

BÁO CÁO CA BỆNH: CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH BIẾN THỂ GEN ALPL GÂY BỆNH GIẢM PHOSPHAT MÁU Ở THAI NHI CÓ BẤT THƯỜNG HỆ XƯƠNG

Đào Thị Trang^{1,2}, Lương Thị Lan Anh^{1,2}, Tăng Xuân Hải³
Trần Anh Tú³, Nguyễn Xuân Chung³, Ngô Văn Cảnh³
Đinh Thị Quỳnh³ và Nguyễn Thị Hào^{3,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An

Bệnh giảm phosphat máu (Hypophosphatasia) do biến thể gây bệnh trên gen ALPL là bệnh hiếm gặp, một số ít ca được chẩn đoán di truyền trước sinh khi siêu âm phát hiện bất thường hệ xương. Nghiên cứu mô tả trường hợp thai phụ 26 tuổi mang thai lần đầu, thai 17 tuần siêu âm phát hiện ngắn các xương dài và gập góc, giảm mật độ xương, bàn chân vẹo. Xét nghiệm giải trình tự vùng mã hoá của các gen (Exome sequencing, ES) cho mẫu ối và giải trình tự Sanger cho mẫu máu bố mẹ. Kết quả phát hiện đồng hợp tử biến thể có khả năng gây bệnh trên gen ALPL:c.707A>G (NM_000478.6) ở thai. Bố, mẹ là người mang dị hợp tử biến thể này với thể nhẹ của bệnh giảm phosphat máu. Thai nhi với bất thường hệ xương cần lưu ý cơ chế di truyền lặn, trong đó có gen ALPL gây bệnh Hypophosphatasia. Xác định nguyên nhân di truyền ở thai nhi và phân tích tình trạng mang gen của bố mẹ giúp đánh giá rõ về nguy cơ tái mắc ở lần mang thai sau, từ đó, tư vấn các phương pháp chẩn đoán trước sinh phù hợp cho gia đình.

Từ khóa: Hypophosphatasia, gen ALPL, di truyền lặn, bất thường hệ xương, chẩn đoán trước sinh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh giảm phosphatase máu (Hypophosphatasia - HPP) (PMID: 241510, 241500 và 146300) là một rối loạn di truyền hiếm gặp, được đặc trưng bởi sự khiếm khuyết khoáng hoá xương và/hoặc răng và giảm nồng độ alkaline phosphatase (ALP) trong huyết thanh. Phổ lâm sàng của HPP rất khác nhau, từ dạng rất nặng, chủ yếu gây tử vong trước sinh cho đến dạng nhẹ khởi phát muộn ở người trưởng thành với các triệu chứng không đặc hiệu như bệnh khớp và đau cơ xương.

Tỉ lệ mắc các dạng nặng được ước tính là 1/300.000 ở châu Âu và 1/100.000 ở Bắc Mỹ. HPP được gây ra bởi các biến thể mất chức năng trong gen ALPL (1p36.12), gen mã hoá enzyme phosphatase kiềm không đặc hiệu của mô (tissue- nonspecific alkaline phosphatase - TNSALP). Enzyme này đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của xương và răng, hoạt động trong nhiều mô khác như gan và thận. TNSALP cần thiết cho quá trình khoáng hoá, trong đó các khoáng chất như canxi và photpho được lắng đọng trong xương và răng đang phát triển, giúp hình thành xương chắc khỏe và răng có thể chịu được việc nhai và nghiền.^{1,2} Cho đến nay, hơn 400 đột biến gen ALPL đã được báo cáo trên toàn thế giới và khoảng 80% trong số những đột biến này là đột biến sai nghĩa.³

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hào

Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An

Email: haohao.hmu@gmail.com

Ngày nhận: 22/04/2024

Ngày được chấp nhận: 14/05/2024

Mức độ nghiêm trọng của HPP phụ thuộc vào ảnh hưởng của biến thể gây bệnh *ALPL* đối với hoạt động TNSALP.⁴ HPP gây tử vong trước sinh được đặc trưng bởi sự suy giảm rõ rệt quá trình khoáng hóa xương trong tử cung do mất đột biến chức năng ở gen *ALPL*. Giảm hoặc vắng mặt hoạt động ALP tạo ra sự giảm khoáng hóa sâu sắc của bộ xương trục và/hoặc xương chi, thường dẫn đến các chi ngắn lại, biến dạng và mất ổn định ở lồng ngực dẫn đến suy hô hấp do giảm sản phổi với kết cục cuối cùng là thai chết lưu hoặc tử vong trong vòng vài ngày sau sinh.

