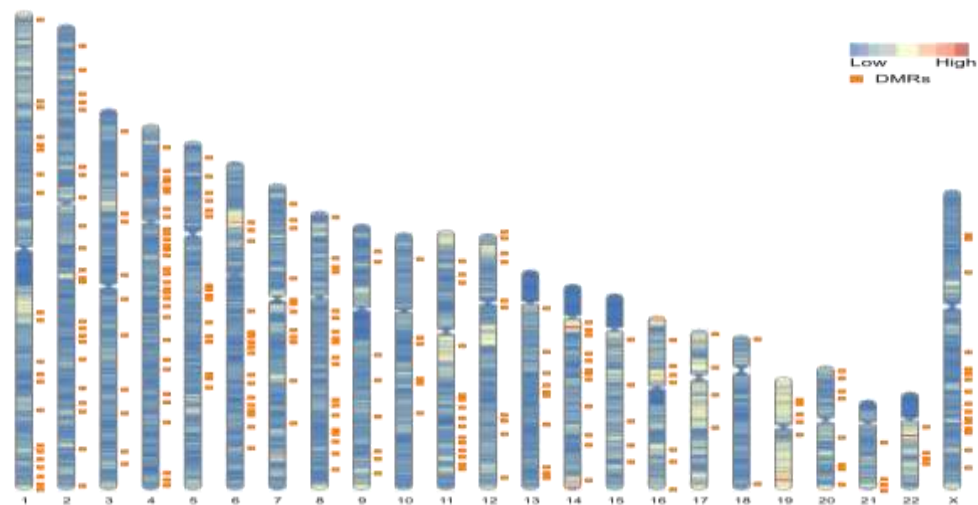
Những vị trí CpGs khác nhau được tập hợp lại thành các vùng khác biệt được gọi là DMRs. Những vùng khác biệt này là vùng chứa các DMCs nằm gần nhau trên cùng nhiễm sắc thể. Kết quả có 266 vùng được phát hiện (DMRs) từ 1338 vị trí CpGs bất thường, trong đó có 134 DMRs nằm trong vùng gen và 132 nằm trong vùng không có gen, các DMRs này có số lượng CpGs ít nhất là 2 và

nhieu nhất lên đến 40 CpGs. Đa số các DMRs có số lượng CpGs dao động từ 2 đến 10 (Biểu đồ 3. 8).



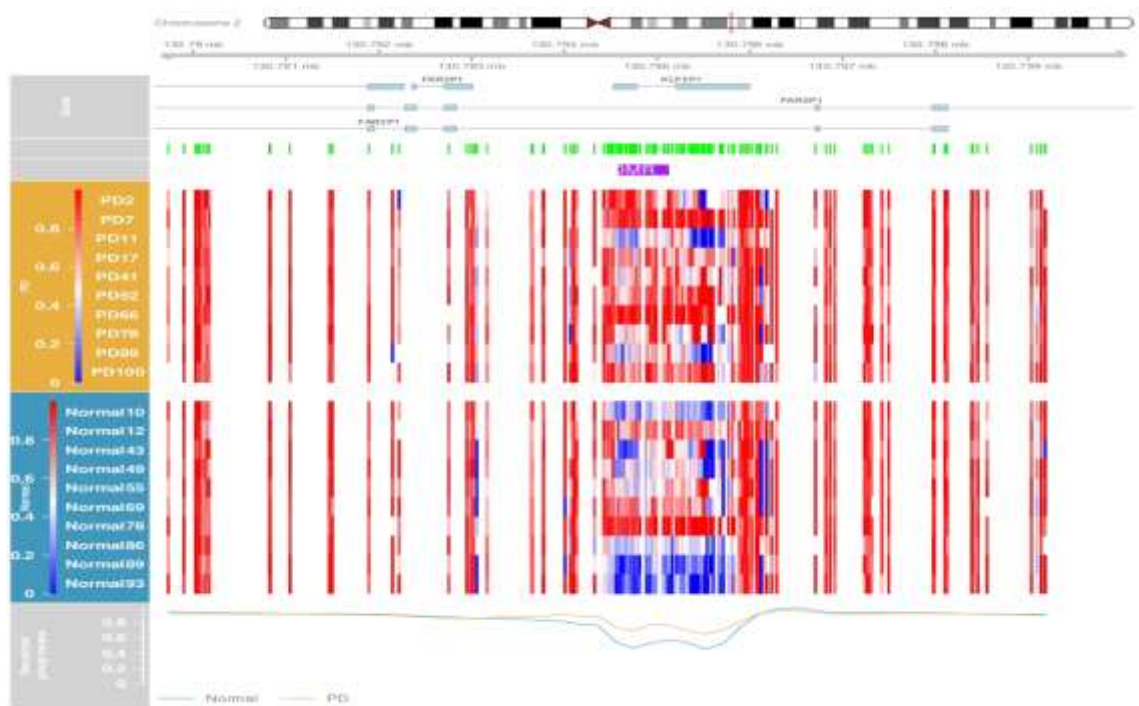
Biểu đồ 3. 9: Biểu đồ miêu tả số lượng các DMRs ở các vùng gen và vùng CpGs khác nhau. a) Vùng gen, b) vùng CpGs.

Các DMR cũng được xem xét các vùng gen và các vùng CpGs liên quan. Kết quả, có 4 DMRs nằm trong vùng promoter, 2 DMRs nằm ở vùng exon. Đa số các DMR có xu hướng phân bố tương tự như DMCs tập trung chủ yếu ở các vùng intergenic (138 DMRs). Ngoài ra, khi xem xét về các vùng CpG, cũng cho thấy 245 trên tổng số 266 DMR nằm ở cùng inter, chỉ có 4 DMR nằm ở cùng CpGs island (Biểu đồ 3. 9).



Biểu đồ 3. 10: Biểu đồ vị trí của các DMRs trên các nhiễm sắc thể khác nhau.

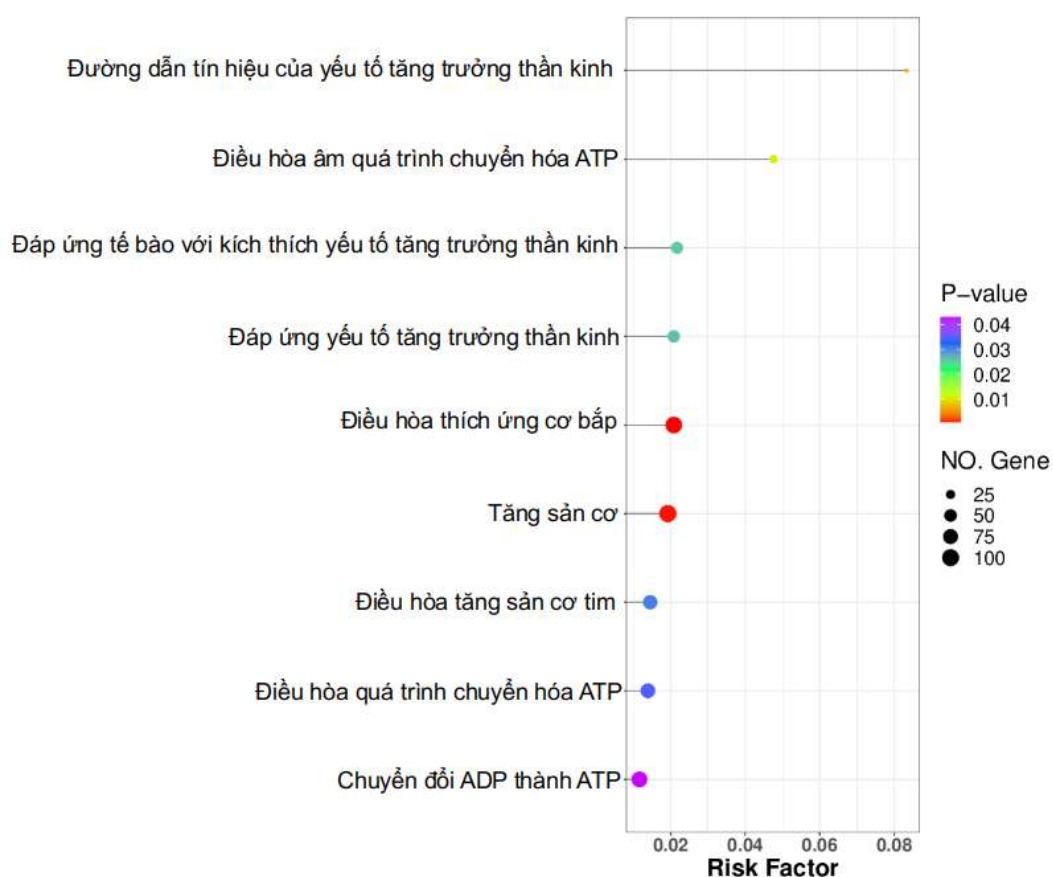
Các DMRs có sự phân bố đều trên các nhiễm sắc thể khác nhau - bao gồm nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính (Biểu đồ 3. 10).



Biểu đồ 3. 11: Biểu đồ mô tả giá trị methyl hóa của 1 DMR nằm ở nhiễm sắc thể số 2 chứa 28 DMCs có giá trị khác biệt methyl hóa giữa hai nhóm bệnh và nhóm chứng.

Khi xem xét mức độ methyl hóa của các DMCs trong các DMRs, ví dụ như DMR nằm trên nhiễm sắc thể số 2, với vị trí bắt đầu 130.794.581 và kết thúc 130.795.129, nằm trong vùng introns của hai gen là *KLF2P1* và *FAR2P1*. Vùng bất thường methyl này có số lượng CpGs cao nhất là 40 vị trí, trong đó có 28 vị trí có sự khác biệt methyl hóa giữa hai nhóm (DMCs). Mức độ methyl tại khu vực này ở người bị Parkinson cao hơn so với người bình thường là 22% (Xem Biểu đồ 3. 11).

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



Biểu đồ 3. 12. Các đường sinh học liên quan đến các DMRs - vùng khác biệt methyl hóa.

Phân tích sâu hơn về sự ảnh hưởng của các biểu thể di truyền liên quan đến bệnh Parkinson, các vị trí bất thường methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng, được xem xét các đường sinh học liên quan. Kết quả cho thấy rằng, các đường bị ảnh hưởng bởi 266 vùng DMRs có liên quan đến các con đường sinh học về cơ chế điều hòa của cơ, chuyển hóa năng lượng ATP và phát triển của tế bào thần kinh (Biểu đồ 3. 12).

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

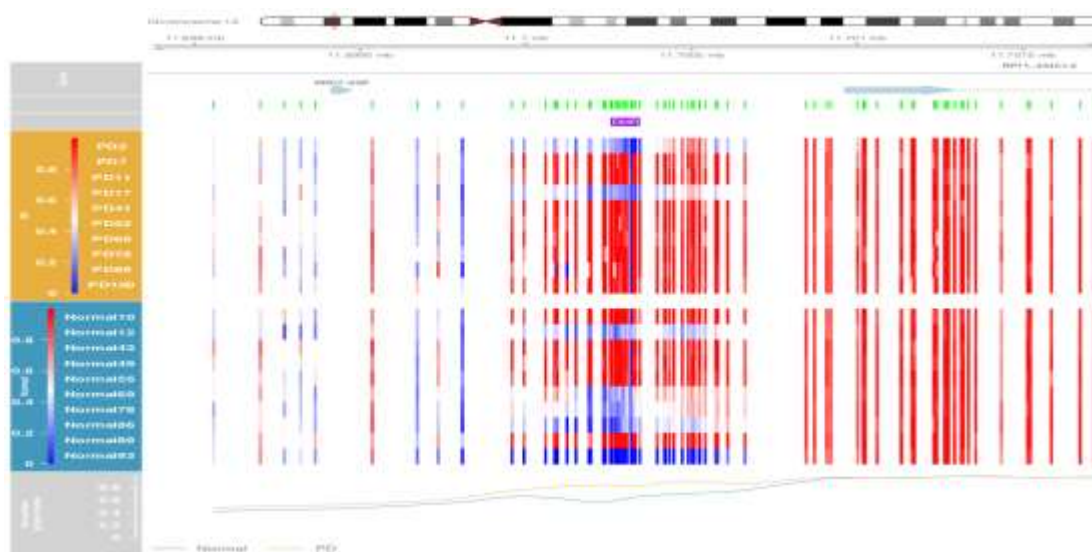
Bảng 3. 18: Vùng khác biệt methyl hóa (DMRs) liên quan đến các yếu tố lâm sàng

