

# **HẠ ĐƯỜNG MÁU NẶNG DO CƯỜNG INSULIN BẨM SINH: KIỂU GEN VÀ KIỂU HÌNH CỦA 102 BỆNH NHÂN**

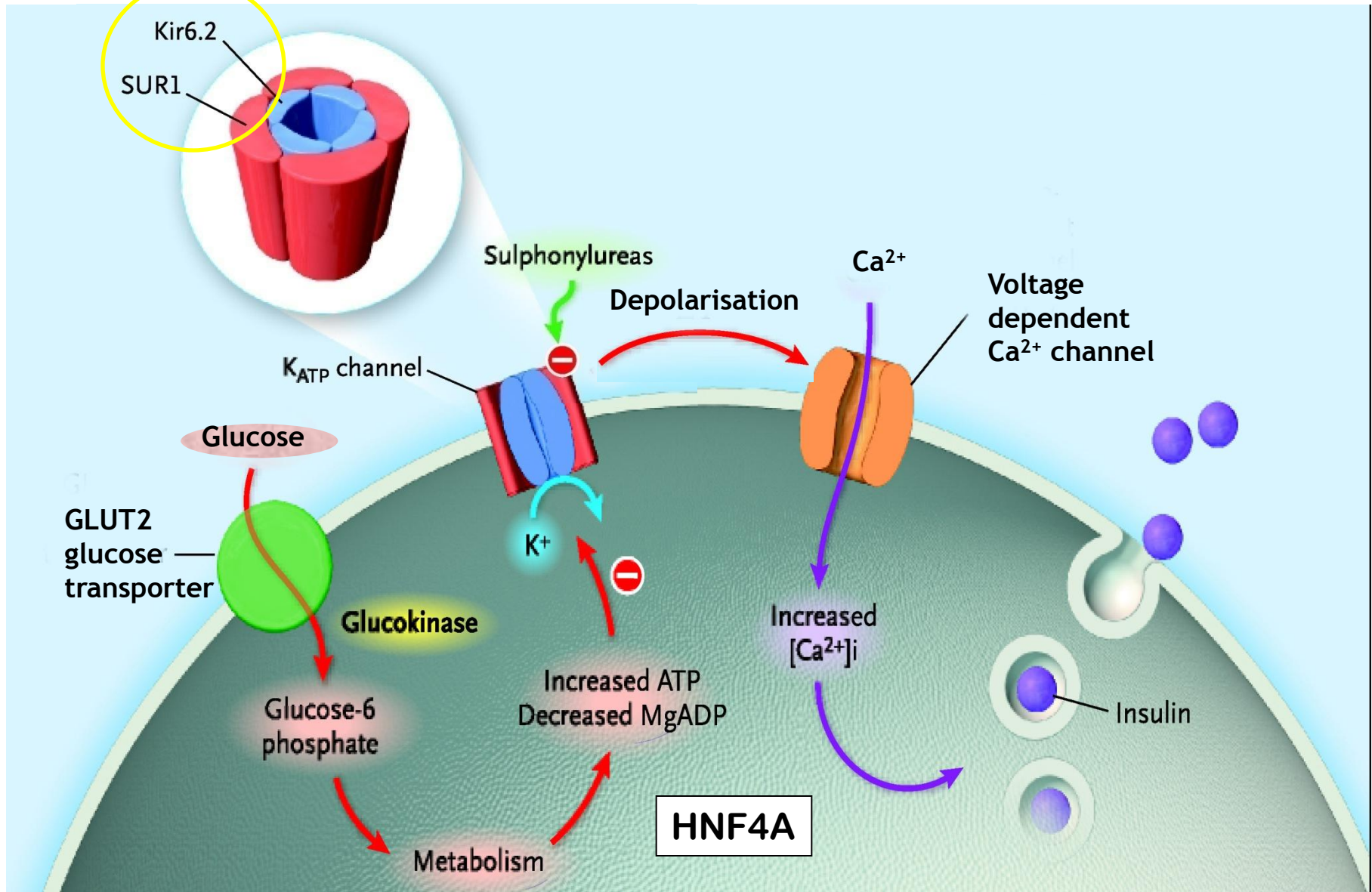
***Cán Thị Bích Ngọc, Vũ Chí Dũng và cộng sự***

