

- 2015: Các kết quả chủ yếu, Nhà xuất bản Thông Tấn, Hà Nội.
4. **WHO (2012)**, Mô đun sức khỏe sinh sản và sức khỏe tình dục.
 5. **UNAIDS (2012)**, AIDS Epidemic Update 2012.
 6. **Cục Phòng, chống HIV/AIDS (2011)**, Tình hình HIV/AIDS năm 2011.
 7. **Lữ Thị Mai Oanh (2012)**, Nhận thức, thái độ, hành vi về tình dục an toàn của công nhân ngoại tỉnh trên địa bàn Hà Nội hiện nay, Luận văn thạc sỹ, Đại học quốc gia Hà Nội - Đại học khoa học xã hội và nhân văn.
 8. **Nguyễn Thị Thanh Tâm, (2011)**, "Tình hình nạo phá thai ở Việt Nam", Dân số và phát triển, 7, 124.
 9. **Nguyễn Thị Phương, Lê Cự Linh (2012)**, Kiến thức, thái độ và hành vi trong quan hệ tình dục ở nam công nhân chưa kết hôn di cư tại khu công nghiệp Bình Xuyên - tỉnh Vĩnh Phúc, Luận văn thạc sỹ Y tế Công cộng, Trường Đại học Y tế Công cộng, Hà Nội.
 10. **WHO**. Report on global sexually transmitted infection surveillance 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO] <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/stis-surveillance-2018/en/>. Accessed date December 7, 2020

KHẢO SÁT TÍNH SINH BỆNH CỦA ĐỘT BIẾN GEN SCN5A TRONG HỘI CHỨNG BRUGADA

Đặng Duy Phương¹, Nguyễn Minh Hà², Đỗ Doãn Lợi^{1,3}
Trần Văn Khánh¹, Trần Huy Thịnh¹

TÓM TẮT

Giới thiệu: Hội chứng Brugada là một tình trạng rối loạn nhịp tim di truyền gây đột tử. Một số đột biến trên gen SCN5A, mã hóa cho kênh natri, đã được xác định là nguyên nhân gây hội chứng Brugada. Do các khó khăn liên quan đến các thử nghiệm trên mô hình sống và các nghiên cứu lâm sàng kéo dài, việc xác định tính sinh bệnh của các đột biến mới trên gen SCN5A, một bước quan trọng trong quá trình xác lập mối liên hệ kiểu gen-kiểu hình bệnh lý, đang được tiến hành trên các mô hình in silico. **Mục tiêu:** Xác định các đột biến gen SCN5A ở bệnh nhân hội chứng Brugada và khảo sát tính sinh bệnh của các đột biến này. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả loạt ca trên các bệnh nhân hội chứng Brugada tại các bệnh viện tại TP. Hồ Chí Minh và Hà Nội. Bệnh được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của Hội Nhịp Tim Châu Âu 2015. Đột biến được xác định bằng kĩ thuật giải trình tự Sanger. Sử dụng các phần mềm dự đoán chức năng protein để khảo sát tính sinh bệnh của đột biến. **Kết quả:** Có 50 bệnh nhân tham gia nghiên cứu. Phát hiện được 14 đột biến gen SCN5A trên 14 bệnh nhân. Các đột biến gồm 10 loại khác nhau, trong đó 4 loại là đột biến mới chưa công bố trên các cơ sở dữ liệu di truyền. Khi dự đoán tính sinh bệnh bằng các phần mềm tin sinh học, 80% là đột biến gây bệnh và có thể gây bệnh. Kiểu hình bệnh lý của 12 bệnh nhân mang đột biến gây bệnh hoặc có thể gây bệnh được mô tả đồng thời. **Kết luận:** Nghiên cứu đã khảo sát và xác định tính sinh bệnh cho 10 loại đột biến gen SCN5A phát hiện được ở bệnh nhân hội

chứng Brugada, sử dụng các công cụ trên các cơ sở dữ liệu ClinVar và các phần mềm dự đoán chức năng protein. Tuy đây là cách tiếp cận phù hợp trong giai đoạn hiện nay nhưng vẫn cần thêm các mối liên hệ có ý nghĩa thống kê giữa đột biến và kiểu hình của người bệnh để khẳng định tính sinh bệnh.

