

Qua nghiên cứu 30 bệnh nhân đau dây thần kinh tọa do thoát vị đĩa đệm cột sống thắt lưng chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

Điện châm kết hợp kéo giãn cột sống thắt lưng là phương pháp có hiệu quả trong điều trị đau thần kinh tọa do thoát vị đĩa đệm với 80% tốt, 13,3% khá, 6,7% trung bình, không có trường hợp nào xếp loại kém.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ môn Nội**, Trường Đại học Y Hà Nội (2006), Bài giảng bệnh học nội khoa tập II, Nhà xuất bản Y học, tr 271.

2. **Lê Thị Tranh (2003)**, Đánh giá tác dụng điều trị đau dây thần kinh tọa bằng điện châm các huyệt trên kinh thận, kinh bàng quang, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.

3. **Cherkin D. C., Eisenberg D., Sherman K. J. et al. (2007)**, "Randomized trial comparing traditional Chinese medical acupuncture, therapeutic massage, and self-care education for chronic lowback pain", Arch. Intern. Med., 161(8), pp. 1081 - 8.

4. **Bùi Thanh Hà, Trần Quốc Bảo, Đỗ Việt Phương (2010)**, "Nghiên cứu hiệu quả điều trị thoát vị đĩa đệm cột sống thắt lưng bằng phương pháp kết hợp điện châm với kéo giãn cột sống", Tạp chí thần kinh học số 45-Báo cáo khoa học.

ĐÁNH GIÁ MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA KIỂU GEN VÀ KIỂU HÌNH BỆNH TĂNG SẢN THƯƠNG THẬN BẨM SINH THỂ THIỂU ENZYM 21-HYDROXYLASE

Vũ Chí Dũng***, Trần Văn Khánh*, Trần Huy Thịnh*

TÓM TẮT

Tăng sản thượng thận bẩm sinh là bệnh gây nên do đột biến gen CYP21A2 làm mất một phần hoặc hoàn toàn chức năng enzym 21-hydroxylase. Các nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra mối tương quan chặt chẽ giữa thể đột biến và kiểu hình của các bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh và đã phân loại đột biến gen CYP21A2 thành 4 nhóm (NULL, A, B, C) dựa trên mức độ ảnh hưởng của đột biến tới chức năng 21-Hydroxylase. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: Đánh giá mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình trên các bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21-hydroxylase. 183 bệnh nhân được lựa chọn vào nghiên cứu; tiến hành xác định và phân loại đột biến, đồng thời đánh giá mối tương quan giữa kiểu gen với thể bệnh trên lâm sàng. Kết quả đã chỉ ra rằng: tỉ lệ của nhóm có kiểu gen NULL là 49%, nhóm A chiếm 31%, nhóm B chiếm 18% và nhóm C chiếm 2%. Đánh giá mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình đã cho thấy giá trị dự báo dương tính của 4 nhóm kiểu gen NULL, A, B, C lần lượt là 99,8%; 96,5%; 90,6% và 100%. Phân tích mức độ nam hóa của các kiểu gen cho thấy nhóm NULL có tỷ lệ nam hóa nặng cao nhất, trong đó Prader IV-V chiếm 56,1%, Prader độ III chiếm 39%. Nhóm A có tỷ lệ các các nam hóa Prader III cao nhất chiếm 68,2%. Nhóm kiểu gen B có tỷ lệ Prader I-II (40%) và III (40%). Bệnh nhân nhóm C chỉ xuất hiện Prader độ I. **Từ khóa:** TSTTBS, tương quan kiểu gen kiểu hình, 21-Hydroxylase

SUMMARY

ASSESSING GENOTYPE-PHENOTYPE RELATIONSHIP IN CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA DUE TO 21-HYDROXYLASE DEFICIENCY

Congenital adrenal hyperplasia is a disease caused by mutations in the CYP21A2 gene that partially or completely affect 21-hydroxylase enzyme function. Researchs have shown a strong correlation between genotype and phenotype of congenital adrenal hyperplasia patients and have classified CYP21A2 mutations into four groups (NULL, A, B, C) based on the effects of the mutations on 21-hydroxylase function. The study was conducted with the aim of: Evaluating the correlation between genotype and phenotype in patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. 183 patients were selected for the study; the patients were evaluated for clinical characteristics and genotype-phenotype correlation were assessed. The results showed that the genotype group NULL accounted for 49%, A accounted for 31%, group B 18% and group C 2%. Evaluation of the correlation between genotype and phenotype showed that the positive predictive value of the four mutation groups (NULL, A, B, C) were 99.8%; 96.5%; 90.6% and 100%. Analysis of the level of virilization showed that the NULL group had the highest severity of virilization, in which Prader IV-V accounted for 56.1%, Prader III accounted for 39%. Group A had the highest proportion of Prader III (68.2%). Group B genotypes have Prader I-II accounted for 40% and III accounted for 40%. Group C patients exhibit only grade I Prader.

