

# PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN MỚI TRÊN GEN SCN5A GÂY HỘI CHỨNG QT KÉO DÀI Ở BỆNH NHÂN VIỆT NAM

Bùi Chí Bảo<sup>1,2</sup>, Nguyễn Minh Hiệp<sup>3</sup>, Nguyễn Vương Thảo Vy<sup>4</sup>,  
Ngô Hà Phương<sup>5</sup>, Phạm Hồ Thuật Khoa<sup>6</sup>, Vũ Bảo Quốc<sup>6</sup>,  
Lê Thị Thu Thủy<sup>6</sup>, Trần Thị Thanh Nga<sup>6</sup>, Nông Thị Minh Hiền<sup>6</sup>,  
Lương Thị Thu Nga<sup>6</sup>, Bùi Minh Hoàng<sup>6</sup>, Lê Minh Trọng<sup>6</sup>  
và Nguyễn Thị Huỳnh Nga<sup>6</sup>, ✉

<sup>1</sup>Trung tâm Y Sinh học Phân tử, Đại học Y Dược Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Đơn vị Sinh học Phân tử Di truyền, Bệnh viện Nhi đồng 2, Tp Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Trung tâm Công nghệ bức xạ, Viện Nghiên cứu Hạt nhân, Tp Đà Lạt

<sup>4</sup>Công ty Cổ phần Công nghệ Y khoa DNA, Tp Hồ Chí Minh

<sup>5</sup>Khoa Sau Đại học, Trường Đại học Đà Lạt, Tp Đà Lạt

<sup>6</sup>Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt, Tp Đà Lạt

Hội chứng QT kéo dài (LQTS) là một bệnh lý đặc trưng bởi khoảng thời gian kéo dài bất thường giữa sóng Q và sóng T do rối loạn tái cực cơ tim. LQTS có căn nguyên phức tạp do sự trùng lặp lớn về kiểu gen và biểu hiện lâm sàng giữa các nhóm LQTS khiến cho việc chẩn đoán chỉ dựa trên các dấu hiệu lâm sàng trở nên khó khăn và không chính xác. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) nhằm khảo sát 17 gen liên quan đến bệnh LQTS ở bệnh nhân Việt Nam. Bằng chiến lược giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa (WES), chúng tôi đã xác định được một đột biến sai nghĩa thuộc exon thứ 27 của gen SCN5A. Đột biến c.G4814A/p.R1605Q thuộc vùng xuyên màng ở đầu C-terminus của protein SCN5A. Vị trí đột biến này gây ảnh hưởng đến protein SCN5A, là nguyên nhân gây bệnh LQTS. Các kết quả nghiên cứu di truyền trên sẽ góp phần vào việc chẩn đoán phân tử và tầm soát bệnh LQTS được triệt để hơn.

**Từ khóa:** LQTS, SCN5A, đột biến, NGS, WES

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng QT kéo dài (long QT syndrome, LQTS) là một bệnh lý không đồng nhất về mặt di truyền và biểu hiện lâm sàng, được nhận biết trên điện tâm đồ (electrocardiogram, ECG), đặc trưng bởi khoảng thời gian dài bất thường giữa sóng Q và sóng T trong 12 chuyển đạo cơ bản do rối loạn tái cực cơ tim.<sup>1</sup> Hội chứng LQTS có thể dẫn đến các hiện tượng ngất, co giật, loạn nhịp tim nguy hiểm như xoắn đỉnh (torsades

de pointes, TdP), ngừng tim và đột tử (SCD).<sup>2</sup> LQTS liên quan mật thiết với hội chứng đột tử ở trẻ sơ sinh (SIDS) và chết lưu thai.<sup>3</sup> Hiện tại, các đột biến đã được xác định ở ít nhất 17 gen liên quan đến LQTS.<sup>4,5</sup> LQTS có căn nguyên rất phức tạp, bao gồm cả nguyên nhân di truyền và không di truyền.<sup>1,4-6</sup> Hơn nữa, LQTS có sự tương quan kiểu gen - kiểu hình phức tạp vì không phải tất cả các đột biến trên cùng một gen đều dẫn đến kết quả lâm sàng tương tự.<sup>7</sup> Ngoài ra, kết quả lâm sàng không thể được dự đoán một cách chính xác bởi vì cả chính đột biến cũng như quá trình phản ứng sinh lý học của nó đều ảnh hưởng đến sự biểu hiện bệnh lý.<sup>5-7</sup> Trong một số trường hợp, các phân nhóm

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Huỳnh Nga,

Trường Đại học Đà Lạt

Email: [nganth@dlu.edu.vn](mailto:nganth@dlu.edu.vn)

Ngày nhận: 09/12/2019

Ngày được chấp nhận: 30/12/2019

LQTS khác nhau cũng có hình thái tim giống nhau. Ngược lại, một đột biến duy nhất cũng có thể gây ra bệnh lý LQTS với các dấu hiệu đặc trưng hoặc bệnh lý LQTS không biểu hiện triệu chứng lâm sàng, hoặc ngay cả việc biểu hiện những hội chứng khác, dẫn đến sự khó khăn trong việc theo dõi bệnh nhân, cần nhiều kết quả ECG liên tục trong thời gian dài.<sup>2,5-7</sup> Tóm lại, chính sự trùng lặp lớn về kiểu gen và kiểu hình giữa các nhóm LQTS đã gây hạn chế cho việc chẩn đoán bệnh nếu chỉ dựa trên các đặc điểm lâm sàng. Vì vậy, để chẩn đoán cũng như tiên lượng cụ thể cho bệnh nhân LQTS, việc ứng dụng công nghệ giải trình tự thế hệ mới (NGS) và nghiên cứu kết hợp trên toàn bộ bộ gen là rất cần thiết.

Kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (next generation sequencing, NGS) là một công nghệ giải trình tự DNA thông lượng cao, tạo ra dữ liệu của nhiều đoạn DNA trong một phản ứng.<sup>8</sup> Phương pháp NGS, bao gồm giải trình tự toàn bộ vùng mã hoá exome (whole exome sequencing, WES) và giải trình tự toàn bộ bộ gen (whole genome sequencing, WGS), đã nhanh chóng trở thành một công cụ có thể chẩn đoán phân tử cho các rối loạn di truyền Mendel.<sup>9,10</sup> Exome là tập hợp của tất cả các exon bộ gen, chiếm xấp xỉ 1% tổng số bộ gen và chứa 85% các đột biến có thể dẫn đến sự biểu hiện các đặc điểm lâm sàng.<sup>9</sup> Theo đó, việc xác định và giải trình tự 1% vùng mã hóa mang ít trình tự lặp này sẽ dễ dàng hơn so với vùng không mã hóa.<sup>8-10</sup> Kỹ thuật WES đã khắc phục những hạn chế của phương pháp giải trình tự Sanger về tốc độ, chi phí và độ chính xác.<sup>8,11-13</sup> Do đó, WES trở thành một công cụ chẩn đoán có hiệu quả tối ưu đối với việc xác định biến thể gây bệnh.<sup>11-13</sup>

Trong đề tài này, kỹ thuật WES đã được ứng dụng để nghiên cứu phát hiện đột biến trên một bệnh nhân người Việt Nam được nghi ngờ mắc

LQTS nhằm phát hiện biến thể mới liên quan đến bệnh, từ đó có thể xác định sớm quá trình phát triển loạn nhịp tim và quản lý lâm sàng triệt để hơn.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

Một bệnh nhân người Việt Nam được lập hồ sơ hội chứng, di truyền và quản lý lâm sàng tại Bệnh viện Nhi đồng 2, Thành phố Hồ Chí Minh. Bệnh nhi là nam, 3 tháng tuổi, được nhập viện trong tình trạng tím tái, khó thở, rối loạn nhịp nhanh thất, có nguy cơ tử vong cao. Các dấu hiệu lâm sàng bước đầu cho thấy bệnh nhân được chẩn đoán mắc hội chứng LQTS.

### 2. Phương pháp tách chiết và tinh sạch DNA

3 – 5 ml máu tĩnh mạch bệnh nhân được thu thập lấy trong ống chống đông EDTA. Ống mẫu được bảo quản trong thùng đựng mẫu ở nhiệt độ 2 – 8°C để đưa đi tách DNA.

DNA được tách chiết và tinh sạch bằng bộ kit Illustra - blood genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi tách chiết, các mẫu DNA được đo bằng máy NanoDrop có nồng độ trong khoảng 100 – 200 ng/μL và giá trị OD 260/280 trong khoảng 1,8 – 1,9. Mẫu DNA sau đó được chuyển đi giải trình tự WES trên hệ thống HiSeq 4000 (Illumina) tại công ty MacroGen.

### 3. Phương pháp chuẩn bị và thiết kế mẫu hệ gen

Phân mảnh sử dụng nền tảng Illumina như sau: 1 μg gDNA được cắt thành 100 – 900 bp mảnh với Covaris E210 (Covaris, Inc., Woburn, MA) để chạy trên thư viện NGS. Chúng tôi cũng tạo số lượng mẫu dò cho nhóm 17 gen mục tiêu của bệnh LQTS bao gồm các gen: *AKAP9*, *ANK2*, *CACNA1C*, *CALM1*, *CALM2*, *CALM3*, *CAV3*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNH2*, *KCNJ2*, *KCNJ5*, *KCNQ1*, *NOS1AP*, *SCN4B*, *SCN5A*

và *SNTA1*.<sup>1,2</sup> Đây là mẫu dò thư viện được ký hiệu “Pan 17 LQTS”. Trong bước này, chúng tôi thu thập trình tự mã hóa (exon) của toàn bộ 17 gen, sau đó sử dụng phần mềm Afident Probe Library Select để chạy tìm mẫu dò. Thư viện được định lượng bằng PCR định lượng (qPCR) bằng cách sử dụng Bộ định lượng thư viện Kapa (Kapa Biosystems, Inc., Wilmington, MA) trên 7900HT (Applied Biosystems, Foster City, CA). Giải trình tự được thực hiện trên máy HiSeq 4000 với bộ kit TruSeq 3000/4000 SBS Kit v3 (protocol HiSeq 3000/4000 System User Guide Part # 15066496, Rev. A HCS 3.3.20). Dữ liệu sau cùng được xuất ra và gửi về ở dạng file \*.Fastq.