Từ khóa: Hội chứng Brugada, đột biến gen SCN5A, tính sinh bệnh

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PATHOGENICITY OF SCN5A GENE MUTATIONS IN BRUGADA SYNDROME

Introduction: Brugada syndrome is an inherited cardiac arrhythmia that causes sudden death. Mutations in the SCN5A gene, which codes for the sodium channel, have been identified as a cause of Brugada syndrome. Because there were several difficulties on conducting in vivo-model experiments and systematic clinical trials, the pathogenesis of novel mutations in the SCN5A gene, which was an important step in the establishment of genotype-phenotype relationship, was in progress in in silico models. **Objectives:** To determine SCN5A gene mutations in Brugada syndrome patients and to investigate the pathogenicity of these mutations. **Subjects and research methods:** case series study was carried on Brugada syndrome patients at hospitals in Ho Chi Minh City and Hanoi. The disease was diagnosed according to the European Heart Rhythm Society 2015 criteria. Mutations were identified by Sanger sequencing. Using protein function prediction softwares to investigate the pathogenicity of the mutations. **Results:** There were 50 patients participating in the study. 14 mutations were detected in the SCN5A gene of 14 patients. These were 10 different types of mutations, of which 4 are novel mutations that have not been published in genetic databases. When predicting pathogenicity using bioinformatic softwares, 80% are pathogenic and likely pathogenic. The pathological phenotypes of 12 patients carrying pathogenic or likely pathogenic

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

³Viện Tim mạch Quốc gia

Chịu trách nhiệm chính: Trần Huy Thịnh

Email: tranhuythinh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 15.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 1.4.2022

Ngày duyệt bài: 14.4.2022

mutations were described concurrently. **Conclusion:** The study investigated and determined the pathogenicity for 10 types of SCN5A gene mutations detected in Brugada syndrome patients, using the bioinformatic softwares. Although this is an appropriate approach at this time, it is necessary to have more statistically significant associations between mutations and patients phenotypes to confirm the pathogenicity.

Keywords: Brugada syndrome, SCN5A gene mutation, pathogenicity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Brugada là một rối loạn di truyền gây bất thường dẫn truyền điện tim, do đột biến gây mất hoặc giảm chức năng nhiều gen liên quan, chịu trách nhiệm mã hóa cho các kênh ion dẫn truyền điện thế ở màng tế bào cơ tim [1]. Trong các đột biến đã được báo cáo, đột biến trên gen SCN5A, mã hóa cho kênh natri, chiếm tần suất cao nhất, chi phối hoạt động điện tim sinh lý khác nhau và tạo ra các kiểu hình đa dạng của bệnh [1, 2]. Cho đến nay, hơn 900 loại đột biến trên gen SCN5A đã được công bố, tuy nhiên, không phải cơ chế hoạt động của tất cả các đột biến đều được làm rõ. Việc xác định được ảnh hưởng của đột biến đến cấu trúc, chức năng protein Nav1.5 và thay đổi hoạt động điện của màng tế bào cơ tim, hay nói cách khác là tính sinh bệnh của đột biến, chính là "điểm nút" để tối ưu hoá, cá thể hoá điều trị cho người bệnh.

Trên toàn thế giới, số lượng các nghiên cứu lâm sàng và di truyền về hội chứng Brugada tăng lên trong những năm gần đây. Dù vậy, việc xác định tính sinh bệnh của đột biến, từ đó làm sáng tỏ mối liên hệ kiểu gen-kiểu hình bệnh lý vẫn luôn là thách thức vì sự đa dạng của đột biến gen và tác động đa gen trong việc tạo ra kiểu hình Brugada. Bên cạnh việc tiến hành các nghiên cứu lâm sàng kéo dài có tính thống kê, các phần mềm dự đoán chức năng protein Nav1.5 dựa trên việc các đột biến làm thay đổi cấu trúc protein, đang là nhóm công cụ hỗ trợ tương đối phù hợp trong giai đoạn hiện nay. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài "Khảo sát tính sinh bệnh của đột biến gen SCN5A trong hội chứng Brugada", nhằm cung cấp thêm một số thông tin về tính di truyền của loại rối loạn nhịp tim này, góp phần làm sáng tỏ mối liên hệ giữa kiểu gen và kiểu hình cho người bệnh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: mô tả loạt ca.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 01/01/2017 đến tháng 30/06/2020. Mẫu nghiên cứu được lấy tại các khoa tim mạch của các bệnh viện tại TP. Hồ

