



Original Article

Application of Whole Exome Sequencing in Mutational Analysis of Patients with Ohtahara Syndrome

Nguyen Thi Quynh Mai^{1,3}, Nguyen Le Trung Hieu²,
Le Thi Khanh Van², Nguyen Thuy Minh Thu², Le Tran Anh Ngan²,
Huynh Thi Dieu Hien¹, Do Thi Thu Hang^{1,*}

¹VNUHCM School of Medicine, Linh Trung, Thu Duc, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Children Hospital 2, 14 Ly Tu Trong, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

³VNUHCM University of Science, 227 Nguyen Van Cu, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 26 June 2021

Revised 30 September 2021; Accepted 11 December 2021

Abstract: Ohtahara syndrome is one of the earliest and most severe forms of developmental and epileptic encephalopathy. Over the last decade, the rapid advances in molecular techniques, especially in high-throughput sequencing (HTS), have revealed that a majority of Ohtahara patients have genetic etiology. About 20 genes have been found to be related to this syndrome so far, and Next Generation Sequencing (NGS) technique is now an important genetic test for this syndrome. This study was conducted on 4 patients with Ohtahara syndrome referred to Children's Hospital 2, Ho Chi Minh City. Whole-exome sequencing (WES) following targeted analysis on 283 epileptic encephalopathy-related genes was performed to identify disease-causing variants of the patients. Following multi-step bioinformatics analysis, trio-based Sanger sequencing confirmation, and variant classification according to standards of The American College of Medical Genetics and Genomics – 2015, we have identified 2 pathogenic mutations in 2 patients: OH3 (*KCNQ2*, c.868G>A, p.G290S) and OH4 (*SCN2A*, c.788C>T, p.A263V). The results of this study contribute to verifying the role of genetic factors in Ohtahara syndrome in Vietnamese patients. This study also confirms that NGS in general and WES, in particular, are reliable and useful in detecting genetic causes of Ohtahara syndrome, thereby, assisting in diagnosis and treatment of this syndrome.

Keywords: Ohtahara syndrome, Whole Exome Sequencing, *KCNQ2*, *SCN2A*, epileptic encephalopathy.

* Corresponding author.

E-mail address: dtthang@medvnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4347>

Ứng dụng kỹ thuật Giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa trong phân tích đột biến trên bệnh nhân mắc hội chứng Ohtahara

Nguyễn Thị Quỳnh Mai^{1,3}, Nguyễn Lê Trung Hiếu²,
Lê Thị Khánh Vân², Nguyễn Thụy Minh Thu², Lê Trần Ánh Ngân²,
Huỳnh Thị Diệu Hiền¹, Đỗ Thị Thu Hằng^{1,*}

¹Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh,
Linh Trung, Thủ Đức, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Bệnh viện Nhi Đồng 2, 14 Lý Tự Trọng, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh,
227 Nguyễn Văn Cừ, Quận 5, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nhận ngày 26 tháng 6 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 9 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 11 tháng 12 năm 2021

Tóm tắt: Hội chứng Ohtahara là một trong những dạng sớm nhất và nặng nhất của bệnh não phát triển và động kinh. Trong thập kỷ qua, những tiến bộ nhanh chóng trong kỹ thuật phân tử, đặc biệt là trong giải trình tự thông lượng cao (High Throughput Sequencing - HTS) đã tiết lộ rằng phần lớn bệnh nhân Ohtahara có căn nguyên di truyền. Cho đến nay, khoảng 20 gen đã được tìm thấy có liên quan đến hội chứng này và kỹ thuật Giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing - NGS) hiện đang là một xét nghiệm di truyền quan trọng đối với hội chứng này. Nghiên cứu này được thực hiện trên 4 bệnh nhân mắc hội chứng Ohtahara được chuyển đến Bệnh viện Nhi đồng 2, Thành phố Hồ Chí Minh. Giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (Whole Exome Sequencing – WES) và phân tích trên 283 gen liên quan đến bệnh não động kinh được thực hiện để xác định các biến thể gây bệnh của bệnh nhân. Sau các bước phân tích tin-sinh học, biến thể tiềm năng được xác định lại trên bệnh nhân và bố mẹ bệnh nhân bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger, phân loại biến thể theo bộ tiêu chuẩn ACMG (The American College of Medical Genetics and Genomics - 2015), chúng tôi đã xác định được 2 đột biến gây bệnh ở 2 bệnh nhân: OH3 (*KCNQ2*, c.868G> A, p.G290S) và OH4 (*SCN2A*, c.788C> T, p.A263V). Kết quả nghiên cứu góp phần kiểm chứng vai trò của yếu tố di truyền trong hội chứng Ohtahara ở bệnh nhân Việt Nam. Nghiên cứu này cũng khẳng định rằng NGS nói chung và WES nói riêng là đáng tin cậy và hữu ích trong việc phát hiện các nguyên nhân di truyền của hội chứng Ohtahara, từ đó hỗ trợ chẩn đoán và điều trị hội chứng này.

