

# Bệnh cơ tim thất phải gây loạn nhịp: Phát hiện đột biến mới trên gen *desmocollin-2* ở bệnh nhân Việt Nam

Nguyễn Thị Huỳnh Nga<sup>1</sup>, Bùi Chí Bảo<sup>2,3</sup>, Nguyễn Minh Hiệp<sup>4</sup>

Trịnh Thị Diệu Thường<sup>5</sup>, Phạm Thị Thu Trang<sup>6</sup>

Ngô Hà Phương<sup>6</sup>, Lương Thị Thắm<sup>6</sup>, Hà Thị Thanh Nga<sup>6</sup>

Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt, Thành phố Đà Lạt<sup>1</sup>

Trung tâm Y Sinh học Phân tử, Đại học Y Dược, Thành phố Hồ Chí Minh<sup>2</sup>

Đơn vị Sinh học Phân tử Di truyền, Bệnh viện Nhi đồng 2, Thành phố Hồ Chí Minh<sup>3</sup>

Trung tâm Công nghệ bức xạ, Viện nghiên cứu hạt nhân, Thành phố Đà Lạt<sup>4</sup>

Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược, Thành phố Hồ Chí Minh<sup>5</sup>

Khoa Sau Đại học, Trường Đại học Đà Lạt, Thành phố Đà Lạt<sup>6</sup>

## TÓM TẮT

**Cơ sở nghiên cứu:** Bệnh cơ tim thất phải gây loạn nhịp (ARVC) là bệnh lý cơ tim di truyền, đặc trưng bởi loạn nhịp thất kịch phát và đột tử. Ở Việt Nam, hiện có rất ít nghiên cứu về ARVC và chủ yếu chỉ mới tập trung vào các đặc điểm dịch tế học, lâm sàng và cận lâm sàng. Do đó, việc thực hiện một nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố di truyền đối với bệnh ARVC là rất cần thiết, tạo cơ sở cho việc ứng dụng vào việc chẩn đoán nguy cơ mắc bệnh và điều trị bệnh.

**Phương pháp:** Trong nghiên cứu này, chúng tôi ứng dụng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (NGS) nhằm khảo sát 17 gen liên quan đến bệnh ARVC ở bệnh nhân người Việt Nam thuộc Bệnh viện Nhi Đồng 2 Thành phố Hồ Chí Minh.

**Kết quả:** Bằng chiến lược giải trình tự toàn bộ vùng mã hoá (WES), qua quá trình phân tích và sàng lọc phân tử, chúng tôi đã xác định được

một đột biến sai nghĩa thuộc exon thứ 15 của gen *desmocollin-2* (*DSC2*). Đột biến c.C2497T/p.R833C được xác định nằm trên vùng C-terminal cytoplasmic tail của protein DSC2. Vị trí đột biến này gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến cấu trúc của protein DSC2, là nguyên nhân gây bệnh ARVC.

**Kết luận:** Các kết quả nghiên cứu di truyền trên sẽ góp phần vào việc chẩn đoán phân tử và tầm soát bệnh ARVC được triệt để hơn.

**Từ khoá:** ARVC, *DSC2*, đột biến, NGS, WES.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh cơ tim thất phải gây loạn nhịp (arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy - ARVC) hay còn gọi là loạn sản thất phải gây loạn nhịp là bệnh lý cơ tim di truyền, đặc trưng bởi loạn nhịp thất kịch phát và đột tử, do sự thay thế mô cơ tim bằng mô sợi - mỡ, tạo thành bản đồ điện thế bất thường và các loạn nhịp thất [1 - 6]. Tần suất của bệnh ARVC

là 1:5000 người, trong đó 30 – 50% bệnh nhân có tiền sử gia đình liên quan đến bệnh [7]. Tỷ lệ bệnh nhân ARVC do đột biến gen chiếm 63% [8]. Trong số các bệnh nhân mang gen đột biến, 86% ca bệnh là do đột biến trên một hoặc đồng thời nhiều gen của các protein ở cầu nối bám (desmosome), bao gồm các gen *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *JUP* và *PKP2* [8].