Mặc dù, siêu âm có thể phát hiện chứng loạn sản xương với độ chính xác 95%, nhưng trong thai kì rất khó để chẩn đoán phân biệt với tạo xương bất toàn (osteogenesis imperfect-OI) tuýp 2 và loạn sản sụn xương vì các bất thường xương này đều có biểu hiện khá trùng lặp như ngắn chi nghiêm trọng và giảm chu vi ngực trên siêu âm thai/Xquang.⁵ Do vậy, xét nghiệm di truyền phân tử xác định đột biến gen giúp chẩn đoán phân biệt HPP (gen *ALPL*), OI (gen *COL1A1*, *COL1A2*) và CD (gen *SOX9*).⁶ Ở Việt Nam mới ghi nhận một trường hợp chẩn đoán trước sinh HPP trong 3 tháng đầu (đã chấm dứt thai kì), thai đồng hợp tử biến thể c.997+1G>T gen *ALPL* được di truyền từ bố mẹ mang kiểu gen dị hợp tử.⁷

Nghiên cứu này với mục tiêu báo cáo một trường hợp thai nhi có siêu âm bất thường hệ xương, được phát hiện đồng hợp tử biến thể gen *ALPL* gây bệnh giảm phosphat máu; bố, mẹ là người mang dị hợp tử biến thể và có biểu hiện lâm sàng nhẹ.

II. GIỚI THIỆU CA BỆNH

Mô tả trường hợp chẩn đoán trước sinh thai bất thường hệ xương có 1 biến thể đồng hợp tử trên gen *ALPL* liên quan đến bệnh Hypophosphatasia thể trước sinh nghiêm trọng. Thai phụ 26 tuổi mang thai lần đầu, thai

17 tuần có bất thường hệ xương trên siêu âm. Thai phụ đến khám tư vấn và chẩn đoán trước sinh tại Trung tâm sàng lọc, chẩn đoán trước sinh và sơ sinh - Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An. Các thành viên trong gia đình được nghiên cứu bao gồm: Bố, mẹ và thai nhi.

Nghiên cứu ca bệnh bao gồm:

- Thu thập thông tin lâm sàng, tiền sử gia đình, xét nghiệm định lượng phosphatase kiềm của bố mẹ; kết quả siêu âm thai.

- Phương pháp lấy mẫu bệnh phẩm để thực hiện chẩn đoán di truyền: 10mL dịch ối tươi (được bảo quản trong ống falcon vô trùng) của thai 17 tuần được lấy thông qua thủ thuật chọc ối dưới hướng dẫn siêu âm tại Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An. Bố và mẹ được lấy 2mL máu chống đông EDTA mỗi người sau khi có kết quả chọc ối. Hai loại mẫu được bảo quản -4°C và vận chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 24 giờ.

- Xét nghiệm WES giải trình tự vùng mã hoá của 22.000 gen. Xét nghiệm được thực hiện tại Viện Di truyền Y học. Sử dụng bộ hoá chất: New England BioLabs, IDT và Illumina Hoa Kỳ với hệ thống giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing) NextSeq, Illumina, Hoa Kỳ. Các biến thể được phân loại dựa trên cơ sở dữ liệu biến thể lâm sàng ClinVar của Viện sức khỏe quốc gia Hoa Kỳ (US. National Institutes of Health) và theo tiêu chuẩn phân loại biến thể của Hiệp hội Di truyền Y khoa Hoa Kỳ (ACMG) được cập nhật tới thời điểm trả kết quả.

- Giải trình tự bằng phương pháp Sanger: Sử dụng bộ hoá chất: IDTDNA. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm CodonCode Aligner (v. 9.0.1) kết hợp với UCSC Genome Browser (GRCh38) và công cụ BLAST của NCBI để xác định vị trí đột biến và loại đột biến.

- Phiên giải kết quả và tư vấn di truyền được thực hiện bởi Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và

Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An.