DMR	Nhiễm sắc thể	Bắt đầu	Kết thúc	nCpG	Khác biệt trung bình	Gen	Yếu tố lâm sàng	Methyl hóa DNA	Vùng gene	nDMCs
1	chr12	11700255	11700344	13	0,20	<i>RP11-434C1.2</i>	Tiếp xúc với thuốc trừ sâu	Tăng methyl hóa	promoters	7
2	chr19	13874994	13875046	3	0,24	<i>MRI1</i>	Tiếp xúc với thuốc trừ sâu	Tăng methyl hóa	promoters	3
1	chr12	11700255	11700344	13	0,20	<i>RP11-434C1.2</i>	Sống ở vùng nông thôn	Tăng methyl hóa	promoters	7
3	chr22	33153345	33153387	4	0,21	<i>SYN3</i>	Sống ở vùng nông thôn	Giảm methyl hóa	introns	4
4	chr22	33172527	33172640	3	0,24	<i>SYN3</i>	Sống ở vùng nông thôn	Tăng methyl hóa	introns	3
5	chr4	185021515	185021796	9	0,32	<i>ENPP6</i>	Sống ở vùng nông thôn	Giảm methyl hóa	introns	6
6	chr2	130794581	130795129	40	0,22	<i>KLF2P1, FAR2P1</i>	Uống nước giếng	Tăng methyl hóa	introns	28

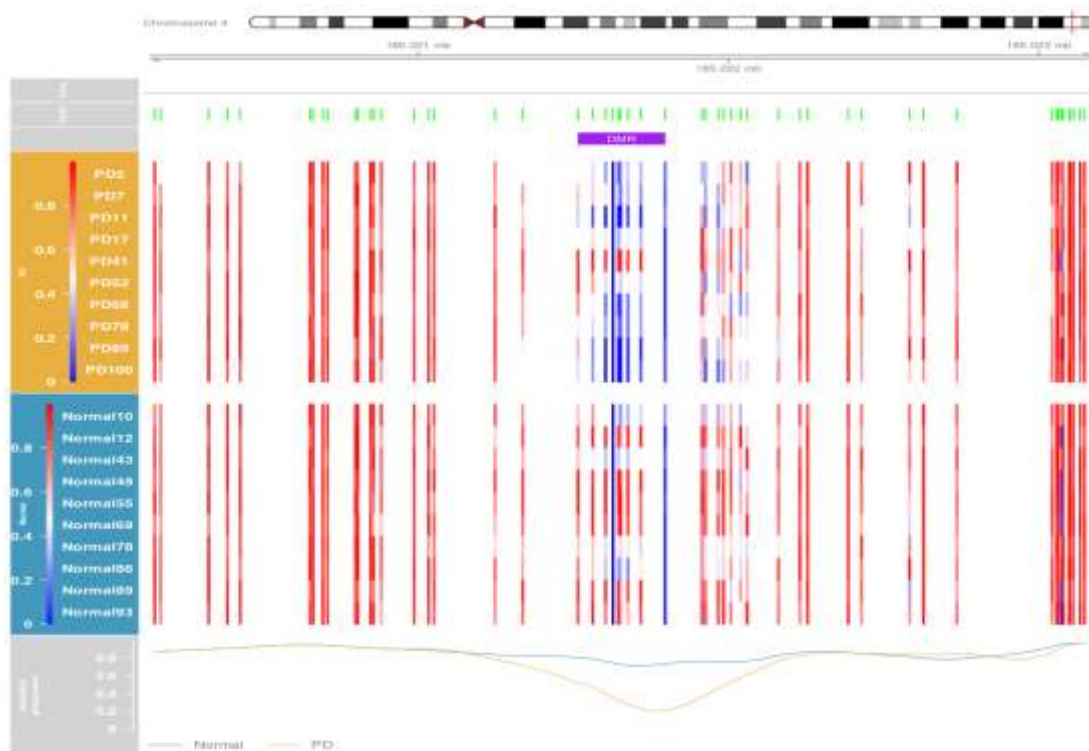
Sau khi tìm được 266 vùng DMR khác biệt methyl hóa ở bệnh nhân Parkinson, những DMR này được đánh giá ảnh hưởng đến sự bất thường bởi các yếu tố lâm sàng khác nhau như việc sống ở nông thôn, tiếp xúc với thuốc trừ sâu

và việc uống nước giếng. Việc đánh giá này nhằm xem xét các yếu tố tác động bên ngoài có ảnh hưởng đến sự bất thường methyl hóa ở người bệnh hay không. Kết quả cho thấy, có 6 vùng methyl hóa bất thường bị ảnh hưởng bởi các yếu tố trên, trong đó việc bệnh nhân sống ở vùng nông thôn ảnh hưởng đến 4 vùng DMR. Ngoài ra, việc uống nước giếng ảnh hưởng đến 1 vùng DMR ở nhiễm sắc thể 2 và yếu tố tiếp xúc với thuốc trừ sâu ảnh hưởng đến 2 vùng DMR, trong đó vùng DMR số 1 ở nhiễm sắc thể 12 tiếp xúc với yếu tố thuốc trừ sâu trùng với vùng DMR bị ảnh hưởng bởi việc sống ở vùng nông thôn (Bảng 3. 18).

Cả 6 DMR đều nằm trong vùng gen và ở các vùng chức năng khác nhau như vùng promoter, intron. Trong đó, DMR số 1 và số 2 nằm ở vùng promoter của hai gen *RP11-434C1.2* và *MRI1*, các DMR còn lại nằm ở vùng intron của các gen *SYN3*, *ENPP6* và *KLF2P1*, *FAR2P1*. DMR số 1 nằm ở nhiễm sắc thể 12 đồng thời bị ảnh hưởng bởi hai yếu tố thuốc trừ sâu và sống ở vùng nông thôn, có mức độ methyl hóa tăng ở người bệnh Parkinson. Đồng thời, đây cũng là vị trí promoter của gen *RP11-434C1.2* (Biểu đồ 3. 13). Sự khác biệt methyl hóa trung bình giữa nhóm người bệnh và nhóm chứng là 20%. Ở một DMR khác là DMR số 5 nằm trên vùng intron của gen *ENPP6* có sự khác biệt methyl hóa khá lớn giữa hai nhóm nghiên cứu là 32% (Biểu đồ 3. 14).



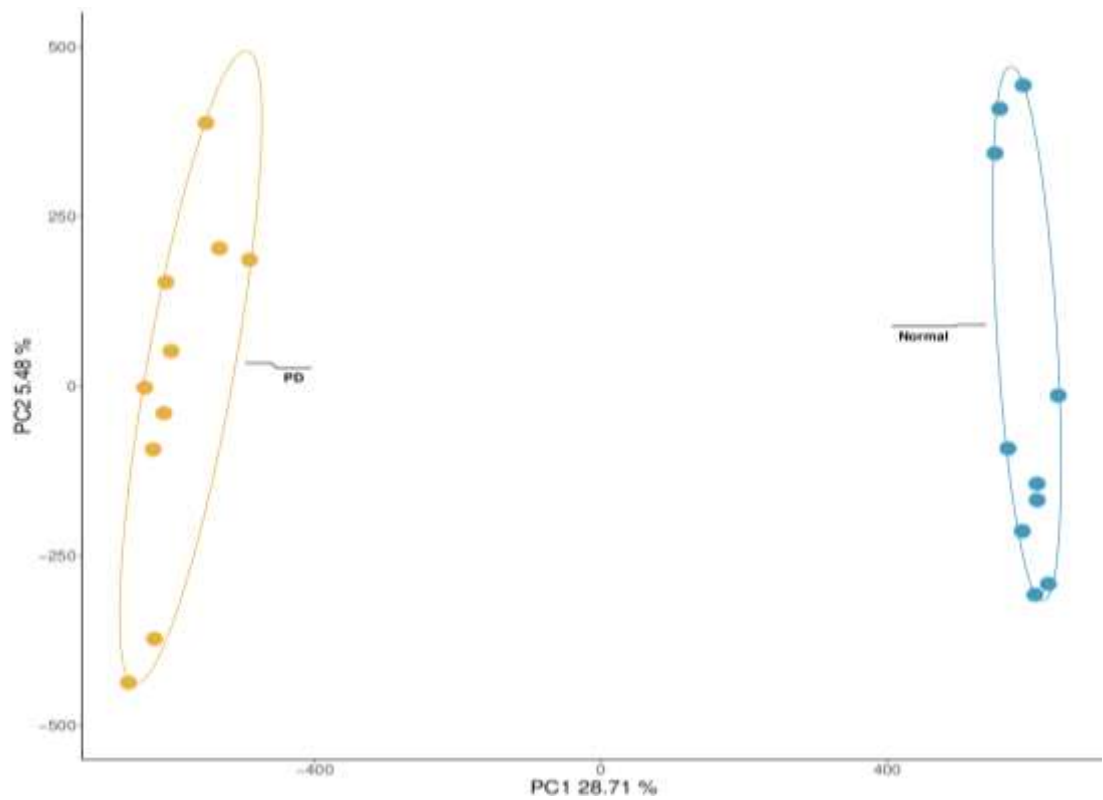
Biểu đồ 3. 13. Vùng khác biệt methyl hóa bị ảnh hưởng bởi việc tiếp xúc với thuốc trừ sâu.



Biểu đồ 3. 14. Vùng khác biệt methyl hóa bị ảnh hưởng bởi việc sống ở vùng nông thôn.

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

Như vậy, kết quả cho thấy có 1338 vị trí CpG trên nhiễm sắc thể (bao gồm nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính X) có sự bất thường methyl hóa được phát hiện và mang giá trị tiềm năng phát triển thành dấu ấn sinh học giúp tiên đoán nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở người trẻ tuổi. Sử dụng dữ liệu methyl hóa từ 1338 vị trí này với phương pháp thống kê giảm chiều – PCA, mỗi dấu chấm là một cá thể cho thấy rằng hai nhóm mẫu gồm bệnh Parkinson và nhóm chứng phân tách thành cụm và tách nhau rõ ràng. Điều này cho thấy, sự khác biệt về methyl hóa có thể giúp phân biệt giữa hai nhóm bệnh Parkinson và nhóm chứng (Biểu đồ 3.15).



Biểu đồ 3. 15: Biểu đồ giảm chiều bằng phương pháp PCA dựa trên dữ liệu methyl hóa của 1338 CpGs

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

Công trình nghiên cứu được tuyển chọn 100 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Parkinson và 100 nhóm chứng (không mắc bệnh Parkinson). Đặc điểm của bệnh Parkinson khởi phát sớm được trình bày dưới đây.

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

4.1.1. Đặc điểm triệu chứng

Thời gian bệnh

Thời gian có triệu chứng khởi phát bệnh lần đầu cho đến thời điểm bệnh nhân tham gia nghiên cứu trung bình là 4,5 năm. Thời gian được chẩn đoán xác định bệnh cho đến thời điểm bệnh nhân tham gia nghiên cứu trung bình là 3,3 năm. Khoảng chênh lệch trung bình giữa 2 mốc thời gian trên là 1,2 năm. Điều này cho thấy tính chủ quan của người bệnh khi xuất hiện các triệu chứng khởi phát bệnh nhưng không đi khám ngay mà đến khi các triệu chứng trở nên nặng hơn mới đi khám bệnh. Điều này, phản ánh kiến thức của người bệnh về vấn đề sức khỏe chưa được tốt hoặc do kiến thức để nhận diện các triệu chứng khởi phát bệnh Parkinson ở người trẻ chưa được nhìn nhận đúng mức, thường chẩn đoán nhầm các nguyên nhân khác làm kéo dài thời gian chẩn đoán.

Thời gian mắc bệnh trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là 3,3 năm; ngắn hơn so với các nghiên cứu khác như trong nghiên cứu của tác giả Trần Thanh Hùng là 6 năm⁵⁹ và nghiên cứu của Nguyễn Thị Khánh có >50% bệnh nhân có thời gian mắc bệnh trên 5 năm⁶⁰. Kết quả này phù hợp vì nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên các đối tượng bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm, do đó thời gian mắc bệnh ngắn hơn so với những bệnh nhân Parkinson lớn tuổi. Điều này cũng cho thấy sự phù hợp với tỷ lệ xuất hiện các triệu chứng lâm sàng vận động và ngoài vận động trong nghiên cứu chúng tôi thấp hơn so với các nghiên cứu khác. Đồng thời cũng chứng minh cho giả thiết thời gian mắc bệnh càng lâu thì giai đoạn bệnh càng nặng và tần suất xuất hiện các triệu chứng lâm sàng càng nhiều. Ngoài ra, thời gian mắc bệnh càng lâu thì điểm số rối loạn vận động càng cao.

Triệu chứng khởi phát bệnh

Triệu chứng vận động: Bệnh Parkinson khởi phát sớm với các triệu chứng vận động chiếm ưu thế.

Run là triệu chứng thường gặp nhất (91%). So với các nghiên cứu khác như nghiên cứu của tác giả Tô Thị Thu Hương⁶¹ trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có triệu chứng khởi phát bệnh run là 93,8%, nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang⁶² có tỷ lệ triệu chứng run là 87,8%, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Trong khi đó, nghiên cứu của tác giả Gennaro Pagano⁶³ cho thấy, tỷ lệ của triệu chứng run khi nghỉ khi khởi phát bệnh lần lượt là 72,4%. Nghiên cứu của tác giả Raja Mehanna⁶⁴ trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có tỷ lệ run là 59%. Kết quả này không tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, có thể là do trong mỗi nghiên cứu có độ tuổi và triệu chứng khởi phát bệnh ở mỗi bệnh nhân khác nhau.