***Bệnh viện Nhi Trung Ương***

# Đặt vấn đề

- Cường insulin bẩm sinh (congenital hyperinsulinism: CHI): bài tiết quá mức insulin cho dù đường máu thấp
- Không điều trị → tổn thương não
- Tỷ lệ mới mắc: 1/50,000 → 1/2,500

# Tổng quan: Bài tiết insulin tại tế bào beta



# Tổng quan

## Di truyền phân tử trong cường insulin

	Gene	Protein	Inheritance	Diazoxide-Resp.	Histology	Comment
<b>K<sub>ATP</sub> Channel</b>	<b>ABCC8</b>	SUR1	AR	No	F or D	
			AD	Usually	D	
<b>Enzymes/Transporters</b>	<b>KCNJ11</b>	Kir6.2	AR	No	F or D	
	<b>GLUD1</b>	GDH	AD or DN	Yes	D	HIHA syndrome
	<b>GCK</b>	GCK	AD or DN	Usually	D	MODY 2
	<b>HADH</b>	SCHAD	AR	Yes	D	
	<b>SLC16A1</b>	MCT1	AD	Usually	D	EIHI
	<b>UCP2</b>	UCP2	AD	Yes	D	
<b>Transcription Factor</b>	<b>HNF4A</b>	HNF4A	AD or DN	Yes	D	MODY 1

**AR**: autosomal recessive; **AD**: autosomal dominant; **DN**: De Novo; **F**: Focal Form; **D**: Diffuse Form; **HI/HA**: hyperammonemia/hyperinsulinism syndrome; **EIHI**: Exercise-induced hyperinsulinism; **GDH**: Glutamate Dehydrogenase; **GCK**: Glucokinase; **HADH**: Hydroxy-Acyl-CoA Dehydrogenase; **MCT1**: Monocarboxylate transporter 1; **MODY**: Maturity-onset diabetes of the young; **UCP2**: Uncoupling protein 2.