Để đối chiếu các đoạn đọc ngắn lên ngân hàng gen người (UCSC/hg19), chúng tôi sử dụng phần mềm Burrows Wheeler Aligner (BWA). Việc xử lý tiếp theo là sắp xếp, hợp nhất và loại bỏ trùng lặp cho các tệp BAM được thực hiện bằng cách sử dụng SAMtools và Picard (<http://picard.sourceforge.net/index.shtml>). Để xuất các biến thể, chúng tôi sử dụng các phần mềm Platypus và Genome Analysis Toolkit (GATK). Các biến thể được chú thích bởi phần mềm ANNOVAR. Các bước lọc biến thể tiếp theo, việc chú giải biến thể được thực hiện trên phần mềm Geneticist Assitant. Để tìm ra các biến thể tiềm năng, nghiên cứu sẽ giữ lại các biến thể không đồng nghĩa (nonsynonymous), có  $MAF \leq 0.005$  và được dự đoán gây bệnh bằng tất cả các công cụ dự đoán chức năng. Các biến thể có điểm chất lượng tối thiểu được loại bỏ không xem xét. Các tần số allele nhỏ của các biến thể được xác định từ 3 database: ExAC database, 1000 Genome Project database và Exome Variant Server. Các biến thể sai nghĩa (missense variant) được xem là có tiềm năng gây bệnh (potentially pathogenic) nếu được phân loại đồng thời là “damaging” ở SIFT, “deleterious” ở PROVEAN, “possibly”

hoặc “probably damaging” ở PolyPhen - 2 và “disease causing” ở MutationTaster.

#### 4. Phương pháp giải trình tự Sanger

Phương pháp giải trình tự Sanger được dùng để xác nhận lại biến thể mới đã được phát hiện bằng kỹ thuật WES, sử dụng thuốc thử BigDye v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA) theo các bước hướng dẫn của nhà sản xuất. Cặp mồi được sử dụng có trình tự là SCN5A - 27F: GCCACAGTCTCTGTTGTTTC và SCN5A - 27R: ACATCATGAGGGCAAAGAGC được thiết kế bằng phần mềm CLC Main Workbench.

#### 5. Đạo đức nghiên cứu

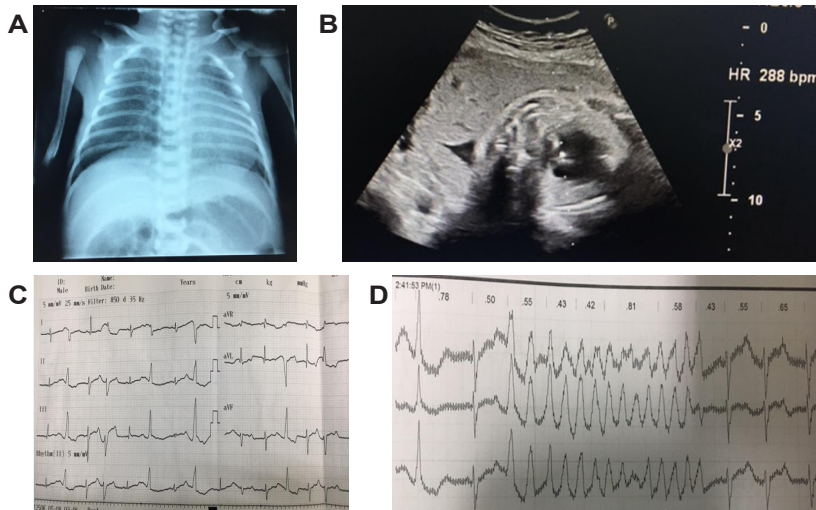
Toàn bộ dữ liệu bệnh án được gia đình bệnh nhân chấp thuận sử dụng cho nghiên cứu. Thông tin của bệnh nhân và gia đình bệnh nhân được bảo mật tuyệt đối. Các dữ liệu do Bệnh viện cung cấp chỉ được sử dụng cho mục đích nghiên cứu di truyền về bệnh, không dùng cho mục đích điều trị bệnh.