Chí Minh và Hà Nội. Xét nghiệm giải trình tự gen được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Gen-Protein, trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu: Các bệnh nhân đến khám tại khoa Tim mạch ở các bệnh viện tại TP. Hồ Chí Minh và Hà Nội, trong khoảng thời gian từ tháng 01/2010 đến 12/2018, đã được chẩn đoán xác định hội chứng Brugada theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Hội Nhip Tim Châu Âu [3], đồng ý tham gia nghiên cứu và ký giấy đồng thuận. Đối tượng bị loại khỏi nghiên cứu khi chất lượng DNA không đạt mà không thể liên hệ để lấy mẫu lại.

Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện, thu mẫu toàn bộ.

Các bước tiến hành nghiên cứu: Lựa chọn bệnh nhân từ hồ sơ bệnh án, tiếp xúc, lấy đồng thuận tham gia nghiên cứu. Thu thập 4 mL máu tĩnh mạch để giải trình tự gen SCN5A bằng kỹ thuật Sanger. Đánh giá khả năng gây bệnh của đột biến bằng các phần mềm dự đoán chức năng protein, gồm: Polyphen2 (<https://bio.tools/polyphen-2>), Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org/>), Provean (<http://provean.jcvi.org/index.php>), SNPs&Go (<https://snps.biofold.org/snps-and-go/snps-and-go.html>). Tính sinh bệnh của đột biến được phân loại theo phân loại ACMG [4], gồm các loại: gây bệnh, có thể gây bệnh, lành tính/trung tính, chưa xác định.

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel.

Đạo đức trong nghiên cứu: Nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội (số 48/HĐĐĐĐHYHN, ngày 12 tháng 01 năm 2017).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian tiến hành, nghiên cứu đã thu thập được 50 bệnh nhân thỏa mãn tiêu chuẩn chọn mẫu. 50 bệnh nhân được giải trình tự gen SCN5A, xác định được 14 đột biến ở 14 bệnh nhân, gồm 10 loại đột biến khác nhau. Các đột biến này đều ở trạng thái dị hợp tử và kiểu di truyền đều là di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường. Các đặc điểm của đột biến gen SCN5A phát hiện trong nghiên cứu được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm đột biến gen SCN5A trong nghiên cứu

Đặc điểm đột biến gen SCN5A	Số lượng	Tỷ lệ
Cơ chế đột biến	(n=14)	(100%)
Thay thế 1 nucleotit	10	71,4

Mất đoạn	2	14,3
Lặp đoạn	1	7,1
Cắt nối intron	1	7,1
Vị trí trên protein Nav1.5 (*): không tính 2 đột biến ở intron	(n=13)*	(100%)
Đầu tận amin	1	7,7
Vùng xuyên màng (domain)	6	46,1
Đoạn nối	5	38,5

Đầu tận carboxyl	1	7,7
------------------	---	-----

Trong số 10 loại đột biến, có 6 loại đã được đăng ký trên ngân hàng dữ liệu SNP (dbSNP, database Single Nucleotide Polymorphism), 4 loại là các đột biến mới. Để khảo sát đồng bộ về ý nghĩa 10 loại đột biến này, nghiên cứu đã tiến hành đánh giá khả năng gây bệnh bằng nhiều phần mềm dự đoán in silico, kết quả được mô tả trong bảng 2.

