

NGHIÊN CỨU ĐỘT BIẾN GEN G6PD CỦA MỘT SỐ GIA ĐÌNH MIỀN BẮC VIỆT NAM

Ngô Thị Thảo^{1,*}, Trần Văn Khánh^{2,**}

TÓM TẮT

Thiếu G6PD là bệnh lý về enzyme di truyền phổ biến nhất ở người, do đột biến gen G6PD. Đa số các trường hợp thiếu hụt G6PD không có triệu chứng hoặc chỉ biểu hiện nhẹ. Tuy nhiên, khi tiếp xúc với các tác nhân oxy hóa (thuốc, hóa chất, thức ăn có tính oxy hóa cao) có thể dẫn đến các cơn tan máu. Cho đến nay, bệnh thiếu G6PD tạm thời chỉ là điều trị triệu chứng, vì vậy phát hiện sớm nhằm tư vấn nâng cao chất lượng sống, phòng ngừa các biến chứng có thể xảy ra. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu đột biến gen G6PD ở một số gia đình khu vực miền Bắc Việt Nam cho ra các kết quả sau nhằm mục tiêu: Nhận định dạng di truyền của các đột biến gen G6PD. Với 7 cặp mẫu, bằng kỹ thuật giải trình tự gen từ các thành viên trong 12 gia đình của trẻ thiếu G6PD, từ 8 tỉnh khu vực miền Bắc thuộc 5 dân tộc Kinh, Mường, Tày, Nùng, Thái, kết quả đột biến gen G6PD như sau: xác định 6 loại đột biến: Orissa (131 C>G), Valladolid (406 C>T), Viangchang (c.871G>A), Union (c.1360C>T), Canton (c.1376 G>T), Kaiping (c.1388 G>A), có 2 loại đột biến chưa từng được phát hiện ở Việt Nam là Orissa (131 C>G) và Valladolid (406 C>T). Theo kiểu gen có 24/42 là dị hợp tử, 1/42 là đồng hợp tử, số nam đột biến trên 1 nhiễm sắc thể là 17/42. Dạng di truyền: 7/12 bà ngoại truyền cho con gái, có 5/12 ông ngoại truyền cho con gái và 1/12 là bà nội truyền cho con trai.

Từ khóa: đột biến gen G6PD, thiếu G6PD.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) là một enzym điều tiết quan trọng trong đường pentose phosphate (PPP) tạo ra nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) để duy trì một môi trường thích hợp trong tế bào tham gia vào quá trình chống lại các tác nhân oxy hóa, giúp bảo vệ màng hồng cầu được bền vững, bảo vệ cấu trúc hemoglobin, cấu trúc các enzyme có trong hồng cầu để duy trì sự sống cho tế bào hồng cầu [1]. Vì vậy, thiếu G6PD được coi

là bệnh hồng cầu di truyền phổ biến nhất ở người, khoảng 500 triệu người bị trên toàn thế giới với tỷ lệ khoảng 5%, gặp nhiều ở Địa Trung Hải, Châu Phi và Châu Á [2].

Thiếu enzyme này bao gồm nhiều biểu hiện và biểu hiện lâm sàng chính là thiếu máu tan máu kèm theo vàng da sơ sinh [3]. Tùy thuộc vào mức độ hoạt động của enzyme, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã phân loại sự thiếu hụt này thành bốn loại tùy vào nồng độ enzyme và biểu hiện lâm sàng bệnh thiếu máu tan máu mạn tính [3].

Cơ sở di truyền học của bệnh là do đột biến gen mã hóa G6PD nằm trên nhánh dài, vùng 2, băng 8 của nhiễm sắc thể giới tính X (Xq28) gồm 13 exon và 12 intron, không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y nên gặp nhiều ở nam dị hợp tử (Hemi), nữ giới có thể đồng hợp tử (Homo) hoặc dị hợp tử (Hete) và thường là người mang gen bệnh, di truyền cho con trai. Nữ dị hợp tử thường không có

¹ Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương

² Trường Đại học Y Hà Nội

* Tác giả thực hiện chính

Ngô Thị Thảo

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Trần Văn Khánh

Email: thaohhtmyhd@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 5/9/2020

Ngày phản biện: 7/9/2020

Ngày phản biện: 22/9/2020

dấu hiệu về mặt lâm sàng, khiến cho việc chẩn đoán khó khăn. Mức độ nghiêm trọng của tình trạng tan máu và các biến chứng tỷ lệ thuận với nồng độ G6PD bị thiếu. Hiện tại, là dù nữ hay nam thiếu G6PD đa số không có biểu hiện lâm sàng nên rất khó phát hiện ra bệnh cho đến khi họ tiếp xúc với tác nhân gây vỡ hồng cầu như nhiễm trùng do vi khuẩn hoặc virus, ăn đậu fava hoặc thuốc. Một phần nhỏ người bị thiếu G6PD có bệnh thiếu máu tan máu mãn tính, thường phải truyền máu, một số phải truyền máu lâu dài khi hoạt động của G6PD ít hơn 10% so với bình thường [1].

