

# PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN COL1A1 Ở NGƯỜI BỆNH TẠO XƯƠNG BẤT TOÀN SỬ DỤNG GIẢI TRÌNH TỰ THỂ HỆ MỚI: CA LÂM SÀNG

Nguyễn Thị Thu Hương<sup>1</sup>, Tống Minh Sơn<sup>1</sup>

Vũ Chí Dũng<sup>2</sup> và Trần Văn Khánh<sup>1,✉</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Nhi Trung ương

Bệnh lý tạo xương bất toàn (*Osteogenesis Imperfecta*) là một rối loạn mô liên kết di truyền, đặc trưng bởi xương dễ gãy, giảm tỉ trọng xương và tầm vóc thấp. Nguyên nhân chính chiếm tới hơn 90% các ca lâm sàng của bệnh tạo xương bất toàn đến từ các đột biến gen COL1A1 (OMIM 120150) và COL1A2 (OMIM 120160), mã hóa chuỗi alpha 1 và alpha 2 của collagen typ 1 - một protein quan trọng của xương. Chúng tôi trình bày một ca lâm sàng được chẩn đoán mắc tạo xương bất toàn typ III đang được điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Kỹ thuật giải trình tự thể hệ mới (NGS) được áp dụng để phát hiện đột biến. Kết quả đã phát hiện người bệnh có đột biến c.608G>T (p.Gly203Val) tại exon 8 gen COL1A1. Không tìm thấy đột biến này ở mẫu xét nghiệm của bố và mẹ người bệnh. Xét nghiệm gen đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán, cá nhân hóa điều trị và giúp tư vấn di truyền hiệu quả.

**Từ khóa:** tạo xương bất toàn, đột biến gen COL1A1, giải trình tự thể hệ mới.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lý tạo xương bất toàn (*Osteogenesis Imperfecta*, OI) là một rối loạn mô liên kết di truyền, đặc trưng bởi xương dễ gãy, giảm tỉ trọng xương, và tầm vóc thấp. Ngoài ra, các rối loạn ở mô liên kết khác như cứng mạc mắt màu xanh, sinh ngà bất toàn, dây chằng lỏng lẻo, và điếc dẫn truyền, cũng thường gặp ở người bệnh OI.<sup>1</sup> Ban đầu, OI được phân loại thành 4 typ bởi Sillence theo đặc điểm lâm sàng và phim X-quang.<sup>2</sup> OI typ I biểu hiện kiểu hình nhẹ nhất, trong khi OI typ II gây chết trong thời kỳ sơ sinh, OI typ III là dạng bệnh nặng nhất ở những người bệnh còn sống sót sau thời kỳ sơ sinh và OI typ IV có mức độ nặng trung bình. Việc phát hiện nguyên nhân di truyền bệnh OI đã mở rộng các phân loại bệnh đồng thời cũng chỉ ra mức

độ nặng của bệnh không tương ứng với gen bị ảnh hưởng.<sup>3</sup> Forlino đã phân loại OI thành 11 typ dựa trên các loại đột biến gen.<sup>4</sup> Tuy nhiên, việc thêm phân loại OI dựa trên nguyên nhân gen còn gây nhiều tranh cãi.<sup>5</sup>

Nguyên nhân chính chiếm tới hơn 90% các ca lâm sàng của bệnh tạo xương bất toàn đến từ các đột biến gen COL1A1 (OMIM 120150) và COL1A2 (OMIM 120160), mã hóa chuỗi alpha 1 và alpha 2 của collagen typ 1 - một protein quan trọng của xương.<sup>6</sup> Hiện có trên 2000 biến thể đã được báo cáo ở 2 gen COL1A1 và COL1A2, hơn 85% trong số đó là đột biến dị hợp tử. Đột biến được di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường từ bố mẹ hoặc có thể là đột biến mới phát sinh (*de novo* mutation).<sup>7</sup> Với sự phát triển của công nghệ sinh học, ít nhất hơn 16 gen khác COL1A1 và COL1A2 đã được chứng minh có liên quan đến OI, như CRTAP, P3H1, PPIB, SERPINH1, FKBP10, PLOD2 và BMP1.<sup>8</sup> Các dạng OI có nguyên nhân do các gen không tổng hợp collagen sẽ không biểu hiện cùng

Tác giả liên hệ: Trần Văn Khánh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 12/09/2022

Ngày được chấp nhận: 15/10/2022

mạc mắt xanh và sinh ngà bất toàn.<sup>6</sup> Chính vì vậy, việc xác định nguồn gốc gen gây bệnh của bệnh lý OI đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán, điều trị bệnh, hướng tới tập trung điều trị cá nhân hóa.