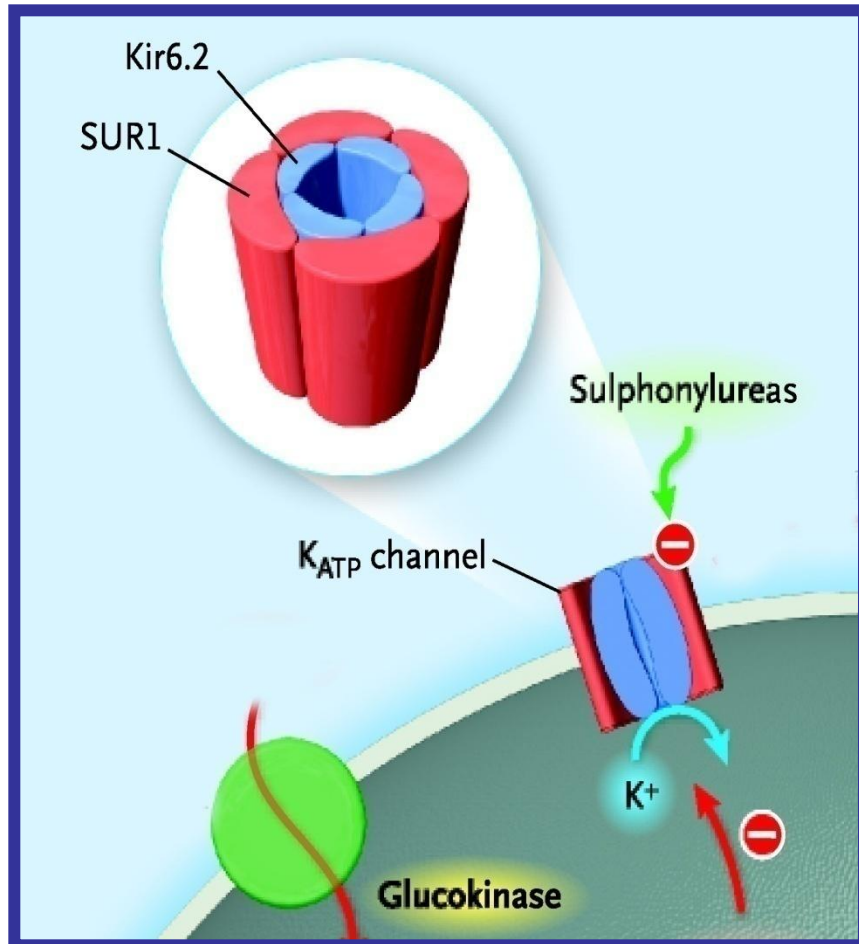
# Tổng quan

## Các gen cấu tạo kênh $K_{ATP}$ của tế bào $\beta$

- Gen *ABCC8*: 39 exon, 100 kb, mã hóa protein 1582 axit amin (SUR1)
- Gen *KCNJ11*: một exon mã hóa protein 390 axit amin (Kir6.2)
- *KCNJ11* và *ABCC8*: 11p15.1; cách nhau 4,5 kb
- *GLUD1*: 45 kb; 13 exons; 10q23.2
- *HNF4A*: ~74 kb; 10 exon; 20q13.12

# Tổng quan

## Cường insulin do đột biến mất chức năng $K_{ATP}$



Mất chức năng của kênh



Khử cực



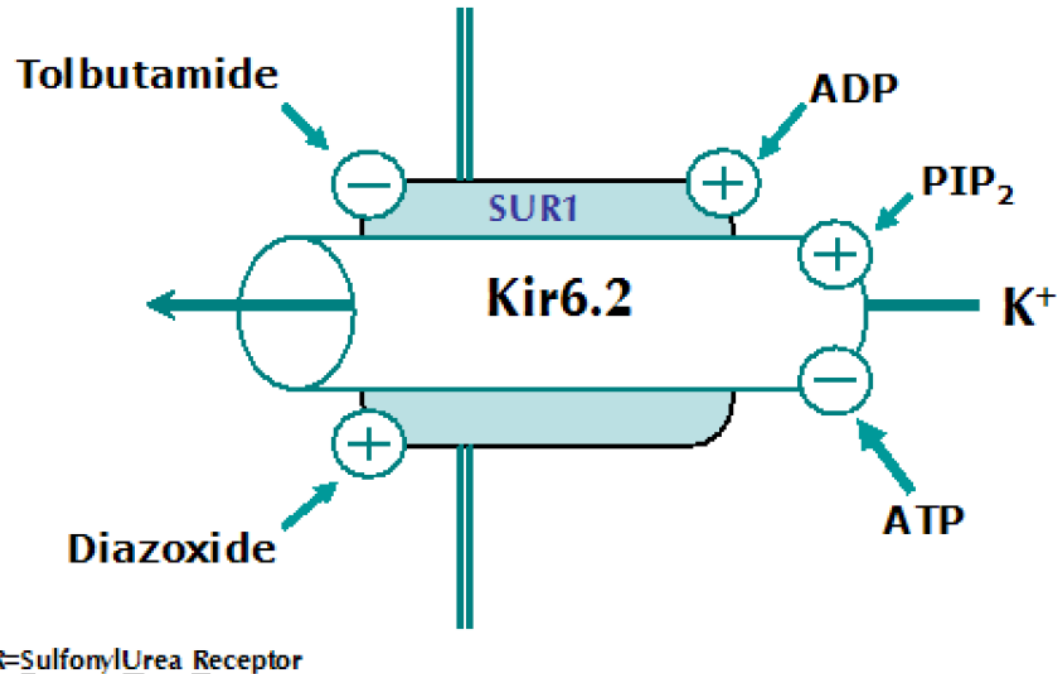
Calcium đi vào tế bào



Mất điều hòa bài tiết insulin

= Cường insulin

## Control Elements for the $K_{ATP}$ Channel in Pancreatic $\beta$ -Cells, 2006



- Diazoxide gây giảm bài tiết insulin vì hoạt hóa SUR1(mở kênh)
- Sulfonylureas (tolbutamide) làm tăng bài tiết insulin do ức chế SUR1(đóng kênh)

# Mục tiêu

- 1. Phát hiện các đột biến của các gen ABCC8, KCNJ11, HNF4A và GLUD1*
- 2. Phân tích mối tương quan kiểu gen – kiểu hình của các bệnh nhân cường insulin bẩm sinh*



