

2 tháng, đánh giá theo thang điểm Lysholm, có 98% bệnh nhân đạt kết quả tốt và rất tốt, 2% bệnh nhân đạt kết quả trung bình, không có bệnh nhân đạt kết quả kém. Không ghi nhận trường hợp nào gặp biến chứng hay di chứng sau mổ. Phẫu thuật tạo hình sụn chêm qua nội soi khớp gối hiện nay là phương pháp điều trị hiệu quả và an toàn cho bệnh lý sụn chêm hình đĩa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ikeuchi H (1982)** Arthroscopic treatment of the discoid lateral meniscus: technique and long term results. Clin Orthop 167: 19 – 28.
2. **Smillie IS (1948)** The congenital discoid meniscus. J Bone Joint Surg Br 30: 671 – 682.
3. **Patel NM, Cody SR, Ganley TJ (2012)**. Symptomatic bilateral discoid menisci in children: a comparison with unilaterally symptomatic patients. J Pediatr Orthop. 2012 Jan-Feb;32(1): 5 – 8.
4. **Trần Trung Dũng – (2014)** Các thang điểm đánh giá trong chấn thương chỉnh hình-Nhà xuất bản y học – 2014 - p 70 – 71.
5. **Christopher R. Good (2007)**. Arthroscopic Treatment of Symptomatic Discoid Meniscus in Children: Classification, Technique, and Results. Arthroscopy Juonal February 2007 Volume 23, Issue 2, Pages 157–163.e1
6. **Guy Bellier, M.D.Jean-Yves Dupont, M.D.Mario Larrain, M.D.Caroline Caudron, M.D.Henri Carlnoz, M.D (1989)** Lateral discoid menisci in children Arthroscopy Juonal Volume 5, Issue 1, Pages 52 – 56.
7. **Won Joon Yoo, M.D.Woo Young Jang, M.D. Moon Seok Park, M.D.Chin Youb Chung, M.D.Jung-Eun Cheon, M.D.Tae-Joon Cho, M.D.In Ho Choi, M.D (2015)** Arthroscopic Treatment for Symptomatic Discoid Meniscus in Children: Midterm Outcomes and Prognostic Factors Arthroscopy Juonal Volume 31, Issue 12, Pages 2327 – 2334.
8. **Chul Hyung Lee, MD,¹In-Soo Song, MD,¹Sung Won Jang, MD,¹ and Hong Eun Cha, MD (2013)** Results of Arthroscopic Partial Meniscectomy for Lateral Discoid Meniscus Tears Associated with New Technique Knee Surg Relat Res. 2013 Mar; 25(1): 30 - 35.
9. **Räber DA¹, Friederich NF, Hefti F- (1998)** Discoid lateral meniscus in children. Long-term follow-up after total meniscectomy. J Bone Joint Surg Am. 1 998 Nov; 80(11): 1579 – 86.

XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN G6PD Ở BỆNH NHÂN THUỘC DÂN TỘC MƯỜNG THIẾU HỤT ENZYME G6PD

Trần Huy Thịnh*, Ngô Thị Thảo*, Trần Văn Khánh*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định đột biến gen G6PD ở bệnh nhân thuộc dân tộc Mường thiếu hụt enzyme G6PD. **Đối tượng và phương pháp:** 43 bệnh nhi thuộc dân tộc Mường được chẩn đoán thiếu enzyme G6PD tại bệnh viện nhi Trung Ương, được tiến hành giải trình tự gen G6PD để xác định đột biến. **Kết quả:** Xác định được đột biến của 41/43 bệnh nhân với 7 loại đột biến được tìm thấy, trong đó đột biến Union (c.1360C>T) chiếm tỷ lệ cao nhất 46.5%, đột biến Canton (c.1388G>A) và Viangchan (c.871G>A) chiếm tỷ lệ lần lượt là 20.9%, 16.3%. Đột biến Kaiping (c.1388G>A) được tìm thấy ở hai trường hợp. Chinese-5 (c.1024C>T), Coimbra (c.592C>T) và Mediterranean (c.563C>T) mỗi đột biến gặp ở 1 trường hợp. Biến đổi Silent ở vị trí 1311 ghi nhận ở 9 trường hợp.

