

ĐỘT BIẾN (p.R51K) MỚI ĐƯỢC XÁC ĐỊNH TRÊN MỘT BỆNH NHÂN VIỆT NAM CÓ BIỂU HIỆN TĂNG SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH (CAH)

Nguyễn Thị Phương Mai², Nguyễn Thu Hiền¹, Rita Bernhardt¹, Nguyễn Huy Hoàng^{1,3}

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Nhi Trung ương, Bộ Y tế

³Trường Đại học Tổng hợp Saarland, CHLB Đức

Ngày nhận bài: 25.01.2014

Ngày nhận đăng: 18.3.2014

TÓM TẮT

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH) là bệnh di truyền tính trạng lặn gây ra sự rối loạn chuyển hóa steroid hormone. Bên cạnh nguyên nhân chính gây bệnh là đột biến trên gen *CYP21*, sự suy giảm hoạt tính 11 β -hydroxylase do đột biến trên gen *CYP11B1* là nguyên nhân chủ yếu thứ hai. Đột biến trên gen *CYP11B1* gây ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính của enzyme 11 β -hydroxylase. Suy giảm hoạt tính *CYP11B1* (11 β -hydroxylase) dẫn đến hiện tượng tích lũy các tiền chất trung gian. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kỹ thuật nhân gen PCR và giải trình tự gen trực tiếp để xác định đột biến. Toàn bộ đoạn gen *CYP11B1* của bệnh nhân bao gồm 9 exon và 8 intron được giải trình tự đầy đủ và so sánh với trình tự gen *CYP11B1* của người bình thường. Đột biến điểm của 11 β -hydroxylase được biểu hiện trong tế bào động vật COS-1 để kiểm tra ảnh hưởng của đột biến tới sự chuyển hóa từ 11-deoxycortisol tới cortisol. Kết quả đã phát hiện được một đột biến mới p.R51K. Ảnh hưởng của đột biến p.R51K tới hoạt tính 11 β -hydroxylase giảm tới $29 \pm 4,5\%$ so với dạng bình thường. Bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng, hóa sinh điển hình của bệnh CAH dạng cổ điển như: bệnh nhân có bộ phận sinh dục ngoài bất thường, cortisol và Na⁺ giảm, K⁺ và huyết áp tăng cao. Kết quả trong nghiên cứu này có thể giải thích một phần biểu hiện kiểu hình của bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh.

Từ khóa: *CYP11B1*, gen *CYP11B1*; Tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH), p.R51K, 11 β -hydroxylase

MỞ ĐẦU

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH) là bệnh di truyền tính trạng lặn do mất 1 trong 5 enzyme steroid liên quan trong quá trình tổng hợp cortisol. Khoảng 90-95% trường hợp CAH là hậu quả của sự suy giảm 21-hydroxylase và chỉ khoảng 3-8% trong số CAH là do sự suy giảm 11 β -hydroxylase (11OHD) (11OHD; OMIM #202010) gây ra bởi các đột biến trên gen *CYP11B1* (White *et al.*, 1994). Gen *CYP11B1* xúc tác quá trình chuyển hóa 11-Deoxycortisol thành Cortisol. Vì thế, đột biến xảy ra trên gen này sẽ làm suy giảm hoạt tính của 11 β -hydroxylase, gây thiếu hụt Cortisol và dư thừa tiền chất của nó là 11-Deoxycortisol. Tỷ lệ mắc bệnh CAH do suy giảm 11 β -hydroxylase đã được tìm thấy với tỷ lệ cao ở nhóm người Do Thái ở Israel nhập cư từ Ma Rốc. Trong nhóm người này, tỷ lệ mắc bệnh lên tới 1/5.000 – 1/7.000 ca mới sinh (Rosler *et al.*, 1992) so với mức bình thường là 1/200.000 ca mới sinh (White *et al.*, 1994). Trong những năm gần đây, tại các bệnh viện ở Việt Nam, số lượng các bệnh nhân, đặc biệt các bệnh nhi, có hiện tượng TSTTBS

ngày càng xuất hiện nhiều hơn. Bệnh nhân có biểu hiện TSTTBS đầu tiên được phát hiện tại Hà Nội vào năm 1976 (Vũ, Warne, 2004). Theo thống kê của Viện Nhi Trung ương, năm 1999 có 71 trẻ em có hiện biểu hiện của TSTTBS (Nguyễn *et al.*, 2000). Đến tháng 12 năm 2009 con số bệnh nhân với TSTTBS đã tăng lên 494 trường hợp (47% là bé trai, 53% là bé gái và tới 72% mất muối TSTTBS), tăng hơn 5 lần trong 11 năm qua (Vũ, Warne, 2004).