Chúng tôi trình bày một ca lâm sàng được chẩn đoán mắc bệnh tạo xương bất toàn typ III đang được điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Xét nghiệm di truyền tìm gen nguyên nhân của người bệnh và gia đình cũng được thực hiện và trình bày trong bài báo cáo.

## II. GIỚI THIỆU CA BỆNH

Người bệnh nam 10 tuổi, chẩn đoán mắc tạo xương bất toàn typ III đang được điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Tiền sử gia đình không ghi nhận bất thường, bệnh nhân là con duy nhất trong gia đình.

Trẻ được sinh thường lúc 38 tuần tuổi, thai kỳ của người mẹ không có bất thường. Các chỉ số cân nặng và chiều cao khi sinh nằm trong ngưỡng bình thường. Ngay sau sinh, trẻ đã bị gãy xương đòn và triệu chứng này đã gợi ý đến bệnh lý tạo xương bất toàn. Người bệnh được khám lần đầu tại Bệnh viện Nhi Trung ương lúc 8 ngày tuổi, với các đặc điểm lâm sàng: biến dạng cẳng tay trái, X-quang xương đùi thể hiện biến dạng xương đùi, giảm mật độ xương đùi hai bên, củng mạc mắt màu xanh. Người bệnh có thính lực bình thường. Dựa trên các đặc điểm lâm sàng và X-quang, người bệnh đã được chẩn đoán mắc tạo xương bất toàn typ III và điều trị tại khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền. Kế hoạch điều trị được đưa ra với mục tiêu làm xương chắc hơn và giảm số lần gãy xương gồm dùng thuốc và hướng dẫn vật lý trị liệu cho người nhà bằng các kỹ năng chăm sóc an toàn, vận động phù hợp, sử dụng dụng cụ hỗ trợ sức mạnh tay chân. Người bệnh được chỉ định điều trị bằng biphosphonate truyền tĩnh mạch, bổ sung canxi và vitamin D đường uống giúp nâng cao mật độ xương và cân bằng

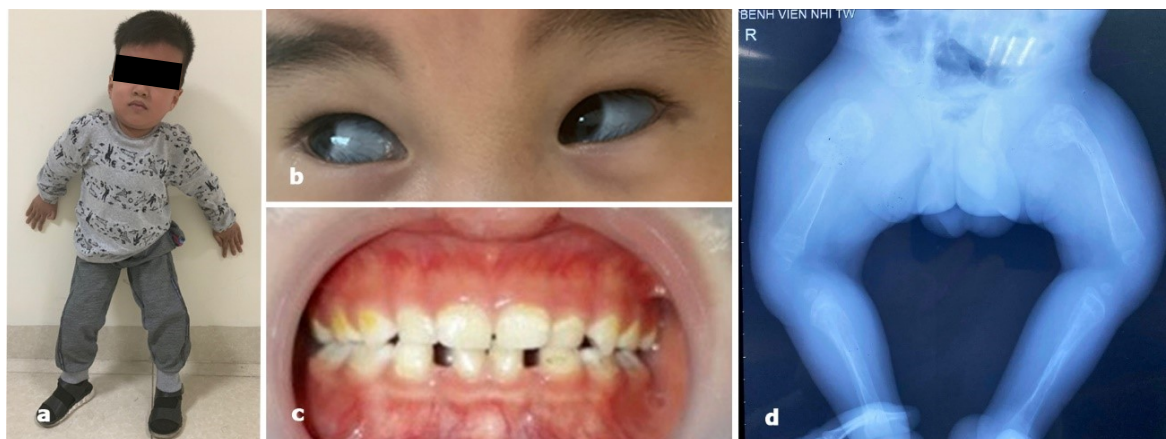
quá trình tạo xương và hủy xương. Vitamin D đường uống được kê 400 - 1000UI hàng ngày tùy theo độ tuổi. Trẻ được truyền tĩnh mạch Zoledronic acid (Zometa) liều 0,05 mg/kg/lần, thời gian truyền 45 phút, tần suất mỗi 6 tháng/lần. Canxi được bổ sung đường uống 1 tuần trước và sau truyền tĩnh mạch, liều 1mmol/kg/ngày.