Cầu nối bám hay thể liên kết là những cấu trúc protein kết dính có mặt ở vùng gian bào của các tế bào biểu mô và tế bào cơ tim, giúp các tế bào gắn kết chặt chẽ [9]. Các nghiên cứu phá hệ cho thấy bệnh ARVC được gây ra bởi biến đổi gen ở các protein của cầu nối bám [4,5,10 - 12]. Hơn nữa, cấu trúc của cầu nối bám ở da có thể phản ánh được bệnh ARVC ở tim [2]. Do đó, bệnh nhân có biểu hiện bệnh lý đặc trưng ở da cũng là một dấu hiệu lâm sàng cho bệnh ARVC.

Giải trình tự Sanger là một kỹ thuật chẩn đoán phân tử chính xác đối với các rối loạn chủ yếu liên quan đến một gen gây bệnh đơn lẻ [13]. Tuy nhiên, phương pháp sàng lọc này rất mất thời gian và cho mức độ không đồng nhất di truyền cao. Cho đến nay, với hơn 100 gen liên quan đến bệnh cơ tim được xác định, có thể được giải quyết hiệu quả hơn bằng cách sắp xếp trình tự thông tin cao, được gọi là giải trình tự thế hệ mới (NGS). Trong đó, kỹ thuật giải trình tự gen toàn bộ vùng mã hoá (WES) là một ứng dụng của công nghệ NGS nhằm xác định các biến thể của tất cả các vùng mã hoá (exome) của các gen mục tiêu theo từng loại bệnh đã biết, giúp sàng lọc, chẩn đoán và đánh giá biến thể [14,15].

## MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Trong đề tài này, chúng tôi sẽ ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen toàn bộ vùng mã hoá để nghiên cứu và sàng lọc phân tử trên một ca bệnh người Việt Nam được nghi ngờ mắc bệnh ARVC nhằm phát hiện biến thể mới liên quan đến bệnh, góp phần vào việc chẩn đoán phân tử đối với bệnh được chính xác

hơn, từ đó có thể xác định sớm quá trình phát triển loạn nhịp tim và quản lý lâm sàng triệt để hơn.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 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 nhân là nam, 14 tuổi, được nhập viện trong tình trạng khó thở và sốt. Các dấu hiệu lâm sàng bước đầu cho thấy bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh ARVC. Toàn bộ dữ liệu bệnh án của bệnh nhân được gia đình bệnh nhân chấp thuận sử dụng cho nghiên cứu.

### Phương pháp thu mẫu, tách chiết và tinh sạch DNA tổng số

Một lượng 3 – 5 ml máu tĩnh mạch được lấy trực tiếp từ bệnh nhân, cho vào ống chống đông chứa ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), trên ống có ghi đầy đủ thông tin của bệnh nhân. Ống mẫu được bảo quản trong thùng đựng mẫu ở nhiệt độ 2 – 8°C để đưa đi tách DNA.

DNA từ 200 µL mẫu máu bệnh nhân 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 toàn bộ vùng mã hóa trên hệ thống HiSeq 4000 (Illumina) tại Công ty Macrogen.

### 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. Thư viện cho giải trình tự được dựa trên nguyên tắc số mẫu dò (probe) được thiết kế cho hệ gen hoặc cho

nhóm gen mục tiêu Agilent SureSelectRT Reagent. Chúng tôi cũng tạo số lượng mẫu dò cho nhóm 17 gen mục tiêu của bệnh ARVC bao gồm các gen *CDH2*, *CTNNA3*, *DES*, *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *FLNC*, *JUP*, *LDB3*, *LMNA*, *MYH7*, *PKP2*, *PLN*, *RYR2*, *TGFB3*, *TMEM43* và *TTN* được cập nhật tại trang web: [www.arvcdatabase.info](http://www.arvcdatabase.info) [16]. Đây là mẫu dò thư viện được ký hiệu “Pan 17 ARVC”. 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 có thể 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 (các SNP và các INDEL ngắn), 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 và kiểm tra sau chức năng của các đột biến 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 base và xuất biến thể. 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 «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.