Gen *CYP11B1* nằm trên nhiễm sắc thể 8q21, có độ lớn khoảng 7 kb bao gồm 9 exon và 8 intron (Mornet *et al.*, 1989). Ngoài ra, nó còn có độ tương đồng lên tới 95% đối với vùng exon và 90% đối với vùng intron so với gen *CYP11B2* (aldosterone synthase) (Mornet *et al.*, 1989). Cho đến nay, hơn 50 đột biến trên gen *CYP11B1* đã được tìm thấy (Stenson *et al.*, 2009) bao gồm nhiều loại đột biến khác nhau như đột biến mất đoạn, vô nghĩa, trượt khung, thêm đoạn. Tất cả những đột biến điểm đều xuất hiện tại tất cả các exon, tuy nhiên tại exon 2, 6, 7 và 8 là nơi tập trung những điểm nóng (hot spot) đột biến (Geley *et al.*, 1996).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành phân tích di truyền phân tử gen *CYP11B1* ở một bệnh nhân CAH được chẩn đoán lâm sàng và hóa sinh ban đầu là thiếu hụt 11 β -hydroxylase. Đột biến thay đổi amino acid đã được nghiên cứu tới sự ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme 11-hydroxylase ở tế bào động vật COS-1 trong quá trình chuyển hóa cơ chất 11-deoxycortisol tới cortisol.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Hóa chất

Vector biểu hiện pSVL được mua từ hãng Pharmacia Biotech Inc. (Freiburg, CHLB Đức). Môi trường nuôi cấy tế bào: pyruvate, glutamine, fetal bovine serum và kháng sinh của hãng Sigma. 11-deoxycortisol, cortisol và [3 H] 11-hydroxycortisol của hãng DuPont NEN (Boston, Mỹ). Các dụng cụ dùng cho sắc khí lớp mỏng và một số hóa chất thông dụng được mua từ hãng Merck.

Bệnh nhân

Bệnh nhân là bệnh nhi được chẩn đoán về lâm sàng và hóa sinh là có hiện tượng tăng sản thượng thận bẩm sinh từ Bệnh viện Nhi Trung ương.

Phương pháp

Nhân và giải trình tự gen *CYP11B1*

DNA tổng số của bệnh nhân được tách chiết theo phương pháp cải tiến của Sambrook và cs (Sambrook *et al.*, 1989) để tạo khuôn mẫu cho phản ứng nhào gen PCR. Toàn bộ gen *CYP11B1* bao gồm tất cả exon/intron được nhân lên bằng 3 cặp mồi riêng biệt theo và phản ứng PCR được tiến hành theo Nguyen và cs (Nguyen *et al.*, 2012). Sản phẩm PCR gen *CYP11B1* sau đó được tinh sạch bằng bộ Kit Gel Extraction của hãng Fermentas.

Toàn bộ 9 exon của gen *CYP11B1* và vùng giao nhau giữa exon-intron được đọc trình tự trực tiếp trên máy Sequencer ABI 3100 Bio System (USA) bằng 9 mồi theo Nguyen và cs (Nguyen *et al.*, 2012). Kết quả đọc trình tự được phân tích và so sánh với trình tự gen *CYP11B1* chuẩn trong ngân hàng gen (ENSEMBL: ENSG00000160882) bằng phần mềm Bio Edit 3.0.

Tạo đột biến điểm trực tiếp (Site-directed mutagenesis)

Đột biến điểm được tạo ra trên vector pSVLh11B1 bằng việc sử dụng kit Quik-Change Site-Directed Mutagenesis (Stratagene Ltd., Cambridge, UK). Trình tự biểu hiện *CYP11B1* trên cấu trúc vector pSVLh11B1 trong tế bào động vật được xem như đối chứng (wild type). Cặp mồi đáp ứng với sự thay đổi của amino acid trên exon 1: Mồi xuôi: 3'-ACAGGTGGCTGAAGCTGCTGCAG-5' và mồi ngược: 3'-CTGCAGCAGCTTCAGCCACCTGT-5'. Chu trình nhiệt tạo đột biến điểm được miêu tả (Nguyen *et al.*, 2008). Các đột biến điểm được kiểm tra lại bằng đọc trình tự gen (MWG Eurofins, Ebersberg, Germany).