Từ khóa: Hội chứng Ohtahara, Giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa, *KCNQ2*, *SCN2A*, bệnh não động kinh.

1. Mở đầu

Hội chứng Ohtahara (Early Infantile Epileptic Encephalopathy - EIEE) được mô tả

bởi Ohtahara và cộng sự lần đầu tiên vào năm 1976 [1]. Hội chứng này được xếp vào nhóm các bệnh não do động kinh (Epileptic

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: dtthang@medvnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4347>

Encephalopathy) năm 2001 và được Viện Y tế quốc gia Hoa Kỳ (National Institutes of Health-NIH) liệt kê là một bệnh hiếm với tỷ lệ mắc bệnh ước tính 1/100000 ở Nhật và 1/50000 ở Anh [2]. Năm 2002, Ohtahara cùng Yamatogi đã công bố nghiên cứu khái quát lại trên 16 bệnh nhân, đưa ra thêm các đặc điểm cụ thể hơn về hội chứng [3].

Hội chứng này là một hội chứng bệnh não do động kinh, được đặc trưng bởi tuổi khởi phát, kiểu cơn và điện não đồ. Những cơn co giật thường khởi phát trong ba tháng đầu đời (30% trường hợp xuất hiện trong 10 ngày đầu sau sinh) với tỷ lệ như nhau ở cả hai giới tính [4]. Kiểu cơn điển hình trong hội chứng này là cơn co cứng. Cơn thường xảy ra nhiều lần trong ngày, thường có đặc điểm duỗi cứng về phía trước (tonic spasm), thời gian xảy ra ngắn, thường dưới 10 giây. Các cơn này có thể xảy ra đơn lẻ hoặc theo cụm, theo kiểu đối xứng hoặc bất đối xứng. Các kiểu cơn khác có thể bao gồm: cơn co giật cục bộ, cơn co cứng co giật, cơn co thắt, cơn giật cơ bao gồm giật cơ nửa người. Điện não ngoài cơn bất thường rõ rệt với hình ảnh bùng phát – dập tắt trong giai đoạn sơ sinh cả trong khi ngủ và khi thức, trong đó giai đoạn bùng phát có biên độ khoảng 100-150 μ V của gai hoặc nhọn và sóng chậm kéo dài khoảng 1-3 giây và ngắt quãng nhau 3-5 giây. Kết quả hình ảnh học có thể có hoặc không có bất thường tùy thuộc vào nguyên nhân gây bệnh [5]. Thường không ghi nhận bất thường trong quá trình mang thai và sinh nở của người mẹ, không có tiền sử gia đình về co giật hoặc động kinh. Hội chứng Ohtahara rất dễ bị chẩn đoán nhầm với một hội chứng bệnh não động kinh khác là hội chứng bệnh não giật cơ sớm (Early Myoclonic Encephalopathy - EME). Tuy nhiên trong EME, kiểu cơn đặc trưng là cơn giật cơ và điện não bùng phát – dập tắt chỉ ghi nhận trong lúc thức [4].

Hội chứng Ohtahara đáp ứng thuốc điều trị triệu chứng kém (kháng trị), tiên lượng xấu với khoảng 50% bệnh nhân tử vong sớm. Trong số bệnh nhân còn sống, khoảng 75% tiến triển thành hội chứng West và 12% tiến triển thành hội chứng Lennox-Gastaut [3, 4]. Các bệnh nhân hầu như đều chậm phát triển, suy giảm nhận thức và thần kinh vận động nghiêm trọng.

Trước đây, nguyên nhân chủ yếu của hội chứng được cho là do hệ thần kinh bị tổn thương cấu trúc hoặc phát triển không bình thường. Những nguyên nhân khác ít gặp hơn là do rối loạn chuyển hóa. Một số trường hợp khác nguyên nhân tìm thấy không rõ ràng (vô căn) [6].

Cùng những tiến bộ về kỹ thuật phân tử, nguyên nhân do gen trong bệnh động kinh ở trẻ em được tìm ra lần đầu vào năm 2001 [7] đã định hướng rằng một tỉ lệ lớn trường hợp mắc hội chứng Ohtahara vô căn thực sự có nguyên nhân từ các đột biến gen.

Đến nay, các dữ liệu nghiên cứu cập nhật trên một số chủng tộc của thế giới như Mỹ, Nhật, Tây Ban Nha,... cho thấy có khoảng 20 gen có liên quan đến hội chứng này bao gồm: *STXBPI* (~30%), *KCNQ2* (~20%), *SCN2A* (~13%), *AARS1*, *ARX*, *BRAT1*, *CACNA2D2*, *GNAO1*, *KCNT1*, *PIGQ*, *SCN8A*, *SLC25A22*, [3, 5, 6, 8, 9],... và xét nghiệm giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing - NGS) đang trở thành xét nghiệm quan trọng đối với hội chứng Ohtahara [6].