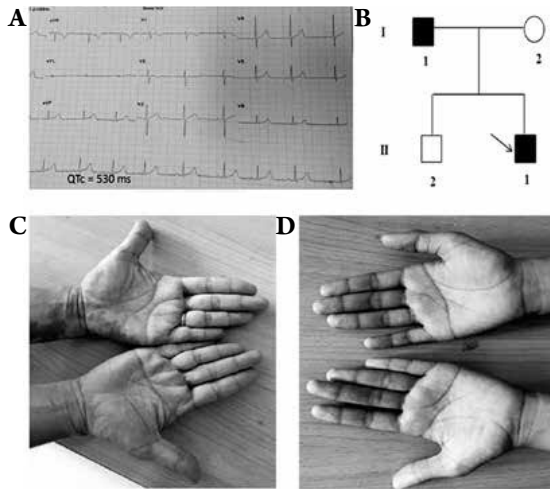
### Phương pháp giải trình tự của Sanger

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 mỗi được sử dụng có trình tự là: DSC2-15F: GCTTCACAACCCAAACTGTG, DSC2 - 15R: AGCACAAAGCCATGAGACAG, được thiết kế bằng phần mềm CLC Main Workbench.

## KẾT QUẢ

### Thông tin của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên một bệnh nhân nam 14 tuổi, có triệu chứng khó thở kéo dài, da xanh xao. Bệnh nhân có thể trạng gầy yếu, thường xuyên mệt mỏi, chóng mặt và ngất xỉu. Các dấu hiệu lâm sàng cho thấy bệnh nhân có biểu hiện dày sừng ở lòng bàn tay, vùng da này thường xuyên bong tróc (**Hình 1D**). Kết quả điện tâm đồ (electrocardiogram, ECG) cho thấy hình ảnh nhịp tim bất thường với hội chứng QT kéo dài (long QT syndrome, LQTS) có giá trị 530 ms (**Hình 1A**), được xem là giá trị QT rất bất thường ở cả nam giới và nữ giới [17 - 19]. Từ các biểu hiện lâm sàng trên, bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh ARVC điển hình. Khảo sát lịch sử gia đình cho thấy, người cha 39 tuổi của bệnh nhân có tiền sử mắc bệnh tim mạch (**Hình 1B**) và cũng có biểu hiện dày sừng, chai sần da ở lòng bàn tay (**Hình 1C**).