1. Thông tin chung của ca bệnh

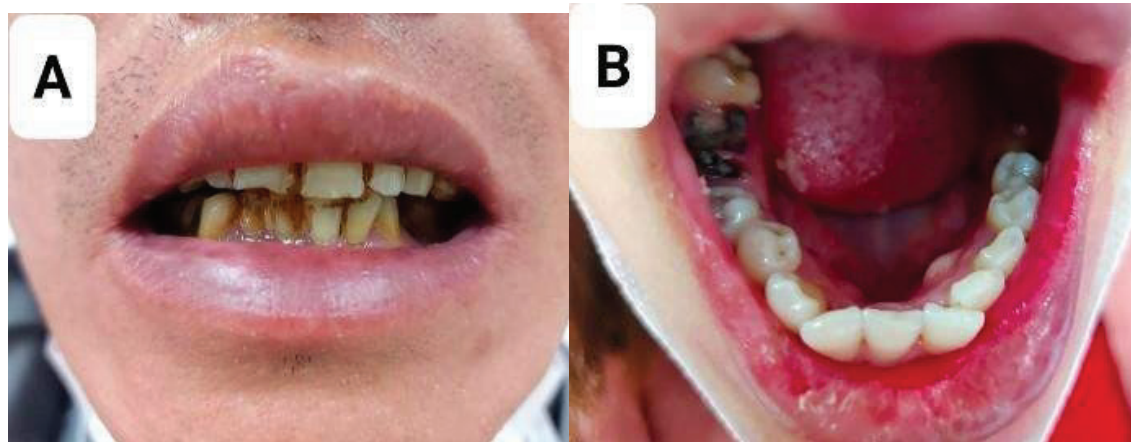
- Bố: Tr.Tr.H., 37 tuổi, cao 160cm, không có tiền sử gãy xương, men răng kém.

Xét nghiệm máu định lượng phosphatase kiềm (ALP) giảm: 24,4 (U/L) (Bình thường: 41-

129).

- Mẹ: Tr.T.P., 26 tuổi, PARA: 0000, cao 150cm, không có tiền sử gãy xương, men răng kém.

Xét nghiệm máu định lượng phosphatase kiềm (ALP) giảm: 20,7 (U/L) (Bình thường: 41-129).



Hình 1. Ảnh chụp hàm răng bố, mẹ

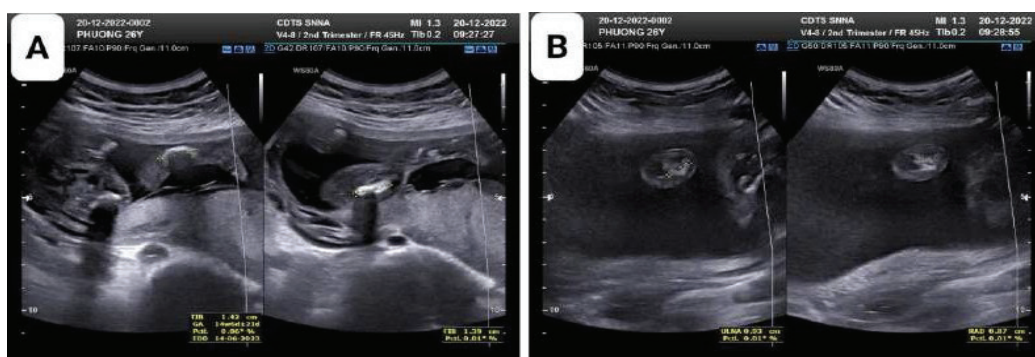
(A) Ảnh bố; (B) Ảnh mẹ

- Thai với kết quả siêu âm: Thai 16 tuần 5 ngày.

Xương đùi, xương cánh tay, xương trụ, xương quay: cong ngắn, gập góc hai bên. Bàn

chân phải vẹo, bàn chân trái duỗi xoay trong.

Giảm mật độ xương: xương sọ, xương cột sống.