Việc nghiên cứu xác định đột biến gen là tiền đề lựa chọn liệu pháp điều trị gen hiệu quả nhất. Ngoài ra, còn giúp cho chẩn đoán người lành mang bệnh, tư vấn di truyền trước sinh nhằm giảm tỉ lệ mắc bệnh, giảm hậu quả cho gia đình bệnh nhân và xã hội, nâng cao chất lượng chăm sóc sức khỏe trong cộng đồng. Trên thế giới nghiên cứu mới nhất cho biết có hơn 400 biến thể với 217 đột biến [4]. Tại Việt Nam, tỷ lệ mắc bệnh là khoảng 9,7%, thay đổi tùy theo dân tộc và khu vực. Các nghiên cứu đã phát hiện 8 đột biến hay gặp ở người Việt Nam [8,9,10]. Tuy nhiên cho đến nay chưa có công trình nào nghiên cứu toàn diện về đột biến gen G6PD ở các gia đình khác nhau với trên toàn bộ các vùng gen gây đột biến ở người miền Bắc Việt Nam. Do vậy, chúng tôi tiến hành "Nghiên cứu đột biến gen G6PD ở một số gia đình khu vực miền Bắc Việt Nam" được thực hiện với mục tiêu: *Nhận định dạng di truyền của các loại đột biến gen G6PD ở một số gia đình miền Bắc Việt Nam.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Từ trẻ em đến khám tại viện Nhi Trung Ương thuộc các tỉnh miền Bắc, tiếp tục chọn ngẫu nhiên 12 hộ gia đình bằng cách gọi điện thoại, hẹn đến tận nhà lấy mẫu toàn bộ các

thành viên của gia đình. Đóng gói, vận chuyển bệnh phẩm theo quy định.

Địa điểm nghiên cứu: Bệnh nhân được làm xét nghiệm tại phòng xét nghiệm sinh hóa, huyết học, Bệnh viện Nhi Trung ương. Các xét nghiệm sinh học phân tử thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Gen và Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Kỹ thuật định lượng hoạt độ G6PD

- Thiết bị và hóa chất, bệnh phẩm: Định lượng enzyme G6PD bằng máy hóa sinh tự động AU5800/AU680 và các hóa chất đi kèm, bệnh phẩm: Lấy 2 ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA với hàm lượng 1,5 mg/mL

- Quy trình tiến hành: Tiến hành xét nghiệm thiếu hụt G6PD bằng phương pháp định lượng của máy hóa sinh tự động AU5800/AU680, tại khoa Sinh Hoá bệnh viện Nhi Trung ương theo quy trình chuẩn ISO 15189: 2012.

* Kỹ thuật tổng phân tích các tế bào máu

- Thiết bị và hóa chất, bệnh phẩm: Máy huyết học tự động: ADVIA 2120i và các hóa chất đi kèm, bệnh phẩm: Lấy 2 ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA với hàm lượng 1,5 mg/mL.

- Quy trình tiến hành: Tiến hành xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi bằng máy ADVIA 2120i, tại khoa Huyết học bệnh viện Nhi Trung ương theo quy trình chuẩn ISO 15189: 2012.

* Các kỹ thuật xét nghiệm sinh học phân tử

- Kỹ thuật chiết tách DNA từ máu ngoại vi: 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.

- Kỹ thuật PCR khuếch đại các exon

Kỹ thuật PCR được sử dụng để khuếch đại các exon của gen G6PD với 7 cặp mồi được thiết kế đặc hiệu. Sử dụng kỹ thuật PCR để khuếch đại toàn bộ 13 exon của gen G6PD. Các cặp mồi được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Các trình tự mồi dùng để khuếch đại 13 exon

Tên mồi	Trình tự mồi (5'→3')	Exon	Tm (°C)	Kích thước(bp)
F1F	5'-CTCAAGAAAGGGGCTAACTTCTCAA-3'	2	63.5	241
F1R	5'-GCACTTCCTGGCTTTTAAGATTGGG-3'		63.1	
F2F	5'-AGGTCGTGTCCCCAGCCACT-3'	3 và 4	62	641
F2R	5'-GCACAGACACTGCCCCAGGC-3'		63.1	
F3F	5'-GGGCACCCTCCCTGGACCTC-3'	5	61.5	491
F3R	5'-TCGTGGAGCAACGCTGCCAC-3'		60.7	
F4F	5'-ACTCCCCGAAGAGGGGTTC AAGG-3'	6 và 7	62.5	561
F4R	5'-GCTCTGCCACCCTGTGCCAG-3'		62.8	
F5F	5'-ACACAGCCAAGCACCCACG-3'	8	62.1	607
F5R	5'-CAGGGCCCCTCCCTGAGGAC-3'		63.1	
F6.2F	5'-GACTCGAGATGGACCAGGGTG-3'	9	61.9	395
F6.2R	5'-CTCGAAGGCATCACCTACCATCC-3'		62.7	
F8F	5'-GGCCGTGTACACCAAGATGAT-3'	10,11	60.4	566
F8R	5'-AGAGTGACGGGTGGAGGAGAG-3'		62.7	
F9F	5'-TATGGCAGGTGAGGAAAGGGT-3'	12 và 13	60.8	297
F9R	5'-AATGTGCAGCTGAGGTCAATG-3'		59.2	

Thành phần của phản ứng PCR (thể tích 10 µl) gồm: 1 µl DNA mẫu, 0.5 µl mồi xuôi 10 pM và 0.5 µl mồi 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. Vận chuyển và bảo quản mẫu ở 4°C.

- 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 (genebank NG_009015) bằng phần mềm CLC main workbench.

2.3. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Các gia đình sẽ được thông báo kết quả xác định vị trí đột biến gen

- Các gia đình có trách nhiệm cung cấp đầy đủ các thông tin liên quan đến tình hình

bệnh tật của mình.

- Các xét nghiệm phân tích gen chỉ thực hiện khi có sự đồng ý của các gia đình.

