

# PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN CYP21A2 VÀ MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA KIỂU GEN - KIỂU HÌNH CỦA BỆNH NHÂN TĂNG SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH DO THIẾU 21-HYDROXYLASE

Vũ Chí Dũng\*\*, Trần Văn Khánh\*, Lê Thị Phương\*, Tạ Minh Hiếu\*, Nguyễn Thị Hà\*, Nguyễn Thanh Liêm\*\*, Tạ Thành Văn\*

## Tóm tắt

19 bệnh nhân TSTTBS do thiếu 21 - hydroxylase được nghiên cứu phát hiện đột biến gen CYP21A2 và đánh giá mối tương quan giữa kiểu gen - kiểu hình. **Phương pháp nghiên cứu:** sử dụng các kỹ thuật PCR, giải trình tự gen và MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), phát hiện và phân tích đột biến của gen CYP21A2, phân tích mối tương quan giữa kiểu gen – kiểu hình. **Kết quả:** Kết quả 100% bệnh nhân TSTTBS có đột biến gen CYP21A2 và 14/15 (93,3%) bệnh nhân có mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình gồm 3 bệnh nhân bị đột biến đồng hợp tử I172N ở thể nam hóa đơn thuần, 4 bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử IVS2-13A/C>G và 7 bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử mất đoạn lớn ở thể mất muối.

**Từ khóa:** Tăng sản thượng thận bẩm sinh, 21-OH, gen CYP21A2, kiểu gen, kiểu hình

## Abstract

**Detected a mutation in the cyp21a2 gene and correlation between phenotype and genotype in congenital adrenal hyperplasia patients caused by 21-hydroxylase deficiency**

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) caused by 21-hydroxylase deficiency (21OHD) is an autosomal recessive disorder due to mutation in the CYP21A2 gene. **Materials and methods:** Mutation analysis of the CYP21A2 was performed on 19 patients with 21OHD using PCR, direct DNA sequencing and MLPA. Correlation between phenotype and genotype was evaluated based on identified mutations and clinical manifestations. **Results:** The genetic finding of 7 males and 12 females patients are the following: IVS2-13A/C>G: 12 allele (31.6%), p.I172N: 6 allele (15.8%), p.R356W: 2 allele (5.3%) and 14 mutant alleles (7 patients) contained large deletion/conversion. Four patients had only a heterozygous mutation detected (IVS2-13A/C>G). Eight cases were homozygous mutations (4 cases with IVS2-13A/C>G, 3 cases with p.I172N and 1 case with p.R356W). In most cases there was good correlation between genotype and phenotype (14/15 patients, 93,3%). In the simple virilizing (SV) form, the most frequent genotype was homozygous for p.I172N (3/5 cases). In the salt-wasting (SW) form, the most frequent genotypes were homozygous for large deletion (7/14

cases) and homozygous for IVS-2 (3/14 cases) and compound heterozygous for IVS-2/? (3/14 cases), followed by homozygous for p.R356W (1/14 case).

**Keywords:** 21-hydroxylase, congenital adrenal hyperplasia, CYP21A2 gene, genotype, phenotype.

\* Trường Đại học Y Hà Nội; \*\* Bệnh viện Nhi Trung ương

## Đặt vấn đề

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (TSTTBS) là một nhóm các bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể, đặc trưng bởi sự thiếu hụt tổng hợp cortisol vỏ thượng thận. Khoảng 95% các trường hợp do thiếu hụt enzym 21-hydroxylase (21-OH), gây thiếu cortisol kèm theo (hoặc không) thiếu hụt aldosterone và tăng tiết androgen thượng thận. Biểu hiện lâm sàng của bệnh gồm hai thể: thể nặng (thể cổ điển) và thể nhẹ hơn (không cổ điển). Thể cổ điển có tỷ lệ mới mắc 1/10.000 - 1/16.000 trẻ đẻ sống đối với hầu hết các chủng tộc và được chia thành thể mất muối (MM) và thể nam hóa đơn thuần (NHĐT) [5-11].

Gen mã hóa 21-OH (*CYP21A2*) cùng với giả gen (*CYP21A1P*) nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể số 6 (6p21.3), nằm bên trong phức hợp kháng nguyên bạch cầu người, cách nhau khoảng 30 kb, gần kề và xen kẽ với các gen C4A và C4B mã hóa thành phần C4 bổ thể. Gen *CYP21A2* và *CYP21A1P* gồm 10 exon, có kích thước 3,4 kb. Hai gen này có trình tự nucleotid tương đồng nhau 98% ở vùng exon và 96% ở vùng intron. Đột biến gây thiếu hụt 21-OH là do sự bất chéo không đồng đều giữa các cặp nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào giảm nhiễm, các trình tự ở vùng gen giả sẽ chuyển sang gen *CYP21A2* và dẫn đến các đột biến gây bệnh. Hiện tượng tái tổ hợp trong gen chiếm khoảng 95% các đột biến gây thiếu hụt 21-OH, trong đó khoảng 75% các đột biến bình thường có mặt tại giả gen và khả năng được chuyển sang gen chức năng [5-11].