### III. KẾT QUẢ

#### 1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên một bệnh nhi nam 3 tháng tuổi, nhập viện trong tình trạng mệt mỏi, khó thở và tím tái. Ba ngày trước khi nhập viện, bệnh nhi đột ngột ngừng thở và tím ngừng đập. Tại bệnh viện tỉnh, bệnh nhi đã được cấp cứu hồi sức tim phổi trong vòng 15 phút để tái khởi động tim và được kê thuốc lidocaine. Bệnh nhi bú tốt và tăng cân đều, tuy nhiên bé có triệu chứng rối loạn nhịp nhanh thất, có nguy cơ tử vong cao. Bệnh nhi tiếp tục được điều trị bằng propranolol. Các kết quả lâm sàng cho thấy bệnh nhi mắc tật tim lớn thông qua hình thái và kích thước tim bất thường (Hình 1A). Hình ảnh siêu âm tim thai ở tuần thứ 36 với tình trạng hở van tim và nhịp tim nhanh bất thường đến 288 lần/phút (Hình 1B), cao hơn rất nhiều

so với nhịp tim thai nhi cùng tuần tuổi, nằm trong khoảng 120 – 160 lần/phút. Kết quả điện tâm đồ ECG cho thấy hình ảnh nhịp tim bất thường với hội chứng QT kéo dài có giá trị 500 ms (Hình 1C), được xem là giá trị QT rất bất thường ở cả nam giới và nữ giới.<sup>1,2,5</sup> Các dấu hiệu lâm sàng cho thấy bệnh nhi có biểu hiện của bệnh lý LQTS. Hội chứng này có nguy cơ làm tăng các loạn nhịp tim nguy hiểm. Trong trường hợp này, kết quả ghi nhận được của máy holter điện tâm đồ cho thấy có sự xuất hiện hình ảnh loạn nhịp tim với tình trạng xoắn đỉnh (Hình 1D).

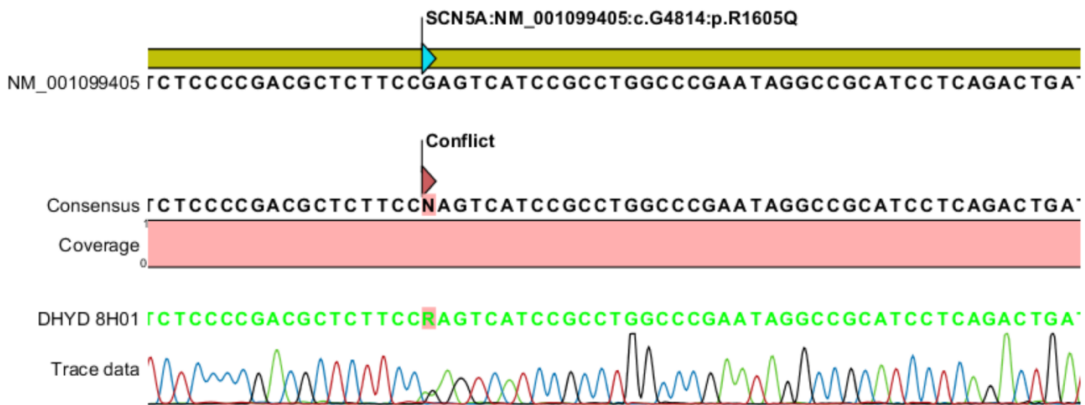


**Hình 1. Thông tin của đối tượng nghiên cứu.** (A) Hình chụp X quang lồng ngực nhìn thẳng cho thấy kích thước tim lớn bất thường. (B) Hình ảnh siêu âm tim thai ở tuần thứ 36 với tình trạng hở van tim và nhịp tim nhanh bất thường đến 288 lần/phút. (C) Kết quả điện tâm đồ với hội chứng QT kéo dài có giá trị 500 ms. (D) Kết quả điện tâm đồ cho thấy hình ảnh loạn nhịp tim nguy hiểm với tình trạng xoắn đỉnh

## 2. Kết quả đánh giá biến thể

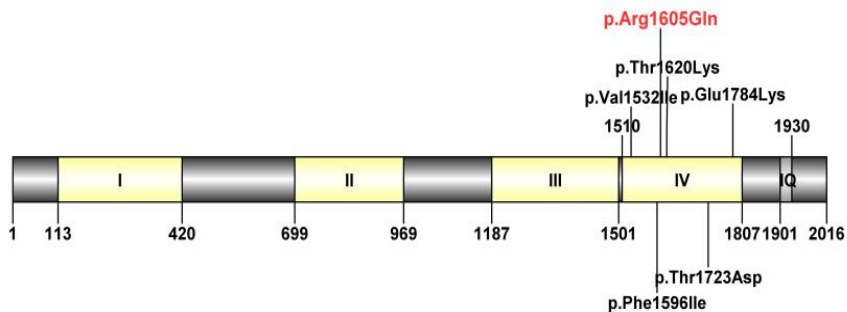
Chúng tôi đã ứng dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới Illumina. Dung lượng giải trình tự của mẫu là 2,1 Gbp, depth coverage 138x. Phần lớn các lần đọc có chất lượng base cao, với Q30 (Phred - score) 96%. Kết quả giải trình tự WES thu được 80.794 biến thể trong exome của bệnh nhân, được lọc bằng cách loại bỏ tất cả biến thể trên các gen không liên quan đến bệnh LQTS, chỉ giữ lại các đột biến trên 17 gen đã được công bố liên quan đến bệnh LQTS. Tiếp đó, chúng tôi loại bỏ đột biến “synonymous”, tần số allele nhỏ (MAF)  $\geq 0,05\%$ .