Tại Việt Nam, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào về nguyên nhân ở mức độ phân tử gây ra hội chứng Ohtahara. Trong nghiên cứu này chúng tôi thiết lập quy trình giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (Whole Exome Sequencing - WES) nhằm phát hiện các đột biến của hội chứng Ohtahara, áp dụng bước đầu trên 4 bệnh nhân.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu có sự tham gia của 4 bệnh nhân có độ tuổi từ 8 đến 17 tháng mắc hội chứng Ohtahara được chẩn đoán và điều trị tại khoa Thần kinh, Bệnh viện Nhi Đồng 2 - Tp.Hồ Chí Minh. Tiêu chuẩn chẩn đoán và phân loại lâm sàng được dựa theo tài liệu của Liên hội chống động kinh quốc tế (International League Against Epilepsy - ILAE 2017) [10, 11] và những mô tả trong nghiên cứu của Ohtahara và cộng sự [1, 3, 4]. Bệnh nhân bất thường cấu trúc não hay rối loạn chuyển hóa hoặc ti thể được loại trừ khỏi nghiên cứu.

Nghiên cứu được sự đồng ý của tất cả người nhà bệnh nhân và được Hội đồng Y đức của bệnh viện Nhi Đồng 2 thông qua (Mã số y đức: CS/ND2/18/04HT). Thời gian thu mẫu: từ tháng 3/2020 đến tháng 8/2020.

2.2. Tách chiết DNA

Máu ngoại vi của bệnh nhân và bố mẹ được thu và bảo quản trong ống EDTA, sau đó được tách chiết bằng kit QIAamp Blood Mini của QIAGEN (USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA tổng số sau tách chiết được đo bằng máy đo quang phổ Nanodrop (Thermo). Mẫu DNA tổng số được bảo quản và lưu trữ ở -80°C .

2.3. Kỹ thuật giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (WES)

Bước chuẩn bị thư viện bộ gen được thực hiện bằng bộ kit Twist Human Core kit (Twist Bioscience USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thư viện bộ gen này sau đó sẽ được giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa bằng hệ thống giải trình tự thế hệ mới HiSeq 4000 (Illumina), phương pháp đọc 2 chiều với các đoạn trình tự đọc (reads) có độ dài 151 bp (pair-end).

2.4. Phân tích kết quả

Bước đầu, dữ liệu xuất ra từ máy giải trình tự được tiến hành xử lý và so sánh với trình tự tham chiếu GRCh37/hg19 bằng phần mềm tin sinh học NextGENe Version: 2.4.2.3 (Softgenetics). Dữ liệu bước này cho ra khoảng 148000 đến 151000 biến thể trên mỗi bệnh nhân.

Bước tiếp theo, sử dụng phần mềm Geneticist Assitant Version: 1.8.1 (Softgenetics) để loại bỏ các biến thể không liên quan, phân tích

ở bước này chỉ giới hạn ở 283 gen đã công bố liên quan đến bệnh não động kinh. Việc phân tích *in-silico* để dự đoán tác động của biến thể lên cấu trúc và chức năng của protein được thực hiện bằng các công cụ bao gồm: Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>) và PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/>). Kiểu di truyền của gen được đối chiếu với cơ sở dữ liệu OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). Tính mới và mối liên hệ với kiểu hình của các biến thể được kiểm tra trên cơ sở dữ liệu Clinvar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) và HGMD (Human Gene Mutation Database) (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Tần số allele nhỏ (Minor Allele Frequency - MAF) của các biến thể được kiểm tra trên các ngân hàng dữ liệu 1000 Genomes Project Database (1000G) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>), RVS (Exome Variant Server) (<https://evs.gs.washington.edu/EVS/>) và gnomAD (Genome Aggregation Database) (<https://gnomad.broadinstitute.org/>).

Bước cuối, các biến thể tiềm năng được kiểm tra lại bằng phương pháp giải trình tự Sanger trên bố, mẹ và con và được phân loại theo bộ tiêu chuẩn ACMG.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả tách chiết DNA

Mẫu máu ngoại vi của 4 bệnh nhân được tách chiết và thu nhận DNA tổng số đạt nồng độ từ 90 đến 120 ng/ μL , độ tinh sạch (A_{260}/A_{280}) đạt 1,87 đến 1,9. Như vậy, tất cả các mẫu tách chiết đều đạt yêu cầu cho các phân tích tiếp theo.