Keywords: Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency, Genotype-Phenotype correlation, 21-Hydroxylase

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Trường Đại học Y Hà Nội;

**Bệnh viện Nhi Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Trần Huy Thịnh

Email: tranhuythinh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 13.01.2021

Ngày phản biện khoa học: 12.3.2021

Ngày duyệt bài: 23.3.2021

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (TSTTBS) là bệnh gây nên do đột biến gen CYP21A2 làm mất một phần hoặc hoàn toàn chức năng enzym 21-hydroxylase [1]. Tần suất mắc bệnh được ước tính dao động từ 1/10000 đến 1/20000 trẻ sinh ra. [2], [3]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh mối tương quan chặt chẽ giữa đột biến và kiểu hình của các bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21-hydroxylase. Có nhiều cách phân loại nhóm đột biến, tuy nhiên cách phân loại được công nhận rộng rãi nhất hiện nay là của Krone và cộng sự (2000). Nhóm tác giả đã phân loại đột biến CYP21A2 thành 4 nhóm đột biến chính: NULL, A, B và C dựa trên mức độ ảnh hưởng của đột biến đến chức năng enzyme 21-Hydroxylase [4]. Nhóm NULL bao gồm các đột biến đồng hợp tử hoặc di hợp tử kết hợp xóa đoạn gen; exon 6 cluster; p.L307FfsX6; p.Q318X; p.R356W; các đột biến tạo mã kết thúc sớm (vô nghĩa) hoặc đột biến lệch khung. Kiểu gen có chứa 1 allele I2g (Intron 2 656C/A>G) được xếp vào nhóm A. Nhóm B bao gồm các allele p.I172N và nhóm C gồm đột biến p.P30L và p.V281L [5].

Việc áp dụng cách phân loại này có ưu điểm giúp dự đoán được kiểu hình của bệnh nhân; cụ thể đột biến nhóm NULL và A thường gây tăng sản thượng thận thể bệnh mất muối, nhóm B thường gây thể nam hóa đơn thuần và nhóm C gây thể không cổ điển. Đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới sử dụng cách phân loại này với tỉ lệ dự báo dương tính (PPV) cao. Nghiên cứu của Krone và cộng sự đã chỉ ra tỉ lệ dự báo dương tính đối với nhóm NULL là 100%, nhóm A là 90%, 74% với nhóm B và nhóm C là 64,7% [4]. Ngoài ra, kiểu gen còn có tương quan với mức độ nam hóa đối với các bệnh nhân nữ mắc bệnh, được đánh giá qua thang phân loại Prader; trong đó bệnh nhân mang đột biến nhóm NULL và A sẽ có mức độ nam hóa cao hơn bệnh nhân nhóm B và C [6]. Tại Việt Nam chưa có một nghiên cứu nào đánh giá mức độ tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21 hydroxylase. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Đánh giá đặc điểm cận lâm sàng và mối tương quan với các nhóm đột biến của bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21 hydroxylase.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng. 183 bệnh nhân TSTTBS thể thiếu enzym 21 hydroxylase được chẩn đoán và điều trị tại Khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương.

2. Phương pháp

Kỹ thuật tách chiết DNA. DNA được tách chiết từ bạch cầu máu ngoại vi theo quy trình phenol/chloroform. Tất cả các mẫu DNA sẽ được tiến hành đo nồng độ và độ tinh sạch, chỉ có mẫu DNA đạt giá trị $\geq 1,8$ mới đạt yêu cầu về tinh sạch và được sử dụng để phân tích.