Từ khóa: đột biến gen G6PD, thiếu hụt enzym G6PD, dân tộc Mường

SUMMARY

IDENTIFICATION OF G6PD MUTATION IN MUONG ETHNIC PATIENTS WITH GLUCOSE-6-

*Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Huy Thịnh

Email: tranhuythinh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.3.2022

Ngày phản biện khoa học: 28.4.2022

Ngày duyệt bài: 12.5.2022

PHOSPHATE DEHYDROGENASE DEFICIENCY

Objective: Identification of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutation in Muong ethnic patients with G6PD deficiency. **Methods:** 43 Muong ethnic patients were diagnosed with G6PD deficiency at National Pediatrics hospital; PCR and direct sequencing were used to identify mutation in G6PD gene. **Results:** 41/43 patients were detected to have mutation in G6PD gene with 7 types of mutation, in which the mutation with highest rate was Union (c.1360C>T) with 46.5%, following were Canton (c.1388G>A) and Viangchan (c.871G>A) with 20.9% and 16.3% respectively. We found Kaiping (c.1388G>A) mutation with 2 cases; Chinese-5 (c.1024C>T), Coimbra (c.592C>T) and Mediterranean (c.563C>T) each mutation for one case. Silent mutation at 1311 location were found with 9 cases.

Keywords: G6PD mutation, G6PD deficiency, Muong ethnic

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu G6PD là bệnh lý di truyền về enzyme phổ biến nhất ở người. Enzyme G6PD là sản phẩm mã hóa của gen G6PD nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể giới tính X tại vị trí Xq28, gen có độ dài khoảng 18,5 kb, gồm 13 exon và 12 intron [1]. Đột biến trên gen G6PD sẽ dẫn đến việc giảm hoặc ngừng quá trình tổng hợp enzyme, gây ra bệnh thiếu enzyme G6PD.

Enzyme G6PD là sản phẩm của quá trình chuyển hóa NADPH trên con đường pentophosphat. NADPH cần thiết cho quá trình tái tổng hợp glutathione, chống oxi hóa, và là yếu tố cần thiết cho hồng cầu. Những hồng cầu thiếu hụt G6PD nhạy cảm với các tác nhân oxi hóa như một số loại thức ăn và thuốc. Các trường hợp thiếu hụt G6PD thường không có triệu chứng hoặc chỉ biểu hiện nhẹ như vàng da sơ sinh. Tuy nhiên, khi tiếp xúc với một số loại thuốc, hóa chất hay thức ăn có tính oxi hóa cao có thể dẫn đến các hội chứng lâm sàng biểu hiện bằng những cơn tan máu. Tỷ lệ mắc bệnh có sự khác nhau khá lớn giữa các quốc gia và các nhóm dân tộc. Đến nay, hơn 180 đột biến gen G6PD đã được xác định trên thế giới, trong đó hầu hết là đột biến thay thế một nucleotide, phân bố dọc trên gen [2]. Tại Việt Nam, đây cũng là một bệnh khá phổ biến, chiếm tỷ lệ dao động khoảng 0,3-9% [3]. Giữa các nhóm dân tộc cũng nhận thấy có sự khác nhau về các dạng đột biến hay gặp. Mặc dù bệnh thiếu G6PD đã được nghiên cứu khá sớm tuy nhiên sự hiểu biết về sự phổ biến của các đột biến G6PD vẫn còn tương đối hạn chế. Nhận thấy sự cần thiết của việc khảo sát đặc điểm của đột biến gen G6PD ở nhóm bệnh nhân thuộc dân tộc thiểu số, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: "Xác định đột biến của gen G6PD ở bệnh nhân thiếu hụt enzyme G6PD thuộc dân tộc Mường bằng kỹ thuật giải trình tự gen".