Kết quả là chúng tôi đã phát hiện một đột biến điểm trên gen SCN5A. Đột biến mới phát hiện bằng kỹ thuật WES được xác nhận lại bằng phương pháp giải trình tự của Sanger (Hình 2).

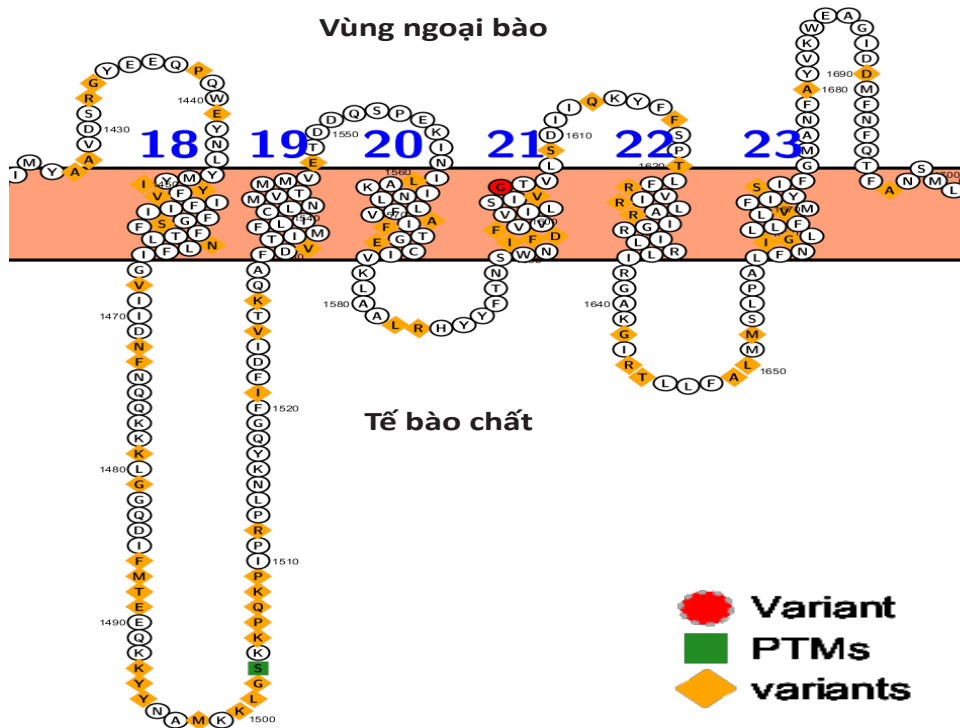


**Hình 2. Kết quả giải trình tự exon thứ 27 của gen SCN5A bằng phương pháp Sanger.** Ở vị trí 4814 trên cDNA đã xảy ra đột biến thay thế nucleotide G thành nucleotide A, dẫn đến sự thay đổi amino acid Arginine (R) bằng Glutamine (Q) ở vị trí 1605 trên protein SCN5A. Đột biến ở dạng dị hợp tử.

Đột biến sai nghĩa c.G4814A/p.R1605Q (Hình 3) thuộc exon thứ 27 của gen SCN5A (NM\_001099405), quy định cho protein SCN5A (sodium voltage - gated channel protein type 5 subunit alpha) (Hình 4). Đột biến thuộc vị trí 3: 38592995 trên chromosome 3p21.<sup>14</sup>



**Hình 3. Sự phân bố của các đột biến ở đầu C-terminus của protein SCN5A.** Protein SCN5A (sodium voltage - gated channel protein type 5 subunit alpha, tiểu đơn vị alpha của kênh dẫn truyền natri phụ thuộc điện thế màng phân nhóm 5) bao gồm 2.016 amino acid, được mã hóa bởi gen SCN5A. Protein SCN5A gồm 4 vùng chức năng (còn được gọi là vị trí hoạt động, domain) là các trình tự lặp nội bộ (I – IV) và 1 vùng chức năng IQ ở đầu C - terminus điều hoà sự liên kết với protein calmodulin. Hình vẽ mô tả sự phân bố của các đột biến trên vùng chức năng thứ IV của protein SCN5A bao gồm 5 đột biến đã được công bố (tính đến tháng 12 năm 2019) và đột biến mới được phát hiện (màu đỏ) ở bệnh nhân Việt Nam. Hình ảnh được vẽ bằng phần mềm DOG 2.0.



**Hình 4. Mô hình một phần cấu trúc của protein SCN5A ở người.** SCN5A là một protein xuyên màng với tổng cộng 24 vùng xuyên màng (được đánh số màu xanh dương). Vị trí đột biến mới phát hiện (màu đỏ) thuộc vùng xuyên màng thứ 21. Các vị trí biến thể khác đã được công bố tính đến cuối năm 2019 được tô màu vàng. Hình chữ nhật lớn màu cam nhạt biểu thị cho màng tế bào. PTMs (post - translational modifications): vùng thực hiện các biến đổi sau dịch mã. Hình ảnh được vẽ bằng phần mềm Protter với các thông tin được tham khảo trên Uniprot.