Kỹ thuật giải trình tự gen. Toàn bộ chiều dài gen CYP21A2 được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm PCR sau khi điện di trên gel agarose được tinh sạch bằng Gel purification Kit trước khi tiến hành giải trình tự gen. Để giải trình tự được toàn bộ gen CYP21A2, sử dụng các mồi được thiết kế sẵn. Quy trình được thực hiện theo phương pháp BigDye terminator sequencing (Applied Biosystems, Foster city, USA). Kết quả giải trình tự gen được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench. Mẫu DNA của bệnh nhân được so sánh với mẫu DNA đối chứng và trình tự của CYP21A2 trên GeneBank (Accession number NM_0005002)

Kỹ thuật MLPA. Sử dụng kit MLPA P050B2 (MRC- Holland) để phát hiện đột biến xóa đoạn trên bệnh nhân và người lành mang gen bệnh. Thành phần của kit gồm các đầu dò (probe) để khuếch đại gen CYP21A2, mỗi đầu dò tương ứng với một vùng gen, ngoài ra còn có các đầu dò đặc trưng cho gen của người cũng được sử dụng để làm đối chứng và 2 đầu dò cho nhiễm sắc thể X và Y để xác định giới tính. Sản phẩm khuếch đại sẽ được điện di mao quản trên máy giải trình tự. Số lượng sản phẩm khuếch đại của mỗi đầu dò sẽ tỷ lệ thuận với số bản copy của đoạn DNA đích đặc hiệu với đầu dò đó.

Phân nhóm đột biến. Các nhóm đột biến được xếp theo phân loại của Krone và cộng sự [4]. Có 4 nhóm đột biến chính là NULL, A, B và C được phân loại phụ thuộc mức độ ảnh hưởng của đột biến đến hoạt độ 21-Hydroxylase.

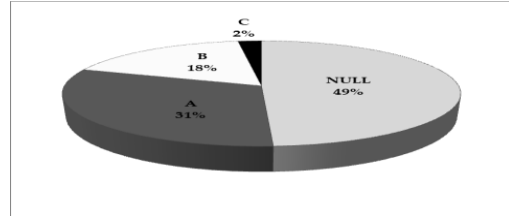
Kiểu hình lâm sàng. Được thu thập tại Khoa Nội tiết – Chuyển hóa – Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương, mỗi bệnh nhân có hồ sơ nghiên cứu riêng: vẽ phả hệ gia đình, hỏi tiền sử, bệnh sử, khám lâm sàng toàn diện: phát hiện các triệu chứng xam da, mất nước, khám bộ phận sinh dục ngoài gồm phân loại mức độ nam hóa theo Prader, đánh giá các giai đoạn dậy thì bao gồm: các giai đoạn phát triển lông mu ở cả hai giới; các giai đoạn phát triển tuyến vú ở bệnh nhân nữ; đo chiều dài và chu vi dương vật; đo thể tích tinh hoàn, phát hiện các biểu hiện khác như: giọng ồm, ria mép ở bệnh nhân nữ; cơ bắp phát triển, trứng cá ở cả hai giới.

Các xét nghiệm sinh hóa. Được thực hiện tại Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương, bệnh phẩm 2ml máu ngoại vi chống đông bằng heparin được thu thập trước khi điều trị hormon thay thế, bao gồm: điện giải đồ huyết thanh (nồng độ Na⁺, K⁺ và Cl⁻) theo phương pháp điện cực chọn lọc ion gián tiếp, sử dụng máy tự động Beckman Coulter AU2700/ AU 680. Định lượng các hormon ACTH, cortisol, testosterone, androstenedione được tiến hành với các kit thương mại. Định lượng 17-OHP bằng phương pháp ELISA, kit của hãng DRG và máy đọc Elx808.

3. Đạo đức nghiên cứu trong Y học. Nghiên cứu tuân thủ tuyệt đối các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh. Bệnh nhân hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Bệnh nhân hoàn toàn có quyền rút lui khỏi nghiên cứu khi không đồng ý tiếp tục tham gia vào nghiên cứu. Bệnh nhân sẽ được thông báo

về kết quả xét nghiệm gen để giúp cho các bác sỹ tư vấn di truyền hoặc lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp. Các thông tin cá nhân sẽ được đảm bảo bí mật.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Hình 1: Tỷ lệ các nhóm đột biến

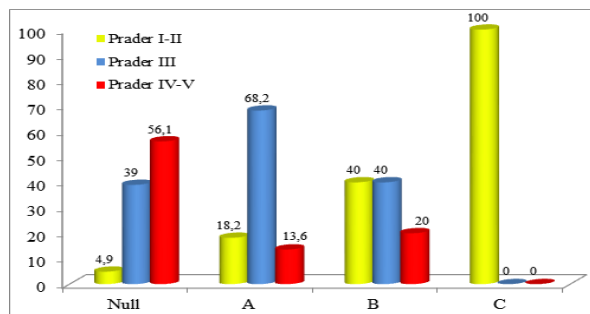
Kết quả xác định đột biến và phân loại nhóm đột biến cho thấy nhóm đột biến chiếm tỷ lệ cao nhất là nhóm NULL (49%). Đứng thứ hai là nhóm A (31%), nhóm B chiếm tỷ lệ 18% và nhóm C có tỷ lệ thấp nhất (2%).