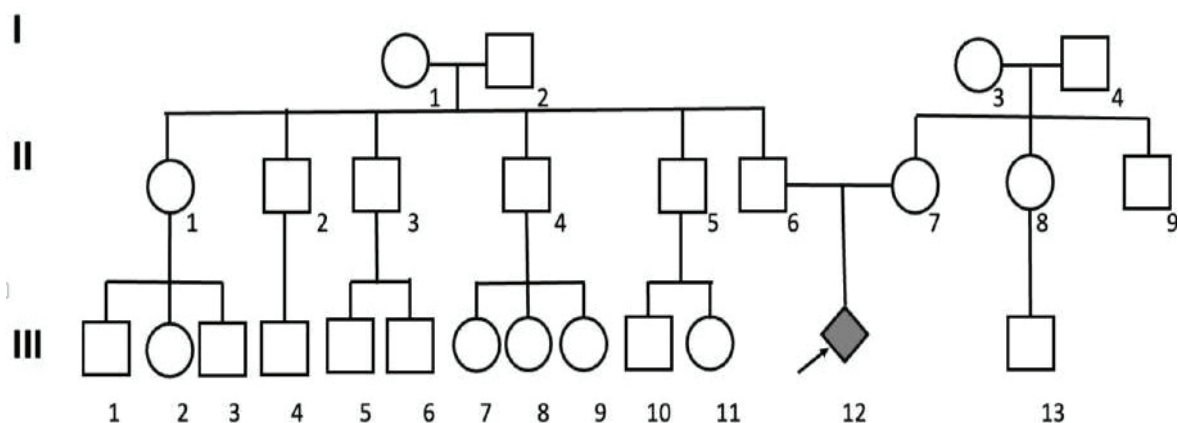


Hình 2. Một số hình ảnh siêu âm thai lúc 20 tuần

Xương chày, xương mác cong ngắn, gập góc hai bên; (B) Xương quay, xương trụ cong ngắn, gập góc hai bên

Tiền sử: 2 vợ chồng không có kết hôn cận huyết; 2 bên gia đình không có tiền sử người bị

dễ gãy xương.



Ghi chú: Bố II.6; Mẹ II.7; Thai III.12

Hình 3. Phả hệ

2. Giải trình tự vùng mã hóa của 22.000 gen (Exome Sequencing)

Mẫu DNA (từ tế bào dịch ối tươi) của thai đã phát hiện đồng hợp tử biến thể c.707A>G trên gen *ALPL* (NM_000478.6), biến thể gen là sự thay thế nucleotide ở vị trí thứ 707 từ Adenine thành Guanine, dẫn tới thay đổi trình tự acid

amin ở vị trí thứ 236 từ Tyrosine thành Cysteine (Biến thể sai nghĩa). Biến thể gen chưa được báo cáo trên Clinvar. Theo phân loại của Hiệp hội Di truyền Y khoa Hoa Kỳ (ACMG - American College of Medical Genetics and Genomics), biến thể này được phân loại Có khả năng gây bệnh (PM1, PM2, PM3, PP3).

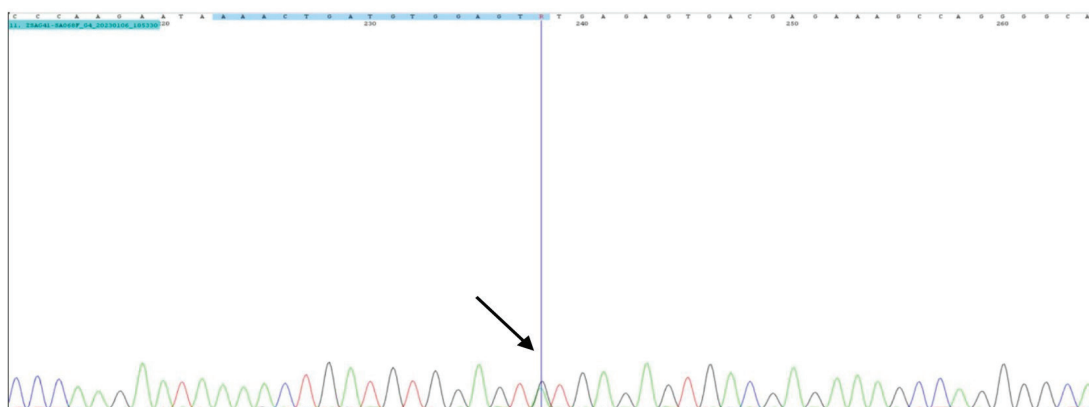
3. Giải trình tự trực tiếp Sanger biến thể

