

## PHÁT HIỆN 3 ĐỘT BIẾN TRÊN GEN *CYP21* Ở BỆNH NHÂN VIỆT NAM CÓ HIỆN TƯỢNG TĂNG SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH

Lê Bắc Việt<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Phương Mai<sup>3</sup>, Nguyễn Huy Hoàng<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, \*nhhoang@igr.ac.vn

<sup>2</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

<sup>3</sup>Bệnh viện Nhi trung ương

**TÓM TẮT:** Tăng sản thượng thận bẩm sinh (congenital adrenal hyperplasia-CAH) là bệnh rối loạn chuyển hóa steroid hormone tuyến thượng thận, hơn 90% trường hợp mắc bệnh bắt nguồn từ sự suy giảm 21-hydroxylase (*CYP21A2*). Sự mất hoặc giảm hoạt tính enzyme dẫn đến tích lũy các tiền chất trung gian (progesterone và 17-hydroxyprogesterone) trong quá trình trao đổi chất gây ra việc androgen được sản sinh ra quá nhiều, từ đó dẫn đến sự nam hóa mạnh ở bệnh nhân. Chúng tôi sử dụng kỹ thuật MLPA (multiplex ligation probe amplification), PCR (polymerase chain reaction) và giải trình tự gen để phân tích toàn bộ đoạn gen *CYP21A2* nhằm xác định các đột biến. Kết quả phân tích trình tự gen *CYP21A2* từ 2 bệnh nhân đã chỉ ra 3 đột biến là: đột biến mất đoạn lớn (30 kb deletion), đột biến trượt khung I2 (I2 splice) và đột biến mất 1 nucleotide A ở vị trí 1584 ở exon 7 trên đoạn gen (g.1584delA). Đột biến g.1584delA đã làm dịch khung dịch mã dẫn đến làm mất hoàn toàn hoạt tính enzyme *CYP21A2*. Kết quả này đã giải thích mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh nhân có hiện tượng tăng sản thượng thận bẩm sinh và dựa vào kết quả này, các bác sĩ có thể đưa ra tư vấn về di truyền cũng như hướng điều trị đối với bệnh nhân.

*Từ khóa:* Đột biến g.1584delA, đột biến trượt khung I2, đột biến mất đoạn 30kb, gen *CYP21A1P*, gen *CYP21A2*, tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH), 21-hydroxylase.

### MỞ ĐẦU

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (congenital adrenal hyperplasia, CAH) là một bệnh di truyền bao gồm một nhóm các rối loạn tính trạng lặn trong quá trình sinh tổng hợp steroid hormone tuyến thượng thận, xảy ra do sự thiếu hụt các loại enzyme thiết yếu. CAH dẫn đến tình trạng lượng glucocorticoid và mineralocorticoid trong tuyến thượng thận bị giảm đi trong khi C19 steroid (hay tên gọi khác là androgen-hormone sinh dục nam giới) tăng cao hơn mức bình thường. Hơn 90% những ca mắc bệnh là do suy giảm 21-hydroxylase (*CYP21A2*) [9, 10, 11, 13], trong khi đó chỉ 5 - 8% trường hợp là do thiếu hụt 11- $\beta$ -hydroxylase (*CYP11B1*) [15].

Gen *CYP21A2* mã hóa cho enzyme 21-hydroxylase xúc tác chuyển hóa progesterone thành 11-deoxycorticosterone trong vùng glomerulosa tại vỏ tuyến thượng thận và 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone thành 11-deoxycortisol tại vùng fasciculata. Gen *CYP21A2* nằm trên nhiễm sắc thể 6p21.3, cùng với một gen giả không có chức năng là *CYP21A1P*. Hai gen này có sự