# Đối tượng

- Bệnh nhân

102 bệnh nhân (nam: 60; nữ: 42) tại BVNTU

Tuổi chẩn đoán: 1 - 30 ngày

- Thời gian 1/2010 đến to 12/2016

# Đối tượng

## Tiêu chuẩn chẩn đoán (Hussain K. 2008)

1. Đường máu hạ lúc đói và sau ăn ( $< 2.5\text{--}3$  mmol/l) kết hợp tăng tiết insulin & c-peptide (insulin huyết thanh  $> 1$  mU/l).
2. Đáp ứng với tiêm glucagon (đường máu tăng 2 đến 3 mmol/l sau tiêm dưới da 0.5 mg glucagon)
3. Không có xeton niệu và xeton máu thấp
4. Phụ thuộc vào điều trị truyền glucose kéo dài trong các tháng đầu sau đẻ

# Đối tượng

## Tiêu chuẩn loại trừ

- Các hội chứng:
  - ✓ Beckwith-Wiedemann
  - ✓ Trisomy 13
  - ✓ Mosaic Turner
- Rối loạn chuyển hóa bẩm sinh
- Thứ phát (thoáng qua)
  - ✓ Mẹ tiểu đường (thai nghén hoặc typ 1)
  - ✓ Chậm phát triển trong tử cung
  - ✓ Ngạt

# Phương pháp

- DNA được chiết tách từ bạch cầu máu ngoại vi.
- Một exon của gen *KCNJ11*; 39 exon của gen *ABCC8*; 10 exons of *HNF4A* & 13 exons of *GLUD1* được khuếch đại và giải trình tự.
- Giải trình tự bằng “ABI 3730 capillary sequencer” & so sánh với trình tự đã công bố sử dụng “Mutation Surveyor version 3.24”

*Ellard S et al. Am J Hum Genet 2007: 81: 375-382.*

*Flanagan SE, et al. Diabetologia 2006: 49: 1190-1197.*

# Phương pháp Điều trị và đánh giá kiểu hình

## Truyền glucose ưu trương

Best Practice Guideline article

### Congenital hyperinsulinism

**Table 1**

Infusion of glucose.

Peripheral catheter: glucose 10%
2 ml/kg/h (= 3.3 mg/kg/min)
4 ml/kg/h (= 6.7 mg/kg/min)
6 ml/kg/h (= 10 mg/kg/min)
8 ml/kg/h (= 13.3 mg/kg/min)
Central catheter: glucose 10%, 20%, 30% or 50%
e.g. Glucose 30%
0.5 ml/kg/h (= 2.5 mg/kg/min)
1 ml/kg/h (= 5 mg/kg/min)
2 ml/kg/h (= 10 mg/kg/min)
3 ml/kg/h (= 15 mg/kg/min)

# Các bước điều trị

## A specialized team approach to diagnosis and medical versus surgical treatment of infants with congenital hyperinsulinism

Andrew A. Palladino, MD, Charles A. Stanley, MD

*From the Division of Endocrinology and Diabetes, The Children's Hospital of Philadelphia, University of Pennsylvania, School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania.*

Seminars in Pediatric Surgery (2011) 20, 32-37

**Table 1** Timeline for diagnosing HI, initiating medical therapy, and referring to specialized center

Day 1	Establish diagnosis of HI (see Table 3)
Day 2-5	Begin 5-d trial of diazoxide If HI is severe begin at max dose (15 mg/kg/d) If HI less severe/perinatal-stress, start diazoxide at 5-10 mg/kg/d* Consider starting a diuretic with diazoxide, especially if on high GIR
Day 6	Determine minimum GIR required to maintain blood glucose between 70 and 100 If HI is severe or GIR is >10 mg/kg/min, send mutation analysis on HI genes for infant and parents
Day 7	Determine fasting tolerance on diazoxide Failure to fast >12 h with BS >70 mg/dL indicates diazoxide unresponsiveness Diazoxide failure suggests a $K_{ATP}$ channel HI and potential surgical candidate Begin arrangements for transfer to a specialized HI center with $^{18}F$ -DOPA PET scan capability
Day 8-14	Discontinue diazoxide; consider octreotide, 5 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ divided every 6-8 h Desensitization to octreotide is common after 2-3 doses If required, octreotide can be increased to maximum of 15 $\mu\text{g/kg/d}$ Evaluate effectiveness of octreotide with fasting test while awaiting transfer of patient

Abbreviations: GIR, glucose infusion rate (mg/kg/min); HI, hyperinsulinism.