Từ kết quả WES cùng với việc sử dụng các công cụ dự đoán chức năng bao gồm DANN, GERP, MutationTaster, PROVEAN và SIFT, chúng tôi nhận thấy đột biến c.G4814A/p.R1605Q gây ảnh hưởng đến cấu trúc của protein SCN5A, từ đó có khả năng gây bệnh LQTS do đã đáp ứng các tiêu chuẩn về khả năng gây bệnh. Đây là đột biến hiếm gặp, có tần số đột biến 0,0004 (Bảng 1).

**Bảng 1. Bảng phân loại đột biến theo tiêu chuẩn ACMG**

Detected variant	Coding impact	ExAC	ACMG classification	In silico prediction
NM_001099405:exon27:c.G4814A:p.R1605Q	nonsynonymous SNV	0,0004	Likely Pathogenic PM1, PM2, PP3, PP5	DANN (0,993) GERP (4.54) MutationTaster (D) PROVEAN (-3,7) SIFT (D)

*Detected variant:* biến thể được phát hiện; *coding impact:* loại đột biến; *nonsynonymous SNV:* đột biến không đồng nghĩa; *ExAC* (Exome Aggregation Consortium): tần số đột biến trên toàn

thể giới; *ACMG classification* (The American College of Medical Genetics and Genomics classification): phân loại đột biến theo ACMG; *Likely Pathogenic*: đột biến có khả năng gây bệnh; *PM1* (Pathogenic Moderate): gây bệnh ở mức trung bình; *PM2* (Pathogenic Moderate): hỗ trợ gây bệnh; *PP3* (Pathogenic Supporting); *PP5* (Pathogenic Supporting): có khả năng gây bệnh; *In silico prediction*: công cụ dự đoán khả năng gây bệnh của đột biến; *DANN* = 0,993 (*DANN* được tính theo thang điểm từ 0 – 1, điểm càng cao thì khả năng gây bệnh càng mạnh); *MutationTaster* = *D* (Disease causing: có khả năng gây bệnh); *GERP* = 4,54 (*GERP* là công cụ xác định vùng bảo tồn của gen, có thang điểm từ - 12,3 – 6,17); *SIFT* = *D* (Damaging: nguy hiểm), *SIFT* là công cụ dự đoán cho các biến thể, có thang điểm từ 0 – 1; *PROVEAN* = - 3,7 (*PROVEAN* là công cụ dự đoán mức độ ảnh hưởng của đột biến lên cấu trúc protein, có thang điểm từ - 14 – +14).

#### IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã áp dụng kỹ thuật WES để xác định trình tự toàn bộ vùng mã hoá của bệnh nhân, từ đó phát hiện ra một đột biến sai nghĩa c.G4814A/p.R1605Q thuộc exon thứ 27 của gen *SCN5A*. Ở người, gen *SCN5A* mã hóa cho các tiểu đơn vị alpha của kênh natri tim  $Na_v1.5$ , được biết đến với vai trò duy trì khả năng vận chuyển bình thường của dòng natri ( $iNa$ ).<sup>14,15</sup> Dòng  $iNa$  là thành phần chính trong giai đoạn khử cực nhanh, sau đó là dòng khớp nối cơ thất kích thích sự dẫn truyền xung điện thích hợp ở cơ tim. Sự khử cực định kỳ này làm cơ sở cho sự co bóp đồng bộ và nhịp nhàng của các buồng tim.<sup>15</sup>

Exon thứ 27 của protein *SCN5A* chịu trách nhiệm mã hóa vùng C - terminus của protein *SCN5A* (Hình 4), là vùng điều hòa hoạt động của kênh  $Na_v1.5$ . Thông qua việc ứng dụng các công cụ dự đoán chức năng, chúng tôi xác định

được vị trí đột biến c.G4814A/p.R1605Q gây ảnh hưởng đến cấu trúc của protein *SCN5A*. Kết quả là đột biến đã gây ảnh hưởng đến sự hoạt động của kênh  $Na_v1.5$ . Kênh  $Na_v1.5$  không chỉ là điểm chọn lọc ion mà còn là một protein đa chức năng trong các phức hợp bám dính, giữ vai trò điều hoà các mối nối cơ học. Tùy thuộc tác động mà kênh  $Na_v1.5$  có thể ảnh hưởng đến hoạt động của protein hoặc cũng có thể dẫn đến thay đổi về mặt di truyền. Do đó, những thay đổi trên gen *SCN5A* có thể làm thay đổi cấu trúc của cơ tim (ở bệnh cơ tim giãn, DCM), thay đổi dòng điện tim (ở hội chứng Brugada, hội chứng LQTS) hoặc cũng có thể thay đổi cả cấu trúc và dòng điện tim (ở bệnh cơ tim thất phải gây loạn nhịp, ARVC).<sup>16</sup> Cụ thể, trong nghiên cứu này, đột biến c.G4814A/p.R1605Q đã gây hội chứng LQTS. Các nghiên cứu bệnh học về LQTS cho thấy có 3 gen chính gây LQTS bẩm sinh bao gồm các gen *SCN5A*, *KCNQ1* và *KCNH2*, chiếm đến 75% các ca bệnh LQTS có biểu hiện các đặc điểm lâm sàng.<sup>1,2</sup> Trong đó, gen *SCN5A* chịu trách nhiệm chính cho LQTS phân nhóm thứ 3.<sup>1</sup> Trong một số nghiên cứu trên gen *SCN5A*, đột biến p.E1784K đã làm chẹn kênh natri tim, rối loạn chức năng nút xoang, dẫn đến LQTS.<sup>17</sup> Đột biến T1620M ở gần vị trí đột biến mới được phát hiện cho thấy sự thiếu hụt điện sinh lý dẫn đến rung tâm thất, gây hội chứng Brugada.<sup>18</sup> Đột biến R1623Q dẫn đến việc kéo dài thời gian mở kênh  $Na^+$ , gây bệnh LQTS hoặc thậm chí có thể vỡ kênh  $Na^+$ .<sup>19</sup> Từ đó, chúng ta có thể nhận thấy các đột biến điểm trên exon 27 của protein *SCN5A* có thể dẫn đến nhiều bệnh tim mạch nguy hiểm khác nhau.