Bảng 1. Thông số kết quả giải trình tự

Mẫu	Tổng số base (bp)	Tổng số trình tự đọc	GC (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
OH1	6.841.393.240	45.307.240	52,54	97,72	94,48
OH2	7.987.365.460	52.896.460	52,79	97,64	94,65
OH3	6.842.273.872	45.313.072	52,72	97,67	93,97
OH4	7.905.240.184	52.352.584	52,71	97,9	94,55

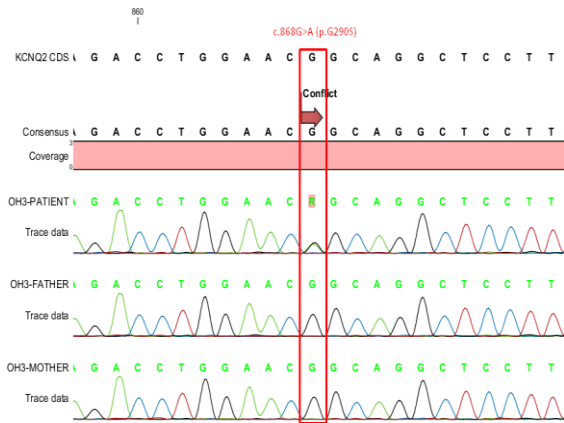
Q20(%) và Q30(%): Tỷ lệ base có điểm chất lượng cao hơn 20 và 30

3.2. Kết quả giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (WES)

Bốn mẫu bệnh nhân được ký hiệu từ OH1 đến OH4. Các thông số của kết quả giải trình tự được thể hiện trong Bảng 1.

Dữ liệu thu được được xuất ra dưới dạng file *.fastq, chất lượng dữ liệu đạt tiêu chuẩn để phân tích tiếp theo.

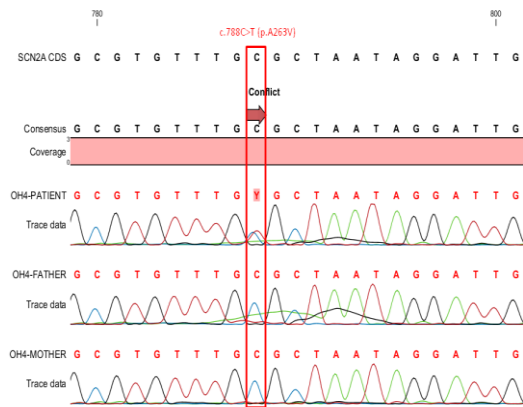
Kết quả phân tích dữ liệu phát hiện 2 biến thể tiềm năng (chiếm 50% tổng số các ca bệnh trong nghiên cứu) trên mẫu bệnh nhân OH3 (*KCNQ2*, c.868G>A, p.G290S) và OH4 (*SCN2A*, c.788C>T, p.A263V). Đây là 2 biến thể sai nghĩa, có độ bao phủ lần lượt là 186x và 116x.



Hình 1. Kết quả kiểm tra đột biến ở bệnh nhân OH3 và bố mẹ bằng phương pháp Sanger. *KCNQ2*(NM_172107.4):c.868G>A(p.G290S) (20q13.33)

Bệnh nhân OH3 có biến thể dị hợp tại vị trí c.868G>A (NM_172107, exon 6) trên gen *KCNQ2* (NG_009004), thay thế nucleotide G thành A làm biến đổi amino acid thứ 290 là Glycine thành Serine. Biến thể đã được công bố lần đầu tiên bởi S. Weckhuysen và cộng sự vào năm 2012 [12] (rs1057516098). Trên cơ sở dữ liệu Clinvar, biến thể đã được báo cáo thống nhất là “Gây bệnh” (Pathogenic) trong kiểu hình của bệnh não động kinh sớm ở trẻ sơ sinh với điện não đồ dạng bùng phát - dập tắt [9]. Biến thể này không có trong các cơ sở dữ liệu 1000G, EVS và gnomAD. Vị trí biến thể này trên gen *KCNQ2* sau đó được xác nhận bằng giải trình tự Sanger

với cặp mồi có trình tự là: F 5'-AAGAGGAGAGAGGGCTCAG-3' và R 5'-ACTAAGAGGGGCCACCAG-3'. Phân tích trình tự Sanger sâu hơn cho thấy cả bố và mẹ bệnh nhân đều không mang biến thể (Hình 1). Do đó, biến thể của bệnh nhân là một đột biến *de novo*. Phân tích *in-silico* bằng các công cụ Polyphen-2, SIFT và PROVEAN cho các kết quả dự đoán lần lượt là có thể gây bệnh (Probably Damaging, điểm = 1), gây bệnh (Damaging, điểm = 0) và gây bệnh (Deleterious, điểm = -3,908). Theo tiêu chuẩn phân loại của ACMG-2015, đột biến này được phân loại là “Gây bệnh” (Pathogenic, bao gồm các tiêu chí PS2 PM1 PM2 PP3 PP5).