Ở Việt Nam, tỷ lệ mới mắc của TSTTBS

chưa được xác định do chương trình sàng lọc sơ sinh chưa được triển khai có hệ thống, tuy nhiên theo số liệu của bệnh viện Nhi Trung ương mỗi năm có 40 - 60 trường hợp mới được chẩn đoán và điều trị. Tính đến tháng 8/2011, tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương có khoảng 580 bệnh nhân TSTTBS được chẩn đoán và điều trị, trong đó 98% trường hợp do thiếu 21-OH. Tuy nhiên, những nghiên cứu về kiểu gen gây bệnh TSTTBS trên trẻ em Việt Nam còn nhiều hạn chế. Việc phát hiện đột biến gen gây bệnh TSTTBS là cần thiết, nhằm: Khẳng định chẩn đoán và cho phép điều trị sớm, phòng tránh được con suy thượng thận cấp cho những trường hợp có kết quả xét nghiệm hormon không rõ ràng; xác định người lành mang gen phục vụ tư vấn di truyền; chẩn đoán và điều trị trước sinh cho thai nhi gái mắc bệnh để phòng và làm giảm tình trạng nam hóa chuyển giới gây mơ hồ giới tính sau sinh; áp dụng các liệu pháp điều trị mới và liều lượng steroid thay thế trên cơ sở mối tương quan kiểu gen - kiểu hình, do đó hạn chế hậu quả ức chế tăng trưởng trên bệnh nhân khi sử dụng quá liều steroid thay thế [1].

Xuất phát từ thực tế trên, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu: **Xác định đột biến gen CYP21A2 và tìm hiểu mối tương quan giữa kiểu gen - kiểu hình ở bệnh nhân TSTTBS do thiếu hụt 21-OH tại Việt Nam.**

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Đối tượng nghiên cứu

19 bệnh nhân (7 nam; 12 nữ) được chẩn

đoán mắc bệnh TSTTBS do thiếu 21-OH (tuổi chẩn đoán từ 22 giờ tuổi đến 65 tháng tuổi) tại khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương.

5 người thuộc nhóm chứng (5 nam, 5 nữ): khỏe mạnh, tiền sử gia đình không có người mắc bệnh di truyền. Nhóm chứng được dùng để chuẩn hóa kỹ thuật và làm mẫu đối chứng âm khi thực hiện các xét nghiệm phân tích gen.

**Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:**

**Lâm sàng:** trẻ gái (46, XX) có biểu hiện nam hóa lúc sinh hoặc xuất hiện nam hóa sau sinh; trẻ trai có biểu hiện nam hóa (dậy thì sớm); trẻ có con suy thượng thận cấp, mất muối trong 4 tuần đầu sau sinh; gia đình chấp nhận phân tích đột biến gen.

**Xét nghiệm hóa sinh:** nồng độ 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) huyết thanh > 20.000 ng/dL ở thể cổ điển và >2.000 ± 15.000 ng/dL ở thể không cổ điển; điện giải đồ máu: Na<sup>+</sup> hạ và K<sup>+</sup> tăng.

**Phân loại kiểu hình (phenotype):** dựa trên các tiêu chuẩn lâm sàng và hóa sinh [11]. **Thể cổ điển mất muối:** chậm tăng cân hoặc sụt cân sau sinh, nôn và xuất hiện những dấu hiệu mất nước (có thể dẫn đến sốc), Na<sup>+</sup> máu < 130mmol/L và K<sup>+</sup> > 5,5mmol/L (khuyến cáo quốc tế của Pang và Clark, 1993), hoạt độ renin huyết thanh tăng cao bất thường. **Thể cổ điển nam hóa đơn thuần:** trẻ gái nam hóa mơ hồ giới tính và không có biểu hiện mất muối, trẻ trai có dậy

thì sớm giả và tăng phát triển chiều cao/tuổi xương. **Thể không cổ điển:** trẻ gái không có biểu hiện nam hóa bộ phận sinh dục ngoài lúc sinh và cả hai giới có phát triển sớm lông mu, trứng cá,...