\*See text for further discussion of tachyphylaxis.

# Phương pháp Đánh giá kiểu hình

- **Tiêu chuẩn đáp ứng điều trị diazoxide:**

Đường máu bình thường  $> 3$  mmol/l trước & sau mỗi bữa ăn ở bệnh nhân ăn bình thường (không cần ăn đêm) sau ngừng truyền glucose và các thuốc khác ít nhất 5 ngày liên tục.

*Arnoux JB et al. Early Human Development 2010;86:287–294*

- **Không đáp ứng diazoxide:**

- Octreotide

- Phẫu thuật cắt 90% hoặc bán phần tụy

# Kết quả

## Kiểu hình lâm sàng

- ❖ Cân nặng lúc đẻ: 4,1 – 0,9 (2,3 – 5,6) kg
- ❖ Tuổi xuất hiện: < 24 giờ: 47/102 (46,1%)
- ❖ Các triệu chứng:
  - ✓ Bú kém, li bì: 89/102 (87,3%)
  - ✓ Co giật 14/102 (13,7%)
  - ✓ Ngừng thở, tím 9/102 (8.8%)
- ❖ Tốc độ truyền glucose: 12 – 28 mg/kg/mn



# Kết quả

## Phân bố đột biến của các gen

Gen	Số lượng bệnh nhân	%
<i>ABCC8</i>	47	46,1
<i>KCNJ11</i>	5	4,9
<i>HNF4A</i>	1	0,9
<i>GLUD1</i>	0	0
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>51,9</b>

HNF4A: **c.659T>C** (p.L220P): đột biến mới  
& di truyền từ mẹ

# Kết quả

## Đột biến gen *ABCC8*

- 25 đột biến khác nhau: 13 đột biến mới gen *ABCC8*; 12 đột biến đã được báo cáo
- Kiểu gen đồng hợp tử/dị hợp tử kép *ABCC8*  
*27/47 (57,4%)*
- Kiểu gen có 1 đột biến gen *ABCC8* từ bố hoặc mẹ  
*20/27 (42,6%)*

# Kết quả

## Các đột biến & kiểu gen *ABCC8*

---

Kiểu gen	N gia đình
c.3403-1G>A	13
c.3403-1G>A/c.3403-1G>A	1
c.3403-1G>A/c.2995C>T	1
c.2057T>C	2
c.2057T>C/c.2057T>C	1
c.2417G>A/c.2995C>T	1
c.4160_4162del	2
c.1467+5G>A/c.2800C>T	1
c.2041-21G>A	1

# Kết quả

## Các đột biến gen *ABCC8*

---

Kiểu gen	N gia đình
c.2041-21G>A/c.3978del	1
c.2041-21G>A/c.2041-21G>A	1
<b>c.2056T&gt;A/c.2057T&gt;C</b>	1
c.2057T>C/c.3403-1G>A	2
c.2057T>C/c.2995C>T	1
<b>c.2995C&gt;T</b>	3
c.3293A>G	1
c.3403-1G>A/c.4462C>T	1
c.4415-13G>A	1