Hình 2. Kết quả kiểm tra đột biến ở bệnh nhân OH4 và bố mẹ bằng phương pháp Sanger. *SCN2A*(NM_001040142.2):c.788C>T(p.A263V) (2q24.3)

Bệnh nhân OH4 có biến thể dị hợp tại vị trí c.788C>T (NM_001040142, exon 7) trên gen *SCN2A* (NG_008143), thay thế nucleotide C thành T và làm biến đổi amino acid thứ 263 là Alanine thành Valine. Biến thể đã được công bố lần đầu tiên bởi Liao Y. và cộng sự vào năm 2010 [13] (rs387906686). Trên cơ sở dữ liệu Clinvar, biến thể đã được báo cáo là “Gây bệnh” (Pathogenic) [13-16] trong kiểu hình của bệnh não động kinh sớm ở trẻ sơ sinh. Biến thể này không có trong các cơ sở dữ liệu 1000G, EVS và gnomAD. Vị trí biến thể này trên gen *SCN2A* sau đó được xác nhận bằng giải trình tự Sanger với cặp mồi có trình tự là: F 5'-

TTTCCAGGACAAGCTCATGATA-3' và R 5'-TACCATTCATCCAATGAA-3'. Phân tích trình tự Sanger sâu hơn cho thấy cả bố và mẹ bệnh nhân đều không mang biến thể (Hình 2). Do đó, biến thể của bệnh nhi là một đột biến *de novo*. Phân tích *in-silico* bằng các công cụ Polyphen-2, SIFT và PROVEAN cho các kết quả dự đoán lần lượt là có thể gây bệnh (Probably Damaging, điểm = 1), gây bệnh (Damaging, điểm = 0) và gây bệnh (Deleterious, điểm = -5,421). Sử dụng tiêu chuẩn phân loại ACMG-2015, đột biến này được phân loại là “Gây bệnh” (Pathogenic, bao gồm tiêu chí PS2 PM1 PM2 PM5 PP3 PP5).

4. Bàn luận

Giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (WES) là một ứng dụng của kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (NGS), dùng để xác định các biến thể của tất cả các vùng mã hóa (exome) của các gen đã biết. Đối với hội chứng Ohtahara, việc sử dụng WES đã giúp tìm ra các gen liên quan như *SCN2A*, *GRIN2A*, *STXB1*,... Trong nghiên cứu này, WES xác định thành công 2 đột biến gen trên 2 bệnh nhân khác nhau trong tổng số 4 bệnh nhân mắc hội chứng Ohtahara.

Ở bệnh nhân OH3, đột biến gây bệnh được xác định trên gen *KCNQ2* ở vị trí c.868G>A (p.G290S). Đột biến gây bệnh này đã được công bố trên Clinvar (ID: 369768) là một đột biến *de novo*, ảnh hưởng đến cấu trúc thứ cấp của protein xuyên màng *KCNQ2* là một phần cấu tạo nên kênh vận chuyển Kali ở tế bào thần kinh. Đột biến làm giảm dòng Kali qua kênh có thể dẫn đến giảm sự tái cực gây rối loạn chức năng tế bào. Một nghiên cứu khác cho biết ở cùng vị trí thứ 290 có sự thay thế amino acid Glycine bằng Aspartic acid là đột biến gây bệnh tương tự [12, 17]. *KCNQ2* là một protein gồm 6 miền xuyên màng (S1-S6), nghiên cứu của Millichap và cộng sự chỉ ra rằng đoạn amino acid từ S4 đến S6 thực hiện chức năng chính [18]. Mỗi quan hệ kiểu hình của gen *KCNQ2* chưa được biết rõ, tuy nhiên trong phân tích 259 ca *KCNQ2* đã cho thấy rằng những biến thể sai nghĩa trong vùng nội bào

S2-S3 thường gây kiểu hình nhẹ, còn những biến thể sai nghĩa nằm trên S6 và vùng lân cận S6 thường gây ra bệnh não phát triển và động kinh (DEE - Developmental and Epileptic Encephalopathy) [19]. Bệnh nhân OH3 có đột biến c.868G>A (p.G290S) nằm trên đoạn vùng kết nối miền S5-S6 (sát với đầu của miền S6) [9] có kiểu hình ghi nhận là hội chứng Ohtahara, điều này tương đồng với phân tích trước đó của Goto và cộng sự (2019) [19].

Đối với bệnh não động kinh liên quan đến gen *KCNQ2*, thuốc điều trị hiệu quả nhất là các thuốc chặn kênh natri (Sodium Channel Blockers - SCB) [20]. Một trong những thuốc đã điều trị cho bệnh nhân OH3 là thuốc Valproate (20-30 mg/kg/ngày từ 1 đến 3 tháng tuổi), thuốc này có nhiều cơ chế hoạt động trong đó ức chế kênh Natri có thể là 1 cơ chế của nó [21]. Cơ chế hoạt động thông qua SCB có thể đã gây nên đáp ứng ban đầu của bệnh nhân, nhưng cũng vì thuốc hoạt động nhiều cơ chế nên bệnh nhân chỉ đáp ứng thuốc một giai đoạn ngắn rồi xuất hiện kháng muện. Bệnh nhân OH3 cũng được ghi nhận có đáp ứng với thuốc Prednisolone (3-5 mg/kg/ngày từ 3 tháng tuổi), nhưng hầu như chưa có các công bố nào trước đây cho thấy tác động của Prednisolone đối với DEE. Bệnh nhân không đáp ứng với thuốc Phenobarbital (7 mg/kg/ngày) là thuốc ức chế trung gian GABA (Gamma-Aminobutyric Acid) và thuốc Levetiracetam.