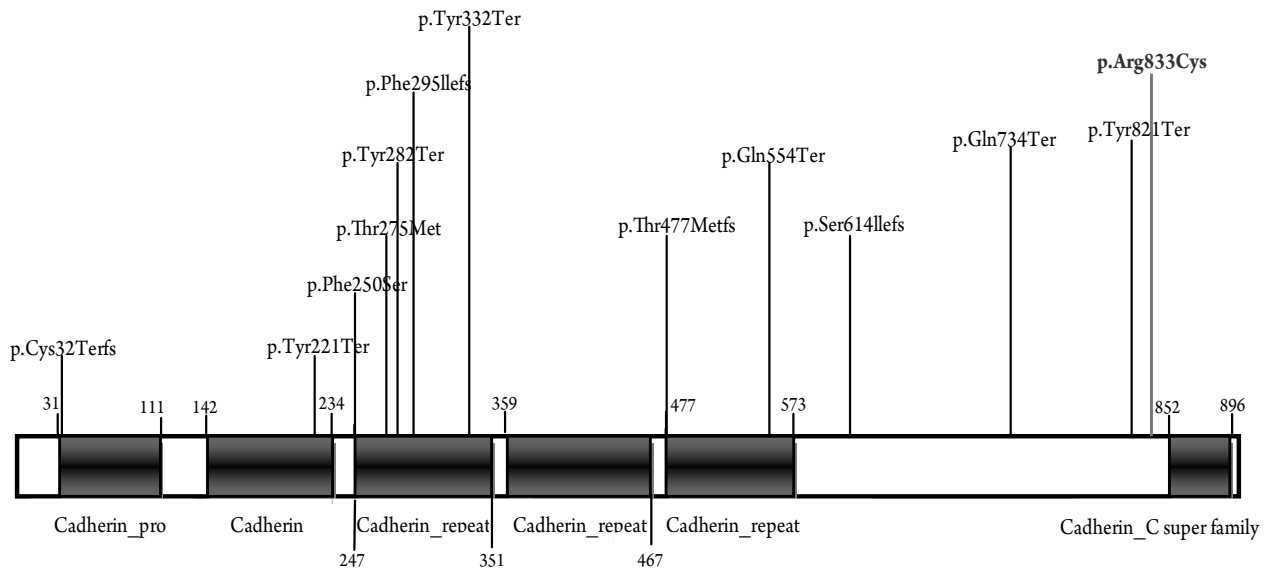


Hình 1. Thông tin của đối tượng nghiên cứu. (A) Kết quả điện tâm đồ với hội chứng QT kéo dài có giá trị 530 ms. (B) Sơ đồ phả hệ cho thấy đối tượng nghiên cứu (mũi tên) và cha cùng mắc bệnh ARVC (hình vuông màu đen). (C&D) Biểu hiện dày sừng ở lòng bàn tay và vùng da thường xuyên bong tróc của người cha (C) và đối tượng nghiên cứu (D)

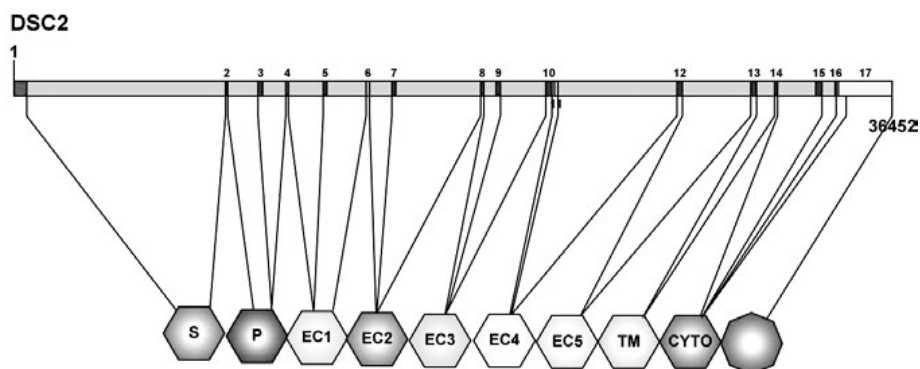
**Kết quả đánh giá biến thể**

Chúng tôi 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 82.821 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 ARVC, chỉ giữ lại các đột biến trên 17 gen đã được công bố liên quan đến bệnh ARVC. Tiếp đó, chúng tôi loại bỏ đột biến “Synonymous”, tần số allele nhỏ  $\geq 0,05\%$ .