- Các thông tin về gia đình bệnh nhân, kết quả chẩn đoán được hoàn toàn giữ bí mật. Nghiên cứu được tiến hành hoàn toàn vì mục đích khoa học, không vì bất kỳ mục đích nào khác.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm SPSS16.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm giới, địa dư, dân tộc của nhóm nghiên cứu

* **Đặc điểm về giới:** Số trẻ nam bị thiếu G6PD nhiều hơn trẻ nữ, chủ yếu là bà ngoại di truyền cho mẹ (bảng 3.1).

* **Đặc điểm về địa dư:** Bảng 3.2 cho thấy, các gia đình nằm trong địa dư 8 tỉnh trong khu vực miền Bắc Việt Nam được mỗi tỉnh có 1-2 gia đình thiếu G6PD.

* **Đặc điểm về dân tộc:** Bảng 3.3 cho thấy, 12 gia đình thuộc 5 dân tộc khác nhau trong các dân tộc gặp tỷ lệ cao mắc bệnh này ở khu vực miền Bắc Việt Nam.

Bảng 3.1. Đặc điểm về giới của nhóm nghiên cứu

Giới	Trẻ đến khám		Anh chị em trong gia đình		Bố mẹ trong gia đình		Ông bà trong gia đình		Tổng	
	N	Tỉ lệ (%)	N	Tỉ lệ (%)	N	Tỉ lệ (%)	N	Tỉ lệ (%)	n	Tỉ lệ (%)
Nam	9	75%	4	57,1%	1	8,3%	5 ông ngoại	38,5%	20	45,4%
Nữ	3	25%	3	42,9%	11	92,7%	8 (7 bà ngoại, 1 bà nội đã mất)	61,5%	24	54,6%
Tổng số	12	100%	7	100%	12	100%	13	100%	44	100

Bảng 3.2. Đặc điểm về địa dư của các đối tượng nghiên cứu

Tỉnh	TỔNG	
	N	Tỉ lệ %
Hải Dương	2	16,7%
Hà Nội	2	16,7%
Hưng Yên	2	16,7%
Cao Bằng	2	16,7%
Ninh Bình	1	8,3%
Điện Biên	1	8,3%
Bắc Ninh	1	8,3%
Hòa Bình	1	8,3%
Tổng	12	100

Bảng 3.3. Đặc điểm về dân tộc của các đối tượng nghiên cứu

Dân tộc	TỔNG	
	N	Tỉ lệ %
Kinh	4	33,3%
Mường	4	33,3%
Tày	2	16,7%
Nùng	1	8,3%
Thái	1	8,3%
Tổng: 11	12	100

3.2. Kết quả đột biến gen G6PD

Bảng 3.4. Bảng thông tin tổng hợp các gia đình theo loại đột biến G6PD

TT	Loại ĐB	Số lượng	ĐB	Mối QH	Năm sinh	Dân tộc	NĐ G6/HC	Ghi chú
GD 1	Exon 3 Orissa (131 C>G)	1 (8,3%)	Hemi	BN nam	2018	Nùng	26.3	Thiếu
				Bố	1984		398.3	BT
			DHT	Mẹ	1992		45.6	Thiếu
				Ông ngoại	1959		298.3	BT
			DHT	Bà ngoại	1968		102	Thiếu
GD 2	Exon 5 Valladolid (406 C>T)	1 (8,3%)	Hemi	BN nam	2015	Thái	47.93	Thiếu
			DHT	Em gái	2017		107.45	Thiếu
				Bố	1984		208.00	BT
			DHT	Mẹ	1988		107.40	Thiếu
				Bà ngoại	1956		205.5	BT
GD 3			Hemi	BN nam	2018	Mường	1.7	Thiếu
				Bố	1982		309.2	BT
			DHT	Mẹ	1990		25.1	Thiếu
			DHT	Bà ngoại	1967		96.12	
			Hemi	BN nam	2013	Kinh	74.44	Thiếu
GD 4	Exon 9 Viangchang (c.871G>A)	3 (25%)		Em gái	2016		156.79	Thiếu
			Hemi	Bố	1987		0	Thiếu
				Mẹ	1983		305	BT
				Bà nội	1956		Đã mất (từng được chẩn đoán thiếu men G6PD)	
			Hemi	BN nam	2016	Kinh	5.175	Thiếu
GD 5				Em gái	2019		309.7	BT
				Bố	1995		372.4	BT
			DHT	Mẹ	1995		72.8	Thiếu
			DHT	Bà ngoại	1959		160.75	Thiếu
GD 6	Exon 11 Union (c.1360C>T)	2 (16,67 %)	DHT	BN nữ	2013	Kinh	48.94	Thiếu
			Hemi	Em trai	2015		9.21	Thiếu
				Bố	1987		222.67	BT
			DHT	Mẹ	1994		70.94	Thiếu
			Hemi	ông ngoại	1969		55.20	Thiếu
GD				Bà ngoại		Mường		Đã mất
			Hemi	BN nam	2019		1.44	Thiếu