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng. 43 bệnh nhân thuộc dân tộc

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm các dạng đột biến trong nghiên cứu

TT	Tên đột biến	Vị trí đột biến	Biến đổi acid amin	Exon	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Hoạt độ enzyme
Thuộc phân lớp II : 40 (93%)							
1	Mediterranean	563C>T	S188P	6	1	2,3	15,5
2	Coimbra	592C>T	A198C	6	1	2,3	67,7
3	Viangchan	871G>A	V291M	9	7	16,3	6,5-83,65
4	Union	1360C>T	R454C	11	20	46,5	0,3-102
5	Canton	1376G>T	R459L	12	9	20,9	9,3-112,4
6	Kaiping	1388G>A	R463H	12	2	4,7	20,9-43,7
Thuộc phân lớp III: 1 (2.3%)							
7	Chinese-5	1024C>T	L342F	9	1	2,3	11,04
Không tìm thấy đột biến					2	4,7	0,3-105,8
Tổng số					43	100	
	Silent	c.1311C>T	T437T	11	9	20,9	6,5-103,1

Nhận xét: Xác định được đột biến gây bệnh của 41/43 trường hợp trong nghiên cứu, với 7 đột biến được tìm thấy trên các exon 6, 9, 11, 12. Đột biến Union chiếm tỷ lệ cao nhất. Tiếp theo là các đột biến Canton, Viangchan, Kaiping, Chinese-5, Coimbra, Mediterranean. 9 trường hợp mang đột biến Silent (c.1311C>T).

Mường được chẩn đoán thiếu hụt enzyme G6PD tại bệnh viện Nhi Trung Ương trong thời gian từ 7/2019 đến tháng 6/2021 với hoạt độ enzyme G6PD dưới 200U/10 hồng cầu.

2. Phương pháp

2.1. Tách chiết DNA. DNA được tách từ bạch cầu máu ngoại vi bằng kit Wizard Genomic DNA purification của hãng Promega. Quy trình tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2. Kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction). Kỹ thuật PCR được sử dụng để khuếch đại các exon của gen G6PD với các cặp mồi được thiết kế đặc hiệu.

Thành phần của phản ứng PCR (thể tích 10µl) gồm: 1µl DNA mẫu, 0.5µl mỗi xuôi 10pM/µl và 0.5µl mỗi ngược 10 pM/µl, GoTaq G2 Hot Start master mix (2X) 5 µl, H2O 3 µl. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: 94°C/2phút, 35 chu kỳ nhiệt [94°C/30 giây, 60°C/25 giây, 72°C/40 giây], 72°C/ 5 phút. Bảo quản mẫu ở 4°C.

2.3. Kỹ thuật giải trình tự gen. Sản phẩm PCR sẽ được tiến hành giải trình tự gen Sanger trên máy ABI 3500 Genetic Analyzer sử dụng bộ kit BigDye[®] Terminator v3.1 Cycle Sequencing. Quy trình tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Kết quả giải trình tự của bệnh nhân được so sánh với trình tự chuẩn trên ngân hàng gen (genbank NG_009015) bằng phần mềm CLC main workbench.

3. Đạo đức nghiên cứu. Nghiên cứu tuân thủ chặt chẽ theo đạo đức nghiên cứu Y học. Các thông tin về bệnh nhân và kết quả chẩn đoán hoàn toàn được đảm bảo bí mật.