Hiện tại, người bệnh có kiểu hình thấp còi, cao 102cm, cân nặng 19kg, xương sống bị cong vẹo, xương chân biến dạng, gập góc đầu trên xương đùi hai bên, không đi lại được. Người bệnh có kiểu mặt lõm, củng mạc mắt màu xanh. Lần khám gần nhất, tháng 7/2022, X-quang không ghi nhận gãy xương mới xương dài (Hình 1). Các chỉ số xét nghiệm hóa sinh canxi máu ở mức bình thường: canxi toàn phần 2,27 mmol/L, canxi ion: 0,96 mmol/L, phosphatase kiềm: 246,5 UI/L.

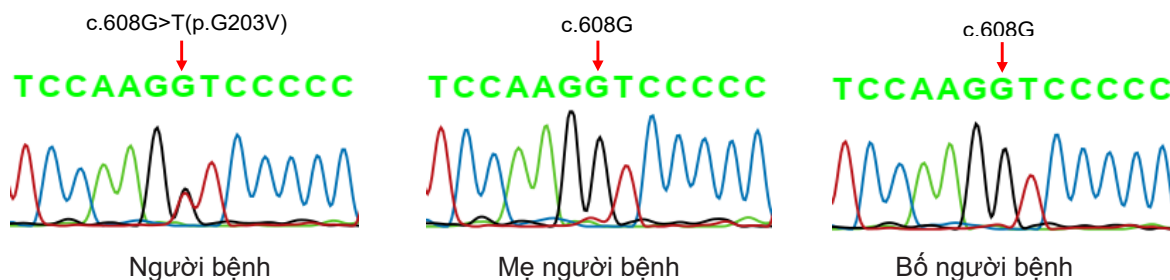
Nhằm mục đích tư vấn di truyền, người bệnh đã được tiến hành xác định đột biến nhóm gen bệnh tạo xương bất toàn. Giấy đồng ý tham gia xét nghiệm được chấp thuận bởi cả bố và mẹ người bệnh.

Mẫu DNA được tách chiết từ máu ngoại vi của người bệnh và bố, mẹ người bệnh. Kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (Next generation sequencing) trên hệ thống Nextseq 500/550 High Output kit on the NextSeq 550 system (Illumina, USA) phân tích 13 gen liên quan đến OI đã được áp dụng để xác định đột biến trên người bệnh, bao gồm các gen: *COL1A1*, *COL1A2*, *CRTAP*, *LEPRE1*, *PP1B*, *SERPINH1*, *SERPINF1*, *FKBP10*, *P3H1*, *BMP1*, *TMEM38B*, *IFITM5*, *WNT1*. Kỹ thuật giải trình tự gen Sanger được áp dụng để kiểm chứng lại kết quả NGS và phân tích trên mẫu DNA của bố, mẹ người bệnh. Xét nghiệm phân tích đột biến gen được thực hiện tại Trung tâm nghiên cứu Gen-Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

Chúng tôi phát hiện người bệnh có đột biến dị hợp tử c.608G>T (p.Gly203Val) tại exon 8



**Hình 1. Đặc điểm lâm sàng của người bệnh: a) Cột sống cong vẹo, b) Củng mạc mắt màu xanh, c) Không ghi nhận bất thường ở răng, d) X-quang biến dạng xương đùi hai bên**



**Hình 2. Hình ảnh giải trình tự gen Sanger COL1A1 của gia đình người bệnh**

gen *COL1A1*. Đột biến này đã được ghi nhận gây bệnh tạo xương bất toàn. Không tìm thấy đột biến này ở mẫu xét nghiệm của bố, mẹ người bệnh (Hình 2).