Đơ cứng chiếm tỷ lệ 78%. So với các nghiên cứu khác như nghiên cứu của tác giả Tô Thị Thu Hương⁶¹ trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có triệu chứng khởi phát bệnh đơ cứng là 87,5%, nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang⁶² có tỷ lệ triệu chứng đơ cứng là 73,1%, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Trong khi đó, nghiên cứu của tác giả Gennaro Pagano⁶³ cho thấy, tỷ lệ của triệu chứng đơ cứng khi khởi phát bệnh 94,8%, và nghiên cứu của tác giả Gennaro Pagano chỉ ra rằng bệnh nhân khởi phát sớm dưới 50 tuổi có tỷ lệ đơ cứng cao hơn hẳn so với các nhóm tuổi khởi phát khác ($p=0,003$). Kết quả này không tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, có thể là do trong mỗi nghiên cứu có độ tuổi và triệu chứng khởi phát bệnh ở mỗi bệnh nhân khác nhau.

Triệu chứng mất phản xạ tư thế trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp chỉ 13%. So với các nghiên cứu khác, chúng tôi ghi nhận cũng có tỷ lệ thấp, nghiên cứu tại Việt Nam của tác giả Tô Thị Thu Hương⁶¹ có tỷ lệ là 18,8%; nghiên cứu trên thế giới của tác giả Gennaro Pagano⁶³ là 5,4% và tác giả Raja Mehanna⁶⁴ là 15%. Triệu chứng mất phản xạ tư thế là một trong những triệu chứng nặng, ảnh

hưởng nhiều đến cuộc sống của người bệnh Parkinson. Triệu chứng này thường xuất hiện ở những người bệnh có thời gian mắc bệnh dài, kết quả điều trị đạt hiệu quả không cao và mắc nhiều bệnh lý nền. Vì vậy, trong nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm sẽ ít gặp.

Triệu chứng chậm vận động

Trong nghiên cứu, trên 80% người bệnh có ít nhất 1 triệu chứng chậm vận động và tất cả người bệnh có biểu hiện của tình trạng chậm vận động. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang⁶² có tỷ lệ chậm vận động là 100%; nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Khánh⁶⁰ có tỷ lệ là 93,5%. Các nghiên cứu khác mà chúng tôi ghi nhận cũng đều có kết quả người bệnh Parkinson có biểu hiện chậm vận động với tỷ lệ trên 90%.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ người bệnh có tình trạng khó khăn trong giọng nói là 52% và thấp hơn khi so với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Khánh⁶⁰ có tỷ lệ là 83,7%. Nguyên nhân có thể thời gian mắc bệnh trung bình trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Khánh cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, vì vậy các triệu chứng chậm vận động rõ ràng hơn.

Triệu chứng ngoài vận động

Các triệu chứng ngoài vận động ngày càng được quan tâm là các yếu tố quan trọng trong điều trị lâm sàng của bệnh Parkinson. Trong nghiên cứu của chúng tôi, triệu chứng rối loạn lo âu là triệu chứng thường gặp nhất. Điều này có thể là do những người bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể gặp nhiều vấn đề khác như thất nghiệp do tàn tật hoặc nghỉ hưu sớm và những yếu tố này góp phần làm suy giảm chất lượng sống nhiều hơn và người bệnh Parkinson khởi phát sớm thường bị rối loạn lo âu nhiều hơn. Điều này phù hợp với nghiên cứu Post B năm 2020, khi đánh giá mối liên quan giữa rối loạn lo âu và thời điểm khởi phát bệnh Parkinson, kết quả cho thấy bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm bị rối loạn lo âu nhiều hơn so với bệnh nhân khởi phát muộn⁵.

Các triệu chứng lâm sàng ngoài vận động khác trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ thấp dưới 30% (trầm cảm, cảm giác dễ khóc, dễ giận dữ, mất tập trung, rối loạn đi tiểu, táo bón, khó nuốt, đổ da, rối loạn thị giác, rối loạn mùi). Kết quả này tương đồng với một vài nghiên cứu khác, như nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang có tỷ lệ triệu chứng là 4,8% bệnh nhân có rối loạn đi tiểu, 7,3% có khó nuốt và 25% có rối loạn mùi⁶²; nghiên cứu của tác giả Lanfranco De Carolis⁶⁵ có 27% bệnh nhân rối loạn đi tiểu, 14% có táo bón và 26,3% có rối loạn mùi.

Ngoài ra, những triệu chứng ngoài vận động khác trong nghiên cứu của chúng tôi chưa tương đồng so với các nghiên cứu khác, như triệu chứng trầm cảm trong nghiên cứu của chúng tôi là 26% và giảm trí nhớ là 36%, thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Đức Thuận⁶⁶ là 47,2% và 51,7%, triệu chứng táo bón trong nghiên cứu của chúng tôi là 13%, thấp hơn so với các nghiên cứu tác giả Tô Thị Thu Hương⁶¹ là 34,4% và Võ Nguyễn Ngọc Trang⁶² là 35,3%. Điều này có thể là do nghiên cứu của chúng tôi trên bệnh Parkinson khởi phát sớm, thời gian mắc bệnh ngắn.

Trong nghiên cứu của tác giả Raja Mehanna ghi nhận các triệu chứng khác như đau (22%), giảm trí nhớ (26%) và trầm cảm (48%)⁶⁴. Kết quả này có sự khác biệt tương đối so với nghiên cứu của chúng tôi.

Giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr

Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi bệnh nhân chủ yếu ở giai đoạn 1, có thể do thời gian của nhóm bệnh chủ yếu dưới 3 năm và không ghi nhận có bệnh nhân ở giai đoạn 5 có thể do bệnh nặng bệnh nhân nằm liệt giường không đến bệnh viện khám hoặc tự mua thuốc ở nhà. Vấn đề tiếp cận với những bệnh nhân ở giai đoạn nặng là một trong những khó khăn của các nghiên cứu về bệnh Parkinson, cho nên chúng tôi chưa ghi nhận được bệnh nhân ở giai đoạn 5.

Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của tác giả Võ Nguyễn Ngọc Trang⁶² cũng trên đối tượng bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có giai đoạn 1

chiếm 52,4%, kể đến là giai đoạn 2,3,4 và có tỷ lệ lần lượt là 28%;12% và 6,1%, có 1,2% người bệnh giai đoạn 5. Tuy nhiên, khi so sánh với các nghiên cứu khác trên đối tượng bệnh nhân Parkinson lớn tuổi sẽ có sự khác biệt.

Điều trị

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân được khởi đầu điều trị với ít nhất 2 thuốc. Bệnh nhân điều trị levodopa chiếm tỷ lệ cao nhất (90%), có 31% bệnh nhân được điều trị bằng thuốc đồng vận dopamin. So với nghiên cứu khác, nghiên cứu của tác giả Trần Ngọc Tài⁶⁷, có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tỷ lệ bệnh nhân sử dụng levodopa trong điều trị là 91,0%. Trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Đức Thuận⁶⁶ có 95,5% điều trị bằng thuốc levodopa và 57,3% điều trị bằng thuốc đồng vận dopamin. Nghiên cứu của tác giả Matej Skorvanek⁶⁸ có 78,3% điều trị bằng thuốc levodopa và 59,4% điều trị bằng thuốc đồng vận dopamin. Nghiên cứu của tác giả Raja Mehanna⁶⁴ trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có tỷ lệ điều trị levodopa là 51% và dopamin là 25% (kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi).

Nhìn chung, có 3 loại thuốc hay điều trị tại bệnh viện của chúng tôi là levodopa, đồng vận dopamin, anticholinergic, thường hay sử dụng nhất là levodopa, có thể là do hiện tại chỉ có 3 loại thuốc trên nên tỷ lệ trong toa thuốc cao. Dù các phác đồ điều trị hiện nay khuyến cáo nên để dành levodopa cho tới khi thật sự cần thiết để kiểm soát các triệu chứng vận động, đặc biệt bệnh Parkinson khởi phát sớm, nhưng tỷ lệ sử dụng levodopa vẫn cao trong nghiên cứu của chúng tôi, có thể do thuốc có tác dụng điều trị hiệu quả nhất các triệu chứng của bệnh Parkinson, giá thành rẻ so với thuốc đồng vận dopamin (83% lao động chân tay và 73% sống ở vùng nông thôn)

4.1.2. Điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS phần III và các yếu tố liên quan

Điểm số trung bình MDS-UPDRS phần III

Điểm số trung bình rối loạn vận động MDS-UPDRS phần III của bệnh nhân trong nghiên cứu là $38,2 \pm 18,4$ điểm và phân phối không bình thường. Kết quả này

tương đồng với nghiên cứu của tác giả Trần Thanh Hùng⁵⁹, điểm số rối loạn vận động trung bình là 39. Không tương đồng so với nghiên cứu của tác giả Trần Ngọc Tài là 36 điểm⁶⁷ và của tác giả Matej Skorvanek⁶⁸ là $34,38 \pm 18,39$, sự khác biệt này có thể do sự ảnh hưởng của các đặc điểm về tuổi, giới tính, nơi sinh sống (75% ở vùng nông thôn), thời gian mắc bệnh, giai đoạn bệnh của những bệnh nhân trong mỗi cộng đồng dân cư cũng sẽ khác nhau, từ đó tạo ra sự khác biệt về điểm số đánh giá tình trạng rối loạn vận động MDS-UPDRS III của bệnh nhân trong mỗi nghiên cứu sẽ khác nhau. Nghiên cứu của chúng tôi có điểm rối loạn vận động cao hơn so với nghiên cứu của tác giả Chan⁶⁹ (2017) trên đối tượng bệnh Parkinson khởi phát sớm là $16,83 \pm 13,55$ điểm.

Các yếu tố liên quan với điểm MDS-UPDRS III

Khi phân tích tổng điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS phần III với các yếu tố nguy cơ, chúng tôi ghi nhận được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở bệnh nhân có tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ. Ngoài ra, thời gian mắc bệnh càng lâu thì điểm số rối loạn vận động càng cao và mối liên quan này có ý nghĩa thống kê. So sánh với nghiên cứu của tác giả Trần Ngọc Tài⁶⁷ cho thấy mối tương quan thuận giữa thời gian mắc bệnh trung bình khoảng $6,68 \pm 4,48$ năm và điểm số rối loạn vận động MDS-UPDRS III là $36,0 \pm 13,7$, và cũng tương quan với nghiên cứu của tác giả Lanfranco De Carolis⁶⁵ có điểm rối loạn vận động > 40 ở những bệnh nhân có thời gian mắc bệnh > 5 năm với $p=0,064$.

Phần lớn bệnh nhân có các triệu chứng khởi phát bệnh sẽ có điểm số rối loạn vận động cao hơn so với những bệnh nhân không có các triệu chứng khởi phát bệnh và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của tác giả Lanfranco De Carolis cũng có những kết quả tương tự, tình trạng mất phản xạ tư thế có liên quan đến sự tăng cao của điểm số rối loạn vận động⁶⁵. Trong nghiên cứu này cũng không tìm thấy mối liên quan giữa triệu chứng run và điểm số rối loạn vận động, điều này tương tự như trong nghiên cứu của chúng tôi.

Trong các triệu chứng ngoài vận động, chúng tôi ghi nhận ở những bệnh nhân có triệu chứng rối loạn lo âu có điểm số rối loạn vận động là 42,1 điểm, cao hơn so với những bệnh nhân không có triệu chứng rối loạn lo âu là 28,48 với $p \leq 0,001$. Nghiên cứu Post B và cộng sự năm 2020 khi đánh giá mối liên quan giữa rối loạn lo âu và thời điểm khởi phát bệnh Parkinson, kết quả cho thấy bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có nhiều khả năng bị rối loạn lo âu hơn so với bệnh nhân khởi phát muộn và các giả thuyết cho rằng triệu chứng lo âu làm tăng điểm số rối loạn vận động⁵. Điều này cho thấy bệnh Parkinson khởi phát sớm làm tăng tỷ lệ xuất hiện của triệu chứng lo âu và ảnh hưởng đến điểm số rối loạn vận động.

Giai đoạn bệnh càng nặng thì điểm số rối loạn vận động càng cao và mối liên quan có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$. Điểm số trung bình ở nhóm bệnh nhân giai đoạn 1 là 27 điểm và tăng dần cho đến giai đoạn 4 là 85 điểm. So sánh với nghiên cứu của Môn Thị Uyên Hồng về tình trạng rối loạn vận động của bệnh nhân mắc bệnh Parkinson giai đoạn 3 và 4 cho thấy điểm MDS-UPDRS III trạng thái “xấu nhất” trong ngày khoảng $34,6 \pm 12,1$ điểm và điểm MDS-UPDRS III trạng thái “tốt nhất” trong ngày khoảng $26,6 \pm 8,6$, có sự liên quan giữa tiền sử té ngã với hiệu số điểm MDS-UPDRS III (“xấu nhất”-“tốt nhất”)⁷⁰. Có thể thấy rằng những bệnh nhân giai đoạn bệnh càng cao thì tình trạng rối loạn vận động cũng ngày càng nặng^{5,71}.