Ở bệnh nhân OH4, đột biến nằm trên gen *SCN2A* tại vị trí c.788C>T (p.A263V), là một đột biến *de novo* gây bệnh đã được công bố trên Clinvar (ID: 29888). Gen *SCN2A* mã hóa cho tiểu đơn vị α loại 2 kênh natri cảm ứng điện thế ($Na_v1.2$). Cấu trúc protein $Na_v1.2$ bao gồm bốn miền giống nhau (Domain I-IV) với mỗi miền có 6 phân đoạn xuyên màng (S1-S6). Vùng S4 và vùng S5-S6 là hai vùng phân đoạn có chức năng quan trọng, trong đó S4 là vùng cảm ứng chính, S5-S6 tạo thành lỗ kênh cho phép trao đổi ion qua màng [22, 23]. Đột biến c.788C>T của bệnh nhân OH4 nằm ở vùng cấu trúc quan trọng là Domain I-S5 [13] và điều này phù hợp để lý giải cho kiểu hình Ohtahara trầm trọng ở bệnh nhân. Đột biến này cũng đã từng được công bố trước

đó là nguyên nhân gây ra hội chứng Ohtahara trên một cặp bệnh nhân song sinh [24]. Theo công bố của Wolff và cộng sự, thuốc điều trị hiệu quả được đề xuất cho đột biến gen *SCN2A* trong DEE là SCB, đặc biệt là Phenytoin [25]. Cũng theo công bố đó, thuốc Phenobarbital và Levetiracetam không hiệu quả cho DEE nhưng ở bệnh nhân OH4 có ghi nhận hiệu quả ở mức độ nhất định của Levetiracetam (36 mg/kg/ngày) đối với kiểu cơn co cứng - giật cơ (giảm từ 20-30 cơn/ngày xuống 5 cơn/ngày). Nghiên cứu cũng ghi nhận có sự tăng cơn khi sử dụng Phenobarbital và Valproate cho bệnh nhân OH4.

Ở mức độ là một nghiên cứu tiền đề, tập trung vào đánh giá phương pháp và xây dựng quy trình WES, nghiên cứu này hạn chế ở số lượng bệnh nhân nhỏ (4 bệnh nhân), phương pháp nghiên cứu là cắt ngang mô tả kết hợp hồi cứu, chưa theo dõi và đánh giá được ảnh hưởng của kết quả xét nghiệm gen lên điều trị bệnh. Cần có nghiên cứu tiếp theo với số lượng bệnh nhân lớn hơn và cần thiết kế tiến cứu để đánh giá cụ thể ảnh hưởng của xét nghiệm WES lên sự điều trị đối với bệnh nhân.

Kết luận

Ohtahara là một hội chứng não động kinh nghiêm trọng, có tiên lượng xấu, tỷ lệ tử vong cao. Nghiên cứu cho thấy sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa – WES cho kết quả tốt, phù hợp, hữu ích trong việc phát hiện nguyên nhân di truyền của hội chứng Ohtahara. Kỹ thuật này giúp hỗ trợ cho việc chẩn đoán bệnh và tạo tiền đề cho điều trị cá thể hóa dựa trên kiểu gen.

Sự ghi nhận

Chúng tôi cảm ơn các gia đình bệnh nhân vì sự đóng góp tích cực của họ đối với nghiên cứu.

Phê duyệt đạo đức và đồng ý tham gia

Nghiên cứu đã được phê duyệt bởi Hội đồng Y đức của Bệnh viện Nhi Đồng 2 (Mã số y đức:

CS/ND2/18/04HT). Nghiên cứu cũng nhận được sự đồng ý bằng văn bản của bố mẹ bệnh nhân cho việc tham gia vào nghiên cứu này.

Đóng góp của tác giả

Nguyễn Thị Quỳnh Mai thiết kế và viết bản thảo. Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Đỗ Thị Thu Hằng và Huỳnh Thị Diệu Hiền đã tham gia vào các nghiên cứu và giải thích chúng. Nguyễn Lê Trung Hiếu, Lê Thị Khánh Vân, Nguyễn Thụy Minh Thư và Lê Trần Ánh Ngân đã tham gia vào việc chăm sóc y tế cho bệnh nhân. Tất cả các tác giả đã đọc và duyệt bản thảo cuối cùng.

Xung đột lợi ích

Nhóm tác giả cam kết không mâu thuẫn quyền lợi và nghĩa vụ giữa các tác giả với nhau.