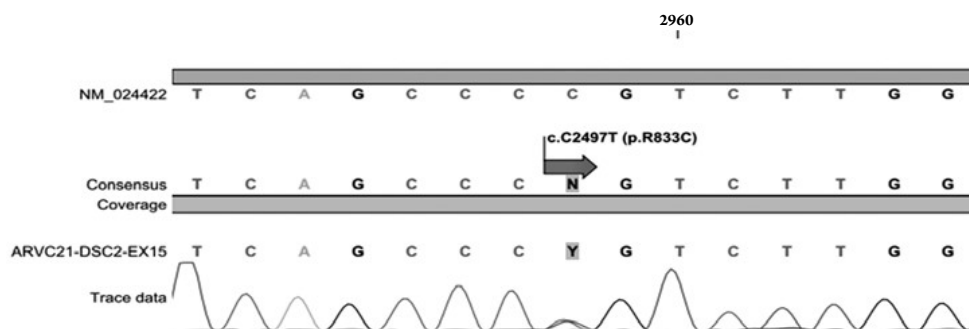
Kết quả là chúng tôi đã phát hiện một đột biến sai nghĩa c.C2497T/p.R833C (Hình 2) thuộc exon thứ 15 của gen *desmocollin-2* (DSC2) (NM\_024422) (Hình 3), thuộc vị trí 28.648.871 trên chromosome 18q12.1 [20]. Đột biến mới phát hiện bằng kỹ thuật WES được xác nhận lại bằng phương pháp giải trình tự của Sanger (Hình 4).



Hình 2. Sự phân bố của các đột biến trên domain của protein *desmocollin-2*. Protein *desmocollin-2* được mã hóa bởi gen *desmocollin-2* (DSC2). Protein DSC2 là một glycoprotein xuyên màng, đóng vai trò là những phân tử kết dính tế bào phụ thuộc  $Ca^{2+}$ , có phân tử lượng 99,9 kilodalton, bao gồm 901 acid amin. DSC2 có các trình tự lặp cadherin ở đầu amino. Các domain cadherin nằm ở vùng ngoại bào, đóng vai trò điều hoà sự kết nối tế bào khi liên kết với  $Ca^{2+}$ . Hình vẽ mô tả sự phân bố của 12 đột biến đã được công bố (cập nhật đến năm 2019) và vị trí biến thể mới được phát hiện (màu đỏ) ở bệnh nhân cơ tim người Việt Nam



Hình 3. Sơ đồ vị trí và chức năng của các exon trên gen DSC2. Gen DSC2 gồm 17 exon, ký hiệu từ 1 đến 17, có kích thước từ 46 đến 258 bp và kéo dài hơn 32 kb DNA. Mỗi exon mã hóa cho các vùng chức năng khác nhau trong protein DSC2. Exon 1 - 2: mã hóa cho vùng nhận tín hiệu (S), exon 2 - 4 mã hóa cho vùng khởi động (P), exon 4 - 13 mã hóa cho vùng ngoại bào (EC1 - 5), exon 13 - 14 mã hóa cho vùng xuyên màng (TM), exon 13 - 17 mã hóa cho vùng nằm trong tế bào chất (CYTO)



Hình 4. Kết quả giải trình tự exon thứ 15 của gen DSC2 bằng phương pháp Sanger. Ở vị trí 2497 trong cDNA đã xảy ra đột biến thay thế nucleotide C thành nucleotide T, dẫn đến việc thay thế amino acid arginine (R) bằng cysteine (C) ở vị trí 833 trên protein DSC2. Đột biến ở dạng dị hợp tử.

Từ kết quả giải trình tự bằng kỹ thuật WES cùng với việc sử dụng các công cụ dự đoán chức năng bao gồm DANN, MutationTaster, Polyphen-2, GERP, SIFT và Provean, chúng tôi nhận thấy đột biến c.C2497T/p.R833C gây ảnh hưởng nghiêm

trọng đến cấu trúc của protein DSC2, từ đó có khả năng gây bệnh ARVC do đã đáp ứng hầu hết các tiêu chuẩn về khả năng gây bệnh ARVC. 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_024422:exon15: c.C2497T:p.R833C	missense	0,0004	Uncertain Significance (PP3, BS2)	DANN (0,9992) MutationTaster (D) GERP (5,46) SIFT (D) Provean (D)