**Tiêu chuẩn loại trừ**

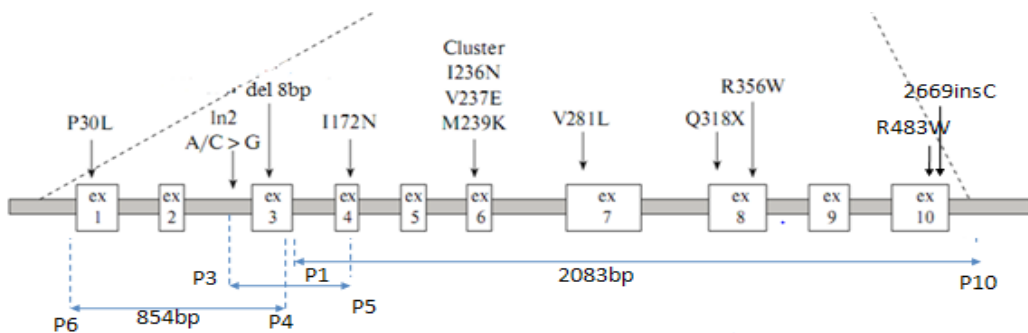
TSTTBS do thiếu các enzyme khác như 11β-hydroxylase (CYP11B1); 3β-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD3B2); gia đình không chấp nhận thực hiện phân tích gen.

**Phương pháp nghiên cứu**

**Phân tích đột biến của gen CYP21A2:**

**Chiết tách DNA:** các đối tượng nghiên cứu được lấy 2ml máu tĩnh mạch, chống đông bằng EDTA 1,5mg/ml và tuyệt đối vô trùng. DNA được chiết tách từ bạch cầu lympho máu ngoại vi theo quy trình phenol/chloroform. Mẫu DNA được đo nồng độ và độ tinh sạch bằng máy Nano – Drop, những mẫu DNA đạt tiêu chuẩn OD280/OD260 ≥ 1,8 được sử dụng để phân tích gen.

**Kỹ thuật PCR:** sử dụng 3 cặp môi đặc hiệu để khuếch đại toàn bộ chiều dài gen CYP21A2 (hình 1). Thành phần phản ứng PCR: tổng thể tích 20μl gồm: 100 - 150ng DNA, 5pmol primer, 200μmol/l dNTP, 2 đơn vị enzym Taq polymerase và 2μl GeneAmp 10x buffer. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: 94°C/5 phút, [94°C/1 phút, 60°C/1 phút, 72°C/1 phút] x 35 chu kỳ, 72°C/2 phút, giữ ở 15°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%, 90V trong 30 phút.



Hình 1. Sơ đồ vị trí các môi để khuếch đại toàn bộ gen CYP21A2

**Kỹ thuật giải trình tự gen (sequencing):**

Sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình tự trên máy *ABI-3100* tại Trung tâm Nghiên cứu Gen – Protein, trường Đại học Y Hà Nội. Kết quả được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench và được so sánh với dữ liệu từ Gene bank (Accession number NM\_0005002).

**Kỹ thuật MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification):** Sử dụng Kit MLPA P050B2 (MRC-Holland) gồm 5 probe cho gen *CYP21A2* (Ex1, Ex3, Ex4, Ex6, Ex8) tương đương với các đột biến mất đoạn 8bp, I172N, E6 cluster và Q318X; 3 probe cho gen *CYP21A1P* (E1P, I2P, E10P); 2 probe cho bộ thể C4A và C4B; 22 probe đặc trưng cho gen người (làm đối chứng); 2 probe cho nhiễm sắc thể X và Y.