Kinh phí

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED), mã số đề tài: 108.01-2018.05. Quỹ này cung cấp sự hỗ trợ tài chính cho các nghiên cứu phân tử. Cơ quan tài trợ không có vai trò trong việc thiết kế nghiên cứu cũng như thu thập, phân tích, giải thích dữ liệu và viết bản thảo.

Tài liệu tham khảo

- [1] S. Ohtahara, E. Oka, Y. Yamatogi, H. Inou, on the Specific Age-dependent Epileptic Syndromes: the Early-infantile Epileptic Encephalopathy with Suppression-Burst, no to Hattatsu, Vol. 8, No. 4, 1976, pp. 270-280, <https://doi.org/10.11251/ojjsen1969.8.270>.
- [2] Orpha.net, Early Infantile Epileptic Encephalopathy, https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=1934, 2021 (accessed on: March 1st, 2021).
- [3] Y. Yamatogi, S. Ohtahara, Early-infantile Epileptic Encephalopathy with Suppression-bursts, Ohtahara Syndrome, Its Overview Referring to Our 16

- Cases, *Brain & development*, Vol. 24, No. 1, 2002, pp. 13-23, [https://doi.org/10.1016/s0387-7604\(01\)00392-8](https://doi.org/10.1016/s0387-7604(01)00392-8).
- [4] S. Ohtahara, Y. Yamatogi, Ohtahara Syndrome: with Special Reference to Its Developmental Aspects for Differentiating from Early Myoclonic Encephalopathy, *Epilepsy Research*, Vol. 70, 2006, pp. 58-67, <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2005.11.021>.
- [5] Epilepsydiagnosis.org, Ohtahara Syndrome, <https://www.epilepsydiagnosis.org/syndrome/ohtahara-overview.html/>, 2020 (accessed on: March 1st, 2021).
- [6] P. Pavone, A. Spalice, A. Polizzi, P. Parisi, M. Ruggieri, Ohtahara Syndrome with Emphasis on Recent Genetic Discovery, *Brain & development*, Vol. 6, No. 34, 2021, pp. 459-468, <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2011.09.004>.
- [7] L. Claes, J. D. Favero, B. Ceulemans, L. Lagae, C. V. Broeckhoven, P. D. Jonghe, De Novo Mutations in the Sodium-Channel Gene SCN1A Cause Severe Myoclonic Epilepsy of Infancy, *American Journal of human genetics*, Vol. 6, No. 68, 2001, pp. 1327-1332, <https://doi.org/10.1086/320609>.
- [8] G. Radaelli, F. D. S. Santos, W. V. Borelli, L. Pisani, M. L. Nunes, F. A. Scorza, J. C. D. Costa, Causes of Mortality in Early Infantile Epileptic Encephalopathy: A Systematic Review, *Epilepsy & Behavior: E&B*, Vol. 85, 2018, pp. 32-36, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.05.015>.
- [9] Q. Zhang, J. Li, Y. Zhao, X. Bao, L. Wei, J. Wang, Gene Mutation Analysis of 175 Chinese Patients with Early-onset Epileptic Encephalopathy, *Clinical Genetics*, Vol. 91, No. 5, 2017, pp. 717-724, <https://doi.org/10.1111/cge.12901>.
- [10] R. S. Fisher, J. H. Cross, J. A. French, N. Higurashi, E. Hirsch, F. E. Jansen, L. Lagae, S. L. Moshé, J. Peltola, E. Roulet Perez, I. E. Scheffer, S. M. Zuberi, Operational Classification of Seizure Types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology, *Epilepsia*, Vol. 58, No. 4, 2017, pp. 522-530, <https://doi.org/10.1111/epi.13670>.
- [11] I. E. Scheffer, S. Berkovic, G. Capovilla, M. B. Connolly, J. French, L. Guilhoto, E. Hirsch, S. Jain, G. W. Mathern, S. L. Moshé, D. R. Nordli, E. Perucca, T. Tomson, S. Wiebe, Y. H. Zhang, S. M. Zuberi, ILAE Classification of the Epilepsies: Position Paper of the ILAE Commission for Classification And Terminology, *Epilepsia*, Vol. 58, No. 4, 2017, pp. 512-521, <https://doi.org/10.1111/epi.13709>.
- [12] S. Weckhuysen, S. Mandelstam, A. Suls, D. Audenaert, KCNQ2 Encephalopathy: Emerging Phenotype of A Neonatal Epileptic Encephalopathy, *Annals of Neurology*, Vol. 71, No. 1, 2012, pp. 15-25, <https://doi.org/10.1002/ana.22644>.
- [13] Y. Liao, A. K. Anttonen, E. Liukkonen, E. Gaily, S. Maljevic, S. Schubert, A. B. Koch, S. Petrou, V. E. Ahonen, H. Lerche, A. E. Lehesjoki, SCN2A Mutation Associated with Neonatal Epilepsy, Late-Onset Episodic Ataxia, Myoclonus, and Pain, *Neurology*, Vol. 75, No. 16, 2010, pp. 1454-1458, <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181f8812e>.
- [14] K. M. Gorman, M. D. King, SCN2A p.Ala263Val Variant A Phenotype of Neonatal Seizures Followed by Paroxysmal Ataxia in Toddlers, *Pediatric Neurology*, Vol. 67, 2017, pp. 111-112, <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2016.11.008>.
- [15] K. M. Johannesen, M. J. Miranda, H. Lerche, R. S. Møller, Letter to the Editor: Confirming Neonatal Seizure and Late Onset Ataxia in SCN2A Ala263Val, *Journal of neurology*, Vol. 263, No. 7, 2016, pp. 1459-1460, <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8149-5>.
- [16] N. Schwarz, A. Hahn, T. Bast, S. Müller, H. Löffler, S. Maljevic, E. Gaily, I. Prehl, S. Biskup, T. Joensuu, A. E. Lehesjoki, B. A. Neubauer, H. Lerche, U. Hedrich, Mutations in the Sodium Channel Gene SCN2A Cause Neonatal Epilepsy with Late-Onset Episodic Ataxia, *Journal of Neurology*, Vol. 263, No. 2, 2016, pp. 334-343, <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7984-0>.
- [17] G. Orhan, M. Bock, D. Schepers, E. I. Ilina, S. N. Reichel, H. Löffler, N. Jezutkovic, S. Weckhuysen, S. Mandelstam, A. Suls, T. Danker, E. Guenther, I. E. Scheffer, P. D. Jonghe, H. Lerche, S. Maljevic, Dominant-Negative Effects of KCNQ2 Mutations Are Associated with Epileptic Encephalopathy, *Annals of Neurology*, Vol. 75, No. 3, 2014, pp. 382-392, <https://doi.org/10.1002/ana.24080>.
- [18] J. J. Millichap, E. C. Cooper, KCNQ2 Potassium Channel Epileptic Encephalopathy Syndrome: Divorce of an Electro-mechanical Couple?, *Epilepsy Currents*, Vol. 12, No. 4, 2012, pp. 150-152, <https://doi.org/10.5698/1535-7511-12.4.150>.
- [19] A. Goto, A. Ishii, M. Shibata, Y. Ihara, E. C. Cooper, S. Hirose, Characteristics of KCNQ2 Variants Causing Either Benign Neonatal Epilepsy or Developmental and Epileptic Encephalopathy,