Kết quả của chúng tôi cũng chỉ ra những người có sử dụng thuốc đồng vận dopamin và thuốc khác có điểm số rối loạn vận động (MDS-UPDRS phần III) cao hơn so với người không sử dụng ($p < 0,05$). Điều này có thể do người bệnh Parkinson có sử dụng thuốc dopamin và các loại thuốc khác đang mắc bệnh mạn tính khác, do đó mức độ rối loạn vận động cao hơn so với những người không sử dụng thuốc. Nghiên cứu của tác của Trần Ngọc Tài cho thấy sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tỷ lệ bệnh nhân sử dụng levodopa trong điều trị là 91,0% và điểm số rối loạn vận động là 36,0 điểm⁶⁷.

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

4.2.1. Đặc điểm dân số xã hội

Trong nghiên cứu của chúng tôi, không có sự chênh lệch về giới tính. Nghiên cứu của tác giả Firestone⁷² thực hiện đánh giá mối liên quan giữa nguy cơ mắc bệnh Parkinson, giới tính nam chiếm nhiều hơn trong nghiên cứu với tỷ lệ lần lượt là 62,4% và 62,1% ở nhóm bệnh và nhóm chứng. Nghiên cứu của chúng tôi không phù hợp với các nghiên cứu khác, không có sự khác biệt về giới tính nam và nữ ở bệnh Parkinson, có thể do số lượng mẫu nghiên cứu của chúng tôi cần quy mô lớn hơn².

Mặt khác, kết quả đặc điểm dân số xã hội trong nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt lớn so với nghiên cứu của tác giả Raja Mehanna năm 2013 trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm tại Houston-Texas cho thấy tỷ lệ nam giới chiếm tới 95% và 20% tiền căn gia đình có người mắc bệnh Parkinson⁶⁴.

Những nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm có độ tuổi khởi phát bệnh giống nhau. Độ tuổi trung bình tại thời điểm tham gia nghiên cứu của chúng tôi nhóm bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm là 48,11 và tuổi khởi phát bệnh là 42,6. Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của tác giả Tô Thị Thu Hương⁶¹ có sự tương đồng về tuổi khởi phát bệnh trung bình là 42,1 tuổi. Nghiên cứu của tác giả Trần Ngọc Tài⁶⁷, phần lớn bệnh nhân là nam giới, độ tuổi trung bình là 42 tuổi.

4.2.2. Đặc điểm các yếu tố nguy cơ môi trường

Mối liên quan giữa những yếu tố môi trường với bệnh Parkinson khởi phát sớm luôn là chủ đề được quan tâm, vì có tính giá trị cao trong phòng ngừa lẫn gợi ý chẩn đoán. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung phân tích những yếu tố môi trường trong bệnh Parkinson khởi phát sớm và ghi nhận rằng sống tại nông thôn, sử dụng nước giếng khoan, tiếp xúc với thuốc trừ sâu, nghề nghiệp, trình độ học vấn là những yếu tố nguy cơ liên quan tới sự khởi phát bệnh.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sử dụng nước giếng khoan là một yếu tố nguy cơ đối với bệnh Parkinson khởi phát sớm, ở nhóm bệnh là 36%, còn nhóm chứng là 19%, như vậy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,006$). Khi so sánh với các nghiên cứu khác, chúng tôi tìm thấy được các yếu tố liên quan thuận có ý nghĩa thống kê của bệnh Parkinson khởi phát sớm. Một phân tích tổng hợp 15 nghiên cứu quan sát cho thấy tỷ số odds mắc bệnh Parkinson ở người uống nước giếng tăng 16%²³. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Tsai và cộng sự⁷³ có tỷ lệ sử dụng nước giếng trong sinh hoạt ở bệnh Parkinson khởi phát sớm là 60%.

Ở Việt Nam, đa số cư dân sống ở vùng nông thôn làm nghề nông nên mức độ phơi nhiễm thuốc trừ sâu cao hơn người thành thị và sử dụng nước giếng khoan vốn bị phơi nhiễm với kim loại nặng. Điều này có thể giải thích tại sao người nông thôn có nguy cơ mắc bệnh Parkinson cao hơn cư dân thành thị. Về yếu tố sống ở vùng nông thôn, có mối liên quan thuận có ý nghĩa thống kê với bệnh Parkinson khởi phát sớm với $OR = 6,31$ và $p<0,001$. Đa số nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng sống tại vùng nông thôn là yếu tố nguy cơ của bệnh Parkinson⁷⁴. Kết quả của nghiên cứu này chứng thực cho một số nghiên cứu trước đây ở phương Tây. Tỷ lệ tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ trong cuộc sống hàng ngày ở nhóm bệnh là 60% cao gấp 2,2 lần so với nhóm chứng là 27%, có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ($p<0,001$). Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây, phơi nhiễm thuốc trừ sâu là một yếu tố nguy cơ mắc bệnh Parkinson^{74,75}. Thật ra, hai yếu tố này (sống ở nông thôn và phơi nhiễm thuốc trừ sâu) có liên quan chặt chẽ với nhau, bởi đa số người dân sống ở nông thôn làm nghề nông và họ bị phơi nhiễm thuốc trừ sâu. Do đó, sống ở nông thôn có thể xem là một 'marker' gián tiếp cho phơi nhiễm hoá chất trừ sâu. Nghiên cứu này đóng góp dữ liệu và chứng cứ trong y văn về mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và bệnh Parkinson khởi phát sớm. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể ngăn ngừa được, vì các yếu tố nguy cơ đều có thể can thiệp hay thay đổi.

Một vài nghiên cứu khác trên thế giới cũng cho thấy những mối tương quan thuận giữa yếu tố môi trường và bệnh Parkinson. Nghiên cứu của tác giả Firestone⁷² cho thấy nguy cơ mắc bệnh Parkinson tăng khi có sự phơi nhiễm thuốc trừ sâu trong nghề nghiệp với $p < 0,05$ ($OR = 2,07$; KTC 95% = 0,67-6,38⁷²); sống ở vùng nông thôn ($OR = 1,65$; KTC 95% = 0,84-3,27⁷²) và việc tiêu thụ nước giếng suốt đời ($OR = 1,81$; 95% = 1,02-3,21). Nghiên cứu của tác giả Noyce năm 2012 thực hiện phân tích các yếu tố làm tăng nguy cơ mắc bệnh Parkinson bằng mô hình đa biến cho thấy các kết quả như sau thuốc trừ sâu với $p < 0,001$ ($OR = 1,53$; KTC 95% = 1,29 – 1,80), tiền sử gia đình mắc bệnh Parkinson $p = 0,011$ ($OR = 3,25$; 95% = 2,43–4,35) và uống nước giếng $p = 0,005$ ($OR = 1,2$; KTC 95% = 1,04–1,39)⁷⁴. Nghiên cứu của tác giả Butterfield trên bệnh Parkinson khởi phát sớm, có liên quan tích cực đến việc tiếp xúc với thuốc diệt cỏ, trừ sâu ($OR = 5,75$ và $p < 0,001$), cư trú ở nông thôn ($OR = 2,72$ và $p = 0,027$)⁷⁶.

Chúng tôi cũng ghi nhận được có mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa bệnh Parkinson khởi phát sớm với các yếu tố hút thuốc lá và uống cà phê. Kết quả này chưa phù hợp với y văn và những nghiên cứu khác trên thế giới, bởi vì nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng uống cà phê và hút thuốc lá có khả năng ngăn ngừa nguy cơ phát triển bệnh Parkinson. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi chưa đủ lớn và đối tượng được lựa chọn ở 2 nhóm không tương đồng về nơi sống, trình độ học vấn, loại cà phê uống và loại thuốc lá hút và các yếu tố khác.

4.3. Biểu thể di truyền

4.3.1. Đánh giá mức độ methyl hóa của các gen liên quan đến bệnh Parkinson

Nghiên cứu được tiến hành trên một nhóm gồm 20 mẫu người Việt Nam, trong đó có 10 mẫu bị bệnh Parkinson và 10 mẫu khỏe mạnh, với mục đích là tìm hiểu sự khác biệt methyl hóa giữa hai nhóm này. Bằng cách sử dụng công nghệ giải trình tự toàn bộ bộ gen đã qua xử lý bisulfite (WGBS), chúng tôi đã giải trình tự và xác định hệ số methyl hóa cho gần 28 triệu vị trí CpG. Kết quả của phân tích sự khác biệt methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm chứng đã chỉ ra sự xuất hiện của

1338 vị trí có sự khác biệt (DMCs) trên tổng số 28 triệu vị trí. Trong số này, có 691 vị trí giảm methyl hóa và 647 vị trí tăng methyl hóa so với nhóm khỏe mạnh. Phân tích chi tiết về vị trí của các DMC đã chỉ ra rằng chúng chủ yếu nằm trong các khu vực nối giữa hai gen (intergenic), với tổng cộng 741 vị trí trên 1338 vị trí. Chỉ có 28 vị trí nằm trong khu vực promoter của gen, một khu vực quan trọng trong việc điều hòa hoạt động gen. Đáng chú ý, chỉ có 28 vị trí trên tổng số DMCs nằm trong vùng đảo CpGs, thể hiện sự đa dạng và phức tạp của quá trình methyl hóa trong bệnh Parkinson. Từ 1338 vị trí khác biệt, đã xác định được 266 vùng khác biệt (DMRs), trong đó có 138 DMRs nằm trong vùng gen. Các vùng khác biệt này liên quan đến các đường sinh học quan trọng liên quan đến bệnh Parkinson, như con đường chuyển hóa năng lượng ATP, các cơ chế điều hòa cơ và con đường phát triển của tế bào thần kinh. Tiếp theo, từ kết quả mục tiêu 1 và 2, chúng tôi nhận thấy rằng các yếu tố như uống nước giếng, tiếp xúc với thuốc trừ sâu và sống ở vùng nông thôn có liên quan đến bệnh Parkinson, nên chúng tôi tập trung vào chọn những yếu tố này phân tích về biểu thể di truyền. Khi phân tích biểu thể di truyền, những yếu tố này cũng được xác định có mối liên quan đến 6 vùng khác biệt methyl hóa trên 20 mẫu nghiên cứu. 6 DMRs này nằm trên các vùng promoter và introns của 6 gen bao gồm *RP11-434C1.2*, *MRI1*, *SYN3*, *ENPP6*, *KLF2P1* và *FAR2P1*. Cuối cùng, dựa trên hệ số methyl hóa (beta value) của 1338 DMCs, cho thấy khả năng phân định rõ ràng giữa hai nhóm bệnh và không bệnh thông qua phương pháp giảm chiều PCA.

Khi xem xét về kỹ thuật giải trình tự toàn bộ bộ gen (WGBS), chúng tôi nhận thấy đây là một công nghệ tiên tiến nhất hiện nay, cho phép phát hiện toàn bộ các vị trí CpGs trên toàn bộ bộ gen. Với khả năng phát hiện các vị trí CpG tương đối đầy đủ và toàn diện, nghiên cứu sử dụng kỹ thuật này có thể mang lại cái nhìn tổng quát và chính xác hơn khi so sánh với các nghiên cứu khác. Thứ hai, việc sử dụng mẫu từ người Việt Nam là điểm mới và là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam. Hiện chưa có nghiên cứu nào sử dụng kỹ thuật WGBS cho người Việt Nam và áp dụng vào nghiên cứu về bệnh Parkinson. Do đó, nghiên cứu này có thể coi là một

bước tiến lớn trong lĩnh vực công nghệ di truyền cũng như trong việc khám phá một cách toàn diện về bệnh Parkinson từ góc nhìn biểu thể di truyền - epigenetic.

Nghiên cứu đã phát hiện 1338 vị trí có methyl hóa khác biệt giữa nhóm bệnh Parkinson và nhóm không bị bệnh, một con số đáng kể so với các nghiên cứu trước đây. Ví dụ, nghiên cứu của Costanza L và đồng nghiệp⁷⁷ vào năm 2020 chỉ tìm thấy một vị trí khác biệt có ý nghĩa. Trong nghiên cứu tác giả sử dụng kỹ thuật array 450K để xác định 485,512 vị trí CpGs trên toàn bộ bộ gen, chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ (khoảng 1,7%) so với tổng số CpG trong cơ thể người. Giá trị khác biệt methyl hóa của 1338 vị trí giữa nhóm bệnh và nhóm chứng lớn, từ 0,2 (20%) đến 0,5 (50%), cho thấy tiềm năng của chúng là các dấu ấn sinh học (biomarker) trong việc tiên đoán và phát hiện sớm bệnh Parkinson. Thực tế, phân tích giảm chiều PCA dựa trên hệ số methyl hóa của các vị trí khác biệt này đã cho thấy sự phân tách rõ ràng giữa hai nhóm. Điều này cung cấp cơ sở nghiên cứu quan trọng cho việc phát triển các chất đánh dấu sinh học từ 1338 vị trí khác biệt này. Đáng chú ý, việc sử dụng mẫu máu trong nghiên cứu này mang ý nghĩa quan trọng, vì các chất đánh dấu sinh học phát hiện bệnh từ các DMC được tìm thấy trong nghiên cứu này, sẽ giúp việc chẩn đoán phát hiện bệnh trở nên dễ dàng hơn và ít xâm lấn hơn thông qua việc xét nghiệm máu. Một số nhóm nghiên cứu về bệnh ung thư đã thành công trong việc phát triển các bộ kit test không xâm lấn thông qua phân tích sự khác biệt methyl hóa, như kit test phát hiện ung thư bàng quang sử dụng mẫu nước tiểu.