tương đồng lên đến 98% đối với trình tự vùng mã hóa exon [12]. Chúng cùng với những gen bên cạnh là *RPI1*, *C4*, *TNXB* và những gen giả tương ứng là *RP2* và *TNXA* cấu thành một cấu trúc di truyền. Cấu trúc di truyền này là một đoạn DNA có độ lớn vào khoảng 30 kb [14]. Nguyên nhân chính gây bệnh do đột biến trên *CYP21A2* là những trình tự từ *CYP21A1P* được chuyển sang *CYP21A2* thông qua quá trình trao đổi chéo hoặc vi chuyển đổi, trường hợp này chiếm đến 90% các đột biến trên gen *CYP21A2*. Ngược lại, chỉ khoảng 5% đột biến gen *CYP21A2* gây bệnh mà các đột biến đó lại không bắt nguồn từ sự trao đổi chéo với gen giả *CYP21A1P* [7].

Sự tương ứng giữa kiểu gen và kiểu hình của đột biến trên gen *CYP21A2* được chia làm 3 nhóm chính dựa vào sự thiếu hụt 21-hydroxylase: (a) đột biến gây mất toàn bộ hoạt tính 21-hydroxylase gây ra thể cổ điển (classic) của CAH là thể mất muối. Ở thể bệnh này, người bệnh có hiện tượng mất muối và nước nghiêm trọng do lượng mineralocorticoid bị giảm mạnh, tại đây bệnh nhân nữ thường có

hiện tượng nam hóa ở cơ quan sinh dục [5]; (b) khi enzyme đạt hoạt tính 1-2%, lượng mineralocorticoid được tổng hợp bình thường, gây ra thể nam hóa thường ở bệnh nhân; và (c) enzyme có 20-60% hoạt tính gây ra thể không cổ điển (non-classic) hay còn gọi là thể bệnh CAH khởi phát muộn.

Trong bài báo này, chúng tôi đã phân tích di truyền phân tử phát hiện đột biến trên gen *CYP21A2* ở 2 bệnh nhân CAH người Việt Nam được chẩn đoán lâm sàng và hóa sinh ban đầu là thiếu hụt 21-hydroxylase. Các kỹ thuật PCR và MLPA (multiplex ligation probe amplification) được kết hợp sử dụng để phát hiện các đột biến mất đoạn/lặp đoạn trên toàn bộ gen. Giải trình tự gen để phát hiện các đột biến đơn trên gen *CYP21A*.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Bệnh nhân

*Bệnh nhân 1:* là con gái thứ hai của cặp vợ chồng người Việt Nam, bệnh nhân được sinh ra bằng phương pháp đẻ thường. Xét nghiệm lâm sàng cho thấy bé gái có dấu hiệu bất thường bộ phận sinh dục, âm vật phì đại, hai môi âm vật lớn, nhìn trông rất giống tinh hoàn. Bên cạnh đó, trẻ bị nôn nhiều, có biểu hiện mất nước rõ rệt, da sạm. Xét nghiệm hóa sinh cho thấy nồng độ ion  $\text{Na}^+$  đạt 126 mM (mức bình thường: 135-155 mM); nồng độ  $\text{K}^+$  đạt 3,6 mM (mức bình thường: 3,5-5,5 mM); hàm lượng hormone testosterone đạt 20,82 ng/ml (mức bình thường: 2-20 ng/ml); hàm lượng 17-OHP đạt 30,7 ng/ml (mức bình thường: < 2 ng/ml).

*Bệnh nhân 2:* là con gái đầu của một cặp vợ chồng người Việt Nam, sinh ra theo hình thức đẻ thường. Xét nghiệm lâm sàng cho thấy bé gái có dấu hiệu bất thường bộ phận sinh dục, âm vật phì đại, hai môi âm vật lớn, nhìn trông rất giống tinh hoàn. Bên cạnh đó, trẻ bị nôn nhiều, có biểu hiện mất nước rõ rệt. Xét nghiệm hóa sinh cho thấy nồng độ  $\text{Na}^+$  đạt 139 mM (mức bình thường: 135-155 mM); nồng độ  $\text{K}^+$  đạt 3,6 mM (mức bình thường: 3,5-5,5 mM); hàm lượng hormone testosterone đạt 65 ng/ml (mức bình thường: 2-20 ng/ml); hàm lượng 17-OHP đạt 269 ng/ml (mức bình thường: < 2 ng/ml).