Bảng 2. Đặc điểm đột biến và khoảng giá trị hoạt độ enzyme

TT	Tên đột biến	Lớp	Nam		Dị hợp tử nữ	
			n	Hoạt độ enzyme	n	Hoạt độ enzyme
1	Mediterranean	III	1	15,5	0	-
2	Coimbra	II	1	67,7	0	-
3	Viangchan	II	6	39,7±23,3	1	83,65
4	Union	II	13	16,1±22,5	7	71,9 ± 37,0
5	Canton	II	7	25,1±9,8	2	46,2-112,4
6	Kaiping	II	2	20,9-43,7	0	-
7	Chinese-5	III	0	-	1	11,04
Không tìm thấy ĐB			2	0,32-105,8	0	-
Tổng			32		11	

Nhận xét: Tỷ lệ trẻ nam/ nữ trong nghiên cứu \approx 3/1,11 đối tượng nữ thiếu G6PD đều ở dạng dị hợp tử, không gặp trường hợp nào đột biến nữ đồng hợp tử. Với mỗi loại đột biến khoảng giá trị hoạt độ enzyme của nhóm nữ dao động rộng hơn so với nam mang cùng loại đột biến.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu gồm 43 trẻ em thuộc dân tộc Mường đã được chẩn đoán bệnh thiếu enzyme G6PD tại bệnh viện Nhi Trung Ương bằng phương pháp định lượng hoạt độ enzyme G6PD. Một nghiên cứu đánh giá quy mô lớn về tình hình thiếu G6PD tại 16 dân tộc khác nhau thuộc 10 tỉnh của Tạ Thị Tinh và cộng sự cho dân tộc Mường có tỷ lệ thiếu G6PD cao nhất là 28,6% và tỷ lệ thiếu G6PD ở nam là 39,5%, ở nữ là 13,7%. Trẻ thiếu hụt G6PD trong nghiên cứu đa phần là nam, với tỷ lệ trẻ nam/nữ xấp xỉ 3:1. Điều này hoàn toàn phù hợp với đặc tính di truyền của bệnh, thiếu G6PD là bệnh di truyền liên kết nhiễm sắc thể giới tính X, không có alen trên Y.

Với 7 mỗi được thiết kế đặc hiệu cho 13 exon trọng điểm trên gen G6PD, bằng phản ứng PCR và giải trình tự Sanger nghiên cứu đã xác định được 7 loại đột biến gây bệnh của 41/43 trường hợp tương đương với 95,4 % đối tượng tham gia. Các đột biến tập trung hầu hết tại exon 6, 9, 11, 12. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây, cho thấy đây là những exon trọng điểm chứa nhiều dạng đột biến G6PD hay gặp ở người Việt Nam [4].

Kết quả cho thấy, Union (c.1360C>T) là đột biến gặp với tỷ lệ cao nhất ở đối tượng bệnh nhân người Mường trong nghiên cứu, chiếm 20/43 trường hợp. Tiếp theo là đột biến Canton (c.1388G>A) và Viangchan (c.871G>A). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Minh Hùng và cộng sự, cũng đã phân tích đột biến gen G6PD của 18 bệnh nhân người dân tộc Mường và xác định được 13 trường hợp mang đột biến Union, 3 đột biến Viangchan và 2

đột biến Canton. Theo các tác giả Vũ Triệu An và Trần Thị Chính cũng nhận thấy ở nhóm người thiếu G6PD dân tộc Mường thường gặp đột biến Union [5]. Qua đây cho thấy, Union là đột biến chiếm ưu thế trong quần thể dân tộc Mường. Đột biến này được báo cáo đầu tiên bởi Yoshida năm 1970 trên một bệnh nhân nam người Philipin, bệnh nhân mang đột biến này có sự thay thế một nucleotide C ở vị trí 1360 thành T, dẫn đến thay đổi bộ ba mã hóa acid amin tại codon 454 Arginin thành Cystein và được đặt tên theo tên địa danh tìm ra đột biến là Union [6]. Với G6PD Union, đột biến về cấu trúc gây ra sự thay đổi tính đặc hiệu của cơ chất của enzym, với hoạt độ enzym chỉ khoảng 10% so với người bình thường. Trong số những đột biến gặp với tần suất cao trong nghiên cứu, hoạt độ enzyme của nhóm bệnh nhân mang đột biến Union là thấp nhất. Bệnh nhân có hoạt độ enzym 0.3 U/10¹² HC, thấp nhất trong nghiên cứu cũng mang đột biến Union.