Trong nghiên cứu này, thông qua các biểu hiện lâm sàng, chúng tôi nhận thấy đối tượng nghiên cứu mắc bệnh LQTS điển hình, có giá trị QTc là 500 ms. Giá trị QTc ở người bình thường nằm trong khoảng từ 350 – 440 ms.<sup>1</sup> Ngưỡng

QTc lớn hơn 450 ms được xem là kéo dài ở nam và lớn hơn 470 ms được xem là kéo dài ở nữ.<sup>2</sup> Vì vậy, giá trị QTc lớn hơn 500 ms được xem là rất bất thường ở cả nam giới và nữ giới.<sup>1,2</sup> Giá trị QTc tăng mạnh theo tuổi, đặc biệt là ở nam giới, làm cho sự khác biệt về giá trị QTc giữa nam giới và nữ giới giảm từ tuổi 50.<sup>5</sup>

Có thể thấy bệnh lý LQTS rất khó được chẩn đoán nếu chỉ dựa vào dấu hiệu lâm sàng do sự trùng lặp giữa kiểu gen và kiểu hình. Nguy hiểm hơn, bệnh nhân LQTS có nguy cơ đột tử, đặc biệt là khi vận động quá sức. Ngoài ra, mức độ biểu hiện rõ nét của các dấu hiệu lâm sàng còn phụ thuộc vào yếu tố tuổi tác và tiền sử gia đình. Mặt khác, với việc chẩn đoán bệnh bằng xét nghiệm di truyền, cụ thể là giải trình tự gen có thể phát hiện sớm 50% trường hợp mắc bệnh. Vì vậy, việc chẩn đoán bệnh kết hợp cả kết quả lâm sàng và giải trình tự gen ngày càng trở nên cần thiết để đưa ra kết luận chính xác cho bệnh nhân, giúp việc điều trị được tốt hơn.

## V. KẾT LUẬN

Trong đề tài này, chúng tôi đã ứng dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ vùng mã hoá WES và phát hiện được đột biến mới c.G4814A/p.R1605Q trên gen *SCN5A*, là nguyên nhân gây ra hội chứng LQTS ở đối tượng nghiên cứu. Từ đó, chúng ta nhận thấy vai trò rất quan trọng của gen *SCN5A* đối với việc điều hòa hoạt động kênh natri tim và các cầu nối bám. Việc giải trình tự và sàng lọc phân tử ở người bình thường hoặc bệnh nhân tim mạch là rất quan trọng, giúp cho việc xác định sớm quá trình phát triển loạn nhịp tim và tầm soát bệnh tim mạch được triệt để hơn.

## Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106 - YS.01 - 2016.39.

## Lời cam kết

Bản thảo có sự đồng thuận của các thành viên trong nhóm tác giả về nội dung khoa học. Các tác giả không có sự xung đột lợi ích liên quan đến nghiên cứu.

Trong việc hoàn thiện bản thảo:

- Các tác giả Nguyễn Minh Hiệp, Bùi Chí Bảo và Nguyễn Thị Huỳnh Nga tiến hành thí nghiệm, chịu trách nhiệm về nội dung và kết quả nghiên cứu.

- Các tác giả còn lại bao gồm: Nguyễn Vương Thảo Vy, Ngô Hà Phương, Phạm Hồ Thuật Khoa, Vũ Bảo Quốc, Lê Thị Thu Thủy, Trần Thị Thanh Nga, Nông Thị Minh Hiền, Lương Thị Thu Nga, Bùi Minh Hoàng và Lê Minh Trọng: hỗ trợ kiểm chứng kết quả và tìm tài liệu.