Kết quả xét nghiệm lâm sàng và hóa sinh đã

chỉ ra 2 bệnh nhân nữ này có dấu hiệu mắc tăng sản thượng thận bẩm sinh thể mất muối và nam hóa thường, hai biểu hiện của CAH khi xảy ra đột biến trên gen *CYP21A2*. Từ đó chúng tôi tiếp tục tiến hành phân tích trình tự gen *CYP21A2* để phát hiện đột biến.

### Phương pháp

#### *Nhân và giải trình tự gen CYP21A2*

DNA tổng số của các bệnh nhân và gia đình được tách chiết từ máu có sử dụng bộ kit GeneJet™ Genomic DNA Purification Kit của hãng Fermentas.

Toàn bộ gen chức năng *CYP21A2* được nhân lên bằng phương pháp PCR sử dụng một cặp mồi đặc hiệu nhằm tránh nhân phải gen giả *CYP21A1P* theo nghiên cứu Lê Bắc Việt và cs (2012). Trong đó, mồi xuôi 21HYDF: 5'-CGGGTCGGTGGGAGGGTA-3' và mồi ngược 21HYDR: 5'-AGCGATCTCGCAGCAC TGTGT-3'. PCR được tiến hành thực hiện trong tổng thể tích 50  $\mu\text{l}$  bao gồm 1x Dream Taq Buffer, 10 mM dNTP, 10 pmol mỗi mồi, 2U Dream Taq DNA polymerase và 40 - 100 ng/ $\mu\text{l}$  DNA khuôn. Chu trình nhiệt: 95°C/4'; 36 chu kỳ (95°C/1', 65°C/2', 72°C/3'); 72°C/4' và giữ mẫu ở 10°C. Sản phẩm PCR của gen *CYP21A2* sau đó được tiến hành tinh sạch bằng bộ GeneJet Gel Extraction Kit được hãng Fermentas cung cấp. Cuối cùng, sản phẩm PCR tinh sạch sẽ được tiến hành đọc trình tự trực tiếp trên máy giải trình tự ABI 3100 Avant Genetic Analyser (Applied Biosystems, Hoa Kỳ).

Kết quả đọc trình tự được phân tích trên phần mềm SeqScape 2.5 và BioEdit 7.0 để phát hiện đột biến. Trình tự so sánh là gen *CYP21A2* của người bình thường được lấy trên Ngân hàng gen (Gene Bank) có số hiệu NCBI-MI2792. Bên cạnh đó, DNA của bố mẹ người bệnh cũng được tiến hành phân tích xác định các đột biến trên gen *CYP21A2* để làm rõ đặc tính di truyền của CAH.

#### *Phân tích MLPA*

Kỹ thuật MLPA là một kỹ thuật sử dụng những mẫu dò (probe) đặc hiệu được khuếch đại nhờ phản ứng PCR nhằm sàng lọc những đột biến thường gặp trên gen *CYP21A2* ở bệnh CAH. Bộ Kit MLPA *CYP21A2* được thương