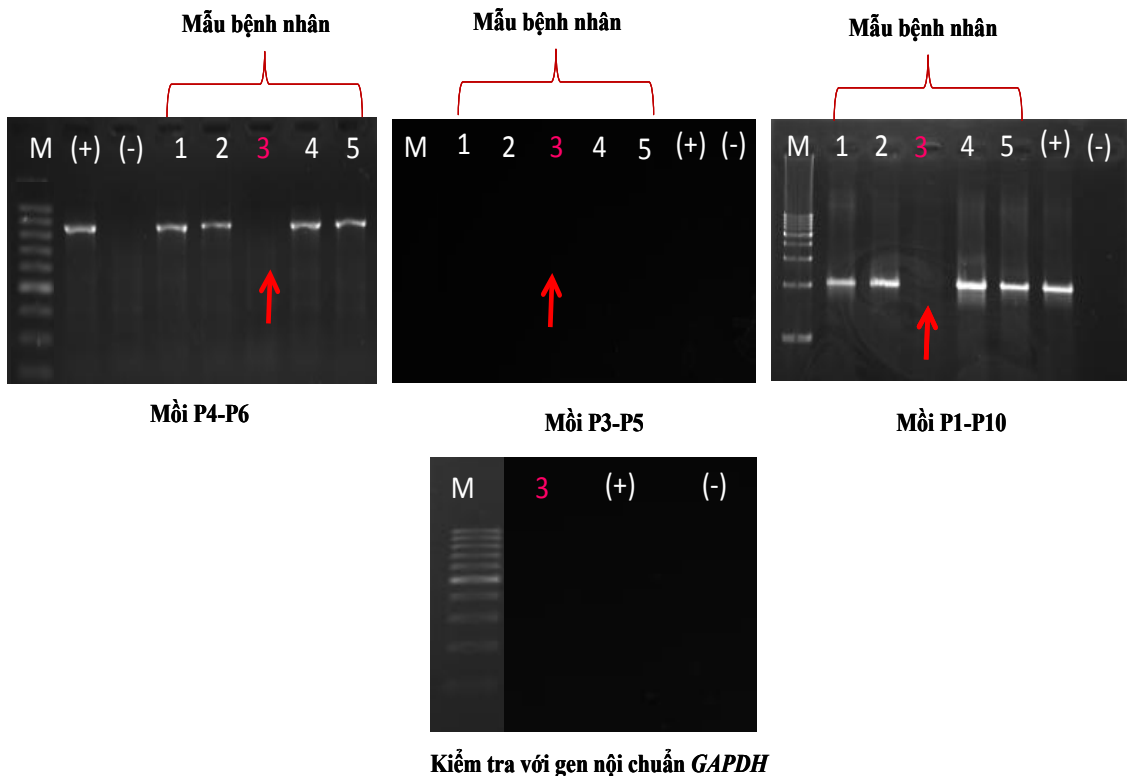
*Phân tích mối tương quan giữa kiểu gen – kiểu hình:*

Quá trình phân tích gen *CYP21A2* được tiến hành độc lập với quá trình theo dõi và đánh giá lâm sàng để xác định thể mất muối, thể nam hóa đơn thuần hay thể không cổ điển. Kết quả phân tích đột biến gen *CYP21A2* được đối chiếu với thể lâm sàng của từng bệnh nhân để xác định mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình.

**Kết quả nghiên cứu**

19 bệnh nhân TSTTBS nghiên cứu được xác định thể bệnh trên lâm sàng: 14 bệnh nhân ở thể cổ điển mất muối (nam: 6; nữ: 8) và 5 bệnh nhân ở thể cổ điển nam hóa đơn thuần (nam: 1; nữ: 4).

Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại toàn bộ gen *CYP21A2* của 19 bệnh nhân TSTTBS với 3 cặp môi đặc hiệu (hình 1): 7/19 bệnh nhân không có sản phẩm PCR được khuếch đại.



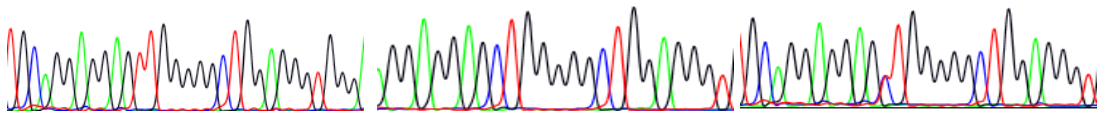
**Hình 2.** Hình ảnh điện di sản phẩm PCR của bệnh nhân mã số 3 (Bệnh nhân có gen *CYP21A2* không khuếch đại được)

7 sản phẩm PCR không xuất hiện vạch (ví dụ mẫu của bệnh nhân số 3) được kiểm tra chất lượng DNA bằng gen nội chuẩn GAPDH (hình 2), kết quả thu được chứng minh mẫu DNA của 7 bệnh nhân TSTTBS này có thể bị đột biến xóa đoạn lớn của gen CYP21A2.

Kết quả giải trình tự gen đối với các mẫu DNA có sản phẩm PCR (12/19 bệnh nhân, 63,2%): tất cả bệnh nhân đều có đột biến

điểm gen CYP21A2, bao gồm: đột biến IVS2-13A/C>G (12 allele, 31.6%) (hình 3), đột biến p.I172N (6 allele, 15.8%) (hình 4) và đột biến p.R356W (2 allele; 5.3%); trong đó 4 bệnh nhân có một allele đột biến IVS2-13A/C>G; 4 bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử IVS2-13A/C>G, 3 bệnh nhân bị đột biến đồng hợp tử p.I172N và 1 bệnh nhân bị đột biến đồng hợp tử p.R356W) (bảng 1).