# Kết quả

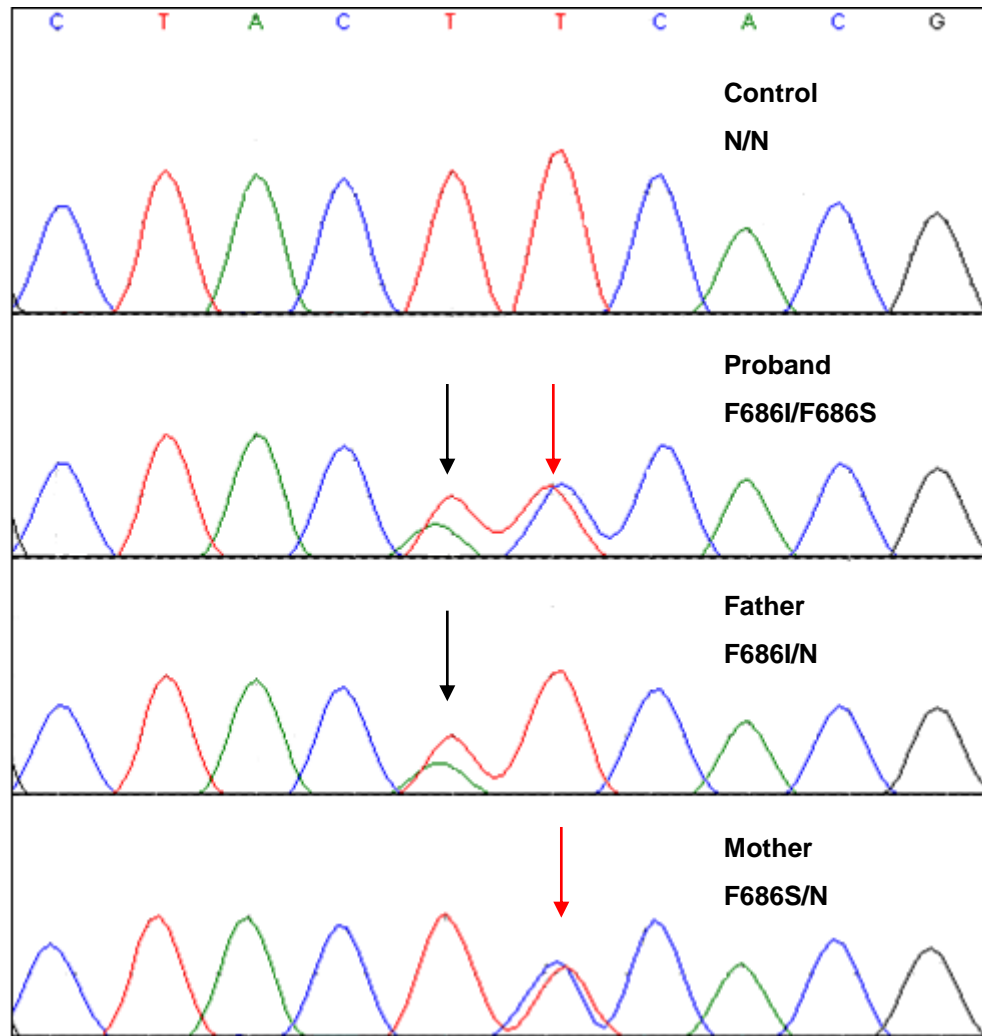
## Các đột biến gen *ABCC8*

---

Kiểu gen	N gia đình
c.4610C>T	1
c.655C>A/c.892C>T	2
c.1106A>G/ c.4611G>A	1
c.1183A>T	1
c.2056T>A/c.2057T>A	1
c.3293A>G	1
c.4061A>G *	1
c.4135G>A	1

# Kết quả

## Giải trình tự *ABCC8*



# Kết quả

## Các đột biến gen *KCNJ11*

- 3 đột biến mới từ bố (**c.482C>T**, **c.512C>A**, **c.820G>C**) ở 2 gia đình
- Đồng hợp tử **c.185delC** của *KCNJ11* hai anh chị em ruột từ 1 gia đình.

# Kết quả

## Tương quan kiểu gen – kiểu hình

- ❖ Đáp ứng điều trị diazoxide gồm 52 bệnh nhân:
  - 49 bệnh nhân không có đột biến
  - 1 bệnh nhân đột biến *ABCC8* nguồn gốc từ mẹ
  - 1 bệnh nhân đột biến *HNF4A*
  - 1 bệnh nhân đột biến *KCNJ11*