20,9% đối tượng trong nghiên cứu mang đột biến Canton. Trên nhóm dân tộc Kinh, Nguyễn Thị Huế hay Matsuoka cũng gặp đột biến này với tỷ lệ lần lượt là 26,7%, 26,3% [8]. Biến đổi c.1376G>T cũng được ghi nhận ở các nước Đông Nam Á như Thái Lan, Myanmar nhưng với tần suất không cao, trái lại với sự phổ biến của đột biến này ở Trung Quốc với tỷ lệ dao động trong khoảng 28,2%-41,9% [3].

16,3% trường hợp mang đột biến Viangchan (c.871G>A). Sự thay thế nucleotid số 871 trên gen G6PD từ G thành A. Sự thay đổi trên làm thay đổi bộ ba mã hóa acid amin tại codon 291 từ Valin thành Methionin dẫn đến kiểu hình thiếu hụt G6PD nghiêm trọng và được xếp vào phân lớp II theo phân loại của WHO. Đây cũng là đột biến gặp với tỷ lệ cao nhất ở một số nước như Lào, Thái Lan, Campuchia [3]. Tại Việt Nam, G6PD Viangchan chiếm đa số trong các biến thể, gặp ở 11/25 trường hợp người Kinh (44%), 8/9 trường hợp người Raglai và 16/16 trường hợp

người Pako trong nghiên cứu của Nguyễn Minh Hùng và cộng sự năm 2009. Trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Huế và cộng sự năm 2013 đột biến này cũng được xác định chiếm 44,3% hay nghiên cứu của Matsuoka triển khai tại Lâm Đồng năm 2007 cũng gặp 6/19 trường hợp có đột biến Viangchan [8].

Đột biến Kaiping (c.1388G>A) được tìm thấy ở hai trường hợp. Chinese-5 (c.1024C>T), Coimbra (c.592C>T) và Mediterranean (c.563C>T) mỗi đột biến gặp ở 1 trường hợp.

Trong nghiên cứu có một biến thể lần đầu xuất hiện tại Việt Nam là G6PD Mediterranean hay G6PD Địa Trung Hải (c. 563 C>T). Biến thể Địa Trung Hải là do đột biến điểm (C → T) ở nucleotide 563, dẫn đến sự thay thế Serine thành Phenylalanine ở axit amin 188 trong G6PD. Nó được gọi là "G6PD-Địa Trung Hải" vì nó được tìm thấy phân bố rộng rãi trong các quần thể khác nhau xung quanh Biển Địa Trung Hải. Sau đó, lan sang Trung Đông như Iran và Bắc Phi, phía đông như Ấn Độ. G6PD Địa Trung Hải 563 C> T đã được nghiên cứu ở hai dạng đơn bội, một dạng có đột biến Silent 1311T, phổ biến ở người châu Âu, Trung Đông và loại khác là 1311C phổ biến ở người dân Punjab ở Ấn Độ. Hiện nay G6PD Địa Trung Hải phổ biến ở Ấn Độ, còn ở các nước khác thuộc khu vực Đông Á và Đông Nam Á, duy nhất một nghiên cứu tại Malaysia. G6PD Địa Trung Hải (c. 563 C>T) cũng đã thấy xuất hiện từ sớm ở các nước Indonesia, Thái Lan, Myanmar, Campuchia nhưng với một tỷ lệ rất thấp chỉ 1-2 trường hợp [8] Trong nghiên cứu này, G6PD Địa Trung Hải (c. 563 C>T) được tìm thấy ở 1 bệnh nhân nam người Mường dưới dạng kết hợp Silent 1311T.

Đột biến Coimbra (c.592C>T) là một trong những biến thể được báo cáo từ rất sớm ở châu Âu và cũng được tìm thấy trong dân số ở nhiều nước châu Á như Việt Nam, Campuchia, Myanmar, Indonesia. G6PD Coimbra được tìm thấy ở 3,5% dân số Malaysia thiếu G6PD [8].