Bảng 2. Tính sinh bệnh của đột biến gen SCN5A theo các công cụ dự đoán in silico

Đột biến (vị trí trên gen)	Số lượng	Cơ sở dữ liệu và các công cụ dự đoán tính sinh bệnh in silico (kết luận về ý nghĩa; điểm nguy cơ dự đoán) (RI: reliability index, chỉ số tin cậy)				
		db SNP/ ClinVar	Poly- phen2	Mutation Taster	PRO- VEAN	SNPs & GO
EX2-EX3 Dup (exon 2-3)	1	-	-	-	-	-
c.325_327del (exon 3) p.Asn109del (N109del)	1	-	-	Gây bệnh (prob: 0.99)	-	Gây bệnh (RI: 1)
c.1100G>A (exon 9) p.Arg367His (R367H)	1	rs28937318 Gây bệnh	Gây bệnh (1.000)	Gây bệnh (prob: 0.99)	Gây bệnh (-4.91)	Gây bệnh (RI: 8)
c.1890+14G>A (intron 12)	1	-	-	-	-	-
c.2678G>A. (exon 16) p.Arg893His (R893H)	2	rs199473172 Gây bệnh	Gây bệnh (1.000)	Gây bệnh (prob: 0.99)	Gây bệnh (-4.78)	Gây bệnh (RI: 8)
c.2893C>T (exon 17) p.Arg965Cys (R965C)	4	rs199473180 Gây bệnh	Gây bệnh (1.000)	Gây bệnh (prob: 0.99)	Gây bệnh (-7.82)	Gây bệnh (RI: 9)
c.3578G>A (exon 20) p.Arg1193Gln (R1193Q)	1	rs41261344 Lành tính	Lành tính (0.005)	Gây bệnh (prob: 1)	Trung tính (-0.46)	Trung tính (RI: 4)
c.4531C>T (exon 26) p.Arg1511Trp (R1511W)	1	rs137854602 Gây bệnh	-	Gây bệnh (prob: 0.84)	-	-
c.4850_4852delTCT. (exon 27)	1	rs749697698 Gây bệnh	Gây bệnh (0.998)	Gây bệnh (prob: 0.99)	-	Gây bệnh (RI: 5)
c.5389A>T (exon 28) p.Phe1617del (F1617del)	1	-	Gây bệnh (0.998)	-	Gây bệnh (-3.20)	Trung tính (RI: 0)

Khi xét các công bố trên cơ sở dữ liệu ClinVar và kết quả dự đoán ở bảng 2, số loại đột biến gen SCN5A phát hiện được theo từng nhóm tính chất là:

- Gây bệnh: 06 loại (gồm 05 loại đã công bố xác định tính sinh bệnh trên ClinVar là R367H, R893H, R965C, R1511W, F1617del; và 01 loại mới là N109del) (6/10 loại, 60%); tương ứng 10/14 bệnh nhân, chiếm tỉ lệ 71,4%.

- Có thể gây bệnh: 02 loại (gồm c.1890+ 14G>A và I1797F là đột biến mới) (2/10 loại, 20%); tương ứng 2/14 bệnh nhân, chiếm tỉ lệ 14,3%.

- Lành tính: 01 loại là R1193Q đã công bố xác định tính sinh bệnh trên ClinVar (1/10 loại, 10%); tương ứng 1 bệnh nhân, chiếm tỉ lệ 7,1%.

- Chưa kết luận được: 01 loại là đột biến mới ex2-ex3dup (1/10 loại, 10%), tương ứng 1 bệnh nhân, chiếm tỉ lệ 7,1%.

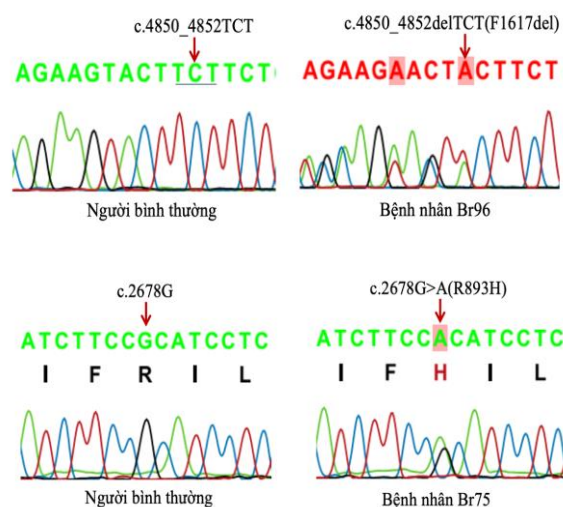
Tổng cộng có 12 bệnh nhân mang đột biến gây bệnh hoặc có thể gây bệnh. Kiểu hình (đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng) của 12 trường hợp này được liệt kê trong bảng 3, trong đó: 8/12 người bệnh có yếu tố gia đình có người đột tử trước 45 tuổi; 10/12 người bệnh có ngất ít nhất một lần; 9/12 có điện tâm đồ tít 1 tự phát và 1/12 có điện tâm đồ tít 1 do thuốc; 12/12 đều đã được đặt thiết bị khử rung (ICD, Implantable cardioverter defibrillator). Hình ảnh giải trình tự một số đột biến phát hiện được minh họa ở hình 1.