- Epilepsia, Vol. 60, No. 9, 2019, pp. 1870-1880, <https://doi.org/10.1111/epi.16314>.
- [20] M. Kuersten, M. Tacke, L. Gerstl, H. Hoelz, C. V. Stülpnagel, I. Borggraefe, Antiepileptic Therapy Approaches in KCNQ2 Related Epilepsy: A Systematic Review, *European Journal of Medical Genetics*, Vol. 63, No. 1, 2020, pp. 103628, <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.02.001>.
- [21] W. Löscher, H. Potschka, S. M. Sisodiya, A. Vezzani, Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options, *Pharmacological Reviews*, Vol. 72, No. 3, 2020, pp. 606-638, <https://doi.org/10.1124/pr.120.019539>.
- [22] U. Hedrich, S. Lauxmann, H. Lerche, SCN2A Channelopathies: Mechanisms and Models, *Epilepsia*, Vol. 60, Suppl. 3, 2019, pp. S68-S76, <https://doi.org/10.1111/epi.14731>.
- [23] S. J. Sanders, A. J. Campbell, J. R. Cottrell, R. S. Moller, F. F. Wagner, A. L. Auldridge, R. A. Bernier, W. A. Catterall, W. K. Chung, J. R. Empfield, A. L. George, J. F. Hipp, O. Khwaja, E. Kiskinis, D. Lal, D. Malhotra, J. J. Millichap, T. S. Otis, S. Petrou, G. Pitt, K. J. Bender, Progress in Understanding and Treating SCN2A-Mediated Disorders, *Trends in Neurosciences*, Vol. 41, No. 7, 2018, pp. 442-456, <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.011>.
- [24] M. Touma, M. Joshi, M. C. Connolly, P. E. Grant, A. R. Hansen, O. Khwaja, G. T. Berry, H. C. Kinney, A. Poduri, P. B. Agrawal, Whole Genome Sequencing Identifies SCN2A Mutation in Monozygotic Twins with Ohtahara Syndrome and Unique Neuropathologic Findings, *Epilepsia*, Vol. 54, No. 5, 2013, pp. e81-e85, <https://doi.org/10.1111/epi.12137>.
- [25] M. Wolff, A. Brunklaus, S. M. Zuberi, Phenotypic Spectrum and Genetics of SCN2A-related Disorders, Treatment Options, and Outcomes in Epilepsy and Beyond, *Epilepsia*, Vol. 60, No.3, 2019, pp. S59-S67, <https://doi.org/10.1111/epi.14935>.