GD 8	Exon 12 Canton (c.1376G>T)	2 (16,67 %)	7	Hemi	Anh trai	2010	ng	7.67	Thiếu
					Bố	1990		230.98	BT
				DHT	Mẹ	1992		85.21	Thiếu
				DHT	bà ngoại	1973		154.42	Thiếu
				Hemi	Ông ngoại	1972		160.27	Thiếu
				1.DTH	BN nữ	2019		46.2	Thiếu
				DHT	Chị gái	2001		123.6	Thiếu
				DHT	Chị gái	2006	Mườ ng	100	Thiếu
					Chị gái	2017		234	BT
					Bố	1979		307	BT
GD 9				DHT	Mẹ	1979		106	Thiếu
					Ông ngoại	1950		298	BT
				DHT	Bà ngoại	1956		85	Thiếu
				2.Hem i	BN nam	2017		89.5	Thiếu
					Anh trai	2016	Kinh	311.1	BT
					Bố	1986		367.3	BT
				DHT	mẹ	1995		265.5	BT
				DHT	Bà ngoại	1968		159	Thiếu
					ông ngoại	1965		341.7	BT
				Hemi	BN nam	2019		22.50	Thiếu
GD 10				DHT	Mẹ	1994	Tày	95.48	Thiếu
					Bố	1992		136.46	Thiếu
				BT	ông nội	1965		302.00	BT
				BT	bà nội	1972		298.52	BT
				DHT	bà ngoại	1969		102.10	Thiếu
				BT	ông ngoại	1964		298.52	BT
				Hemi	BN nam	2018		8.24	Thiếu
				BT	Anh trai	2017	Tày	177.37	Thiếu
				BT	Bố	1985		157.05	Thiếu
				DHT	Mẹ	1990		168.01	Thiếu
GD 11				Hemi	Ông ngoại	1968		9.68	Thiếu
				BT	Bà ngoại	1969		182.92	Thiếu
				DHT	Cụ ngoại	1944		40.42	Thiếu
				Hemi	BN nam	2018		0.3	Thiếu
					Bố	1997	Mườ ng	355.6	BT

DHT	Mẹ	2001	182.1	Thiếu
Hemi	ông ngoại	1970	78.8	Thiếu
	Bà ngoại	1978	374.35	BT

Bảng 3.5. Bảng tổng hợp về các loại đột biến theo kiểu gen

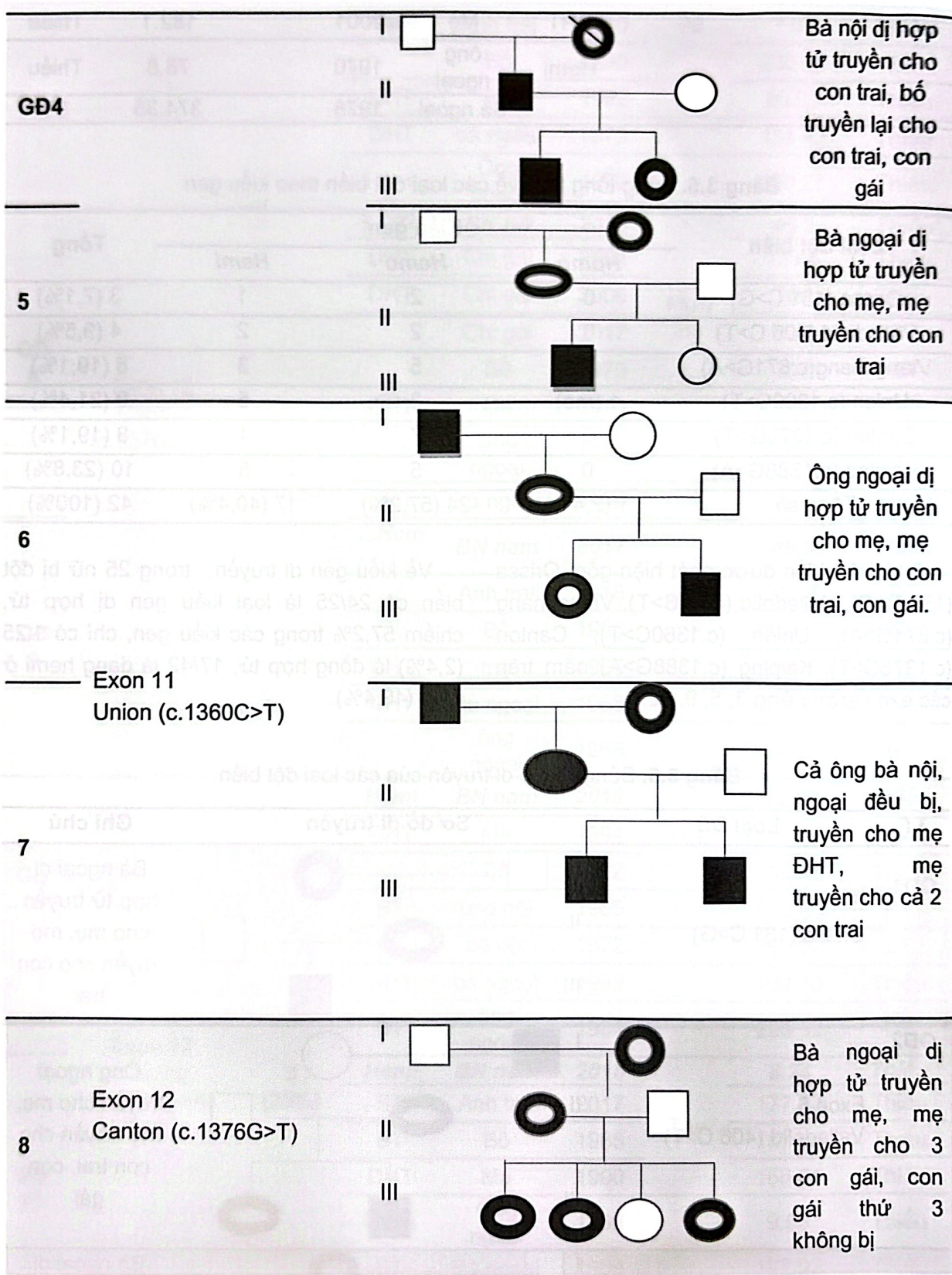
Loại đột biến	Kiểu gen			Tổng
	Homo	Hemo	Hemi	
Orissa (131 C>G)	0	2	1	3 (7,1%)
Valladolid (406 C>T)	0	2	2	4 (9,5%)
Viangchang(c.871G>A)	0	5	3	8 (19,1%)
Union (c.1360C>T)	1 (mẹ)	3	5	9 (21,4%)
Canton (c.1376G>T)	0	7	1	8 (19,1%)
Kaiping (c.1388G>A)	0	5	5	10 (23,8%)
Tổng số	1 (2,4%)	24 (57,2%)	17 (40,4%)	42 (100%)