- Tác giả Nguyễn Thị Huỳnh Nga hoàn thiện và gửi bản thảo, chịu trách nhiệm liên lạc.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Giudicessi JR, Ackerman MJ. Calcium Revisited: New insights into the molecular basis of long - QT syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016;9(7):e002480. doi: 10.1161/CIRCEP.116.002480.
- Giudicessi JR, Ackerman MJ. Genotype - and phenotype - guided management of congenital long QT syndrome. *Curr Probl Cardiol.* 2013;38:417–455. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2013.08.001.
- Crotti L, Tester DJ, White WM, et al. Long QT syndrome associated mutations in intrauterine fetal death. *JAMA.* 2013; 309:1473–1482. doi: 10.1001/jama.2013.3219.
- Giudicessi JR, Roden DM, Wilde AAM, Ackerman MJ. Classification and reporting of potentially proarrhythmic common genetic variation in long QT syndrome genetic testing. *Circulation.* 2018;137(6):619 - 630. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030142.



5. Peter JS, Lia C, Roberto I. Long QT syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012; 5(4):868–877. doi: 10.1161/CIRCEP.111.962019.
6. Crotti L, Spazzolini C, Schwartz PJ, et al. The common long - QT syndrome mutation KCNQ1/A341V causes unusually severe clinical manifestations in patients with different ethnic backgrounds: toward a mutation - specific risk stratification. *Circulation.* 2007;116(21):2366 - 75. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.726950.
7. Makita N, Behr E, Shimizu W, et al. The E1784K mutation in SCN5A is associated with mixed clinical phenotype of type 3 long QT syndrome. *J Clin Invest.* 2008;118(6):2219 - 29. doi: 10.1172/JCI34057.
8. Rizzo JM, Buck MJ. Key principles and clinical applications of “next - generation” DNA sequencing. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012;5(7):887 - 900. doi: 10.1158/1940 - 6207.CAPR - 11 - 0432.
9. Yaping Y, Donna MM, Jeffrey GR. Clinical Whole - Exome Sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med.* 2013;369:1502 - 1511  
DOI: 10.1056/NEJMoa1306555.
10. Linthorst GE, Hollak CEM. Whole exome sequencing and whole genome sequencing in undiagnosed disease: of value for certain patient populations. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2019;163:D3711. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31120221>.
11. Valencia CA, Husami A, Holle J, et al. Clinical impact and cost - effectiveness of whole exome sequencing as a diagnostic tool: a pediatric center’s experience. *Front Pediatr.* 2015;3:67. doi: 10.3389/fped.2015.00067.
12. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows - Wheeler transform. *Bioinformatics.* 2009;25(14):1754 - 60. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324.
13. Aaron MK, Matthew H, Eric B, et al. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next - generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010; 20(9):1297–1303. doi: 10.1101/gr.107524.110.
14. Wang Q, Shen J, Splawski I, et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell.* 1995 Mar 10;80(5):805 - 11. Doi: 10.1016/0092 - 8674(95)90359 - 3.
15. Aronsen JM, Swift F, Sejersted OM, et al. Cardiac sodium transport and excitation - contraction coupling. *J Mol Cell Cardiol.* 2013;61:11 - 9. doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.06.003.
16. Anneline SJM, Esperanza AP, Cynthia AJ, et al. Multilevel analyses of SCN5A mutations in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/ cardiomyopathy suggest non - canonical mechanisms for disease pathogenesis. *Cardiovasc. Res.* 2017;113:102–111. doi:10.1093/cvr/cvw234.
17. Jamie D, Kapplinger BA, David J. An international compendium of mutations in the SCN5A - encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm.* 2010;7(1):33 - 46. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2009.09.069>.
18. Makita N, Shirai N, Wang DW, et al. Cardiac Na(+) channel dysfunction in Brugada syndrome is aggravated by beta(1) - subunit. *Circulation.* 2000;101(1):54 - 60. doi: 10.1161/01.cir.101.1.54.
19. Makita N, Shirai N, Nagashima M, et al. A de novo missense mutation of human cardiac Na+ channel exhibiting novel molecular mechanisms of long QT syndrome. *FEBS Lett.* 1998;423(1):5 - 9. doi: 10.1016/s0014 - 5793(98)00033 - 7.

## Summary

# IDENTIFICATION OF A NEW MUTATION IN *SCN5A* GENE CAUSING LONG QT SYNDROME FOR A VIETNAMESE INFANT

Long QT syndrome (LQTS) is a disorder of ventricular myocardial repolarization with prolonged interval between Q wave and T wave. The etiology of the disease is multifarious; the enormous phenotypic overlapping among the LQTS types makes it difficult to provide an accurate diagnosis based exclusively on clinical expressions. In this study, we established a next generation sequencing (NGS) assay to examine a set of 17 known LQTS genes in a Vietnamese infant. Whole exome sequencing (WES) identified a new heterozygous missense mutation on exon 27 of *SCN5A* (sodium voltage-gated channel protein type 5 subunit alpha) gene. The c.G4814A/p.R1605Q mutation was found to locate at the transmembrane region of the C-terminal tail of *SCN5A* protein. This mutation causes serious alterations to *SCN5A* protein structure, leading to LQTS. Therefore, genetic studies of LQTS are essential to provide molecular diagnosis and better clinical management for LQTS patients.

**Keywords:** LQTS, *SCN5A*, mutation, NGS, WES