Khi chú giải toàn bộ các vị trí CpGs và các vị trí có sự khác biệt về methyl hóa giữa hai nhóm nghiên cứu, chúng tôi quan sát thấy rằng đa số các vị trí này tập trung ở vùng liên kết của các gen (intergenic). Tính chất phân bố này tương ứng với sự phân bố tổng thể của các vị trí CpGs trên toàn bộ bộ gen, cũng như sự biến đổi trong sự tăng và giảm methyl hóa giữa nhóm bệnh và nhóm không bệnh. Điều này phản ánh một phát hiện tương tự với nghiên cứu của Edwards và cộng sự⁷⁸ vào năm 2010. Phân tích này cũng chỉ ra rằng mặc dù số lượng CpGs là rất lớn (28 triệu CpGs), chúng chủ yếu tập trung trong các vùng không quan trọng như vùng liên kết giữa các gen (intergenic) hoặc vùng không mã hóa gen (introns). Chỉ

một phần nhỏ dưới 2,2% nằm trong vùng promoter - vùng quan trọng điều hòa hoạt động phiên mã của gen và ảnh hưởng đến biểu hiện gen. Theo nghiên cứu của Robertson⁷⁹ cho thấy các thay đổi hoặc tăng mức độ methyl hóa tại các vị trí CpGs trong các vùng promoter có thể ảnh hưởng đến việc phiên mã gen, từ đó ảnh hưởng đến biểu hiện gen và các chức năng sinh học liên quan. Trong nghiên cứu này, phát hiện chỉ có 25 vị trí khác biệt methyl hóa có sự tăng methyl hóa tại vị trí promoter. Tuy nhiên, các thay đổi và ảnh hưởng đến biểu hiện gen thường đến từ sự kết hợp của nhiều CpGs trong vùng promoter. Do đó, nghiên cứu cũng xác định được 266 vùng khác biệt methyl hóa, và chỉ có 4 vùng nằm trong các vùng promoter của các gen *LINC01252*, *MRI1*, *LOX* và *NINJ2*. Các sự khác biệt methyl hóa tại các vùng promoter này trên 4 gen này có thể gây ra thay đổi trong biểu hiện gen của chúng. Tuy nhiên, cần phải tiến hành nghiên cứu chi tiết hơn để xác định chính xác hậu quả của các thay đổi này. Ngoài ra, gen *NINJ2* đóng vai trò quan trọng trong hệ thống thần kinh, và vùng khác biệt methyl hóa tại promoter của gen này chứa 12 vị trí khác biệt methyl hóa. Protein mã hóa bởi gen này thuộc họ ninjurin và có vai trò trong tái tạo dây thần kinh sau chấn thương⁸⁰. Quan sát mức độ methyl hóa của 12 vị trí DMCs cho thấy 10 trong số chúng có sự giảm methyl hóa. Có thể giả định rằng việc giảm methyl hóa tại vị trí promoter này có thể tăng biểu hiện gen này, giúp giảm tổn thương thần kinh từ bệnh Parkinson. Điều này mở ra cơ hội cho nghiên cứu sâu về hơn về cơ chế này trong tương lai.

Phân tích về chức năng gen (functional gene analysis) dựa trên 266 vùng khác biệt methyl hóa (DMRs) thấy rằng có nhiều con đường sinh học liên quan đến thần kinh cũng như hoạt động của cơ. Điều này cho thấy, mối liên quan giữa các vùng bất thường methyl hóa và các gen liên quan có tác động đến các con đường sinh học, dẫn đến cơ chế bệnh lý của bệnh Parkinson. Như vậy, từ đây chúng ta có thể suy đoán, sự bất thường trên 266 vùng DMRs có sự ảnh hưởng đến các con đường sinh học liên quan đến thần kinh nói chung và bệnh Parkinson nói riêng. Tuy nhiên, những mối liên hệ ở các vị trí DMR và các gen liên quan sẽ tạo tiền đề cho các nghiên cứu sau để khám phá các gen hay các cơ chế bệnh sinh liên quan đến bệnh Parkinson.

Qua nghiên cứu nhận thấy, bệnh nhân tiếp xúc các yếu tố môi trường như việc tiếp xúc với thuốc trừ sâu, uống nước giếng và sống ở vùng nông thôn liên quan đến các sự bất thường methyl hóa ở các vùng khác nhau (DMRs) trên nhiễm sắc thể và các vùng này nằm trên các gen như *SYN3*, *MRI1*, *ENPP6*, *RP11-434C1.2*, *FAR2P1* và *KLF2P1*. Theo Sunker và Alkuraya⁸¹ năm 2013, gen *MRI1* có liên quan đến bệnh thần kinh được gọi là sự thoái hóa chất trắng (Vanishing white matter disease - VWMD). Bệnh VWMD thường xuất hiện do biến đổi di truyền trong các gen liên quan đến quá trình tổng hợp và duy trì bao myelin, lớp bao phủ tế bào thần kinh. Khi có biến đổi trong gen này, tế bào thần kinh không thể tổng hợp và duy trì myelin một cách bình thường, dẫn đến thoái hóa chất trắng và gây ra các triệu chứng của bệnh. Trong khi đó, theo một nghiên cứu khác vào năm 2021, nghiên cứu trên toàn bộ bộ gen (GWAS) bao gồm 1036 mẫu với 539,865 SNP cho thấy rằng đột biến ở gen *ENPP6* có liên quan đến kích thước của não⁸². Ngoài ra, gen *ENPP6* còn liên quan đến bệnh thần kinh, bao gồm dây thần kinh cảm giác và rối loạn thần kinh thực vật, có tính chất di truyền với các triệu chứng mất ngủ, trầm cảm và rối loạn cảm xúc^{83,84}. Đặc biệt, gen *SYN3* là một trong ba gen có liên quan trực tiếp đến bệnh Parkinson. Các đặc điểm bệnh lý của bệnh Parkinson là sự suy giảm hoặc chết của các tế bào thần kinh tạo ra dopamin trong hệ thống vân đen và hình thành các thể vùi Lewy chủ yếu chứa α -synuclein (α -syn, hay còn gọi là SNCA). Neuronal phosphoprotein synapsin 3 (còn được gọi là *SYN3*), là chất điều hòa chính chức năng của các tế bào thần kinh tạo ra dopamin. Theo Michela và cộng sự⁸⁵ năm 2015, sự tăng hay giảm của α -synuclein có ảnh hưởng đến điều hòa của *SYN3*, đồng thời họ cũng thấy rằng *SYN3* tích tụ ở vùng nhân đuôi và bào sẫm của não. Nhân đuôi và bào sẫm là một phần của hạch nền, tham gia vào quá trình điều chỉnh các cử động tự ý. Như vậy, *SYN3* có ảnh hưởng đối với các cơ chế sinh học trong bệnh lý Parkinson, tuy nhiên khi nghiên cứu đột biến trên gen liệu có liên quan đến bệnh này hay không là một câu hỏi cần giải đáp. Một nghiên cứu được thực hiện trên 1200 bệnh nhân Parkinson và 1142 người khỏe mạnh phát hiện ba đột biến trên gen *SYN3*, những đột biến này lại không có liên quan đến bệnh Parkinson⁸⁶. Như vậy, những vùng gen có sự bất thường methyl

hóa liên quan đến các yếu tố lâm sàng như *SYN3*, *MRI1* và *ENPP6*, đều có những vai trò trực tiếp hoặc gián tiếp đến các bệnh lý thần kinh đặc biệt là bệnh Parkinson.

Theo nghiên cứu của Selvaraj và đồng nghiệp vào năm 2019, các đột biến trên 7 gen gồm *GBA*, *LRRK2*, *PRKN*, *SNCA*, *PINK1*, *PARK7* và *VPS35* được xác định có liên quan trực tiếp đến bệnh Parkinson⁸⁷. Trong số này, gen *SNCA*, *PARK2*, *PINK1* và *DJ1* liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát sớm chiếm 10% trong tổng số ca. Do đó, câu hỏi đặt ra là liệu các bệnh nhân Parkinson trong nghiên cứu có chứa các đột biến trên các gen này không. Nếu có, việc tìm ra nguyên nhân của bệnh sẽ trở nên phức tạp hơn và phân tích biểu thể di truyền sẽ mất đi ý nghĩa lớn. Qua phân tích biểu thể trên 20 mẫu nghiên cứu bằng dữ liệu giải trình tự WGBS, chúng tôi phát hiện 30 biến thể, bao gồm 1 đột biến thay thế, 4 đột biến mất điểm, 7 đột biến chèn và 18 đột biến điểm. Tuy nhiên, khi so sánh với nguồn dữ liệu quốc tế về các đột biến gây bệnh, chúng tôi không tìm thấy bất kỳ đột biến nào trong tổng số 30 biến thể có khả năng gây hại. Từ đó, có thể kết luận rằng các bệnh nhân Parkinson trong nghiên cứu không chứa các đột biến dẫn đến bệnh Parkinson. Để xác định rõ hơn, chúng tôi cũng so sánh mức độ methyl hóa của các CpGs nằm trong các gen này và không tìm thấy sự khác biệt methyl hóa có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm bệnh và chứng trên 7 gen liên quan (Bảng 4. 1). Từ kết quả này có thể cho thấy rằng, nguyên nhân đột biến gen dẫn đến phát sinh bệnh Parkinson khởi phát sớm có thể được loại trừ, phải chăng là do yếu tố môi trường làm thay đổi trong biểu hiện của gen và chức năng khác của gen và là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến bệnh thần kinh này.

Bảng 4. 1: Số lượng CpGs ở mỗi gen và các vùng gen khác nhau trên 7 gen liên quan đến bệnh Parkinson

Gen	NST	Điểm bắt đầu	Điểm kết thúc	Số CpGs	Intros	Exons	Promoters	5UTRs	1to5kb
<i>PARK7</i>	chr1	8021771	8045565	427	265	58	20	17	67
<i>PINK1</i>	chr1	20959951	20978004	362	166	106	23	15	52
<i>GBA</i>	chr1	155204243	155214418	204	34	34	28	0	108

<i>SNCA</i>	chr4	9064525 0	9075945 5	761	508	18	110	0	53
<i>PRKN</i>	chr6	1617684 49	1631487 98	1412 7	13764	80	96	31	156
<i>LRRK2</i>	chr1 2	4061879 9	4076308 6	777	602	86	18	14	57
<i>VPS35</i>	chr1 6	4669004 4	4672309 0	295	129	47	47	4	68

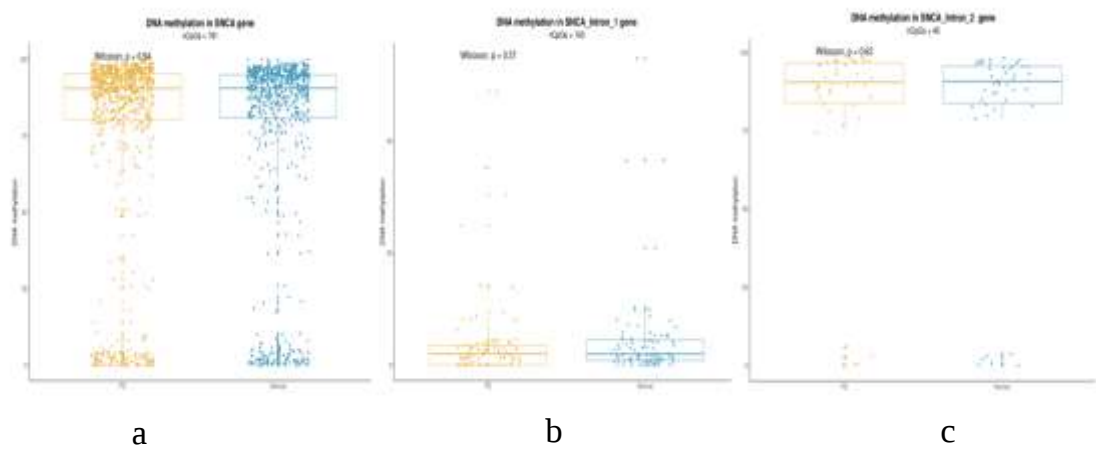
4.3.2. So sánh với các nghiên cứu khác

Khi sử dụng dữ liệu methyl hóa của toàn bộ bộ gen và so sánh với các nghiên cứu khác, nghiên cứu cùng sử dụng loại mẫu là máu. Đầu tiên, với nghiên cứu San-xi Ai và cộng sự⁸⁸, có sự giảm methyl hóa ở bệnh nhân Parkinson tại gen *SNCA intron-1*. Để xem xét tại vị trí này, chúng tôi sử dụng vị trí bắt đầu và kết thúc như ở bảng 4. 1, với dữ liệu WGBS phát hiện 100 CpG trong intron-1 của gen *SNCA*, tuy nhiên giá trị methyl hóa ở nhóm bệnh và nhóm chứng không có sự khác biệt. Tương tự ở các gen khác và các nghiên cứu khác (bảng 4. 2), khi kiểm tra từng CpGs cũng không có khác biệt methyl hóa giữa hai nhóm.