Bảng 3. Đặc điểm kiểu hình của 11 bệnh nhân mang đột biến gen SCN5A gây bệnh và có thể gây bệnh

STT	Giới	Tuổi	Đột biến gây bệnh hoặc có thể gây bệnh	Đặc điểm kiểu hình bệnh
1	Nam	51	N109del	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; ECG tít

			(chưa công bố y văn)	2; nghiêm pháp flecanide (+); đã đặt ICD.
2	Nam	27	R367H	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; ECG típ 1; đã đặt ICD.
3	Nữ	64	R893H	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngưng tim; ECG típ 1; EPS (+); đã đặt ICD.
4	Nam	23	R893H	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; ECG típ 1; đã đặt ICD.
5	Nam	35	R965C	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; thở hấp hối về đêm; ECG típ 1; EPS (+); đã đặt ICD.
6	Nam	57	R965C	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ECG típ 1; EPS (+); đã đặt ICD.
7	Nam	38	R965C	Ngất; ECG típ 1; đã đặt ICD.
8	Nam	46	R965C	Ngất; Thở hấp hối về đêm; ECG típ 1; EPS (+); đã đặt ICD.
9	Nam	42	R1511W	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; ECG típ 2; đã đặt ICD.
10	Nam	47	F1617del	Ngất; ECG típ 1; EPS (+); đã đặt ICD.
11	Nam	57	I1797F	Gia đình có người đột tử < 45 tuổi; ngất; ECG típ 1; đã đặt ICD.
12	Nam	60	c.1890+14G>A (chưa công bố y văn)	Ngất; ECG típ 1; đã đặt ICD.

Chú thích: 1*: bệnh nhân mang 2 đột biến gen SCN5A, đột biến thứ hai là R1193Q, chưa kết luận được tính sinh bệnh; "+" nghĩa là "dương tính"; EPS (electrophysio study) khảo sát điện sinh lý; ICD: thiết bị khử rung.



Hình 1. Hình ảnh giải trình tự một số đột biến trên gen SCN5A

IV. BÀN LUẬN

Đột biến gen SCN5A là yếu tố di truyền duy nhất được xác định có tính nhân-quả trong bệnh sinh hội chứng Brugada. Đây là kết luận rút ra được từ phân tích tổng hợp dựa trên các bằng chứng di truyền và so sánh có đối chứng trên người bệnh của tác giả Hosseini và cộng sự, khi tiến hành xem xét đồng thời 21 gen đã được báo cáo có liên quan đến hội chứng Brugada [1]. 20 gen còn lại, được xem là thiếu các bằng chứng về cả mặt phân tử và lâm sàng

(A) Kết quả giải trình tự Sanger đột biến c.4850_4852delTCT (F1617del) ở exon 27 gen SCN5A: Hình ảnh trình tự nucleotit từ vị trí 4850 đến 4852 trên exon 28 gen SCN5A: ở người bình thường là TCT, bị biến mất ở người mắc hội chứng Brugada, làm axit amin ở vị trí 1617 là phenylalanin (F) bị biến mất tương ứng, tạo thành đột biến mất đoạn không lệch khung dịch mã c.4850_4852delTCT (F1617del).

(B) Kết quả giải trình tự Sanger đột biến c.2678G>A (E893H) ở exon 16 gen SCN5A: Hình ảnh trình tự nucleotit vị trí 2678 trên exon 16 gen SCN5A: ở người bình thường là guanin (G) bị thay thế bởi adenin (A) ở người mắc hội chứng Brugada, làm axit amin ở vị trí 893 là arginin (R) bị biến đổi thành histidin (H), tạo thành đột biến c.2678G>A (E893H).