Bảng 1. Kiểu gen - kiểu hình của bệnh nhân TSTTBS có kiểu gen thuộc nhóm "NULL", A, B và C

Nhóm đột biến			Kiểu hình dự báo	Kiểu hình của các bệnh nhân nghiên cứu			Tổng số	Tỷ lệ dự báo dương tính
Nhóm	Alen 1	Alen 2		MM	NHĐT	Không cổ điển		
NULL	NULL	NULL	MM	88	2	0	90	99,8%(88/90)
A	A	O	MM	28	0	0	57	96,5% (55/57)
	A	A	MM	27	2	0		
	Cộng			55	2	0		
B	B	NULL	NHĐT	0	17	0	32	90,6% (29/32)
	B	A	NHĐT	1	4	0		
	B	B	NHĐT	2	8	0		
	Cộng			3	29	0		
C	C	NULL	Không cổ điển	0	0	4	4	100% (4/4)

Ghi chú: NULL: đột biến xóa đoạn gen; exon 6 cluster; p.L307FfsX6; p.Q318X; p.R356W; các đột biến mới gây lệch khung dịch mã trên cả 2 alen; A (I2g); B (p.I172N); C (p.P30L; p.V281L).

Nhóm kiểu gen "NULL" và "A" có kiểu hình chủ yếu là thể mất muối; nhóm kiểu gen B có kiểu hình chủ yếu là thể nam hóa đơn thuần. Giá trị dự báo kiểu hình dương tính của các nhóm kiểu gen "NULL", A, B và C tương ứng là 99,8%; 96,5%; 90,6% và 100%.



Hình 2. Tỷ lệ (%) của các mức độ nam hóa theo phân loại Prader (I-V) của từng nhóm kiểu gen khác nhau

Hình 2 biểu diễn mối tương quan giữa nhóm đột biến và mức độ nam hóa trên các bệnh nhân nữ tăng sản thượng thận bẩm sinh. Nhóm kiểu gen NULL có tỷ lệ nam hóa nặng cao nhất, trong đó Prader IV-V chiếm 56,1%, Prader độ III chiếm 39%. Nhóm A có tỷ lệ các các ca nam hóa Prader III cao nhất chiếm 68,2%. Nhóm kiểu gen B có tỷ lệ Prader I-II (40%) và III (40%). Bệnh nhân nhóm C chỉ xuất hiện Prader độ I.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu được thực hiện trên 183 bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21 hydroxylase nhằm đánh giá tương

quan giữa kiểu gen đột biến CYP21A2 với kiểu hình. Qua phân tích và phân loại các đột biến, phát hiện nhóm đột biến chiếm tỉ lệ cao nhất là nhóm NULL (49%). Đứng thứ hai là nhóm A (31%), nhóm B chiếm tỉ lệ 18% và nhóm C có tỉ lệ thấp nhất (2%). Nghiên cứu của Krone và cộng sự trên 155 bệnh nhân người Đức phát hiện nhóm NULL có tỉ lệ thấp hơn là 21%, hai nhóm đột biến A và B đều chiếm tỉ lệ 34% và nhóm C chiếm 11%[4]. Sự khác biệt này được giả thiết là do trong nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân nặng chiếm tỉ lệ cao hơn, do đó dẫn đến xu hướng tăng các kiểu gen thuộc nhóm NULL và kiểu gen thuộc nhóm B và C sẽ có tỉ lệ thấp hơn. Ngoài ra cũng không loại trừ khác biệt xảy ra do đặc điểm đột biến khác nhau giữa các chủng tộc.

Kết quả phân tích tương quan kiểu gen- kiểu hình cho thấy nhóm kiểu gen "NULL" và "A" có kiểu hình chủ yếu là thể mất muối; nhóm kiểu gen B có kiểu hình chủ yếu là thể nam hóa đơn thuần. Giá trị dự báo kiểu hình dương tính của các nhóm kiểu gen "NULL", A, B và C tương ứng là 99,8%; 96,5%; 90,6% và 100%. So sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, Krone và cộng sự báo cáo giá trị dự báo dương tính của nhóm kiểu gen NULL là 100%, nhóm A là 90%, 74% với nhóm B và nhóm C là 64,7%. Có thể nhận thấy xu hướng giảm dần của giá trị chẩn đoán dương tính từ nhóm NULL tới nhóm A và B. Xu hướng này có thể được giải thích bởi các bệnh nhân mang các đột biến có hậu quả ít nghiêm trọng hơn (nhóm A, B) sẽ có biểu hiện lâm sàng đa dạng hơn [7], [8]. Trong nghiên cứu này, nhóm kiểu gen C có số lượng bệnh nhân ít (4 bệnh nhân) nên chưa thể kết luận được về giá trị chẩn đoán dương tính của kiểu gen này.