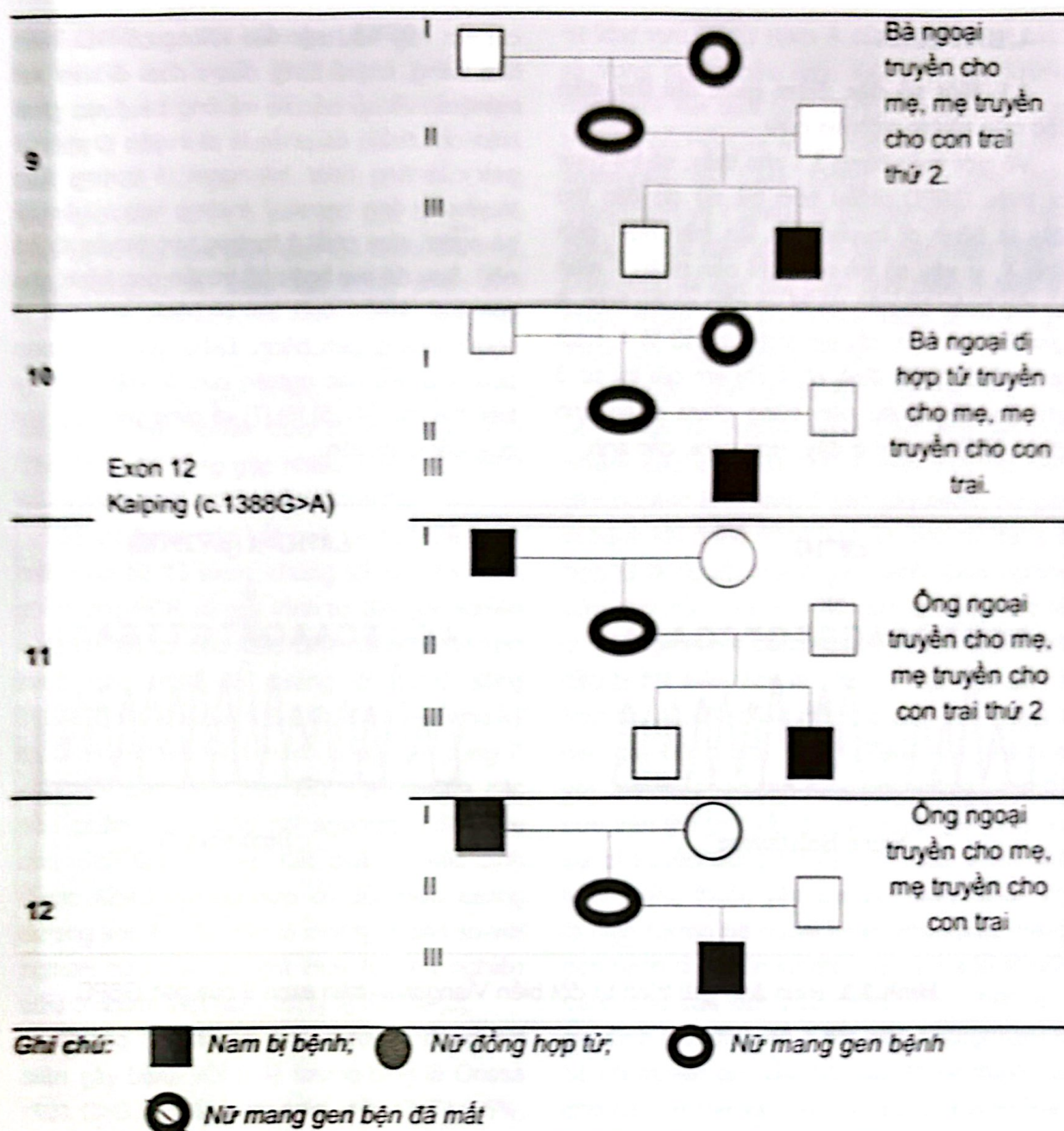
6 loại đột biến được phát hiện gồm Orissa (131 C>G), Valladolid (406 C>T), Viangchang (c.871G>A), Union (c.1360C>T), Canton (c.1376G>T), Kaiping (c.1388G>A) nằm trên các exon tương ứng 3, 5, 9, 12.

Về kiểu gen di truyền: trong 25 nữ bị đột biến có 24/25 là loại kiểu gen dị hợp tử, chiếm 57,2% trong các kiểu gen, chỉ có 1/25 (2,4%) là đồng hợp tử, 17/42 là dạng hemi ở nam (40,4%).