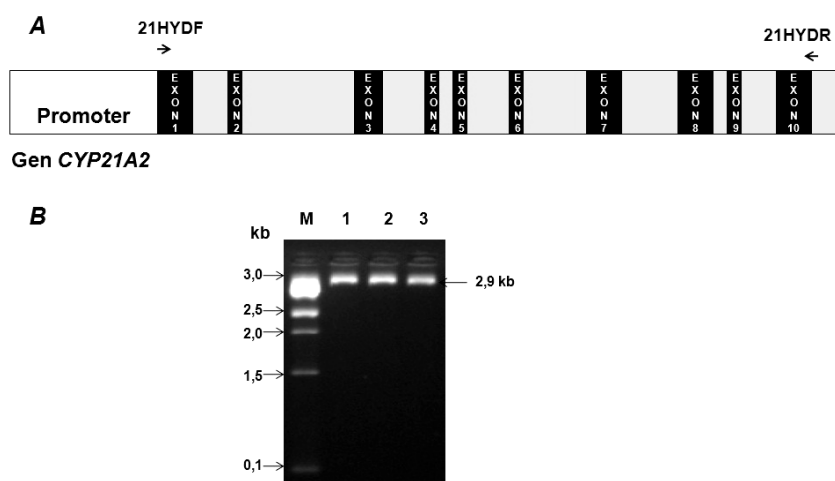
mại hóa từ công ty MRC Holland, Amsterdam, Hà Lan. Bộ Kit này bao gồm 5 mẫu dò (probe) đặc hiệu cho exon 1, 3, 4, 6 và 8 của gen *CYP21A2*. Khoảng 20-500 ng DNA genome được biến tính ở 98°C trong 5 phút và lai qua đêm ở 60°C cùng với mẫu dò tổng hợp SALSA. Sau đó, mẫu được xử lý với Ligase-65 trong 15 phút ở 54°C nhằm ghép nối các mẫu dò với nhau, phản ứng ghép nối được dừng lại ở 98°C trong 5 phút. Cuối cùng, PCR khuếch đại các mẫu dò được tiến hành nhờ những cặp mồi đặc hiệu SALSA PCR. Sản phẩm PCR được đọc trình tự trực tiếp trên máy SEQ8000 Genetic Analyzer (Beckman Coulter Fullerton, CA) và dữ liệu thô được phân tích bởi phần mềm

Coffalyser 7.0 (MRC Holland, Amsterdam, Hà Lan).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Tách chiết và nhân gen *CYP21A2*

Sản phẩm DNA tổng số sau khi được tách chiết từ mẫu máu của gia đình bệnh nhân đạt độ tinh sạch đủ để làm khuôn cho PCR. Một cặp mồi duy nhất đặc hiệu cho gen *CYP21A2* được sử dụng để nhân toàn bộ đoạn gen có kích thước gần 3 kb (hình 1A). Kết quả điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% cho thấy sản phẩm PCR thu được rất đặc hiệu, băng hiện rõ ràng, không có dấu hiệu bị đứt gãy và có kích thước chính xác so với dự kiến ban đầu (hình 1B).



Hình 1. Kết quả nhân gen *CYP21A2*

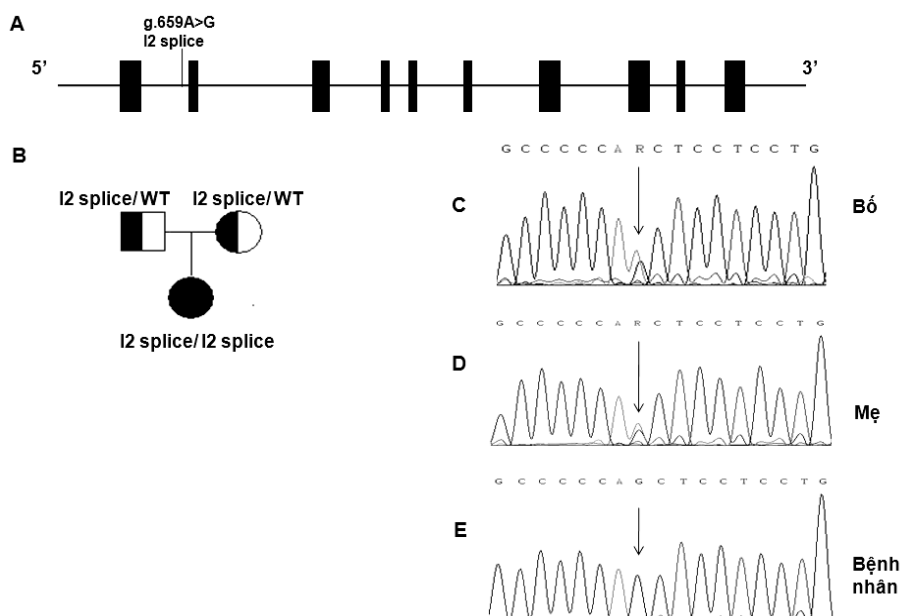
A. Sơ đồ nhân gen *CYP21A2*; B. Điện di đồ sản phẩm nhân gen *CYP21A2*; M. Marker; 1. Bệnh nhân; 2. Bỏ bệnh nhân; 3. Mẹ bệnh nhân.