Đồng thời với thể bệnh lâm sàng thì mức độ nam hóa trên các bệnh nhân nữ cũng có tương quan với kiểu gen. Cụ thể, kiểu gen nhóm NULL có mức độ nam hóa nặng nề nhất, tiếp đến là nhóm A, nhẹ hơn là nhóm B và nhóm C chỉ bao gồm các bệnh nhân Prader độ I (mức độ nhẹ nhất). Kết quả này có thể được giải thích bởi mức độ ảnh hưởng khác nhau của các nhóm kiểu gen lên chức năng của enzyme 21-Hydroxylase [3]. Nhóm kiểu gen NULL làm mất hoàn toàn chức năng của enzyme 21-Hydroxylase (hoạt độ 21-hydroxylase in vitro là 0%), dẫn đến tăng quá mức sản xuất androgen dẫn đến nam hóa nặng ở những bệnh nhân mang kiểu gen này. Nhóm kiểu gen A và B vẫn còn giữ lại được 1 phần hoạt tính 21-hydroxylase (A: 1%; B: 1-5%) nên gây hậu quả nam hóa

không nặng nề bằng nhóm NULL. Nhóm C còn giữ lại được hoạt độ 21-hydroxylase cao nhất (20-50%) do vậy ít dẫn đến tổng hợp thừa androgen và gây ra thể nam hóa nhẹ nhất.

V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu trên 183 bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzym 21 hydroxylase cho thấy có mối tương quan giữa kiểu gen và đặc điểm lâm sàng: phát hiện giá trị dự báo dương tính của 4 nhóm kiểu gen NULL, A, B, C lần lượt là 99,8%; 96,5%; 90,6% và 100%. Đánh giá mức độ nam hóa của các kiểu gen cho thấy nhóm NULL có tỷ lệ nam hóa nặng cao nhất, trong đó Prader IV-V chiếm 56,1%, Prader độ III chiếm 39%. Nhóm A có tỷ lệ các ca nam hóa Prader III cao nhất chiếm 68,2%. Nhóm kiểu gen B có tỷ lệ Prader I-II (40%) và III (40%). Bệnh nhân nhóm C chỉ xuất hiện Prader độ I.

Lời cảm ơn. Nghiên cứu được thực hiện sự giúp đỡ của các cán bộ của Trung tâm nghiên cứu Gen- Protein, Bộ môn Nhi, Trường Đại học Y Hà Nội; Khoa Nội tiết-Chuyển hóa- Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Parsa A.A. và New M.I. (2017).** Steroid 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **165**, 2–11.
2. **White P.C. (2000).** Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Endocr Rev*, **21(3)**, 245–291.
3. **Gonçalves J., Friães A., và Moura L. (2007).** Congenital adrenal hyperplasia: focus on the molecular basis of 21-hydroxylase deficiency. *Expert Rev Mol Med*, **9(11)**, 1–23.
4. **Krone N., Braun A., Roscher A.A. và cộng sự. (2000).** Predicting phenotype in steroid 21-hydroxylase deficiency? Comprehensive genotyping in 155 unrelated, well defined patients from southern Germany. *J Clin Endocrinol Metab*, **85(3)**, 1059–1065.
5. **Krone N. và Arlt W. (2009).** Genetics of congenital adrenal hyperplasia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, **23(2)**, 181–192.
6. **New M.I. (2003).** Inborn errors of adrenal steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, **211(1–2)**, 75–84.
7. **Jääskeläinen J., Levo A., Voutilainen R. và cộng sự. (1997).** Population-wide evaluation of disease manifestation in relation to molecular genotype in steroid 21-hydroxylase (CYP21) deficiency: good correlation in a well defined population. *J Clin Endocrinol Metab*, **82(10)**, 3293–3297.
8. **Rafał Podgórski, David Aebisher, Monika Stompor, Dominika Podgórska, Artur Mazur (2018).** Congenital adrenal hyperplasia: clinical symptoms and diagnostic methods. *Acta Biochim Pol.*, **65(1)**, 25-33