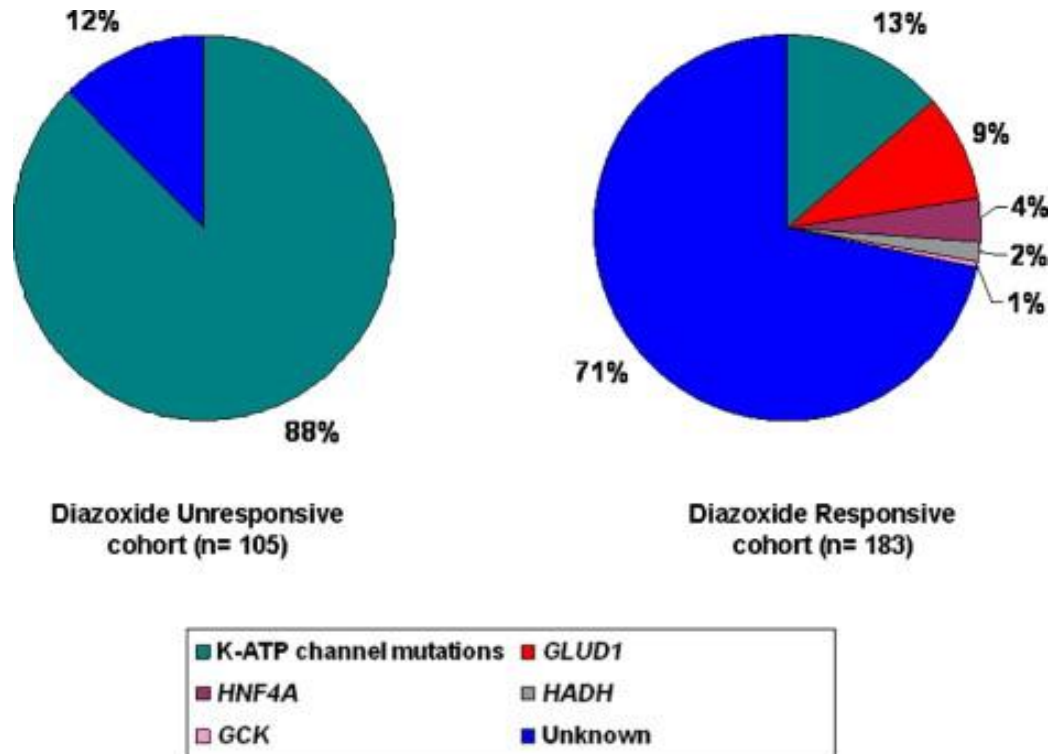
# Kết quả

## Tương quan kiểu gen – kiểu hình

- ❖ Không đáp ứng điều trị diazoxide (phẫu thuật và/hoặc octreotide): 48 bệnh nhân gồm
  - 4 bệnh nhân đột biến *KCNJ11*
  - 44 bệnh nhân đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép hoặc đột biến *ABCC8* nguồn gốc từ bố

# Bàn luận

- Đột biến K-ATP: 88% trong số 105 các bệnh nhân đáp ứng diazoxide
- 71% không có đột biến trong số 183 bệnh nhân đáp ứng diazoxide