### Phân tích di truyền đột biến *CYP21A2*

Để có thể chẩn đoán bệnh CAH ở người bệnh do các đột biến trên gen *CYP21A2* gây ra, toàn bộ 10 exon và vùng biên giữa intron và exon của gen *CYP11B1* của bệnh nhân đã được giải trình tự. Bên cạnh đó kỹ thuật MLPA cũng được sử dụng để kiểm tra sự mất đoạn 30 kb do sự trao đổi chéo giữa 2 gen *CYP21A2* và *CYP21P* với các đột biến thường gặp trên exon 1, 3, 4, 6 và 8.

**Bệnh nhân 1:** Kết quả xét nghiệm lâm sàng và hóa sinh cho thấy bệnh nhân 1 này có dấu hiệu mắc CAH dạng mất muối và nam hóa

thường. Kết quả đọc trình tự đã tìm thấy một đột biến đồng hợp tử được phát hiện trên intron 2, A được thay thế cho G tại vị trí 659 của genome (g.659A > G) của gen *CYP21A2*. Trình tự bố mẹ ở dạng dị hợp tử (hình 2). Các nghiên cứu trước cho thấy, đột biến g.659A > G xảy ra sẽ ảnh hưởng tới sự trượt gen (splicing) trong quá trình phiên mã [3, 4]. Khi quá trình trượt khung sai có thể tạo ra sự tổng hợp sai về các amino acid cũng như tạo ra protein cụt (truncated protein) từ đó làm mất hoạt tính enzyme. Bên cạnh đó, kết quả phân tích MLPA của bệnh nhân này là âm tính.



Hình 2. Đột biến được phát hiện trên bệnh nhân 1

A. Vị trí đột biến trên gen trên intron 2 A được thay thế bằng G; B. Sơ đồ phá hệ di truyền bệnh; E. Bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử g.659A > G; C,D. Bố và mẹ bệnh nhân ở dạng dị hợp tử.

**Bệnh nhân 2:** bệnh nhân này có kết quả xét nghiệm lâm sàng và hóa sinh cho thấy có biểu hiện mắc CAH thể nam hóa. Sau quá trình phân tích MLPA và đọc trình tự, chúng tôi đã phát hiện được hai đột biến ở bệnh nhân: một đột biến di hợp tử mất đoạn 30 kb (30 kb deletion) và một đột biến mất 1 nucleotide A trên intron 2 (g.1584delA). Nguyên nhân xảy ra đột biến mất đoạn 30 kb (hình 3A) là do sự trao đổi chéo các vị trí trên exon 1 và 2 của 2 gen *CYP21P* và *CYP21A2*. Chính sự trao đổi chéo giữa 2 gen này dẫn đến sự thay đổi về cấu trúc và chức năng của gen *CYP21A2*, từ đó làm giảm hoặc mất hoạt tính enzyme 21-hydroxylase. Đột biến thứ 2 của bệnh nhân là đột biến mất 1 nucleotide A (g.1584delA) ở dạng đồng hợp tử ở vị trí 1584 tại exon 7 trên gen *CYP21A2* (hình 3D). Dựa vào phần mềm dịch mã expasy ([www.expasy.org](http://www.expasy.org)), chúng tôi tiến hành dịch mã đoạn gen *CYP21A2* khi mất và không mất nucleotide A tại vị trí 1584 trên genome. Kết quả đã chỉ ra tại vị trí 1584 khi có nucleotide A sẽ dịch mã bình thường thành axit glutamic ở codon 247 (p.E247). Khi đột biến mất một nucleotide A tại vị trí 1584 trên exon 7 của gen

*CYP21A2* vẫn tiếp tục được dịch mã đến axit amin threonine ở vị trí codon 256 (p.T256) thì gặp bộ ba mã hóa TGA dẫn đến hiện tượng dừng dịch mã (stop codon). Kết quả này sẽ dẫn đến mất hoạt tính *CYP21A2*.