Bảng 3.6. Bảng sơ đồ di truyền của các loại đột biến

TT	Loại ĐB	Sơ đồ di truyền	Ghi chú
GD1	Exon 3 Orissa (131 C>G)		Bà ngoại dị hợp tử truyền cho mẹ, mẹ truyền cho con trai
GD2	Exon 5 Valladolid (406 C>T)		Ông ngoại truyền cho mẹ, mẹ truyền cho con trai, con gái
GD3	Exon 9 Viangchang (c.871G>A)		Bà ngoại dị hợp tử truyền cho mẹ, mẹ truyền cho con trai





Phần lớn là hiện tượng ông hoặc bà ngoại mang gen bệnh di truyền lại cho mẹ và mẹ lại truyền bệnh cho các con. Có 8/12 gia đình do bà ngoại truyền cho con gái, có 3/12 gia đình ông ngoại truyền cho con gái và có duy nhất 1 gia đình bà nội đã mất truyền gen cho con trai và bố truyền lại cho cả 2 con trai và gái (bảng 3.6)

Hình 3.3 cho thấy vị trí c.871 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân thuộc gia đình số 3 có trình tự là A. Sự thay đổi trên làm thay đổi bộ ba

mã hóa acid amin tại codon 291 từ Valin thành Methionin.

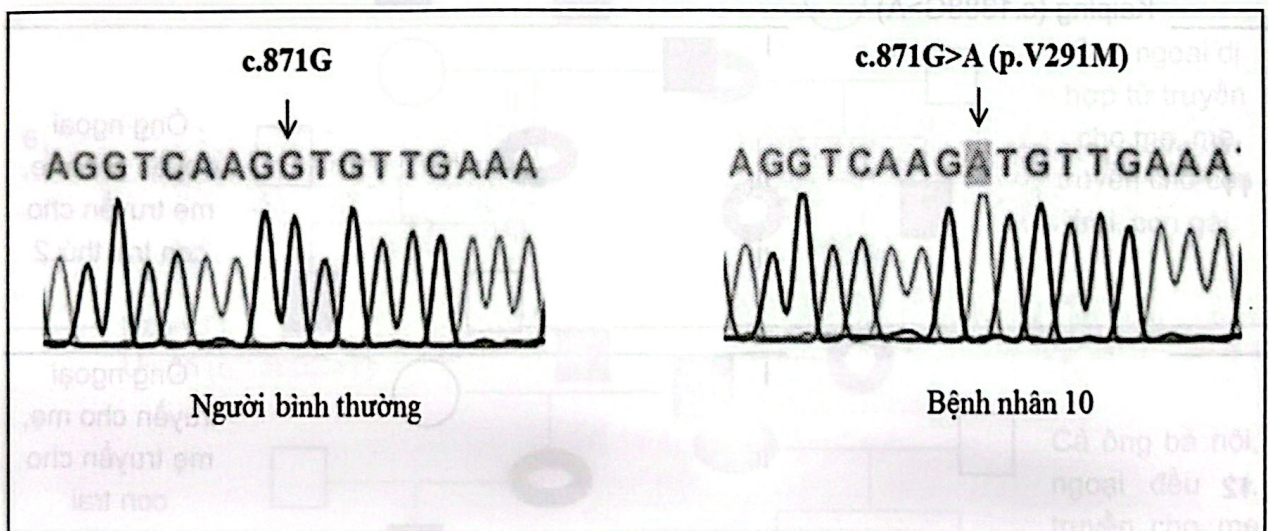
Hình 3.4 cho thấy Tại vị trí c.1376 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân thuộc gia đình số 8 có trình tự là T. Tại vị trí c.1388 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân thuộc gia đình số 12 có trình tự là A. Sự thay đổi trên làm thay đổi bộ ba mã hóa acid amin Arginin tại codon 459 và codon 463 thành Leucin và Histidin.

4. BÀN LUẬN

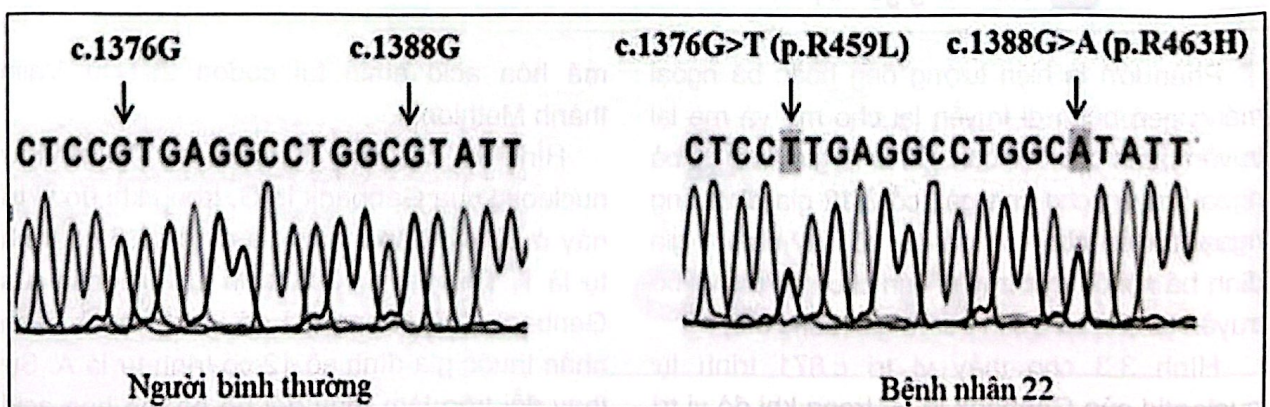
4.1. Một số đặc điểm giới, địa dư, dân tộc của nhóm nghiên cứu