Biểu hiện trong tế bào COS-1 và phân tích hoạt tính enzyme

Dòng tế bào COS-1 được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 5% huyết thanh bò (fetal bovine serum), 0,1 mg/ml streptomycin, 100 U/ml penicillin, 1 mM pyruvate và 4 mM L-glutamine. Các tế bào được nuôi cấy tới mật độ khoảng 2×10^5 / đĩa sau 18-24 h, sau đó tế bào này được biến nạp với 1 μ g vector pSVLh11B1 và 1 μ g vector biểu hiện bovine adrenodoxin (pbAdx) bằng việc sử dụng kit Effectene Transfection Reagent (Qiagen). Sau 6 h biến nạp, các tế bào được ủ nuôi tiếp ở 37°C, 72 h trong 4 ml môi trường có bổ sung 0,6 μ Ci [3 H]-11-deoxycortisol. Steroid được tách chiết 2 lần từ dịch nổi của tế bào (800 μ l) với chloroform và các sản phẩm steroid được phân tích bằng sắc ký lớp mỏng theo Nguyen và cs (Nguyen *et al.*, 2008).

Phân tích Western blot để chứng minh sự biểu hiện của wild-type và đột biến của 11-hydroxylase trong tế bào động vật. Protein được tách chiết từ tế bào COS-1 như đã mô tả của (Nguyen *et al.*, 2008). Protein tổng số (200 μ g) được đưa lên gel 10% SDS-PAGE và sau đó được chuyển sang màng nitrocellulose. *CYP11B1* được phát hiện với kháng thể thô kháng *CYP11B* người (Charles River Laboratories, Germany) và phát hiện hình ảnh bằng bộ kit ECL (Amersham Biosciences, UK).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Biểu hiện lâm sàng, hóa sinh của bệnh nhân

Xét nghiệm lâm sàng: Ngay sau đẻ đã thấy bộ phận sinh dục ngoài bất thường, khám lúc 3 tuổi (14/11/1998). Biểu hiện: ngoại hình nữ, cơ bắp phát triển, cao 98 cm, nặng 15 kg, âm vật như dương vật dài 2 cm, Prader III. Huyết áp 120/80 mmHg; Các xét nghiệm: Nhiễm sắc thể 46,XX; SRY (-); siêu âm không

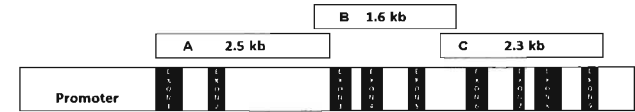
có u thượng thận; Chụp X quang: tuổi xương tương đương trẻ 7 tuổi (tuổi thực 3 tuổi) và tuổi xương tương đương trẻ 13 tuổi khi tuổi thực là 8 tuổi (Bảng 1).

Khuếch đại đoạn gen *CYP11B1*

Bảng 1. Kết quả xét nghiệm hóa sinh bệnh nhân

Tên xét nghiệm	Nồng độ ở bệnh nhân	Nồng độ mức bình thường
Ca ²⁺ (mmol/L)	0,8	1,16 - 1,32
Na ⁺ (mmol/L)	137	135 - 155
K ⁺ (mmol/L)	3,8	3,5 - 5,5
Cortisol lúc 8h (mmol/L)	478	83 - 580
ACTH (pmol/L)	10,5	Dưới 18
Testosterone (nmol/L)	20,9	0,35 - 2,60
17-OHP (ng/L)	0,57	Dưới 0,2
17CS niệu μ mol/24 giờ	20,6	Dưới 7
17-OHCS μ mol/24 giờ	15,1	2,8 - 15,5

Đoạn gen *CYP11B1* có kích thước khoảng 7 kb, bao gồm 9 exon và 8 intron, vì thế, 3 cặp mồi đặc hiệu được thiết kế để khuếch đại được toàn bộ đoạn gen (Hình 1).