### Thảo luận

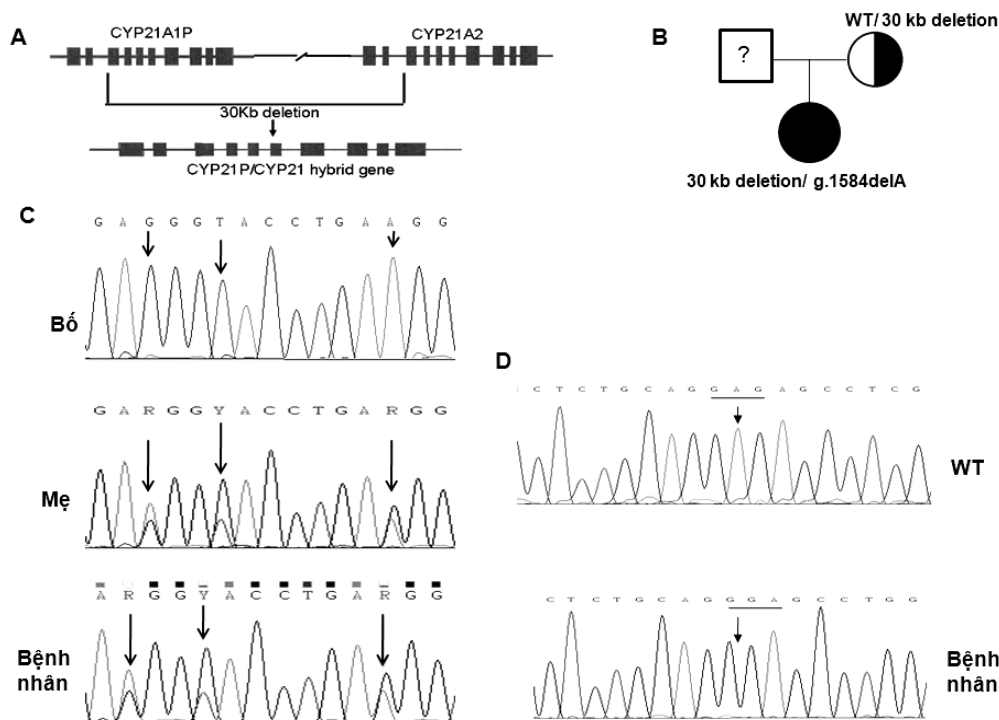
Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu di truyền phân tử bệnh CAH với mục đích tìm ra những đột biến trên gen *CYP21A2*. Từ đó sự tương quan giữa kiểu gen và hiệu hình của bệnh nhân được nêu ra nhằm dự đoán được ảnh hưởng của những đột biến đó lên hoạt tính 21-hydroxylase. Công trình nghiên cứu của Khan et al. (2011) [4] đã chỉ ra rằng, đột biến trượt khung I2 gây CAH thể mất muối (SW), điều này rất phù hợp kết quả xét nghiệm lâm sàng và hóa sinh của bệnh nhân 1 khi em có dấu hiệu mất muối, mất nước và nam hóa. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Coeli et al. (2010) [1] trên nhóm bệnh nhân người Brazil đã chỉ ra rằng, đột biến mất đoạn 30 kb gây bệnh CAH dao động ở cả thể mất muối và nam hóa nhưng thể nam hóa vẫn chiếm tỷ lệ cao hơn. Điều đó chứng tỏ mối tương quan giữa kiểu hình và kiểu

gen của bệnh nhân 2 là rất hợp lý khi bệnh nhân có dấu hiệu nam hóa khi được đưa vào viện khám.