### III. BÀN LUẬN

Chúng tôi mô tả một ca lâm sàng mắc tạo xương bất toàn typ III đang điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Người bệnh mang các đặc điểm điển hình trên lâm sàng và X-quang của bệnh tạo xương bất toàn như gãy xương sau sinh, cong xương dài, giảm mật độ xương đùi, củng mạc mắt màu xanh, do đó đã được phát hiện, chẩn đoán và điều trị từ sớm.

Người bệnh được xác định mang đột biến dị hợp tử c.608G>T (p.Gly203Val) tại exon 8 gen *COL1A1*, đây là đột biến mới phát sinh phù hợp với đặc điểm lâm sàng của người bệnh.

Chuỗi procollagen typ 1 tạo nên heterotrimer gồm hai chuỗi alpha 1 và một chuỗi alpha 2, do đó đột biến ở *COL1A1* được cho rằng nghiêm trọng hơn so với *COL1A2*.<sup>9</sup> Đột biến c.608G>T (p.Gly203Val) cũng đã được ghi nhận trong một số nghiên cứu trước đây.<sup>10,11</sup> Đột biến này gây thay thế axit amin Glycine bằng Valine. Theo y văn, các đột biến làm thay đổi codon mã hóa Glycine chiếm tới 80% các bất thường Collagen. Glycine đã được chứng minh có vai trò quan trọng trong gấp chuỗi xoắn ba (triple helix).<sup>12</sup> Một nghiên cứu trên cơ mẫu người Trung Quốc cũng ghi nhận 19/25 các đột biến ở gen *COL1A1* và *COL1A2* là đột biến Glycine.<sup>13</sup>

Bisphosphonate là một thuốc chống tiêu xương được sử dụng rộng rãi để điều trị trẻ em mắc tạo xương bất toàn. Bisphosphonate lắng đọng trên bề mặt của xương, giúp tăng

thể tích xương bằng cách chống lại tình trạng tế bào luân chuyển cao của xương trong bệnh tạo xương bất toàn.<sup>8</sup> Tuy nhiên, ở bệnh OI typ VI gây ra bởi các đột biến ở *SERPINF1*, một dạng tích tụ quá nhiều xương, nhưng không có bất thường về chuyển hóa canxi, photphat, hormone tuyến cận giáp hoặc vitamin D và quá trình khoáng hóa mảng tăng trưởng vẫn diễn ra bình thường. Những người bệnh này không đáp ứng tốt với liệu pháp bisphosphonate so với các typ xương bất toàn khác.<sup>6</sup> Người bệnh đã được xác định có đột biến ở gen *COL1A1* thông qua giải trình tự gen, một đột biến có đáp ứng tốt với biphosphanate. Chính vì vậy, xác định được nguồn gốc gen gây nên bệnh tạo xương bất toàn có thể giúp nâng cao điều trị, góp phần điều trị cá nhân hóa và hiệu quả. Axit zoledronic là amino bisphosphonate thế hệ thứ ba có tác dụng lâu hơn, chính vì vậy lựa chọn axit zoledronic giúp bệnh nhân có thời gian truyền ngắn hơn và ít phải nhập viện hơn, 6 tháng một lần. Điều này có ý nghĩa rất lớn với trẻ và gia đình trong việc giảm sợ hãi đến viện đặc biệt ở những trẻ sợ kim tiêm hay không muốn gián đoạn đi học.

Giải trình tự gen xác nhận bệnh nhân mắc một bệnh lý Mendel điển hình. Với việc mang một đột biến dị hợp tử trội trên nhiễm sắc thể thường, bệnh nhân có 50% khả năng di truyền đột biến cho thế hệ sau. Gia đình đã được tư vấn các lựa chọn để thế hệ sau không bị di truyền đột biến này. Nếu người bệnh mong muốn có con bằng mang thai tự nhiên, bệnh nhân cần hiểu rõ sẽ có 50% nguy cơ con mắc bệnh ngay cả trường hợp người mẹ hoàn toàn khỏe mạnh. Xét nghiệm không xâm lấn trước sinh (NIPT) cần được thực hiện trong trường hợp muốn cân nhắc chấm dứt thai kỳ sớm. Nếu người bệnh mong muốn có con bằng thụ tinh trong ống nghiệm, sẽ có các lựa chọn như xin tinh trùng khỏe mạnh, hay xét nghiệm phôi.