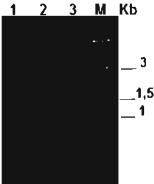
Gen *CYP11B1*

Hình 1. Sơ đồ nhân đoạn gen *CYP11B1*

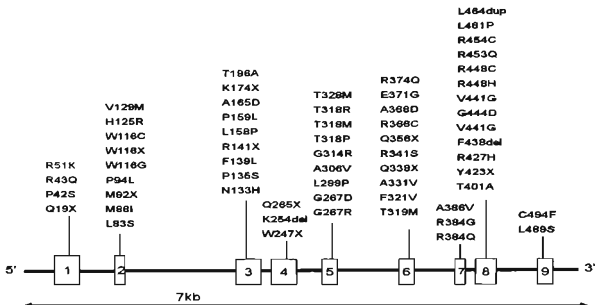
Với điều kiện được tính toán tối ưu của chu trình PCR, sản phẩm DNA thu được sau khi điện di trên gel agarose có kích thước hoàn toàn phù hợp với tính toán lý thuyết (Hình 2).

Đột biến gen *CYP11B1*

Toàn bộ đoạn gen *CYP11B1* (khoảng 7kb) gồm 9 exon và 8 intron đã được nhân lên, các sản phẩm phản ứng PCR được tiến hành đọc trình tự trực tiếp. Chúng tôi đã phát hiện được 1 điểm đột biến thay thế ở dạng dị hợp tử trên nucleotide thứ 152 từ G thành A trên cDNA (c 152G>A, p R51K) nằm trên exon1 (Hình 3).



Hình 2. Điện di sản phẩm nhân gen *CYP11B1* M: Marker chuẩn 1 kb, 1 đoạn gen nhân bằng mồi A (2,5 kb), 2: đoạn gen nhân bằng mồi B (1,6 kb), 3: đoạn gen nhân bởi mồi C (2,3 kb)



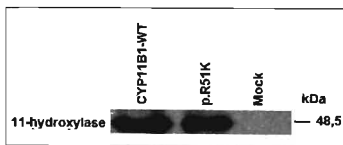
Hình 3. Những đột biến thay đổi amino acid trên gen *CYP11B1*. Đột biến R51K (chữ đỏ) là đột biến mới được phát hiện ở người bệnh của nghiên cứu này, các đột biến còn lại (chữ đen) là đột biến đã được công bố trước đó

Phân tích hoạt tính enzyme trong *in vitro*

Để phân tích ảnh hưởng của đột biến tới hoạt tính enzyme, các vector mang gen *CYP11B* đột biến cùng với plasmid pBADx4 được biến nạp vào tế bào COS-1. Sự biểu hiện đồng thời *CYP11B* với adrenodoxin (bAdx) đã được chứng minh là có ích trong việc tăng hoạt tính của *CYP11B* trong tế bào

động vật COS-1 (Nguyen *et al.*, 2008).

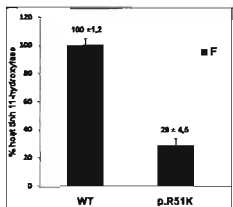
Sự biểu hiện của *CYP11B1* wild type và đột biến trong tế bào động vật COS-1 được xác định lại bằng phân tích Western blot (Hình 4). Kết quả cho thấy cả hai dạng wild type và đột biến p.R51K đã được biểu hiện là một băng protein có kích thước khoảng 48,6 kDa.



Hình 4. Biểu hiện của *CYP11B1* trong tế bào COS-1. Protein tổng số của tế bào COS-1 được phân tách trên gel SDS/PAGE. Sau khi chuyển qua màng nitrocellulose, các protein *CYP11B1* được phát hiện bằng kháng thể thô kháng *CYP11B* người và được phát hiện trên phim bằng kit ECL. CYP11B1-WT: tế bào biến nạp với vector pSVL mang gen *CYP11B1* dạng wild type, p.R51K: tế bào biến nạp với vector pSVL mang gen *CYP11B1* chứa đột biến p.R51K, và Mock: tế bào biến nạp với vector pSVL không mang gen *CYP11B1*.