cho kết luận như trên. Để đánh giá tác động tiềm tàng của các thử nghiệm có sẵn đối với việc diễn giải biến thể gen, cơ sở dữ liệu ClinVar đã được sử dụng [5], có khoảng hơn 1400 biến thể di truyền được công bố có liên quan đến hội chứng Brugada. Nếu loại ra các biến thể mới được báo cáo, chưa được đánh giá phân tích kiểu gen-kiểu hình thì: trong 1223 biến thể di truyền của 21 gen được khảo sát, gen SCN5A chiếm 404 biến thể (33%). Trong số 404 đột biến SCN5A đã được đánh giá nêu trên: khoảng

16,5% được xếp loại gây bệnh hoặc có khả năng gây bệnh; 43,3% thuộc nhóm không xác định được tính sinh bệnh; 22,3% được xếp vào nhóm lành tính; và còn lại là nhóm vẫn còn đang tranh cãi.

Trong 10 loại đột biến SCN5A khác nhau trong nghiên cứu này, chúng tôi ghi nhận được đột biến gây bệnh hoặc có khả năng gây bệnh chiếm 80%, trong đó có cả các đột biến đã công bố và các đột biến mới chưa được công bố y văn. Tỷ lệ này dao động từ 18%-66,9% qua các nghiên cứu [2] và cơ sở dữ liệu ClinVar, phụ thuộc vào: (i) độ nặng kiểu hình của quần thể được khảo sát. Các đột biến có tính sinh bệnh là các đột biến gây tổn hại về cấu trúc và/hoặc tính năng của protein, gây giảm chức năng của kênh Nav1.5 trong hầu hết các trường hợp. Vì vậy, tùy theo tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu càng có nhiều triệu chứng thì có nhiều khả năng sẽ có tỉ lệ đột biến gây bệnh cao hơn; và (ii) phương thức xác định tính sinh bệnh của các biến thể.

Tính sinh bệnh của mỗi đột biến gen SCN5A được xác định hoặc dự đoán bằng các phương thức sau:

(i) Khảo sát ở cấp độ DNA: Về mặt cơ chế phân tử, để được xem là một biến thể có khả năng gây hội chứng Brugada thì biến đổi gen đó phải phá vỡ hoặc khung dịch mã hoặc điểm kiểm soát cắt nối (splice site) khi cắt intron và chọn lựa các exon [2]. Các biến thể gây phá vỡ những điều trên là các biến thể thuộc nhóm đột biến cắt nối intron; đột biến mất đoạn/thêm đoạn làm lệch khung dịch mã, đột biến sai nghĩa gây tạo ra mã kết thúc, hoặc các đột biến sai nghĩa khác gây ảnh hưởng nặng đến các vùng chức năng của protein. Tuy nhiên, trong trường hợp này, mỗi liên hệ nhân quả giữa kiểu gen và kiểu hình không hoàn toàn chắc chắn. Mặc dù một số đột biến gen SCN5A thuộc nhóm này được báo cáo là có liên quan đến việc gia nguy cơ biến cố loạn nhịp thất, các quan sát này chưa được xác nhận bởi các nghiên cứu ngẫu nhiên có đối chứng [6].

(ii) Khảo sát ở mức độ mRNA: khi mà biến thể ấy tạo ra các mRNA bất thường, cấu trúc protein thay đổi đi kèm mất hoặc giảm chức năng.

(iii) Khảo sát ở mức độ protein:

- Dự đoán dựa trên phân tích tổng hợp các dữ kiện y văn liên quan đến chức năng của các vùng cấu trúc của protein tương ứng. Đối với các kênh Nav, các vùng xuyên màng chứa các khu vực thực hiện chức năng quan trọng của kênh như cổng bất hoạt, lỗ trung tâm, vùng cảm nhận điện thế. Một đột biến xảy ra trên chiều dài vùng này có khả năng cao phá vỡ một hoặc nhiều tính năng nêu trên. Trong một công bố năm 2015,

khảo sát tính sinh bệnh và các đặc điểm liên quan của các biến thể đơn nucleotit không tương đồng này trên 2111 bệnh nhân Brugada và 8975 người không hội chứng Brugada (nhóm chứng), tác giả Kapplinger và cộng sự đã kết luận: Chỉ có các đột biến xảy ra ở các vùng xuyên màng là có tính sinh bệnh cao vì ảnh hưởng đến lỗ cấu trúc và vùng cảm nhận điện thế của kênh Nav1.5 [7].