Về giới theo bảng 3.1 cho thấy, số trẻ nam bị thiếu G6PD nhiều hơn trẻ nữ do đặc thù đây là bệnh di truyền gen lặn trên NST giới tính X, vì vậy số trẻ nam chỉ cần nhận 1 alen từ mẹ hoặc bố nên dễ bị và gặp nhiều hơn. 6 gia đình có anh, chị em thiếu thì nữ là 4, nam là 3 sỡ dĩ 1 gia đình có 4 chị em gái thì có 3 chị em đều thiếu nên cũng chưa phản ánh được tỷ lệ về giới ở đây. Hơn nữa, các anh,

chị em này hầu hết đều không có biểu hiện lâm sàng, chưa từng được đưa đi làm xét nghiệm. Về số bố mẹ và ông bà được phát hiện cho thấy, đa phần là di truyền từ mẹ do gen của ông hoặc bà ngoại (5 trường hợp truyền từ ông ngoại, 7 trường hợp truyền từ bà ngoại, duy nhất 1 trường hợp truyền từ bà nội). Sau đó mẹ hoặc bố truyền gen bệnh cho con trai, khiến con trai bị bệnh, con gái là người mang gen bệnh. Điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu ở Việt Nam và trên thế giới [4],[5],[6],[7] và cũng phù hợp với quy luật di truyền.



Hình 3.3. Hình ảnh giải trình tự đột biến Viangchan trên exon 9 của gen G6PD



Hình 3.4. Hình ảnh giải trình tự đột biến Canton và Kaiping trên exon 12 của gen G6PD

3.2. Kết quả đột biến gen G6PD

Về địa dư và dân tộc bảng 3.2, 3.3 cho thấy các gia đình nằm rải rác tương đối đều trong địa dư 8 tỉnh khu vực miền Bắc Việt Nam, mỗi tỉnh có 1-2 gia đình thiếu G6PD. Đồng thời lựa chọn được 5 dân tộc gặp tỷ lệ thiếu của bệnh này bao gồm dân tộc Kinh, Mường, Tây, Nùng, Thái. Điều này cũng phản ánh được phân bố về bệnh này có khả năng gặp ở các tỉnh thành và phần lớn cũng theo các tỷ lệ các dân tộc, gặp nhiều ở dân tộc Kinh, Mường. Theo nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chính thì cũng gặp nhiều ở dân tộc Kinh và Mường ở Hà Nội và Hoà Bình [6]

Để có được các kết quả về đột biến gen trên toàn bộ 13 exon, chúng tôi đã tiến hành phản ứng PCR và giải trình tự Sanger nghiên cứu với tất cả các mẫu DNA đều có độ tinh sạch cao (mật độ quang ở bước sóng 260/280 nm khoảng 1,8-2,0), đảm bảo cho kỹ thuật PCR thực hiện thành công. Sử dụng 7 cặp mồi đặc hiệu cho kích thước của các sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5% đều cho hình ảnh rõ nét. Kết quả đã xác định được 42/43 trường hợp có đột biến tương đương với 97,6%, đây là một tỷ lệ cao so với nghiên cứu của tác giả Hue NT khi nghiên cứu ở người Việt nam với tỷ lệ 89,7% [5].

Chúng tôi đã xác định được 6 dạng đột biến gây bệnh với tỷ lệ tương ứng là Orissa (131 C>G) 7,1%, Valladolid (406 C>T) 9,5%, Viangchan (c.871G>A) 19,1%, Union (c.1360C>T) 21,4%, Canton (c.1376G>T) 19,1% và Kaiping (c.1388G>A) 23,8%, nằm trên các exon tương ứng 3, 5, 9, 12 là các exon hay gặp đột biến của bệnh này. Trong đó có 2 đột biến Orissa, nơi phát hiện đầu tiên: Ấn Độ (1995) và Valladolid, nơi phát hiện đầu tiên: Tây Ban Nha (1997), rất ít xuất hiện ở khu vực Đông Nam Á và chưa từng được tìm thấy ở Việt nam trong các nghiên cứu trước đây [4], [5], [6]. 3 đột biến dạng Viangchan, Union, Kaiping là các đột biến được coi là đột biến điểm ở người Việt Nam

và khu vực Đông Nam Á cũng được thể hiện rõ trong nghiên cứu này. Kết quả này tương đồng với kết quả của Đặng Thị Lan Anh tại thành phố Hồ Chí Minh hay nghiên cứu của Matsuoka tại Lâm Đồng cũng cho thấy Viangchan và Canton là hai đột biến phổ biến trong nhóm dân tộc Kinh tại Việt Nam [5],[7]. Đây cũng là các đột biến phổ biến ở một số nước thuộc khu vực Đông Nam Á như Lào, Thái Lan, Campuchia [8],[9].

Về kiểu gen di truyền: với đặc thù của bệnh này di truyền bệnh trên gen lặn của nhiễm sắc thể giới tính X nên thường nam giới bị bệnh khi mang 1 gen gây bệnh, nữ giới bị bệnh khi ở thể đồng hợp tử, còn nữ dạng dị hợp tử là người mang gen bệnh. Qua nghiên cứu cho thấy, chỉ có 1 nữ giới bị đồng hợp tử ở một người mẹ do có cả bố và mẹ của mình đều bị đột biến, còn lại 96% là loại kiểu gen dị hợp tử, 40,4% đồng hợp tử nam do mang 1 gen gây bệnh trên gen X. Điều này phù hợp với đặc thù của bệnh cũng như một số nghiên cứu trên thế giới về đột biến theo gen [10]. Và sự di truyền cũng rất đặc thù của bệnh chứ không phụ thuộc vào loại đột biến, phần lớn là hiện tượng bà ngoại hoặc ông ngoại mang gen bệnh di truyền lại cho mẹ và mẹ lại truyền bệnh cho các con của mình. Duy nhất có 1 gia đình (gia đình số 4 đột biến Viangchan) là bà nội truyền gen cho bố, sau đó bố truyền lại cho cả con trai và con gái. Sự di truyền tuân theo quy luật di truyền và không có sự khác biệt giữa các loại đột biến khác nhau. Ở Việt Nam chưa từng có nghiên cứu về điều này nhưng khi so sánh với một số nghiên cứu trên thế giới thì hoàn toàn phù hợp [11]