Ngoài đột biến mất đoạn 30 kb và đột biến trượt khung I2 đã được tìm thấy từ những nghiên cứu trước đây [2, 3] thì đột biến g.1580delA là một đột biến hoàn toàn mới chưa từng được báo cáo trong những công trình nghiên cứu trước đây. Những đột biến thuộc loại này đều có một điểm chung là gây ra hiện tượng trượt khung dịch mã (translation frameshift), có nghĩa là khi một nucleotide bị mất đi, đoạn gen vẫn tiếp tục quá trình dịch mã

protein, tuy nhiên chỉ dịch mã tiếp tục được vài amino axit sẽ lập tức gặp stop codon dừng dịch mã. Krone et al. (1999) [6] và Lee et al. (1998) [8] đã chỉ ra đột biến g.141delT và c.948C>T là 2 đột biến gây ra hiện tượng cắt ngắn protein (truncated protein), họ đã đều chứng minh được hai đột biến đều làm mất hoàn toàn hoạt tính 21-hydroxylase.

Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu về gen đã giải thích cho biểu hiện kiểu hình của bệnh nhân. Từ các kết quả này, các bác sỹ có thể đưa ra hướng điều trị đúng đắn và đưa ra lời khuyên di truyền cho bệnh nhân và gia đình.



Hình 3. Sơ đồ phả hệ di truyền bệnh nhân 2

A. Sơ đồ đột biến mất đoạn 30 kb; B. Sơ đồ di truyền phả hệ; C. Kết quả phân tích MLPA; D. Kết quả đọc trình tự gen. WT: thể hoang dại (wild type).

### KẾT LUẬN

Chúng tôi đã thành công trong việc phát hiện các đột biến đoạn 30 kb, đột biến trượt khung I2 (I2 splice) và đột biến g.1584delA ở 2 người bệnh Việt Nam có hiện tượng mắc bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh. Bệnh nhân 1 phát hiện được 2 đột biến là mất đoạn 30 kb và 1 đột biến trượt khung I2. Bệnh nhân 2 phát hiện được 1 đột

biến đồng hợp tử mất 1 nucleotide mới (g.1584delA). Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với kết quả lâm sàng và hóa sinh, từ đây có thể đưa ra lời khuyên di truyền cũng như hướng điều trị đúng đắn cho bệnh nhân.