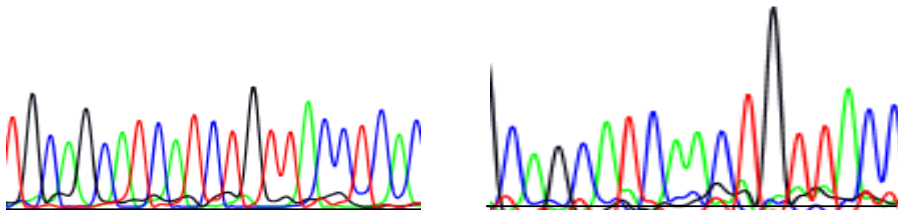
TGCAGGAGGAGCTTGGGGGGCTGGAGGGCTGGG A GGAG GAG C TGG GGGCTGGAGGGTTCAGAGGGAGCTGGGGCTGGAGGGT  
337 345 353 361 17 345 353 31 337 345 353 3



Bình thường Đột biến đồng hợp tử Đột biến dị hợp tử

Hình 3. Đột biến ở vùng gắn nối của intron 2 (IVS2-13A/C>G)

TGCAGCATCATCTGTTACCTCA( 3CAGCATCAAC TGT TACC  
277 289 17 289

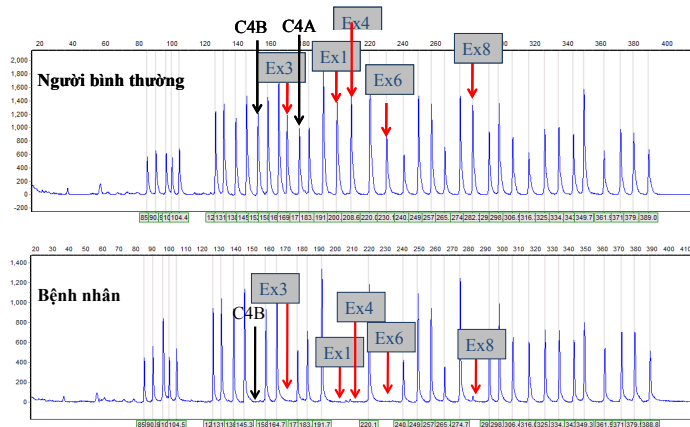


Bình thường

Đột biến đồng hợp tử

Hình 4. Đột biến I172N: bộ ba ATC (Ile) chuyển thành bộ ba AAC (Asn)

Kết quả MLPA của các mẫu DNA không có sản phẩm PCR (7/19 bệnh nhân, 36,8%): các bệnh nhân bị đột biến xóa đoạn lớn (hình 5).



Hình 5. Hình ảnh MLPA của bệnh nhân bị xóa đoạn gen C4B đến exon8 gen CYP21A2

**Kiểu gen và kiểu hình của 19 bệnh nhân TSTTBS:***Bảng 1. Kiểu gen và kiểu hình của bệnh nhân TSTTBS do thiếu 21-OH*

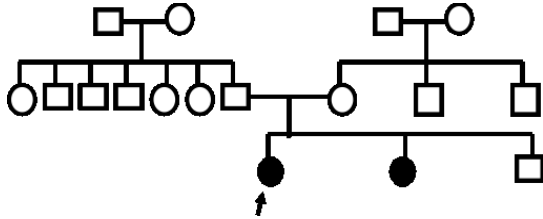
Số thứ tự	Tuổi chẩn đoán	Giới	Thể lâm sàng	Kiểu gen
1	22 tháng	Nữ	NHĐT	I172N/I172N
2	48 tháng	Nữ	NHĐT	I172N/I172N
3	30 tháng	Nữ	NHĐT	I172N/I172N
4	30 ngày	Nữ	MM	IVS2-13A/C>G/ IVS2-13A/C>G
5	60 ngày	Nữ	MM	IVS2-13A/C>G/ IVS2-13A/C>G
6	3 tháng	Nam	MM	IVS2-13A/C>G/ IVS2-13A/C>G
7	65 tháng	Nam	NHĐT	IVS2-13A/C>G/ IVS2-13A/C>G
8	48 tháng	Nữ	NHĐT	IVS2-13A/C>G/?
9	6 ngày	Nữ	MM	IVS2-13A/C>G/?
10	22 giờ	Nữ	MM	IVS2-13A/C>G/?
11	51 ngày	Nam	MM	IVS2-13A/C>G/?
12	19 ngày	Nam	MM	R356W/R356W
13	29 ngày	Nữ	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
14	60 ngày	Nam	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
15	18 ngày	Nam	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
16	20 ngày	Nam	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
17	20 ngày	Nữ	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
18	28 ngày	Nữ	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao
19	10 ngày	Nữ	MM	Xóa đoạn lớn hai bản sao