Bảng 1. Giải trình tự Sanger

Đối tượng	Gen	Nhiễm sắc thể: Vị trí	Biến thể	Kết quả
Thai	<i>ALPL</i>	NST số 1: 21568162	NM_000478.6:c.707A>G	Phát hiện biến thể đồng hợp
Tr.T.P. (Mẹ)	<i>ALPL</i>	NST số 1: 21568162	NM_000478.6:c.707A>G	Phát hiện biến thể dị hợp
Tr.Tr.H. (Bố)	<i>ALPL</i>	NST số 1: 21568162	NM_000478.6:c.707A>G	Phát hiện biến thể dị hợp

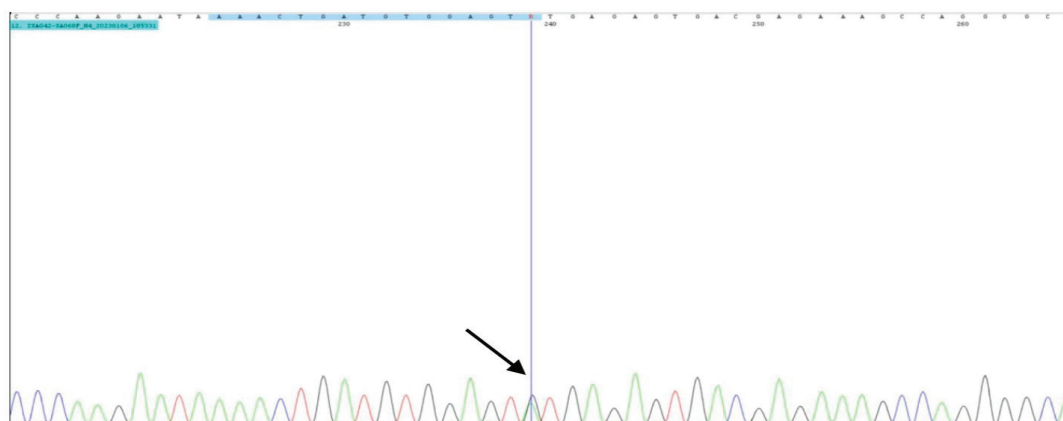
Kết quả giải trình tự Sanger mẫu DNA từ máu ngoại vi của người bố và người mẹ đều cho kết quả dị hợp tử biến thể c.707A>G trên

gen *ALPL*, của thai phát hiện đồng hợp tử biến thể c.707A>G trên gen *ALPL* (Hình 4, 5, 6).



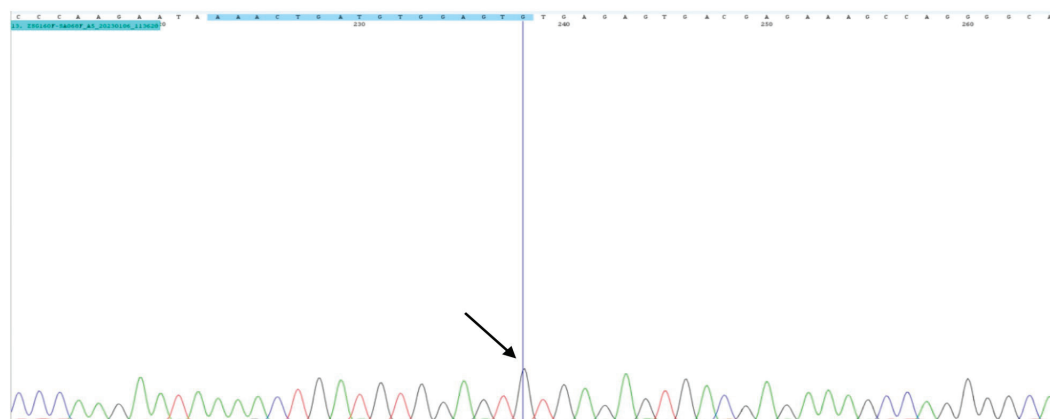
Hình 4. Kết quả Sanger ở mẫu người mẹ

Mũi tên chỉ vị trí biến thể gen được khảo sát: Dị hợp tử biến thể: c.707A>G trên gen *ALPL*.