Bảng 4. 2: Vị trí của các gen ở các nghiên cứu khác nhau

Gen	Nhiễm sắc thể	Điểm bắt đầu	Điểm kết thúc	Tình trạng methyl hóa	Tài liệu tham khảo
<i>MAPT</i>	chr17	43384864	44913631	Tăng	Masliah (2013) ³⁷ Coupland (2014) Su (2015)
<i>PGC-1α</i>	chr4	23793644	23891700	Tăng	
<i>VTRNA2-1</i>	chr5	135416187	135416286	Giảm	Minones-Moyano (2013) Eryilmaz (2017)
<i>TNF-α</i>	chr6	31543344	31546112	Giảm	
<i>SNCA</i>	chr4	90645250	90759447	Giảm	

<i>SNCA</i> - <i>Intron-1</i>	chr4	90756902	90759353	Giảm
<i>SNCA</i> - <i>Intron-2</i>	chr4	90749343	90756306	Giảm



Hình 4. 1: So sánh mức độ methyl hóa giữa hai nhóm trên các vùng gen khác nhau của *SNCA*. a) Toàn bộ vùng gen, b) vùng intron 1, c) vùng intron 2.

Như vậy, khi so sánh với các nghiên cứu trước, dữ liệu WGBS cho thấy không cùng kết quả với những nghiên cứu trước. Điều này có thể giải thích thêm rằng, do sự khác biệt về kỹ thuật xác định mức độ methyl hóa khác nhau, ở nghiên cứu San-xi Ai và cộng sự, nghiên cứu sử dụng kỹ thuật RT-PCR để xác định mức độ methyl hóa, trong khi đó nghiên cứu chúng tôi sử dụng kỹ thuật giải trình thế hệ mới. Một số yếu tố khác dẫn đến sự khác nhau này có thể là về chủng tộc, cỡ mẫu và độ tuổi của bệnh Parkinson khác nhau giữa các nghiên cứu. Một nghiên cứu khác được sử dụng công nghệ mới hơn để so sánh tiếp theo. Nghiên cứu của Costanza và cộng sự năm 2020⁷⁷, sử dụng dữ liệu methyl hóa từ mẫu máu của 1132 người bị bệnh Parkinson và 999 người khỏe mạnh với khoảng 229,000 vị trí CpGs được xác định với kỹ thuật methylation array, ở nghiên cứu này vị trí CpGs cg06690548 tăng methyl hóa ở bệnh nhân Parkinson và có liên quan đến việc giảm

biểu hiện của gen SLC7A11 và CpGs cg06690548 nằm ở nhiễm sắc thể số 4, có vị trí 139162809. Nghiên cứu của chúng tôi, đánh giá mức độ methyl hóa tại CpGs này, thấy rằng tại vị trí CpGs này có sự methyl hóa tăng ở nhóm bệnh Parkinson so với nhóm chứng, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,65$).

Cuối cùng, nghiên cứu của chúng tôi so sánh với một số các nghiên cứu khác nhau để so sánh kết quả và thấy rằng một số kết quả không phù hợp. Nguyên nhân chính dẫn đến sự khác biệt này có thể đề cập đến là về kỹ thuật khác nhau, môi trường và chủng tộc khác nhau. Nghiên cứu này của chúng tôi đã đi đầu trong việc sử dụng công nghệ mới nhất - WGBS để khảo sát tất cả các vị trí CpGs của người Việt Nam, vì thế khám phá được nhiều vùng khác biệt methyl hóa mới mà các bài báo khác^{2,3} không thể tìm thấy. Số lượng vị trí khác biệt khá lớn và mang tiềm năng trong việc phát triển phương pháp tiên đoán cho người có nguy cơ mắc bệnh Parkinson khởi phát sớm.

Hạn chế của đề tài

Mặc dù nghiên cứu đã phát hiện một số yếu tố biểu thể di truyền liên quan đến bệnh Parkinson, nhưng những phát hiện này cần phải đặt trong bối cảnh của một số hạn chế mang tính phương pháp như sau:

Trước hết, nghiên cứu chỉ mới thực hiện tại phòng khám Nội thần kinh Bệnh viện Chợ Rẫy. Những phát hiện báo cáo trong nghiên cứu chưa được lặp lại trong một quần thể hoàn toàn độc lập.

Thứ hai là cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi chưa đủ lớn. Do hạn chế kinh phí, nên số bệnh nhân được chọn ngẫu nhiên cho phân tích biểu thể di truyền còn thấp, và đó cũng là một nhược điểm. Sự phân bố các đặc điểm lâm sàng và lối sống giữa hai nhóm đối tượng (nhóm chứng và nhóm bệnh) không tương đồng về tuổi, nơi sống, trình độ học vấn, loại cà phê uống, loại thuốc lá hút và các yếu tố khác. Sự mất cân đối dù đã hiệu chỉnh qua phân tích thống kê nhưng vẫn thể hiện một hạn chế về mặt phương pháp luận.

Thứ ba, đây là một nghiên cứu bệnh chứng, nên những phát hiện về mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ và bệnh Parkinson không thể xem là mối liên hệ nhân quả. Một thử nghiệm lâm sàng đối chứng ngẫu nhiên cần thiết để thiết lập một mối liên hệ nhân quả trong tương lai.

KẾT LUẬN

Trong thời gian từ tháng 7 năm 2019 đến tháng 7 năm 2022, chúng tôi tiến hành thu thập số liệu và tuyển chọn được 100 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh Parkinson và 100 nhóm chứng (không mắc bệnh Parkinson) thỏa tất cả các tiêu chí chọn mẫu. Sau khi nghiên cứu chúng tôi rút ra được kết luận:

1/ Mô tả đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson khởi phát sớm

Tuổi trung bình là 42,6 tuổi.

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

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

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

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

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

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

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

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

Kết quả phân tích 27 triệu CpG phát hiện 266 vùng khác biệt methyl hóa liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát sớm. Các vùng khác biệt methyl hoá nằm trong

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

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

KIẾN NGHỊ

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

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

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

2/ Mối liên quan giữa phơi nhiễm hoá chất trừ sâu, dùng nước giếng và bệnh Parkinson cho thấy nông dân là nhóm người có nguy cơ cao. Do đó, cần phải có chiến lược y tế công cộng hạn chế sự tiếp xúc thuốc trừ sâu và khuyến khích người dân ở các vùng nông thôn sử dụng các thiết bị lọc để xử lý nguồn nước bảo đảm sức khoẻ cho họ. Chúng tôi kiến nghị tiến hành một thử nghiệm lâm sàng đối chứng ngẫu nhiên, để chứng minh rằng chiến lược này có thể làm giảm nguy cơ mắc bệnh Parkinson ở nông thôn.

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

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN

1. Lê Thị Thúy An, Nguyễn Trúc Dung, Trần Thanh Tú, Nguyễn Thị Hùng (2023), “Đặc điểm vận động của bệnh nhân Parkinson khởi phát ở người trẻ: nghiên cứu trên 100 trường hợp”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 527(1B), tr.12-17, doi:<https://doi.org/10.51298/vmj.v527i1B.5716>.
2. Lê Thị Thúy An, Trần Thanh Tú, Nguyễn Thị Hùng, Nguyễn Văn Tuấn (2023), “Các yếu tố môi trường liên quan đến bệnh Parkinson khởi phát ở người trẻ”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 527(1B), tr.105-108, doi: <https://doi.org/10.51298/vmj.v527i1B.5750>.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Christopher GG. The history of Parkinson's disease: Early clinical descriptions and neurological therapies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2011;1(1):a008862. doi:10.1101/cshperspect.a008862
2. Kouli A, Torsney K, Kuan W. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis,. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. 2018;doi:<https://ncbi.nlm.nih.gov/30702842/>.
3. Pedram R, Forogh T, Daryoush R, al e. Involvement of aberrant regulation of epigenetic mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease and epigenetic-based therapies. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(11):19307-319. doi:<https://doi.org/10.1002/jcp.28622>
4. Efthalia A, Nath PY, Sokratis P, Christina P. Environmental impact on the epigenetic mechanisms underlying Parkinson's disease pathogenesis: a narrative review. *Brain Sciences*. 2022;12(2):175-176.
5. Post B. Young Onset Parkinson's Disease: A Modern and Tailored Approach. *Journal of Parkinson's Disease*. 2020;10(s1):29-36. doi:<https://doi.org/10.3233/JPD-202135>
6. Colcher A, Simuni T. Clinical manifestations of Parkinson's disease. *The Medical clinics of North America*. 1999;83(2):327-347. doi:[https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(05\)70107-3](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(05)70107-3).
7. Rizek P, Kumar N, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal journal de l'Association medicale canadienne*. 2016;188(16):1157-1165.
8. Theresa, Zesiewicz. Parkinson Disease. *Continuum (Minneap Minn)*. 2019;25(4):896-918.
9. Organization WH. Parkinson disease. 2022;doi:<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/parkinson-disease>
10. Maiti, Manna, Dunbar. Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinson's disease: Targets for potential treatments. *Translational neurodegeneration*. 2017;6(28):28-33. doi:<https://doi.org/10.1186/s40035-017-0099-z>
11. Bhidayasiri R, Virameteekul S, Sukoandari B, al e. Challenges of Parkinson's Disease Care in Southeast Asia. *NeuroPsychopharmacotherapy Springer, Cham*. 2021:1-21. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-319-56015-1_442-1
12. Marsh L. Depression and Parkinson 's disease: curren knowledge. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2013;13(2):399-406.
13. Pang S, Philip W, Liu H, al e. The interplay of aging, genetics and environmental factors in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Translational Neurodegeneration*. 2019;8(23):108-112. doi:<https://ncbi.nlm.nih.gov/31428316/>.
14. Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*. 2016;139(1):216-231. doi:<https://doi.org/10.1111/jnc.13731>

15. Thrash B, Uthayathas S, Karuppagounder SS, Suppiramaniam V, Dhanasekaran M. Paraquat and maneb induced neurotoxicity. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. 2007;50:31-42.
16. Miranda B, Greenamyre T. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Oxidative Stress and Redox Signalling in Parkinson's Disease*. 2017;978(1):1-26.
17. Ji W, Fushun W, Dongmei M, Shaogang Q. Molecular mechanisms of glutamate toxicity in Parkinson's disease. *Frontiers in neuroscience*. 2020;14:585584. doi:10.3389/fnins.2020.585584
18. Csaba V. Clinical features of Parkinson's disease: the evolution of critical symptoms. *Biology*. 2020;9(5):103. doi:<https://doi.org/10.3390/biology9050103>
19. Werner P. Clinical measures of progression in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2009;24(S2):671-676. doi:<https://doi.org/10.1002/mds.22600>
20. Goetz CG, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. Jan 2007;22(1):41-7. doi:10.1002/mds.21198
21. Zahoor I, Shafi A, E. H. Pharmacological Treatment of Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. 2018;2(1):129-144.
22. Hưng ĐM, Hà NH, Tôn NĐ. Bệnh Parkinson: một số đặc điểm bệnh lý, di truyền và cơ chế sinh bệnh. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*. 2021;19(3):411-432.
23. Yanni S, Kezhong Z, Ming Y. Well-Water Consumption and Risk of Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of 15 Observational Studies. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2021:3705-3714.
24. Hristina VD, Sipetic SB, Maksimovic JM, al e. Environmental factors and Parkinson's disease: a case-control study in Belgrade, Serbia. *International Journal of Neuroscience*. 2010;120(5):361-367.
25. Hamza TH, Payami H. The heritability of risk and age at onset of Parkinson's disease after accounting for known genetic risk factors. *Journal of human genetics*. 2010;55(4):241-243. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.642>
26. Renani PG, Taheri F, Rostami D, et al. Involvement of aberrant regulation of epigenetic mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease and epigenetic-based therapies. Nov 2019;234(11):19307-19319. doi:10.1002/jcp.28622
27. Angelopoulou E, Paudel YN. Environmental Impact on the Epigenetic Mechanisms Underlying Parkinson's Disease Pathogenesis: A Narrative Review. Jan 28 2022;12(2)doi:10.3390/brainsci12020175
28. Feng Y, Jankovic J, Wu YC. Epigenetic mechanisms in Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*. 2015;349(12):3-9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jns.2014.12.017>