*Detected variant*: biến thể được phát hiện; *coding impact*: loại đột biến; *missense*: đột biến sai nghĩa; *ExAC* (Exome Aggregation Consortium): tần số đột biến trên toàn thế giới; *ACMG classification* (The American College of Medical Genetics and Genomics classification): phân loại đột biến theo ACMG; *Uncertain Significance*: chưa xác định về khả năng gây bệnh; *PP3* (Pathogenic Supporting): có khả năng gây bệnh; *BS2* (Benign Strong): lành tính; *In silico prediction*: công cụ dự đoán khả năng gây bệnh của đột biến; *DANN* = 0,9992 (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* = 5,46 (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* = D (Damaging: nguy hiểm), Provean là công cụ dự đoán mức độ ảnh hưởng của đột biến lên cấu trúc protein, có thang điểm từ -14 – +14.

## THẢO LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã áp dụng kỹ thuật NGS để xác định trình tự toàn bộ vùng mã hoá của bệnh nhân, từ đó phát hiện ra một đột biến sai nghĩa c.C2497T/p.R833C thuộc exon thứ 15 của gen *DSC2*. Ở người, gen *DSC2* mã hoá cho protein *DSC2*, là một trong 3 đồng phân của protein *DSC* (*DSC1* – 3) [20]. Trong đó, *DSC2* là đồng phân *DSC* duy nhất có trong mô tim [21]. Họ protein *DSC* thuộc siêu họ protein cadherin, là những glycoprotein phụ thuộc  $Ca^{2+}$ , đóng vai trò là những phân tử kết dính tế bào (cell adhesion molecule, CAM) [20]. Trong các loại protein liên kết tế bào, các protein *DSC* chỉ được tìm thấy ở cầu nối bám [20].

Các nghiên cứu phá hệ cho thấy ARVC được gây ra bởi biến đổi gen ở các protein của cầu nối bám, đặc biệt là plakoglobin (Pg) và desmoplakin (DP)

[4,5,10 - 12]. Một nghiên cứu phá hệ chứng minh đột biến ở cầu nối bám chỉ hiện diện dưới 20% các trường hợp bệnh. Vì đột biến ở cầu nối bám cũng được phát hiện ở các bệnh lý tim mạch khác, nên mối liên hệ giữa các cầu nối bám và ARVC đã được đề xuất. Như vậy, ARVC có thể là một quá trình viêm được điều khiển bởi ảnh hưởng di truyền do các protein có liên kết với cầu nối bám [10,11]. Vì vậy, việc tìm hiểu các cơ chế phân tử liên quan đến cầu nối bám sẽ cung cấp cơ chế gây bệnh ARVC và hướng trị liệu.

Exon thứ 15 của protein *DSC2* chịu trách nhiệm mã hóa vùng C-terminal cytoplasmic tail của protein *DSC2* (Hình 3), là vùng giữ chức năng liên kết với desmoplakin bởi plakophilin (Pkp) và plakoglobin [22]. Bằng việc sử dụng các công cụ dự đoán chức năng, chúng tôi xác định được vị trí đột biến c.C2497T/p.R833C gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến cấu trúc của protein *DSC2*. Kết quả là, các protein này không giữ cho các tế bào cơ tim gắn kết với nhau chặt chẽ. Các tế bào tách nhau ra và chết, ảnh hưởng đến sự co bóp bình thường của tim [23]. Các tế bào cơ tim hư hỏng trở nên xơ dẫn, chết và tạo sẹo. Chất mỡ lắng đọng trong khi tổn thương được sửa chữa. Tuy nhiên, tình trạng hư hại ngày càng tồi tệ hơn. Điều này dẫn đến những thay đổi trong cấu trúc của tế bào cơ tim, thành của tâm thất trở nên mỏng và căng, làm tim không thể bơm máu hiệu quả, dẫn đến suy tim. Ngoài ra, vì những thay đổi ở tế bào cơ tim, các đoạn dẫn truyền nhịp bình thường sẽ bị gián đoạn hoặc bị thay đổi, gây loạn nhịp đe dọa tính mạng và trong một số trường hợp có thể dẫn đến đột tử [4,5,10,11]. Các nguyên nhân của bệnh ARVC chưa được xác định [10,12]. Sự hiện diện của thâm nhiễm viêm ở hầu hết các trường hợp đã được ghi nhận khi khám nghiệm tử thi đã dẫn đến giả thiết cho rằng đó là hậu quả của viêm cơ tim [10,24].