Hình 5. Kết quả Sanger ở mẫu người bố

Mũi tên chỉ vị trí biến thể gen được khảo sát: Dị hợp tử biến thể: c.707A>G trên gen *ALPL*.



Hình 6. Kết quả Sanger ở mẫu thai

Mũi tên chỉ vị trí biến thể gen được khảo sát: Đồng hợp tử biến thể: c.707A>G trên gen *ALPL*.

III. BÀN LUẬN

HPP được phân loại theo thời điểm biểu hiện bệnh và mức độ nặng của bệnh: thể trước sinh/chu sinh, sơ sinh, trẻ nhỏ, người lớn và một thể chỉ ảnh hưởng đến răng. Các dạng nặng (trước sinh và sơ sinh) được di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường trong khi các dạng nhẹ hơn có thể được di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường hoặc di truyền trội. Tư vấn di truyền rất phức tạp do sự cùng tồn tại của hai phương thức di truyền, tính thấm của di truyền trội, biểu hiện bệnh thay đổi rõ rệt, bao gồm cả biểu hiện trong gia đình, và sự tồn tại của thể lành tính trước khi sinh, đôi khi có thể khó phân biệt với thể nặng trước khi sinh. HPP thể trước sinh nghiêm trọng có kiểu di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường với 25% khả năng tái mắc ở lần mang thai tiếp theo.⁸

Chúng tôi trình bày một trường hợp HPP ở thai nhi được chẩn đoán ở tuần thai thứ 17. Đánh giá siêu âm cho thấy thai nhi có xương tứ chi ngắn và biến dạng, giảm mật độ xương sọ và xương cột sống (Hình 2). Sau khi HPP được chẩn đoán lâm sàng và có kết quả xét nghiệm di truyền, cặp vợ chồng này đã lựa chọn chấm dứt thai kì. Xét nghiệm phân tử bằng cách sử dụng giải trình tự thế hệ mới cho thấy thai nhi có đồng hợp tử biến thể c.707A>G trên gen *ALPL*. Hiện tại trên y văn đã ghi nhận hai trường hợp HPP liên quan đến biến thể c.707A>G ở dạng dị hợp tử phức, đều ở thể trước sinh nghiêm trọng. Trường hợp thứ nhất kết hợp với biến thể c.649_650insC, thai 17 tuần 6 ngày có kết quả siêu âm: ngắn xương tứ chi; cánh tay cong; tư thế tay chân bất động và vẹo; mật độ xương sọ giảm. Kết quả xét nghiệm của cặp vợ chồng này cho thấy nồng độ phosphatase kiềm giảm. Trường hợp thứ hai kết hợp với biến thể c.98C>T, thai 22 tuần có kết quả siêu âm: xương đùi và xương cánh tay ngắn, cong; các đốt sống bị cốt hóa bất thường;

giảm mật độ xương sọ và xương cột sống; đa ối. Kết quả các xét nghiệm sinh hóa của thai phụ bình thường.⁴ Trong ca lâm sàng của chúng tôi, biến thể c.707A>G có nguồn gốc từ bố, mẹ là người mang gen dị hợp tử, không ghi nhận kết hôn cận huyết. Bố, mẹ có xét nghiệm ALP máu giảm và men răng xấu.

Các trường hợp ngắn chi nặng thường được nghĩ đến di truyền trội do đột biến mới phát sinh (như do gen *FGFR3*, *COL1A1/2*, *SOX9*...). Chính vì vậy, các thai phụ, gia đình trước đây thường được tư vấn chấm dứt thai kì do kiểu hình nặng trên siêu âm và không thực hiện chẩn đoán nguyên nhân vì được cho rằng nguy cơ tái mắc ở lần mang thai sau là rất thấp (ước tính khoảng 1%). Trường hợp này cho thấy tầm quan trọng của xét nghiệm di truyền phân tử trong chẩn đoán trước sinh cho các trường hợp có bất thường hệ xương nhằm xác định các cơ chế di truyền lặn có thể gặp và tư vấn nguy cơ tái mắc cao (25%) ở mỗi lần mang thai. Từ đó, tư vấn thực hiện chẩn đoán trước sinh bằng sinh thiết gai rau, chọc hút dịch ối hoặc chẩn đoán trước chuyển phôi PGT-M (preimplantation genetic testing for monogenetic gene disorders) cho các lần mang thai sau.