5. KẾT LUẬN

Qua lấy mẫu nghiên cứu ở 12 gia đình thuộc 4 dân tộc khác nhau có kết luận sau:

1) Xác định 6 loại đột biến khác nhau: Orissa (131 C>G), Valladolid (406 C>T), Viangchan (c.871G>A), Union (c.1360C>T), Canton (c.1376G>T), Kaiping (c.1388G>A)

nằm trên các exon tương ứng 3, 5, 9, 12 là các exon hay gặp đột biến của bệnh này.

2) Trong số 25 nữ bị đột biến có 24/25 là loại kiểu gen dị hợp tử, chỉ có 1/25 là đồng hợp tử, 18/43 số nam có đột biến. Có 8/12 gia đình bà ngoại truyền cho con gái, có 3/12 gia đình ông ngoại truyền cho con gái và 1 gia đình (gia đình số 4 đột biến Viangchan) là bà nội truyền gen cho bố. Sự di truyền tuân theo quy luật di truyền và không có sự khác biệt giữa các loại đột biến khác nhau.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các gia đình bệnh nhân đã tham gia nghiên cứu, viện Nhi trung ương, Trung tâm nghiên cứu Gen – Protein trường Đại học Y Hà Nội đã hỗ trợ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R (2016), Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am.*;30(2):373-393.
2. Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, Zuppi C, Giardina B, Capoluongo E. (2012), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: Review of the "old" and update of the new mutations. *Blood Cells Mol Dis.*;48(3):154-165.
3. Gómez-Manzo S, Marcial-Quino J, Vanoye-Carlo A, et al. (2016), Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *Int J Mol Sci.*;17(12).
4. Iwai K, Hirono A, Matsuoka H, et al. (2001), Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Southeast Asia. *Hum Genet.*;108(6):445-449.
5. Hue NT, Anh DT, Trinh HLT, Hoang PN.(2013), Common mutations in G6PD of Vietnamese-Kinh deficient patients. *Afr J Biotechnol.*;12(12).
6. Trần Thị Chính, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Kaoru Nishiyama (2003), 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, Tạp chí nghiên cứu y học, 3, 98-104.
7. Matsuoka H, Thuan DTV, van Thien H, et al. (2007), Seven different glucose-6-phosphate dehydrogenase variants including a new variant distributed in Lam Dong Province in southern Vietnam. *Acta Med Okayama.*;61(4):213-219.
8. Nuchprayoon I, Sanpavat S, Nuchprayoon S. (2002), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Thailand: G6PD Viangchan (871G>A) is the most common deficiency variant in the Thai population. *Hum Mutat.*;19(2):185.
9. Louicharoen C, Nuchprayoon I. (2005), G6PD Viangchan (871G>A) is the most common G6PD-deficient variant in the Cambodian population. *J Hum Genet.*;50(9):448-452.
10. Jing-bin Yan, Hong-ping Xu, Can Xiong, et al (2010), Rapid and Reliable Detection of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Gene Mutations in Han Chinese Using High-Resolution Melting Analysis, *Journal of Molecular Diagnostics*, 3 (12): 305-311.
11. Tong et al. (2020), A novel G6PD deleterious variant identified in three families with severe glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, *BMC Medical Genetics* 21:150.

SUMMARY**RESEARCH ON G6PD MUTATION OF SOME FAMILIES NORTHERN VIETNAM**Thao Ngo Thi¹, Khanh Tran Van²¹Hai Duong Medical Technical University²Ha Noi Medical University

G6PD deficiency is the most common genetic enzyme pathology in humans, caused by a gene mutation in the G6PD gene. The majority of cases of G6PD deficiency are asymptomatic or mild. However, exposure to oxidizing agents (drugs, chemicals, highly oxidizing foods) can lead to hemolytic attacks. Up to now, G6PD deficiency is only temporary symptomatic treatment, so early detection is intended to advise on improving quality of life and preventing possible complications. We conducted research on G6PD gene mutation in some families in the North of Vietnam with the following results in order to: Identify genetic identification of G6PD gene mutation. With 7 pairs of primers, using genetic sequencing techniques from members of 12 families of children lacking G6PD, from 8 provinces in the North of 5 ethnic groups of Kinh, Muong, Tay, Nung, Thai, mutation results the G6PD gene is as follows: identify 6 types of mutations: Orissa (131 C> G), Valladolid (406 C> T), Viangchang (c.871G> A), Union (c.1360C> T), Canton (c.1376G> T), Kaiping (c.1388G> A), there are 2 types of mutations that have never been detected in Vietnam: Orissa (131 C> G) and Valladolid (406 C> T). According to genotype 24/42 is heterozygous, 1/42 is homozygous, 18/42 is hemizygous. Genetic form: 7/12 grandmother passed to her daughter, 5/12 grandmother passed to her daughter and 1/12 grandmother passed to her son.

Keywords: G6PD gene mutation, G6PD deficiency.