Bảng 2 thể hiện đặc điểm đột biến và khoảng giá trị hoạt độ enzyme. 11 đối tượng nữ thiếu G6PD đều ở dạng dị hợp tử, không gặp trường hợp nào đột biến nữ đồng hợp tử. Với mỗi loại đột biến khoảng giá trị hoạt độ enzyme của nhóm nữ dao động rộng hơn so với nam mạng cùng loại đột biến. Ở nam, do chỉ có một nhiễm sắc thể X, nên khi bị đột biến thường là thiếu hoàn toàn. Thiếu G6PD ở nữ có hai dạng là thiếu G6PD đồng hợp tử và thiếu G6PD dị hợp tử. Các trường hợp thiếu đồng hợp tử là cả hai X (1 nhận từ bố và 1 từ mẹ) đều bị đột biến, tuy nhiên

trường hợp này thường hiếm gặp, ở nữ hay gặp hơn cả là các đột biến dạng dị hợp tử.

20,9% đối tượng trong nghiên cứu ghi nhận có vị trí biến đổi nucleotide số c.1311C>T ở exon 11. Do bộ ba TAC → TAT cùng mã hoá cho acid amin Tyrosine, biến đổi này được coi là không ảnh hưởng đến sự mã hóa acid amin trong cấu trúc G6PD. Mặc dù các cặp mỗi được thiết kế đã khảo sát toàn bộ các exon trên gen G6PD tuy nhiên vẫn có hai bệnh nhân chưa tìm được đột biến gây bệnh.

V. KẾT LUẬN

Xác định được 7 loại đột biến gây bệnh thiếu G6PD của 41/43 bệnh nhân thuộc dân tộc Mường, trong đó đột biến chiếm ưu thế nhất là Union (c.1360C>T). Các đột biến khác là Canton (c.1388G>A), Viangchan (c.871G>A), Kaiping (c.1388G>A), Chinese-5 (c.1024C>T), Coimbra (c.592C>T) và Mediterranean (c.563C>T) và 1 biến đổi Silent ở vị trí 1311.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Luzzatto L, Arese P. Favism.** Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *N Engl J Med.* 2018;378(1):60-71.
- Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, Zuppi C, Giardina B, Capoluongo E.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: review of the "old" and update of the new mutations. *Blood Cells Mol Dis.* 2012;48(3):154-165.
- Iwai K, Hirono A, Matsuoka H, et al.** Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Southeast Asia. *Hum Genet.* 2001;108(6):445-449.
- Hue NT, Anh DT, Trinh HLT, Hoang PN.** Common mutations in G6PD of Vietnamese-Kinh deficient patients. *Afr J Biotechnol.* 2013;12(12). Accessed June 3, 2019.
- Nguyễn Thị Ngọc Giao, Trần Thị Chính, Huỳnh Thị Diễm Thúy.** Phát hiện thiếu hụt G6PD và phân tích các dạng đột biến gen của nó ở một số trường hợp thuộc các dân tộc Kinh, Mường, Ráclay và Tày ở Hà Nội, Hoà Bình và Khánh Hoà. *Nghiên cứu y học.* 2003;(3):98-104.
- Yoshida A, Baur EW, Moutlsky AG.** A Philippino Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Variant (G6PD Union) With Enzyme Deficiency and Altered Substrate Specificity. *Blood.* 1970;35(4):506-513.
- Rovlra A, Vulliamy TJ, Pujades A, Luzzatto L, Corrons J-LV.** The glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient variant G6PD union (454 Arg→Cys) has a worldwide distribution possibly due to recurrent mutation. *Hum Mol Genet.* 1994;3(5):833-835.
- Matsuoka H, Thuan DTV, van Thien H, et al.** Seven different glucose-6-phosphate dehydrogenase variants including a new variant distributed in Lam Dong Province in southern Vietnam. *Acta Med Okayama.* 2007;61(4):213-219.