29. Brolin K. Insights on genetic and environmental factors in Parkinson's disease from a regional Swedish case-control cohort. *Parkinsons Disease*. 2022;12(1):153-171. doi: <https://doi.org/10.3233/JPD-212818>
30. Yin-Yu PS, Wing-Lok HP, Hui-Fang L, al e. The interplay of aging, genetics and environmental factors in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Translational Neurodegeneration*. 2019;8:1-11.
31. Ana K, Pierpaolo T, Nicole T, et. Early-onset Parkinson's disease: creating the right environment for a genetic disorder. *Journal of Parkinson's disease*. 2022;12(8):2353-2367.
32. Thái Huy. *Đặc điểm lâm sàng bệnh Parkinson thể khởi phát người trẻ. Luận văn thạc sĩ Y học*. Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh; 2015.
33. Ball N, Teo WP, Chandra S, Chapman J. Parkinson's Disease and the Environment. *Frontiers in neurology*. 2019;10:218. doi:10.3389/fneur.2019.00218
34. Ai SX, Xu Q, Hu YC, et al. Hypomethylation of SNCA in blood of patients with sporadic Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*. Feb 15 2014;337(1-2):123-8. doi:10.1016/j.jns.2013.11.033
35. Tan YY, Wu L, Zhao ZB, et al. Methylation of α -synuclein and leucine-rich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Parkinsonism & related disorders*. Mar 2014;20(3):308-13. doi:10.1016/j.parkreldis.2013.12.002
36. Eryilmaz IE, Cecener G, Erer S, et al. Epigenetic approach to early-onset Parkinson's disease: low methylation status of SNCA and PARK2 promoter regions. *Neurological research*. Nov 2017;39(11):965-972. doi:10.1080/01616412.2017.1368141
37. Eliezer M, Wilmar D, Douglas G, Paula D. Distinctive patterns of DNA methylation associated with Parkinson disease: identification of concordant epigenetic changes in brain and peripheral blood leukocytes. *Epigenetics*. 2013;8(10):1030-1038.
38. G CK, D MG, A SP, al e. DNA methylation of the MAPT gene in Parkinson's disease cohorts and modulation by vitamin E in vitro. *Movement Disorders*. 2014;29(13):1606-1614.
39. Xiaomin S, Yaping C, Jeffrey K, al e. PGC-1 α promoter methylation in Parkinson's disease. *PloS one*. 2015;10(8):e0134087. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134087>
40. Catherine L, Oswaldo L-B, Owen R. Epigenetic regulation in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica*. 2016;132(2016):515-530.
41. Elena M-M, Marc F, Joan P, al e. Upregulation of a small vault RNA (svtRNA2-1a) is an early event in Parkinson disease and induces neuronal dysfunction. *RNA biology*. 2013;10(7):1093-1106. doi:<https://doi.org/10.4161/rna.24813>
42. Ezgi EI, Gulsah C, Sevda E, al e. Epigenetic approach to early-onset Parkinson's disease: Low methylation status of SNCA and PARK2 promoter

- regions. *Neurological research*. 2017;39(11):965-972. doi:<https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1368141>
43. Ian H, Andrew S, David D. Pathological histone acetylation in Parkinson's disease: Neuroprotection and inhibition of microglial activation through SIRT 2 inhibition. *Neuroscience letters*. 2018;666(2):48-57.
 44. Ke-xin W, Jelena M, Bassem E-K, al e. The role of DNA methylation and histone modifications in neurodegenerative diseases: a systematic review. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167201. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167201>
 45. Kanagaraj, Beiping, Dheen, al e. Downregulation of miR-124 in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease and MPP iodide-treated MN9D cells modulates the expression of the calpain/cdk5 pathway proteins. *Neuroscience*. 2014;272:167-179. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.039>
 46. Ran X, Zhiquan W, Zongbo Z, al e. MicroRNA-494 reduces DJ-1 expression and exacerbates neurodegeneration. *Neurobiology of aging*. 2014;35(3):705-714. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.027>
 47. Lydia A-E, Y S, AHV S, al e. Influence of microRNA deregulation on chaperone-mediated autophagy and α -synuclein pathology in Parkinson's disease. *Cell death & disease*. 2013;4(3):e545-e545.
 48. Ronald P, Daniela B, Matthew S, al e. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders*. 2015;30(12):1591-1601. doi:<https://doi.org/10.1002/mds.26424>
 49. David M, J CM, Beng TS, Huey TS. *Sample size tables for clinical studies*. John Wiley & Sons; 2011.
 50. Anaïs G, S WM, Thuy D, al e. Assessment of pesticide safety knowledge and practices in Vietnam: A cross-sectional study of smallholder farmers in the Mekong Delta. *Journal of occupational and environmental hygiene*. 2022;19(9):509-523. doi:<https://doi.org/10.1080/15459624.2022.2100403>
 51. A FJ, Terri S-W, Gary F, al e. Pesticides and risk of Parkinson disease: a population-based case-control study. *Archives of neurology*. 2005;62(1):91-95. doi:10.1001/archneur.62.1.91
 52. Hagell P, Nilsson MH. The 39-Item Parkinson's Disease Questionnaire (PDQ-39): Is it a Unidimensional Construct? *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2009;2(4):205-214. doi:<https://doi.org/10.1177/1756285609103726>
 53. Felix K, Simon A. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq applications. *bioinformatics*. 2011;27(11):1571-1572. doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr167>
 54. Hao W, Tianlei X, Hao F, al e. Detection of differentially methylated regions from whole-genome bisulfite sequencing data without replicates. *Nucleic acids research*. 2015;43(21):e141-e141. doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gkv715>
 55. Yongseok P, Hao W. Differential methylation analysis for BS-seq data under general experimental design. *Bioinformatics*. 2016;32(10):1446-1453. doi:<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw026>

56. Timothy P, Michael B, Yunshun C, al e. Calling differentially methylated regions from whole genome bisulphite sequencing with DMRcate. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(19):e109-e109. doi:<https://doi.org/10.1093/nar/gkab637>
57. Raymond C, Maureen S. Annotatr: genomic regions in context. *Bioinformatics*. 2017;33(15):2381-2383.
58. Belinda P, Jovana M, Alicia O. missMethyl: an R package for analyzing data from Illumina's HumanMethylation450 platform. *Bioinformatics*. 2015;32(2):286-288.
59. Hùng TT. Mối liên quan giữa thang điểm vận động và tình trạng chậm làm trống dạ dày trong bệnh Parkinson. *Tạp chí Y học Việt Nam* 2021;503(2):105-109.
60. Khánh NT. *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và ảnh hưởng của triệu chứng vận động đối với chất lượng cuộc sống của bệnh nhân Parkinson*. Luận văn Thạc sĩ Y học. Trường Đại học Y Hà Nội; 2014.
61. Hương TTT. Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và đột biến gen trên bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm. *Tạp chí y học Việt Nam* 2021;507(1):247-250.
62. Trang VNN. *Đánh giá mức độ rối loạn thần kinh tự chủ trên bệnh Parkinson và teo đa hệ thống*. Luận án tiến sĩ y học Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; 2022.
63. Gennaro P, Nicola F, J BD, Nicola P. Age at onset and Parkinson disease phenotype. *Neurology*. 2016;86(15):1400-1407.
64. Raja M, Suzanne M, Gabriel H, Aliya S, Eugene L. Comparing clinical features of young onset, middle onset and late onset Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. 2014;20(5):530-534.
65. Lanfranco DC, Silvia G, Edoardo B. Age at Onset Influences Progression of Motor and Non-Motor Symptoms during the Early Stage of Parkinson's Disease: A Monocentric Retrospective Study. *Brain Sciences*. 2023;13(2):157-162.
66. Thuận ND. Nhận xét tỷ lệ bệnh và một số đặc điểm lâm sàng bệnh nhân Parkinson điều trị tại Bệnh viện Quân y 103. *Y dược lâm sàng 108*. 2020;15(5)
67. NT T, NLH U, MN T, al ae. The effect of Non-Motor symptoms on Health-Related quality of life in patients with young onset Parkinson's Disease: A single center Vietnamese Cross-Sectional study. *Clinical Parkinsonism & Related Disorders*. 2021;5(1):1-6.
68. Matej S, Pablo MM, Norbert K, al e. Differences in MDS-UPDRS scores based on Hoehn and Yahr stage and disease duration. *Movement disorders clinical practice*. 2017;4(4):536-544.
69. Chan, Cheung, Chau, al e. Young Onset Parkinson's Disease (YOPD): A different disease entity? *Movement Disorders*. 2017;32(2)
70. Hồng MTU. *Biến chứng vận động và chất lượng cuộc sống ở bệnh nhân Parkinsons giai đoạn 3 và 4 theo Hoehn và Yahr*. Thạc sĩ y học. Trường Đại học Y Dược Hà Nội; 2020.
71. Goetz CG, et a. Movement disorder society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and

clinimetric testing plan. *Journal of Movement Disorders*. 2007;22(1): 41-47. doi:[http:// doi.org/10.1002/mds.21198](http://doi.org/10.1002/mds.21198)

72. Jordan F, Terri S-W, Gary F, al e. Pesticides and risk of Parkinson disease: a population-based case-control study. *Archives of neurology*. 2005;62(1):91-95.

73. Tsai, Lo, See, al e. Environmental risk factors of young onset Parkinson's disease: a case-control study. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2002;104(2002):328-333.

74. Alastair N, Jonathan B, Laura SM. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Annals of neurology*. 2012;72(6):893-901.

75. Moretto A, Colosio C. Biochemical and toxicological evidence of neurological effects of pesticides: the example of Parkinson's disease. *Neurotoxicology*. 2011;32(4):383-391.

76. Butterfield, Valanis, Spencer, al e. Environmental antecedents of young-onset Parkinson's disease. *Neurology*. 1993;43(6):1150-1158.

77. L VC, Futao Z, Javed F, al e. Analysis of DNA methylation associates the cystine–glutamate antiporter SLC7A11 with risk of Parkinson's disease. *Nature communications*. 2020;11(1):12-38. doi:<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15065-7>

78. John E, Anne OD, Robert R, al e. Chromatin and sequence features that define the fine and gross structure of genomic methylation patterns. *Genome research*. 2010;20(7):972-980. doi:10.1101/gr.101535.109

79. Frank R, Myriam B, Sylvia D. *Peroxisomal disorders and regulation of genes*. vol 544. Springer Science & Business Media; 2012.

80. Toshiyuki A, Jeffrey M. Ninjurin, a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth. *Neuron*. 1996;17(2):353-361.

81. Asma S, Fowzan A. Identification of MRI1, encoding translation initiation factor eIF-2B subunit alpha/beta/delta-like protein, as a candidate locus for infantile epilepsy with severe cystic degeneration of the brain. *Gene*. 2013;512(2):450-452.

82. Yue H, Haizhu T, Cai L, Heping Z. Identifying genetic risk variants associated with brain volumetric phenotypes via K-sample Ball Divergence method. *Genetic epidemiology*. 2021;45(7):710-720. doi: 10.1002/gepi.22423

83. Glyn D. Measuring brain lipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015;1851(8):1026-1039. doi: 10.1016/j.bbalip

84. Junko M, Kazuki K, Emiko M, al e. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of Enpp6. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*. 2014;70(6):794-799. doi: 10.1107/S2053230X14008929

85. Michela Z, Jessica G, Francesca L, al e. α -synuclein and synapsin III cooperatively regulate synaptic function in dopamine neurons. *Journal of cell science*. 2015;128(13):2231-2243.

86. Juan YW, Nan LN, King TE, al e. No association of four candidate genetic variants in MnSOD and SYNIII with Parkinson's disease in two Chinese populations. *PLoS One*. 2014;9(2):e88050.
87. Suganya S, Shanmughavel P. Impact of gene mutation in the development of Parkinson's disease. *Genes & diseases*. 2019;6(2):120-128. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.01.004>
88. San-xi A, Qian X, Ya-cen H, al e. Hypomethylation of SNCA in blood of patients with sporadic Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*. 2014;337(1-2):123-128. doi:10.1016/j.jns.2013.11.033

PHỤ LỤC 1

PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN NGHIÊN CỨU

I. HÀNH CHÁNH

- Họ và tên bệnh nhân:(Viết tắt tên bn).....
- Giới tính: Nam ☐ Nữ ☐
- Ngày tháng năm sinh
- Tay thuận: Trái ☐ Phải ☐
- Địa điểm cư trú: Tỉnh ☐..... Thành phố ☐.....
- Nghề nghiệp: Lao động chân tay ☐ Lao động trí óc ☐
- Trình độ học vấn:
 Tiểu học ☐ Trung học cơ sở ☐
 Trung học phổ thông ☐ Cao đẳng/Đại học ☐

II. TIỀN CĂN

- Hút thuốc lá: Có ☐điều/ngày,năm Không ☐
- Uống rượu/bia: Có ☐ly, chai, lon/ngày. Không ☐
 ly, chai, lon/ tuần
- Uống cà phê: : Có ☐ Không ☐
- Dùng oestrogen: Có ☐ Không ☐
- Nguồn nước sử dụng hằng ngày:
 Nước giếng ☐ Nước máy ☐
 Nước suối ☐ Nguồn khác ☐
- Sống ở vùng nông thôn: Có ☐ Không ☐
- Sống ở vùng công nghiệp Có ☐ Không ☐
- Có tiếp xúc hóa chất trừ sâu, diệt cỏ: Có ☐ Không ☐
- Tiền căn chấn thương đầu: Có ☐ Không ☐
- Luyện tập thể dục: Có ☐ Không ☐
- Tiền căn gia đình có bệnh Parkinson: Có ☐ Không ☐

III. BỆNH PARKINSON

- Thời điểm khởi phát bệnh:

- Thời điểm được chẩn đoán:

- Triệu chứng khởi phát:

• Run khi nghỉ: Có ☐ Không ☐

• Đơ cứng : Có ☐ Không ☐

• Cử động chậm:

Khó khăn việc xách giỏ đi chợ Có ☐ Không ☐

Khó khăn trong công việc nhà cửa, nấu ăn Có ☐ Không ☐

Khó khăn khi đi lại Có ☐ Không ☐

Khó khăn khi chăm sóc bản thân Có ☐ Không ☐

Khó khăn khi viết Có ☐ Không ☐

Khó khăn trong giọng nói Có ☐ Không ☐

Khó khăn trong ăn, uống nước Có ☐ Không ☐

• Mất phản xạ tư thế:.....