14/15 (93,3%) trường hợp có sự phù hợp giữa kiểu gen và kiểu hình. Kiểu gen thường gặp ở thể nam hóa đơn thuần là đồng hợp tử p.I172N (3/5); trong đó 2 bệnh nhân là hai chị em ruột trong 1 gia đình (hình 6) có biểu hiện nam hóa chuyển giới gây mơ hồ

giới tính, 1 bệnh nhân nam dậy thì sớm giả được chẩn đoán lúc 5,5 tuổi và tiền sử tăng cân chậm từ 2 tháng sau sinh. Thể mất muối gặp kiểu gen chủ yếu là đột biến xóa đoạn lớn (7/14), đột biến đồng hợp tử IVS2-13A/C>G(3/14), dị hợp tử kép IVS2-13A/C>G/?



(3/14) và đồng hợp tử p.R356W (1/14) (bảng 1). Đặc biệt bệnh nhân số 10 (bảng 1) được chẩn đoán lúc 22 giờ tuổi do mơ hồ giới tính (hình 7-B) và chưa có biểu hiện mất muối, bệnh nhân được điều trị hormon thay thế ngay sau khi được chẩn đoán, quá trình theo dõi lâm sàng phát hiện trẻ bị xuất hiện cơn suy thượng thận cấp lúc 1 tháng 20 ngày ( $\text{Na}^+$  máu: 126 mmol/l).



Hình 6. Phả hệ của gia đình bệnh nhân TSTTBS thể cổ điển nam hóa đơn thuần



Hình 7. Kiểu hình của 2 bệnh nhân TSTTBS

A: Bệnh nhân nữ, thể cổ điển mất muối, bộ phận sinh dục ngoài nam hóa gây mơ hồ giới tính (âm vật phì đại như dương vật), thâm da, đột biến đồng hợp tử IVS2-13A/C>G

B: Bệnh nhân nữ 22 giờ tuổi, thể cổ điển mất muối, bộ phận sinh dục ngoài nam hóa gây mơ hồ giới tính, âm vật phì đại như dương vật, môi lớn đích như bùi, thâm da, kiểu gen: IVS2-13A/C>G/?

### Bàn luận

7/19 bệnh nhân mắc TSTTBS do thiếu

hạt 21-OH thể cổ điển mất muối có đột biến xóa đoạn. Các đột biến điểm được phát hiện ở 12 bệnh nhân còn lại. Tổng số allele đột biến được phát hiện là 34/38 (89,4%). Trong nghiên cứu này, tần suất các đột biến không phát hiện được là 4/38 (10,5%). Tỷ lệ các allele đột biến không phát hiện được khác nhau từ 0 đến 26,7% trong các nghiên cứu khác nhau [2-3-4-5-6-7-8].

Đột biến của gen CYP21A2 được nghiên cứu rộng rãi ở nhiều nước trên bệnh nhân từ nhiều chủng tộc khác nhau. Đến nay đã có hơn 150 đột biến khác nhau của gen CYP21A2 đã được báo cáo (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles/cyp21.htm>). Các đột biến phổ biến của gen CYP21A2 bao gồm: IVS2-13A/C>G, p.Pro30Leu, p.Ile172Asn, exon 6 mutation cluster p.(Ile237Asn, Val238Glu, Met240Lys), p.Val282Leu, p.Leu308PhefsX6, p.Gln319X, p.Arg357Trp, p.Pro454Ser, p.Gly111ValfsX21 và 30-kb chimeric giả gen [2-3-4-5-6-7-8-12]. Nghiên cứu này đã phát hiện 4 đột biến khác nhau trên 19 bệnh nhân TSTTBS, bao gồm: đột biến xóa đoạn lớn, đột biến trên intron 2 (IVS2-13A/C>G); I172N và p.R356W.