# Bàn luận

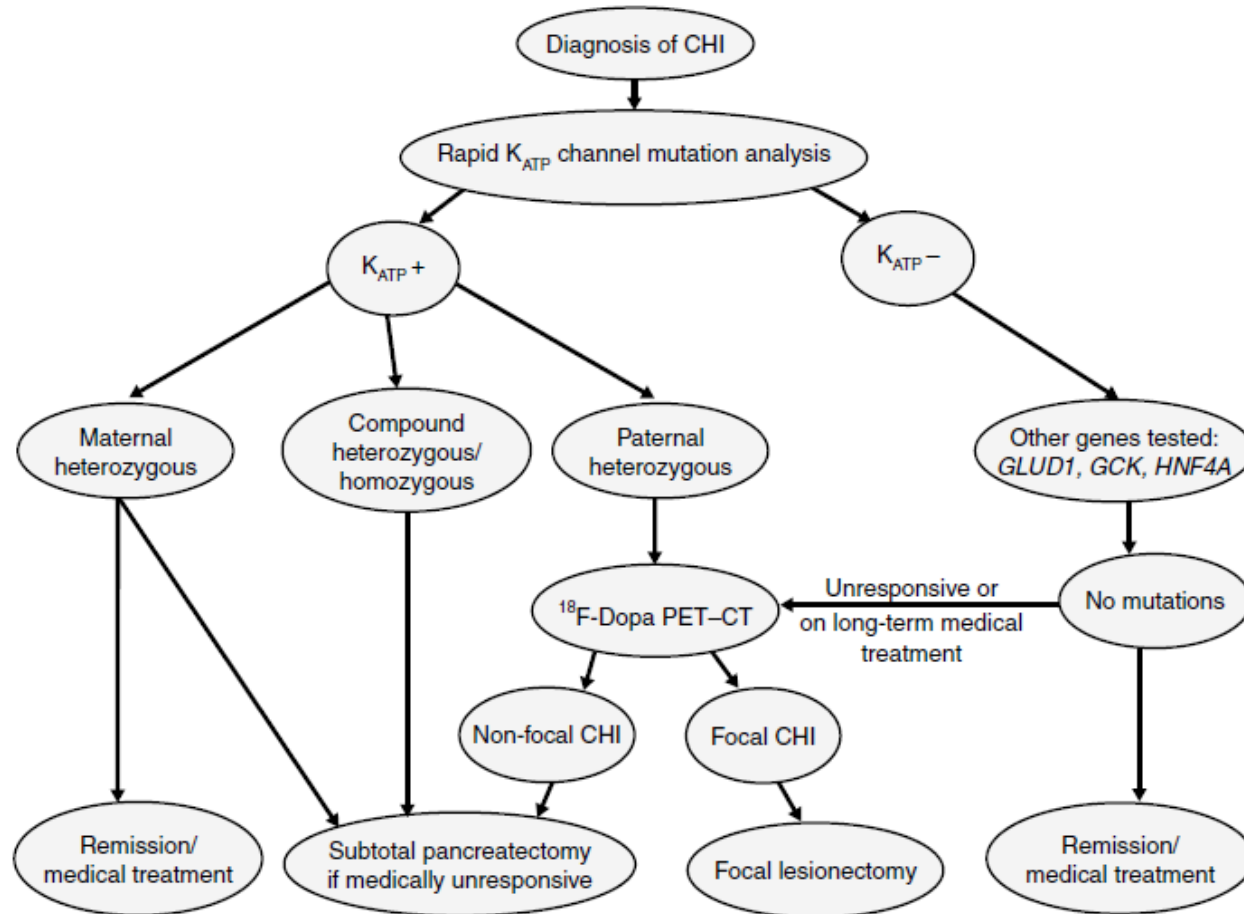
- Đột biến gen ABCC8 (SUR1): nguyên nhân chính của CHI & được mô tả đầu tiên
- Khoảng 45% bệnh nhân CHI có đột biến gen *ABCC8* ([Nestorowicz et al 1998](#), [Aguilar-Bryan & Bryan 1999](#), [Meissner et al 1999](#), [Fournet & Junien 2003](#), [Tornovsky et al 2004](#)).
- Sau 20 năm kể từ khi phát hiện đột biến đầu tiên, hơn 200 đột biến được xác định.
- Phân bố đột biến toàn bộ chiều dài gen

# Bàn luận

- Diazoxide: hiệu quả ở hầu hết các thể CHI trừ thể recessive mutation of *ABCC8*
- Phân tích đột biến gen *ABCC8* & *KCNJ11* → cho phép xác định phần lớn các bệnh nhân thể lan tỏa (đột biến đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép)

*Kapoor RR et al. Arch Dis Child 2009;94:450-457*

# Sơ đồ các bước chẩn đoán và điều trị cường insulin



# Kết luận

- Hiểu biết cơ sở di truyền của CHI giúp hiểu rõ sinh lý tế bào  $\beta$  tiểu đảo tụy
- Định hướng điều trị và tư vấn di truyền
  - Phân tích đột biến gen *ABCC8* & *KCNJ11* giúp chẩn đoán di truyền → điều trị thích hợp
  - Chẩn đoán trước sinh CHI → theo dõi điều trị ngay sau sinh



**Lê Thiện N, P đẽ 5 kg (tuần)  
Đáp ứng điều trị nội khoa**



**Nguyễn Thị Diễm H. Đáp ứng điều trị nội khoa. P đẻ 3,5 kg (37 tuần). Hai anh trai tử vong lúc 3 ngày tuổi tại bệnh viện tỉnh (tím tái)**





**Vũ Hải Y. P đễ 5,4 kg, đấp ứng điều trị nội khoa**



**Vương Hà M; P đẻ 3,8 kg**  
**Không đáp ứng điều trị nội khoa**  
**Đột biến ABCC8: (F686I/F686S)**



**Cao Bảo N. P đẽ 5 kg;  
Không đáp ứng điều trị nội khoa  
Đột biến ABCC8 F686S/IVS27-1G>A**

***Chân thành cảm ơn!***