- Dự đoán dựa trên các phần mềm in silico: các phần mềm này sử dụng nhiều cơ sở dữ liệu di truyền, chủ yếu là UniProtKB và SwissProt, làm nguồn tham khảo cho tất cả các trình tự và chú giải về đặc tính của protein, từ đó phân tích cấu trúc và dự đoán biến đổi chức năng protein từ đột biến. Từ việc phân tích các mô hình giả lập và tính toán các chỉ số nguy cơ, các công cụ này sẽ xếp loại một đột biến theo tính sinh bệnh, gồm: gây bệnh, có thể gây bệnh, trung tính, lành tính. Đây là phương thức dự đoán tính sinh bệnh của biến thể di truyền được áp dụng nhiều hiện nay. Tuy mỗi phần mềm khác nhau có những ưu điểm riêng và độ nhạy riêng, việc sử dụng cùng lúc nhiều công cụ dự đoán nguy cơ sinh bệnh của đột biến sẽ giúp tăng khả năng diễn giải đúng mỗi liên hệ kiểu gen-kiểu hình [7].

(iv) Khảo sát ở cấp độ kiểu hình của người bệnh (ý nghĩa trong lâm sàng). Tiến hành các nghiên cứu đoàn hệ có đối chứng giữa nhóm bệnh và nhóm chứng. Đối với mỗi loại biến thể xác định được, trước tiên cần xác định đây là biến thể hiếm gặp hay là SNP, đồng thời có phải là đột biến không (biến thể hiếm gặp có tần suất nhỏ hơn 0,5% trên dân số chung); và biến thể gen hiếm gặp chỉ xuất hiện ở nhóm bệnh được xem là "đột biến" [2]. Sau đó đối với mỗi loại đột biến phát hiện được, cần phân tích xem xét sự liên quan với kiểu hình của người bệnh, đồng thời khảo sát phổ của đột biến này theo hình thức phá hệ. Đồng thời, sự khác biệt khi so sánh phải có ý nghĩa thống kê. Hội chứng Brugada là một bệnh lý hiếm gặp, vì vậy, phương thức này tuy công bố bằng chứng mạnh mẽ nhất nhưng cũng là phương thức khó tiến hành nhất.

Trong nghiên cứu này, để dự đoán tính sinh bệnh của các đột biến, chúng tôi đã áp dụng các phương thức sau:

- Tra cứu dữ liệu đã công bố trên ClinVar: xác định được 5/10 loại đột biến gen SCN5A là đột biến gây bệnh và 1/10 loại là đột biến lành tính.

- Dự đoán từ cơ chế biến đổi ở cấp độ DNA: xác định được 1/10 loại đột biến gen SCN5A là đột biến có thể gây bệnh (đột biến cắt nối c.1890+14G>A ở intron 12).

- Dự đoán bằng các phần mềm (PolyPhen2,

Mutation Taster, PROVEAN, SNP&GO): xác định được:

+ Thống nhất tính chất gây bệnh với 7/10 loại đột biến gen SCN5A nêu trên;

+ Với các đột biến còn lại: 1/10 loại là đột biến gây bệnh (N109del); 1/10 loại là đột biến có thể gây bệnh (I1797F); 1/10 loại là không thể dự đoán (ex2-3dup).