Tế bào COS-1 sau khi được biến nạp với vector mang đột biến p.R51K và wild type được ủ với cơ chất 11-deoxycortisol để kiểm tra hoạt tính enzyme. Sau 72 h nuôi cấy, các steroid được tách chiết và

phân tách trên sắc ký lớp mỏng. Hoạt tính của đột biến p.R51K được so sánh với wild-type (Hình 5). Đột biến p.R51K gây giảm hoạt tính của 11 β -hydroxylase ở $29 \pm 4,5\%$ so với dạng wild-type.



Hình 5. Hoạt tính enzyme của 11-hydroxylase ở tế bào động vật COS-1. Sau khi biến nạp 5 μ M 11-deoxycortisol (RSS) và 0,6 μ Ci [3 H]-RSS được thêm vào môi trường nuôi tế bào. Các thành phần của steroid được chuyển hóa từ cơ chất RSS tới cortisol (F) được tiến hành thí nghiệm 3 lần lặp lại độc lập. Sự chuyển hóa RSS tới F của chủng wild-type được tính là 100%. Hoạt tính của enzyme bị đột biến được so sánh với wild-type.

THẢO LUẬN

Các nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng các đột biến thường được phát hiện trên các vùng nóng tập trung vào các exon 2, 6, 7 và 8. Đến nay mới chỉ có 3 đột biến p.R43Q (Barr *et al.*, 2006, p.P42S (Joehrer *et al.*, 1997) và p.Q19X (Merke *et al.*, 1998) được phát hiện trên exon 1. Các đột biến này nằm tại đầu N phần đầu của protein CYP11B1 cũng đã có những ảnh hưởng nhất định tới hoạt tính enzyme như: Đột biến p.R43Q đã làm giảm hoạt tính 11-OH từ 30 - 50% (Barr *et al.*, 2006), còn đột biến p.P42S thì làm giảm hoạt tính tới 15% (Joehrer *et al.*, 1997). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát hiện được một điểm đột biến mới p.R51K xảy ra trên exon 1 trên người Việt Nam, nơi mà rất hiếm xảy ra đột biến. Nghiên cứu sự biểu hiện 11 β -hydroxylase của đột biến p.R51K và wild-type trong tế bào COS-1 bằng kỹ thuật Western blot cho thấy đột biến nói trên không ảnh hưởng tới sự dịch mã của 11 β -hydroxylase.

Kết quả thử hoạt tính enzyme CYP11B1 trong quá trình chuyển hóa 11-deoxycortisol tới cortisol cho thấy đột biến p.R51K gây giảm hoạt tính của enzyme đã giải thích được ảnh hưởng của đột biến tới hoạt tính của enzyme và chứng minh được hiện tượng tăng sản thượng thận bẩm sinh ở bệnh nhân là hậu quả của đột biến.

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã phát hiện được đột biến mới thay thế amino acid p.R51K trên gen *CYP11B1* ở người

bệnh có hiện tượng tăng sản thượng thận bẩm sinh. Khi tiến hành nghiên cứu *in vitro*, đột biến p.R51K đã làm giảm hoạt tính 11 β -hydroxylase tới 29 $\pm$ 4,5% so với chủng hoang dại. Các kết quả này có thể giải thích mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình ở người bệnh có hiện tượng tăng sản bẩm sinh.

Lời cảm ơn: Công trình nghiên cứu này được thực hiện bằng kinh phí từ Chương trình KH&CN trọng điểm cấp nhà nước KC10/11-15 cho đề tài: "Nghiên cứu di truyền phân tử trên bệnh nhân rối loạn quá trình tổng hợp aldosterone", mã số 106-YS.02-2013.20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barr M., MacKenzie S.M., Wilkinson D.M., Holloway C.D., Friel E.C., Miller S., MacDonald T., Fraser R., Connell J.M., Davies E. (2006). Functional effects of genetic variants in the 11 β -hydroxylase (CYP11B1) gene. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65: 816-825.
- Geley S., Kapelari K., Joehrer K., Peter M., Glatz J., Vierhapper H., Schwarz S., Helmborg A., Sippell W.G., White P.C., Kofler R. (1996). CYP11B1 mutations causing congenital adrenal hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 81. 2896-2901.
- Joehrer K., Geley S., Strasser-Wozak E.M., Azziz R., Wollmann H.A., Schmitt K., Kofler R., White P.C. (1997). CYP11B1 mutations causing non-classic adrenal hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency. *Hum Mol Genet* 6: 1829-1834.
- Merke D.P., Tajima T., Chhabra A., Barnes K., Mancilla E., Baron J., Cutler G.B. (1998). Novel CYP11B1

mutations in congenital adrenal hyperplasia due to steroid 11 beta-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 270-273.