**Lời cảm ơn:** Đề tài được hỗ trợ về kinh phí của chương trình Khoa học và Công nghệ trọng điểm cấp Nhà nước KC10/11-15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Coeli F. B., Soardi F. C., Bernardi R. D., de Araujo M., Paulino L. C., Lau I. F., Petrolini R. J., de Lemos-Marini S. H., Baptista M. T., Guerra-Junior G., de-Mello M.P., 2010. Novel deletion alleles carrying CYP21A1P/A2 chimeric genes in Brazilian patients with 21-hydroxylase deficiency. *BMC Med. Genet.*, 11: 104.
2. Concolino P., Mello E., Minucci A., Giardina E., Zuppi C., Toscano V., Capoluongo, E., 2009. A new CYP21A1P/CYP21A2 chimeric gene identified in an Italian woman suffering from classical congenital adrenal hyperplasia form. *BMC Med. Genet.*, 10: 72.
3. Higashi Y., Tanae A., Inoue H., Hiromasa T., Fujii-Kuriyama Y., 1988. Aberrant splicing and missense mutations cause steroid 21-hydroxylase [P-450(C21)] deficiency in humans: possible gene conversion products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 85(20): 7486-7490.
4. Khan A. H., Aban M., Raza J., Ul Haq N., Jabbar A., Moatter T., 2011. Ethnic disparity in 21-hydroxylase gene mutations identified in Pakistani congenital adrenal hyperplasia patients. *BMC Endocr. Disord.*, 11: 5.
5. Krone N., Braun A., Roscher A.A., Knorr D., Schwarz H. P., 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.
6. Krone N., Braun A., Roscher A. A., Schwarz H. P., 1999. A novel frameshift mutation (141delT) in exon 1 of the 21-hydroxylase gene (CYP21) in a patient with the salt wasting form of congenital adrenal hyperplasia. *Mutation in brief no. 255. Online. Hum. Mutat.*, 14(1): 90-91.
7. Lee H. H., 2001. CYP21 mutations and congenital adrenal hyperplasia. *Clin. Genet.*, 59(5): 293-301.
8. Lee H. H., Chao H. T., Lee Y. J., Shu S. G., Chao M. C., Kuo J. M., Chung B. C., 1998. Identification of four novel mutations in the CYP21 gene in congenital adrenal hyperplasia in the Chinese. *Hum. Genet.*, 103(3): 304-310.
9. Merke D. P., Bornstein S. R., 2005. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet.*, 365(9477): 2125-2136.
10. Pang S. Y., Wallace M. A., Hofman L., Thuline H. C., Dorche C., Lyon I. C., Dobbins R. H., Kling S., Fujieda K., Suwa S., 1988. Worldwide experience in newborn screening for classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics.*, 81(6): 866-874.
11. Speiser P. W., White P. C., 2003. Congenital adrenal hyperplasia. *N. Engl. J. Med.*, 349(8): 776-788.
12. White P. C., Grossberger D., Onufer B. J., Chaplin D. D., New M. I., Dupont B., Strominger J. L., 1985. Two genes encoding steroid 21-hydroxylase are located near the genes encoding the fourth component of complement in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 82(4): 1089-1093.
13. White P. C., Speiser P.W., 2000. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr. Rev.*, 21(3): 245-291.
14. Yang Z., Mendoza A. R., Welch T. R., Zipf W. B. and Yu C. Y., 1999. Modular variations of the human major histocompatibility complex class III genes for serine/threonine kinase RP, complement component C4, steroid 21-hydroxylase CYP21, and tenascin TNX (the RCCX module). A mechanism for gene deletions and disease associations. *J. Biol. Chem.*, 274(17): 12147-12156.
15. Zachmann M., Tassinari D., Prader A., 1983. Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56(2): 222-229.

**IDENTIFICATION OF THREE MUTATIONS IN THE *CYP21* GENE  
IN VIETNAMESE PATIENTS HAVING SIGNS OF CONGENITAL  
ADRENAL HYPERPLASIA**

**Le Bac Viet<sup>1,2</sup>, Nguyen Thi Phuong Mai<sup>3</sup>, Nguyen Huy Hoang<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>3</sup>National Hospital of Pediatrics

**SUMMARY**

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) is a disease causing disorders in adrenal steroid hormone metabolism, above 90% cases are derived from 21-hydroxylase deficiency. The loss or reducing of this enzyme activity leads to accumulating of intermediate precursor (progesterone and 17-hydroxyprogesterone) in adrenal gland metabolism, resulting in overproduction of androgen which causes virilization signs in patients. In this study, we utilized MLPA (multiplex ligation probe amplification) technique, PCR (polymerase chain reaction) and entire *CYP21A2* gene sequencing method to detect mutations. The *CYP21A2* gene analysis results from two female patients identified three mutations, including 30 kb deletion mutation, I2 splice mutation and g.1584delA in exon 7 of the *CYP21A2* gene. The mutation g.1584delA is responsible for truncated protein of 21-hydroxylase, therefore this enzyme is impaired completely. These results proved the correlations between genotype and phenotype of patients having signs of CAH and based on them, doctors can bring out useful genetic consultants as well as therapy treatments for patients.

*Keywords:* Congenital hyperplasia (CAH), *CYP21A1P* gene, *CYP21A2* gene, g.1584delA mutation, I2 splice mutation, 21-hydroxylase, 30 kb deletion.

*Ngày nhận bài:* 15-3-2012