Đột biến trên gen *DSC2* lần đầu tiên được phát

hiện là nguyên nhân gây bệnh ARVC vào năm 2006 [23,25]. Các nghiên cứu trước đây về đột biến di hợp tử ở gen *DSC2* cho thấy rằng, các bất thường về đa và tốc ở bệnh nhân có thể là do các tế bào biểu mô thiếu hụt *DSC2* có thể được bù đắp bằng *DSC1* và *DSC3* nhưng không bù đắp được ở tế bào cơ tim vì *DSC2* là đồng phân *DSC* duy nhất có trong mô tim [21,23,26]. Tuy nhiên, với sự biểu hiện của kiểu hình dày sừng bàn tay và tóc len nhẹ cho thấy *DSC1* hoặc *DSC3* không thể hoàn toàn bù đắp khi mất cả hai bản sao của *DSC2* trong các tế bào biểu mô [23,26].

Bệnh ARVC có thể không gây ra bất kỳ triệu chứng nào trong giai đoạn đầu. Tuy nhiên, những người bị ảnh hưởng vẫn có thể có nguy cơ tử vong đột ngột, đặc biệt là khi tập thể dục gắng sức. Độ nhạy của chẩn đoán lâm sàng phụ thuộc nhiều vào các yếu tố tuổi tác, biểu hiện bệnh 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 thế, việc chẩn đoán bệnh dựa trên 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.

Trong nghiên cứu này, thông qua các biểu hiện lâm sàng, chúng tôi nhận thấy đối tượng nghiên cứu

mắc bệnh ARVC điển hình, có giá trị QTc là 530 ms, thuộc nhóm 30 – 50% bệnh nhân có tiền sử gia đình liên quan đến bệnh [7]. Giá trị QTc ở người bình thường nằm trong khoảng từ 350 – 440 ms [17]. 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 [17 - 19]. Vì vậy, giá trị QTc lớn hơn 500 ms được xem là rất bất thường ở cả nam giới và nữ giới [17 - 19]. 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 [19].

### KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu này chứng minh được đột biến trên gen *DSC2* là nguyên nhân gây bệnh ARVC, từ đó cho thấy vai trò rất quan trọng của gen *DSC2* đối với việc hình thành cầu nối bám ở tim, sự phát triển hình thái tim sớm và chức năng tim. 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.

### ABSTRACT

#### **Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC): identification of a novel mutation in *desmocollin-2* gene in a Vietnamese patient**

**Background:** Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is a hereditary disorder of the cardiac muscle characterised by ventricular arrhythmias, cardiac failure and sudden cardiac death. In Vietnam, there are few studies have been conducted on ARVC. Most of which focused on epidemiology, clinical and subclinical characteristics of the disease. Thus, genetic studies of ARVC are necessary in order to provide better diagnoses as well as therapeutic treatments.

**Objectives:** To provide a genetic study of pathogenic genes of ARVC.

**Methods:** We developed a next generation sequencing (NGS) assay to analyze a panel of 17 known ARVC genes in a Vietnamese patient from Children Hospital 2.

**Results:** Whole exome sequencing (WES) - a technique which determines the variations of all coding regions (exons) of the known genes - validated a missense mutation on exon 15 of desmocollin-2 (DSC2) gene. The c.C2497T/p.R833C mutation was identified to locate at the C-terminal cytoplasmic tail of DSC2 protein. This mutation causes serious changes to DSC2 protein structure, leading to ARVC.