Việc lựa chọn nhận nuôi trẻ cũng đã được tư vấn.

#### IV. KẾT LUẬN

Bài báo trình bày một ca lâm sàng điển hình của bệnh tạo xương bất toàn typ III, phát hiện đột biến dị hợp tử c.608G>T (p.Gly203Val) tại exon 8 gen *COL1A1*, đây là đột biến mới phát sinh phù hợp với đặc điểm lâm sàng của người bệnh. Xét nghiệm gen đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán bệnh, cá nhân hóa điều trị và giúp tư vấn di truyền hiệu quả.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Basel D, RD. Steiner. Osteogenesis imperfecta: recent findings shed new light on this once well-understood condition. *Genetics in medicine*. 2009;11(6):p.375-385.
2. Silience D, A Senn, D Danks. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *Journal of medical genetics*. 1979;16(2):p.101-116.
3. Van Dijk F, et al. Classification of osteogenesis imperfecta revisited. *European journal of medical genetics*. 2010;53(1):p.1-5.
4. Forlino A, et al. New perspectives on osteogenesis imperfecta. *Nature Reviews Endocrinology*. 2011;7(9):p.540-557.
5. Van Dijk F, D. Silience. Osteogenesis imperfecta: clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. *American journal of medical genetics Part A*. 2014;164(6):p.1470-1481.
6. Cheung MS, FH. Glorieux. Osteogenesis imperfecta: update on presentation and management. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2008;9(2):p.153-160.
7. Shapiro JR. Osteogenesis imperfecta: A translational approach to brittle bone disease. *Academic Press*. 2013
8. Forlino A, JC Marini. Osteogenesis

imperfecta. *The Lancet*. 2016;387(10028): p.1657-1671.

9. Prockop DJ, et al. Type I procollagen: The gene - protein system that harbors most of the mutations causing osteogenesis imperfecta and probably more common heritable disorders of connective tissue. *American journal of medical genetics*. 1989;34(1):p.60-67.

10. Trancozo M, et al. Osteogenesis imperfecta in Brazilian patients. *Genetics and molecular biology*. 2019;42:p.344-350.

11. Gardner A, et al. The use of magnetically controlled growing rods in

paediatric Osteogenesis Imperfecta with early onset, progressive scoliosis. *Journal of Surgical Case Reports*. 2018;2018(3):p.rjy043.

12. Gioia R, et al. Impaired osteoblastogenesis in a murine model of dominant osteogenesis imperfecta: A new target for osteogenesis imperfecta pharmacological therapy. *Stem Cells*. 2012;30(7):p.1465-1476.

13. Zhang H, et al. Clinical characteristics and the identification of novel mutations of COL1A1 and COL1A2 in 61 Chinese patients with osteogenesis imperfecta. *Molecular medicine reports*. 2016;14(5):p.4918-4926.

## Summary

### MUTATION DETECTION OF COL1A1 GENE IN A PATIENT WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA USING NEXT - GENERATION SEQUENCING: A CASE REPORT

Osteogenesis imperfecta (OI) is a heritable, connective tissue disorder characterized by increased bone fragility, low bone mass, and short stature. More than 90% of cases are caused by mutations in the *COL1A1* (OMIM 120150) and *COL1A2* (OMIM 120060) genes, which encode collagen type 1 alpha chains. We presented a case of a 10-year-old male with OI type III who was treated at Hanoi National Children's Hospital diagnosed. Gene sequencing was performed for the patient and parents using the next generation sequencing technology. A dominant heterozygous de novo mutation, pathogenic, at exon 8 of the *COL1A1* ( c.608G>T, p.Gly203Val) was identified for the patient. Gene testing plays an important role in diagnosis, developing individualized treatment, and genetic counseling.

**Keywords:** osteogenesis imperfecta, COL1A1 mutation, next-generation sequencing.