- Triệu chứng khác:

Trầm cảm: Có ☐ Không ☐

Lo âu: Có ☐ Không ☐

Rối loạn giấc ngủ: Có ☐ Không ☐

Cảm giác dễ khóc Có ☐ Không ☐

Cảm giác dễ giận dữ Có ☐ Không ☐

Mất tập trung: Có ☐ Không ☐

Giảm trí nhớ: Có ☐ Không ☐

Đau (Cơ, khớp): Có ☐ Không ☐

Rối loạn đi tiểu: Có ☐ Không ☐

Táo bón: Có ☐ Không ☐

Khó nuốt Có ☐ Không ☐

Đỏ da: Có ☐ Không ☐

Rối loạn thị giác (nhìn mờ, nhìn đôi) Có ☐ Không ☐

Rối loạn mùi Có ☐ Không ☐

Choáng váng do tư thế đứng: Có ☐ Không ☐

• Triệu chứng khởi phát: 1 bên ☐ 2 bên ☐

- Bệnh lý khác đi kèm:

Tiểu đường: Có ☐ Không ☐ Ung thư: Có ☐ Không ☐

Trầm cảm: Có ☐ Không ☐ Khác: Có ☐ Không ☐

- Thời gian dùng thuốc:

- Thuốc đang dùng :.....

- Thuốc điều trị:

Thuốc	Số thuốc	Thời gian điều trị	Liều đang dùng
Levodopa			
Đồng vận dopamin			
Anticholinergic			
Thuốc khác			

- Biểu chứng vận động:

☐ Dao động vận động , Thời điểm xuất hiện:.....

☐ Loạn động, Thời điểm xuất hiện:

IV. PHÂN CHIA GIAI ĐOẠN CỦA BỆNH PARKINSON THEO HOEHN VÀ YAHR

1. Giai đoạn 1

Triệu chứng 1 bên

2. Giai đoạn 2

Triệu chứng 2 bên - Còn phản xạ tư thế

3. Giai đoạn 3

Triệu chứng 2 bên - Rối loạn phản xạ tư thế nhưng còn khả năng di chuyển độc lập

4. Giai đoạn 4

Triệu chứng trầm trọng đòi hỏi sự giúp đỡ

5. Giai đoạn 5

Giai đoạn cuối - Nằm tại giường hoặc di chuyển trên xe lăn

V. THANG ĐIỂM MDS-UPDRS

PHẦN I : Triệu chứng ngoài vận động (nM-EDL)	
1.1	Suy giảm nhận thức
1.2	Ảo giác và loạn thần
1.3	Khí sắc trầm cảm
1.4	Khí sắc lo âu
1.5	Sự thờ ơ
1.6	Đặc tính của rối loạn điều hòa dopamin
1.7	Vấn đề giấc ngủ
1.8	Sự ngủ ngày
1.9	Đau và các cảm giác khác
1.10	Vấn đề đi tiểu
1.11	Vấn đề táo bón
1.12	Choáng váng tư thế đứng
1.13	Mệt mỏi
PHẦN II: Triệu chứng vận động (M-EDL)	
2.1	Lời nói
2.2	Nước bọt và chảy nước dãi
2.3	Nhai và nuốt
2.4	Vấn đề ăn
2.5	Mặc đồ
2.6	Vệ sinh
2.7	Viết
2.8	Sở thích và các hoạt động khác
2.9	Xoay trở trên giường
2.10	Run
2.11	Đi ra khỏi giường, xe hơi và ghế
2.12	Đi và giữ thăng bằng

2.13	Đông cứng	
PHẦN III: Khám vận động 3a. Bệnh nhân có đang dùng thuốc để điều trị các triệu chứng của bệnh Parkinson không? Có ☐ Không ☐ 3b. Nếu bệnh nhân đang dùng thuốc để điều trị bệnh Parkinson? On: Bệnh nhân uống thuốc và đáp ứng tốt với điều trị Off: Bệnh nhân không đáp ứng với thuốc điều trị 3c. Bệnh nhân có đang điều trị levodopa không? Nếu có, liều levodopa cuối cùng.....phút		
		Điểm
3.1	Lời nói	
3.2	Biểu hiện nét mặt	
3.3	Đơ cứng cổ và chi	Cổ: Tay (P): Chân (P): Tay (T): Chân (T):
3.4	Chập ngón tay	Tay (P): Tay (T):
3.5	Cử động bàn tay	Tay (P): Tay (T):
3.6	Sấp ngửa bàn tay	Tay (P): Tay (T):
3.7	Chập ngón chân	Chân (P): Chân (T):
3.8	Nâng đập chân	Chân (P): Chân (T):
3.9	Đứng lên từ ghế	
3.10	Dáng đi	
3.11	Dáng đi đông cứng	
3.12	Ổn định tư thế	
3.13	Tư thế	
3.14	Cử động tự ý toàn bộ (chậm vận động)	
3.15	Run tư thế tay	Tay (P): Tay (T):
3.16	Run khi vận động tay	Tay (P): Tay (T):

3.17	Biên độ run khi nghỉ	Môi/Hàm: Tay (P): Chân (P): Tay (T): Chân (T):
3.18	Tính hằng định của run khi nghỉ	
PHẦN IV: Biến chứng vận động		
4.1	Thời gian có loạn động	
4.2	Ảnh hưởng chức năng của loạn động	
4.3	Đau của trạng thái tắt của loạn động	
4.4	Trạng thái tắt của dao động vận động	
4.5	Tính phức tạp của dao động vận động	
4.6	Ảnh hưởng chức năng của dao động vận động	

PHỤ LỤC 2

BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU (Dành cho bệnh nhân Parkinson)

Tên nghiên cứu: “Đặc điểm lâm sàng, yếu tố nguy cơ và biểu thể di truyền của bệnh Parkinson khởi phát sớm”

Nghiên cứu viên chính: LÊ THỊ THÚY AN

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

Mục đích và tiến hành nghiên cứu

- Mục đích của nghiên cứu: Mô tả đặc điểm lâm sàng, xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ và mô tả đặc điểm biểu thể di truyền ở nhóm bệnh Parkinson khởi phát sớm.

- Tiến hành nghiên cứu:

Bệnh nhân đến khám tại phòng khám nội thần kinh của bệnh viện Chợ Rẫy, dưới hay ở tuổi 50 (20-50 tuổi), được chẩn đoán bệnh Parkinson theo tiêu chuẩn Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease 2015 (MSD-PD), không có các tiêu chuẩn loại trừ.

Bệnh sẽ được tiến hành đánh giá như sau:

- Mời bệnh nhân tham gia nghiên cứu.
- Sau khi bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, tiến hành phỏng vấn theo bảng thu thập số liệu.

- Sau đó, tiến hành làm các xét nghiệm về biểu thể di truyền theo các bước sau:

+ Lấy máu bệnh nhân: Bệnh nhân được ngồi nghỉ 15-20 phút, giải thích cho bệnh nhân trước khi lấy máu để bệnh nhân hợp tác, lấy máu bằng đường tĩnh mạch, lấy khoảng 2 ml máu cho vào ống nghiệm có chất chống đông EDTA, lắc đều nhẹ nhàng sau đó mẫu máu được gửi ngay ngay đến Trung tâm Y sinh học

phân tử ĐHYD. TPHCM để chiết tách DNA. Các mẫu DNA sẽ được lưu trữ tại nhiệt độ âm 20°C cho đến khi được phân tích.

+ Gửi bệnh phẩm DNA đã chiết tách đến phòng thí nghiệm của công ty Zymo Research (Irvine, CA, Hoa Kỳ), để phân tích methyl hóa DNA.

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 7/2019 - 7/2022

Các nguy cơ và bất lợi

- Chúng tôi sẽ lấy 2ml máu, để phân tích methyl hóa DNA. Nguy cơ lấy máu có thể gây đau, sưng, phù, chảy máu, nhiễm trùng nơi lấy máu. Khi chảy máu chỗ tiêm dùng gòn y tế bịt chặt 3-5 phút, sử dụng băng cá nhân cố định gòn y tế thêm 10 phút. Nếu đau, sưng, phù, nhiễm trùng nơi lấy máu, có thể liên hệ trực tiếp với bác sĩ để được tư vấn, dùng thuốc giảm đau và thuốc chống nhiễm trùng.

- Kinh phí chiết tách DNA và phân tích methyl hóa DNA do nghiên cứu viên chi trả.

• Người liên hệ

Họ tên nghiên cứu viên: LÊ THỊ THÚY AN, số điện thoại: 0983839301

Họ tên bệnh nhân:, số điện thoại:.....

Sự tự nguyện tham gia

- Bệnh nhân được quyền tự quyết định, không hề bị ép buộc tham gia.
- Bệnh nhân có thể rút lui ở bất kỳ thời điểm nào mà không bị ảnh hưởng đến việc điều trị/chăm sóc mà bệnh nhân đáng được hưởng.

Tính bảo mật

Mọi thông tin nghiên cứu của bệnh nhân được giữ bí mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu, không dùng cho bất cứ mục đích nào khác.

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 nghiên cứu.

Chữ ký của người tham gia:

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 bệnh nhân/người tình nguyện 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 _____

**BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU
VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU
(Dành cho người không có bệnh Parkinson)**

Tên nghiên cứu: “Đặc điểm lâm sàng, yếu tố nguy cơ và biểu thể di truyền của bệnh Parkinson khởi phát sớm”

Nghiên cứu viên chính: LÊ THỊ THÚY AN

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

Mục đích và tiến hành nghiên cứu

- Mục đích của nghiên cứu: Mô tả đặc điểm lâm sàng, xác định tỷ lệ một số các yếu tố nguy cơ và mô tả đặc điểm biểu thể di truyền ở nhóm bệnh Parkinson khởi phát sớm.

- Tiến hành nghiên cứu:

Bệnh nhân đến khám tại phòng khám chăm sóc sức khỏe theo yêu cầu của bệnh viện Chợ Rẫy, dưới hay ở tuổi 50 (20-50 tuổi), không có dấu hiệu của hội chứng Parkinson.

Bệnh sẽ được tiến hành đánh giá như sau:

- Mời bệnh nhân tham gia nghiên cứu.
- Sau khi bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, tiến hành phỏng vấn theo bảng thu thập số liệu.

- Sau đó, tiến hành làm các xét nghiệm về biểu thể di truyền theo các bước sau:

+ Lấy máu bệnh nhân: Bệnh nhân được ngồi nghỉ 15-20 phút, giải thích cho bệnh nhân trước khi lấy máu để bệnh nhân hợp tác, lấy máu bằng đường tĩnh mạch, lấy khoảng 2 ml máu cho vào ống nghiệm có chất chống đông EDTA, lắc đều nhẹ nhàng sau đó mẫu máu được gửi ngay ngay đến Trung tâm Y sinh học phân tử ĐHYD. TPHCM để chiết tách DNA. Các mẫu DNA sẽ được lưu trữ tại nhiệt độ âm 20°C cho đến khi được phân tích.

+ Gửi bệnh phẩm DNA đã chiết tách đến phòng thí nghiệm của công ty Zymo Research (Irvine, CA, Hoa Kỳ), để phân tích methyl hóa DNA.

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 7/2019 - 7/2022

Các nguy cơ và bất lợi

- Chúng tôi sẽ lấy 2ml máu, để phân tích methyl hóa DNA. Nguy cơ lấy máu có thể gây đau, sưng, phù, chảy máu, nhiễm trùng nơi lấy máu. Khi chảy máu chỗ tiêm dùng gòn y tế bịt chặt 3-5 phút, sử dụng băng cá nhân cố định gòn y tế thêm 10 phút. Nếu đau, sưng, phù, nhiễm trùng nơi lấy máu, có thể liên hệ trực tiếp với bác sĩ để được tư vấn, dùng thuốc giảm đau và thuốc chống nhiễm trùng.

- Kinh phí chiết tách DNA và phân tích methyl hóa DNA do nghiên cứu viên chi trả.

• Người liên hệ

Họ tên nghiên cứu viên: LÊ THỊ THÚY AN, số điện thoại: 0983839301

Họ tên bệnh nhân:, số điện thoại:.....

Sự tự nguyện tham gia

- Bệnh nhân được quyền tự quyết định, không hề bị ép buộc tham gia.
- Bệnh nhân có thể rút lui ở bất kỳ thời điểm nào mà không bị ảnh hưởng đến việc điều trị/chăm sóc mà bệnh nhân đáng được hưởng.

Tính bảo mật

Mọi thông tin nghiên cứu của bệnh nhân được giữ bí mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu, không dùng cho bất cứ mục đích nào khác.

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 nghiên cứu.

Chữ ký của người tham gia:

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 bệnh nhân/người tình nguyện 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 _____