Đột biến xóa đoạn lớn trong nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao (36,8%). Tỷ lệ này tương tự với nghiên cứu của các tác giả Úc trên 242 allele đột biến (35,5%) [6], nghiên cứu của các tác giả Mỹ trên 182 bệnh nhân TSTTBS (30,5%) [5]. Tỷ lệ thấp hơn của đột biến xóa đoạn lớn được phát hiện trong các nghiên cứu trên chủng tộc người Trung Hoa – Hồng Kông (27%), Trung Hoa – Đài Loan (9,5%); Nhật Bản (11,8%), Singapor (gốc Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia) (3,9%) [2]. Theo số liệu giải trình tự cho 6.400 allele trên 3.200 bệnh nhân TSTTBS ở châu Âu, đột biến xóa đoạn lớn chiếm 25% [8] và với 3454 allele đột biến của các nghiên cứu trên toàn thế giới thì đột biến này chiếm 24,4% [6]. Đột biến xóa đoạn lớn dẫn đến mất toàn bộ hoạt độ enzym 21-OH, do đó bệnh nhân sẽ biểu hiện thể lâm sàng

nặng – thể cổ điển mất muối [11-12]). Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả trên các bệnh nhân trong nghiên cứu này, 7/7 bệnh nhân có đột biến xóa đoạn lớn ở thể lâm sàng cổ điển mất muối. Những năm gần đây, ngày càng nhiều nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật MLPA xác định các đột biến xóa đoạn lớn của gen *CYP21A2* thay thế cho kỹ thuật phân tích Southern blot [3].

Đột biến trên intron 2 (IVS2-13A/C>G) làm thay đổi quá trình gắn nối ở intron 2 dẫn đến hậu quả giữ lại 19 nucleotid mà bình thường không có ở phân tử mRNA. Đây là đột biến có tần xuất thứ hai được phát hiện trong nghiên cứu (12 allele; 31.6%). Đột biến này chiếm 29,8% trong tổng số 3.454 allele đột biến được phát hiện trong các nghiên cứu trên toàn thế giới [6], chiếm 30% trong tổng số 6400 allele trên 3.200 bệnh nhân TSTTBS ở châu Âu [8] và chiếm 23,4% trên 182 bệnh nhân Mỹ [5]. Trên bệnh nhân TSTTBS ở châu Á, đột biến này chiếm 27%, 34%, 26,5% và 32,7% tương ứng với nhóm bệnh nhân người Trung Quốc – Hồng Kông, Trung Quốc – Đài Loan, Nhật Bản và Singapor [2]. Trong nghiên cứu này, 3/4 bệnh nhân đồng hợp tử IVS2-13A/C>G có kiểu hình là thể cổ điển mất muối và 1/4 bệnh nhân được chẩn đoán lúc 5,5 tuổi, không có bằng chứng lâm sàng và hóa sinh của thể cổ điển mất muối.

Đột biến p.I172N chiếm tỷ lệ 15,8% trong nghiên cứu. Tỷ lệ này tương tự với kết quả thu được từ một nghiên cứu phân tích 3.454 allele của bệnh nhân TSTTBS trên toàn thế giới (14,5%) [6] và từ nghiên cứu phân tích 6.400 allele trên các bệnh nhân TSTTBS ở châu Âu (17%) [8]. Các nghiên cứu trên bệnh nhân TSTTBS ở châu Á (Trung Quốc, Nhật Bản, Malaysia) đã phát hiện đột biến này với tần suất từ 11,8% đến 17,6% [2]. Đây là đột biến đặc hiệu có kiểu hình lâm sàng thể cổ điển nam hóa đơn thuần vì hoạt độ enzyme 21-OH còn khoảng 1% [11-12]. Điều này phù

hợp với 3 bệnh nhân nữ trong nghiên cứu mang đột biến đồng hợp tử p.I172N đều ở thể lâm sàng nam hóa đơn thuần.

Đột biến p.R356W chiếm 5,3% trong nghiên cứu. Đột biến này chiếm 4,2% trong nghiên cứu trên 454 bệnh nhân TSTTBS người Argentinean [7], 3,6 % trên 182 bệnh nhân TSTTBS ở Mỹ [5] và tỷ lệ này cao hơn trong các nghiên cứu ở những nước châu Á khác (9,5% ÷ 19,2% ở người Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn độ, Malaysia) [2]. Đột biến này gây mất toàn bộ hoạt độ enzyme 21-OH và bệnh nhân ở thể lâm sàng nặng. Nghiên cứu này có 1 bệnh nhân TSTTBS mang đột biến p.R356W ở thể lâm sàng cổ điển mất muối.