IV. KẾT LUẬN

Thai nhi có bất thường hệ xương do nguyên nhân di truyền lặn cần được lưu ý, trong đó có thể gặp do gen *ALPL* gây bệnh giảm phosphat máu. HPP bẩm sinh là một chứng loạn sản xương gây tử vong hiếm gặp và không có phương pháp điều trị. Việc xác định nguyên nhân di truyền ở thai nhi dựa trên thông tin lâm sàng (siêu âm thai, lâm sàng và xét nghiệm cận lặn sàng của bố mẹ) cũng như phân tích tình trạng mang gen của bố mẹ giúp đánh giá rõ về nguy cơ tái mắc ở lần mang thai sau, từ đó tư vấn các phương pháp chẩn đoán trước sinh phù hợp cho thai phụ và gia đình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mornet E, Taillandier A, Domingues C, et al. Hypophosphatasia: a genetic-based nosology and new insights in genotype-phenotype correlation. *Eur J Hum Genet.* 2021;29(2):289-299. doi:10.1038/s41431-020-00732-6
2. Nunes ME. Hypophosphatasia. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed September 7, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1150/>
3. Xiao F, Zhou Z, Song X, et al. Dissecting mutational allosteric effects in alkaline phosphatases associated with different Hypophosphatasia phenotypes: An integrative computational investigation. *PLoS Comput Biol.* 2022;18(3):e1010009. doi:10.1371/journal.pcbi.1010009
4. Zhang Q, Qin Z, Yi S, et al. Case Report: Variations in the ALPL Gene in Chinese Patients With Hypophosphatasia. *Front Genet.* 2021;12:732621. doi:10.3389/fgene.2021.732621
5. Kong CW, To WWK. Use of Next-generation Sequencing for Prenatal Diagnosis of Hypophosphatasia. *Hong Kong J Gynaecol Obstet Midwifery.* 2017;17(2). doi:10.12809/hkjgom.17.2.232
6. Akbar AZ. Ultrasound Diagnosis of Perinatal Lethal Hypophosphatasia, Confirmed with Targeted Next Generation Sequencing and Identification of a Novel Mutation in ALPL Gene. *J Radiol Clin Imaging.* 2019;2(1):1-6.
7. Vo S t, Nguyen M b, Bui H h, et al. EP25.04: First trimester prenatal diagnosis of hypophosphatasia using ultrasound imaging and exome sequencing. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;60(S1):196-196. doi:10.1002/uog.25593
8. Mornet E. Genetics of hypophosphatasia. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr.* 2017;24(5S2):5S51-55S56. doi:10.1016/S0929-693X(18)30014-9
9. Guguloth A, Aswani Y, Anandpara KM. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia congenita using ultrasonography. *Ultrasonography.* 2016;35(1):83-86. doi:10.14366/usg.15008

Summary

CASE REPORT: PRENATAL DIAGNOSIS OF ALPL GENE MUTATIONS CAUSING HYPOPHOSPHATASIA IN A FETUS WITH SKELETAL ABNORMALITIES

Hypophosphatasia caused by pathogenic mutations in the *ALPL* gene is a rare disease; only a few cases have been genetically diagnosed prenatally with skeletal abnormalities. Our study describes a 26-year-old woman's first pregnancy. Ultrasound at 17 weeks of pregnancy found small and angulated long bones, reduced bone density, and crooked feet. Amniotic samples are tested using exome sequencing (ES), and parental blood samples are tested using Sanger sequencing. The results revealed a likely pathogenic homozygous variant in the *ALPL*

gene:c.707A>G (NM_000478.6) in the fetus. Both parents are heterozygous carriers of this variation and have a mild form of Hypophosphatasia. Fetuses with skeletal deformities should be concerned about recessively inherited hypophosphatasia related to the *ALPL* gene. We recommend to assess the genetic profile of the fetus with skeletal defects as well as the parent's genetic status to pinpoint the root cause of the defects. Allows for a clear assessment of the recurrence risk in the future pregnancy, advising the family on appropriate prenatal diagnostic procedures.

Keywords: Hypophosphatasia, *ALPL* gene, recessive genetics, skeletal abnormalities, prenatal diagnosis.