Mornet E., Dupont J., Vitek A. (1989). Characterization of two genes encoding human steroid 11 beta-hydroxylase (P-450(11) beta). *J Biol Chem* 264: 20961-20967.

Nguyen H.H., Nguyen T.H., Vu C.D., Nguyen K.T., Le B.V., Nguyen T.I., Nong V.H. (2012). Novel homozygous p.Y395X mutation in the CYP11B1 gene found in a Vietnamese patient with 11β-hydroxylase deficiency. *Gene* 509: 295 - 297.

Nguyen H.H., Hannemann F., Hartmann M.F., Wudy S.A., Bernhardt R. (2008). Aldosterone synthase deficiency caused by a homozygous L451F mutation in the CYP11B2 gene. *Mol Genet Metab* 93: 458-467.

Nguyễn Thu Nhân, Cao Quốc Việt, Nguyễn Xuân Thụ, Nguyễn Thị Hoàn, Nguyễn Thanh Liêm, Bùi Mạnh Tuấn, Dũng. Vũ Chí (2000), "U vô thượng thận ở trẻ em: Báo cáo 13 trường hợp trong 8 năm (7/1992 – 7/2000) tại Viện

"Nhi khoa", Nhi Khoa, Kỷ yếu Công trình nghiên cứu khoa học năm 2000, Hội nghị Nhi khoa Toàn quốc lần thứ 17. 6-8/11/2000, pp. 294-302.

Rosler. A, Leiberman E., Cohen T. (1992). High frequency of congenital adrenal hyperplasia (classic 11 beta-hydroxylase deficiency) among Jews from Morocco. *Am J Med Genet* 42: 827-834

Sambrook J., Maniatis T., Fritsch E.F. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual New York.

Stenson P.D., Mort M., Ball E.V. (2009). The Human Gene Mutation Database. *Genome Med*: 1 -13.

Vũ Chí Dũng, Warne G.L. (2004), "Tăng sản thượng thận bẩm sinh: cập nhật về sinh học phân tử, chẩn đoán và điều trị trước sinh", *Tạp chí Y học Thực hành*, 49S, pp. 245-252.

White P.C, Curnow K.M, Pascoe L. (1994). Disorders of steroid 11 beta-hydroxylase isozymes. *Endocr Rev* 15: 421-438.

A NOVEL MISSENSE MUTATION (p.R51K) OF CYP11B1 GENE IDENTIFIED IN A VIETNAMESE WITH CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA (CAH)

Nguyễn Thị Phương Mai², Nguyễn Thu Hiền¹, Rita Bernhardt³, Nguyễn Huy Hoàng^{1,3,*}

¹Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

²National Hospital of Pediatrics, Vietnam

³Saarland University, Germany

SUMMARY

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) is an inherited autosomal recessive disease which results in steroid hormone metabolism disorders. Steroid 11β-hydroxylase deficiency due to mutations in the CYP11B1 gene is the second most common cause of CAH while CYP21 deflection is the first one. Mutations in the CYP11B1 gene directly affect the activity of the enzyme 11β-hydroxylase. The enzyme 11β-hydroxylase deficiency leads to accumulation of intermediate precursor. In this study, we used PCR and sequenced directly to identify mutation. CYP11B1 gene of patient including 9 exons and 8 introns were sequenced and compared with normal CYP11B1 gene. Missense mutation of 11β-hydroxylase was expressed in COS-1 cells to study the effect of mutant on the conversion of 11-deoxycortisol to cortisol. A novel missense mutation p.R51K was detected in CYP11B1 which causes a decrease of $29 \pm 4.5\%$ of 11β-hydroxylase activity as compare to wild type. The patient with clinical manifestations, biochemical disease of CAH classical forms such as external genital abnormalities, reduced cortisol and Na⁺, K⁺ and high blood pressure. This result could explain a part of phenotype of the patient with CAH.

Keywords: Congenital adrenal hyperplasia (CAH), CYP11B1 gene; CYP11B1; p.R51K; 11β-hydroxylase

* Author for correspondence: Tel: +84-37918012; E-mail: nhhoang@igr.ac.vn