Sự phù hợp giữa kiểu gen và kiểu hình ở bệnh nhân TSTTBS trong nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao (93,3%), tương tự với kết quả của nhiều nghiên cứu trong y văn [5-7-11-12]. Nghiên cứu sự phù hợp giữa kiểu gen và kiểu hình có vai trò đặc biệt quan trọng trong chẩn đoán và điều trị TSTTBS, đặc biệt với các trường hợp được chẩn đoán lâm sàng sớm hoặc được chẩn đoán dựa vào sàng lọc sơ sinh hoặc các trường hợp kết quả xét nghiệm hormon không rõ ràng. Khi các biểu hiện mất muối của trẻ bị bệnh TSTTBS chưa xuất hiện thì kết quả phân tích gen *CYP21A2* có giá trị định hướng phân loại và chỉ định điều trị hormon thay thế bằng hydrocortisone cho thể nam hóa đơn thuần hoặc hydrocortisone kết hợp với hormon chuyển hóa muối nước (fludrocortisone-Florinef) cho thể mất muối [1].

### Kết luận

19/19 (100%) bệnh nhân TSTTBS được phát hiện có đột biến khác nhau của gen *CYP21A2* bằng kỹ thuật PCR, giải trình tự gen và MLPA: 7/19 (36,8%) bệnh nhân bị đột biến mất đoạn lớn; 8/19 (42,1%) bệnh nhân có đột biến IVS2-13A/C>G, trong



đó 4 bệnh nhân ở dạng đồng hợp tử và 4 bệnh nhân ở dạng dị hợp tử; 3/19 (15,8%) bệnh nhân bị đột biến đồng hợp tử I172N và 1/19 (5,3%) bệnh nhân có đột biến đồng

hợp tử R365W.

Sự phù hợp giữa kiểu gen và kiểu hình ở các bệnh nhân TSTTBS trong nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao 14/15 (93,3%) bệnh nhân.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Balsamo A, Baldazzi L, Menabò S, Cicognani A. (2010). Impact of molecular genetics on congenital adrenal hyperplasia management. *Sex Dev.* 4 (4-5): 233 - 48.
2. Chan AO, But WM, Ng KL, Wong LM, Lam YY. (2011). Molecular analysis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in Hong Kong Chinese patients. *Steroids.* 2011 Apr 28. [Epub ahead of print]
3. Concolino P, Mello E, Toscano V, Ameglio F, Zuppi C, Capoluongo E. (2009). Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) assay for the detection of CYP21A2 gene deletions/duplications in congenital adrenal hyperplasia: first technical report. *Clin Chim Acta.* 402 (1-2): 164 - 70.
4. Concolino P, Mello E, Zuppi C, Capoluongo E. (2010). Molecular diagnosis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: an update of new CYP21A2 mutations. *Clin Chem Lab Med.* 48 (8): 1057 - 62.
5. Finkelstein GP, Chen W, Mehta SP, Fujimura FK, Hanna RM, Van Ryzin C, McDonnell NB, Merke DP. (2011). Comprehensive genetic analysis of 182 unrelated families with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 96 (1): E161 - 72.
6. Huynh T, McGown I, Cowley D, Nyunt O, Leong GM, Harris M, Cotterill AM. (2009). The clinical and biochemical spectrum of congenital adrenal hyperplasia secondary to 21-hydroxylase deficiency. *Clin Biochem Rev.* 30(2):75-86.
7. Marino R, Ramirez P, Galeano J, Garrido NP, Rocco C, Ciaccio M et al. (2011). Steroid 21-hydroxylase gene mutational spectrum in 454 Argentinean patients: genotype-phenotype correlation in a large cohort of patients with congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011 May 24. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04123.x. [Epub ahead of print]
8. Tardy V, Menassa R, Sulmont V, Lienhardt-Roussie A, Lecointre C, Brauner R, David M, Morel Y. (2010). Phenotype-genotype correlations of 13 rare CYP21A2 mutations detected in 46 patients affected with 21-hydroxylase deficiency and in one carrier. *J Clin Endocrinol Metab.* 95 (3): 1288 - 300.
9. Vu Chi Dung, Bui Phuong Thao et al. (2011) Registry of congenital adrenal hyperplasia in Vietnam. *Hormone Research in Paediatrics.* 76 (Suppl. 2).
10. Vu Chi Dung, Bui Phuong Thao, Nguyen Thi Hoan, Nguyen Thanh Liem et al. (2010). Growing numbers of children with CAH in Vietnam?. *International Journal of Pediatric Endocrinology, Volume 2010, Article ID 358358.* pp: 60
11. White PC, Speiser PW. (2000). Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev.* 21 (3): 245 - 91.
12. Wilson RC, Nimkarn S, Dumic M, Obeid J, Azar MR, Najmabadi H, Saffari F, New MI. (2007). Ethnic-specific distribution of mutations in 716 patients with congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab.* 90 (4): 414 - 21.