Như vậy, chúng tôi đã vận dụng nhiều hơn một phương thức hiện có nhằm để cố gắng dự đoán tính sinh bệnh của các đột biến phát hiện được. Tuy nhiên, đây vẫn chỉ là các bằng chứng gián tiếp có độ mạnh chưa cao. Kiểu hình bệnh lý (đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng) của 12 trường hợp đột biến gây bệnh hoặc có thể gây bệnh (bảng 3) cho thấy: mặc dù có mang đột biến gen SCN5A gây bệnh hoặc có thể gây bệnh, các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của người bệnh rất đa dạng và không có qui luật. Có bệnh nhân có tiền sử gia đình đột tử và hình ảnh điện tâm đồ Brugada típ 1, kèm nguy cơ rất cao cho biến cố loạn nhịp thất trong tương lai, nên đã được đặt ICD. Các kiểu hình bệnh lý này vẫn hiện diện ở những trường hợp không có đột biến gen SCN5A; hoặc ở những trường hợp mang đột biến gen SCN5A lành tính hoặc chưa xác định được tính sinh bệnh. Các quan sát này càng củng cố tính chất di truyền vô cùng phức tạp của hội chứng Brugada. Mặt khác, dù đã phối hợp nhiều phương thức và công cụ dự đoán tính sinh bệnh khác nhau, các tác giả vẫn ước tính có khoảng 10-20% các đột biến được xếp nhóm gây bệnh hoặc có khả năng gây bệnh có thể đã được phân loại sai và ngược lại [7, 8]. Ví dụ như trường hợp đột biến R1193Q ở exon 20 đã được xác định là đột biến lành tính. Trong nghiên cứu này, bệnh nhân mang đột biến R1193Q chưa có biểu hiện triệu chứng gì, bệnh được phát hiện một cách tình cờ. Tuy nhiên, nghiên cứu của tác giả Makarawate và cộng sự năm 2017 lại cho thấy đột biến này có liên quan đến tình trạng loạn nhịp thất dẫn đến các đợt sốc điện ở người bệnh Brugada đã đặt ICD, với tỉ số HR là 10,550 (95% CI, 1,631-68,232) [9].

Nghiên cứu này chỉ khảo sát các biến thể di truyền trên gen SCN5A. Đóng góp vào việc tạo ra kiểu hình Brugada, vẫn còn hơn 20 gen khác đã được công bố, nhiều gen khác nữa chưa được phát hiện ra, cũng như các yếu tố hỗ trợ di truyền chưa được khảo sát trong nghiên cứu này. Chính vì vậy, việc phân tích và lý giải mối liên hệ nhân quả về kiểu gen - kiểu hình của các bệnh nhân có đột biến đơn độc và nhiều đột biến cùng lúc, trong nghiên cứu, là rất khó khăn. Bên cạnh đó, để có thể kết luận vững chắc về tính

sinh bệnh của một đột biến có tiềm năng gây bệnh, chúng ta cần có thêm các nhóm bằng chứng về mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa sự hiện diện của đột biến gây bệnh với: (i) kiểu hình của người bệnh (tiền sử gia đình, triệu chứng lâm sàng, các biểu hiện cận lâm sàng); và (ii) các biểu hiện hoạt động điện của tế bào cơ tim.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát và xác định tính sinh bệnh cho 10 loại đột biến gen SCN5A phát hiện được ở bệnh nhân hội chứng Brugada, sử dụng các phần mềm dự đoán chức năng protein. Kết quả 80% là các đột biến gây bệnh và đột biến có thể gây bệnh, được đối chiếu với kiểu hình bệnh lý của các bệnh nhân. Tuy đây là cách tiếp cận phù hợp trong giai đoạn hiện nay nhưng vẫn cần thêm các mối liên hệ có ý nghĩa thống kê giữa đột biến và kiểu hình của người bệnh để khẳng định tính sinh bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hosseini, S.M., et al.,** Reappraisal of reported genes for sudden arrhythmic death: evidence-based evaluation of gene validity for Brugada syndrome. 2018. **138**(12): p. 1195-1205.
2. **Kaplinger, J.D., et al.,** An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. 2010. **7**(1): p. 33-46.
3. **Members, A.T.F., et al.,** 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). 2015. **17**(11): p. 1601-1687.
4. **Richards, S., et al.,** ACMG Laboratory Quality Assurance Committee Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. 2015. **17**(5): p. 405-424.
5. **<http://clinvar.com/>**, accessed 20/11/2018.
6. **Probst, V., et al.,** Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. 2010. **121**(5): p. 635-643.
7. **Kaplinger, J.D., et al.,** Enhanced classification of Brugada syndrome-associated and long-QT syndrome-associated genetic variants in the SCN5A-encoded Nav1.5 cardiac sodium channel. 2015. **8**(4): p. 582-595.
8. **Ackerman, M.J.J.H.r.,** Genetic purgatory and the cardiac channelopathies: exposing the variants of uncertain/unknown significance issue. 2015. **12**(11): p. 2325-2331.
9. **Makarawate, P., et al.,** SCN 5A Genetic Polymorphisms Associated With Increased Defibrillator Shocks in Brugada Syndrome. 2017. **6**(6): p. e005009.