**Conclusions:** These genetic results support the “ARVC panel” approach, by which the molecular diagnosis of ARVC, early identification of arrhythmia development and better clinical management of cardiomyopathic patients are applied.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **McKoy G, Protonotarios N, Crosby A et al.** Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000; 355: 2119 - 2124.
2. **Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L et al.** Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2761 - 2766.
3. **Oxford EM, Everitt M, Coombs W et al.** Molecular composition of the intercalated disc in a spontaneous canine animal model of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Heart Rhythm* 2007; 4: 1196 - 1205.
4. **Pilichou K, Nava A, Basso C et al.** Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation* 2006; 113: 1171 - 1179.
5. **Rampazzo A, Nava A, Malacrida S et al.** Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 1200 - 1206.
6. **Sen-Chowdhry S, Syrris P, Ward D et al.** Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation* 2007; 115: 1710 - 1720.
7. **Corrado D, Link MS, Calkins H.** Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2017; 376: 61 - 72.
8. **Groeneweg J, Bhonsale A, James CA et al.** Clinical presentation, long-term follow-up, and outcomes of 1001 arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy patients and family members. *Circ Cardiovasc Genet* 2015; 8: 437 - 446.
9. **Garrod D, Chidgey M.** Desmosome structure, composition and function. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 572 - 587.
10. **Basso C, Corrado D, Marcus FI et al.** Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Lancet* 2009; 373: 1289 - 1300.
11. **Lazzarini E, Jongbloed JD, Pilichou K et al.** The ARVD/C genetic variants database: 2014 update. *Hum Mutat* 2015; 36: 403 - 410.
12. **Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D et al.** Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular



cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria. *Eur Heart J* 2010; 31: 806 - 814.

**13. Chen L, Cai Y, Zhou G et al.** Rapid Sanger sequencing of the 16S rRNA gene for identification of some common pathogens. *PLoS One* 2014; 9: e88886.

**14. Faita F, Vecoli C, Foffa I et al.** Next generation sequencing in cardiovascular diseases. *World J Cardiol* 2012; 4: 288 - 295.

**15. Morini E, Sangiuolo F, Caporossi D et al.** Application of next generation sequencing for personalized medicine for sudden cardiac death. *Front Genet* 2015; 6: 55.

**16. Van der Zwaag PA, Jongbloed JD, van den Berg MP et al.** A genetic variants database for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Hum Mutat* 2009; 30: 1278 - 1283.

**17. Johnson JN, Ackerman MJ.** QTc: how long is too long? *Br J Sports Med* 2009; 43: 657 - 662.

**18. Khosravi A, Amirsalari S, Ajalloueyan M et al.** The frequency of congenital long QT syndrome based on new formula in children with sensori-neural hearing loss. *Indian J Otol* 2015; 21: 114 - 118.

**19. Rabkin SW, Cheng XJ, Thompson DJ.** Detailed analysis of the impact of age on the QT interval. *J Geriatr Cardiol* 2016; 13: 740 - 748.

**20. Greenwood MD, Marsden MD, Cowley CM et al.** Exon-intron organization of the human type 2 desmocollin gene (DSC2): desmocollin gene structure is closer to “classical” cadherins than to desmogleins. *Genomics* 1997; 44: 330 - 335.

**21. Nuber UA, Schäfer S, Schmidt A et al.** The widespread human desmocollin Dsc2 and tissue-specific patterns of synthesis of various desmocollin subtypes. *Eur J Cell Biol* 1995; 66: 69 - 74.

**22. Ohno S.** The genetic background of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Arrhythm* 2016; 32: 398 - 403.

**23. Heuser A, Plovie ER, Ellinor PT et al.** Mutant desmocollin-2 causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 1081 - 1088.

**24. Asimaki A, Tandri H, Duffy ER et al.** Altered desmosomal proteins in granulomatous myocarditis and potential pathogenic links to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011; 4: 743 - 752.

**25. Syrris P, Ward D, Evans A et al.** Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 978 - 984.