

KHẢO SÁT TÍNH SINH BỆNH CỦA BIẾN THỂ GEN *PKD1* TRONG BỆNH THẬN ĐA NANG DI TRUYỀN TRỘI NHIỄM SẮC THỂ THƯỜNG

Nguyễn Thị An Thùy¹, Trần Văn Khánh¹, Đỗ Gia Tuyền¹
Vũ Thị Hà¹ và Nghiêm Trung Dũng^{1,2,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Bạch Mai

Bệnh thận đa nang di truyền gen trội nhiễm sắc thể thường (ADPKD) là bệnh thận di truyền hay gặp nhất với nguyên nhân gây bệnh chủ yếu là những biến thể trên gen *PKD1*. Tuy nhiên, việc phân loại của các biến thể và mối liên quan giữa kiểu gen - kiểu hình của người bệnh ADPKD chưa thật sự rõ ràng. Chúng tôi sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ vùng gen mã hóa (Whole exon sequencing - WES) để xác định các biến thể trên gen *PKD1* ở 7 người bệnh mắc bệnh thận đa nang, đồng thời đánh giá khả năng gây bệnh của biến thể theo cơ sở dữ liệu di truyền và các phần mềm dự đoán *in-silico*. Kết quả phát hiện được 12 biến thể trên gen *PKD1*, trong đó 8/12 biến thể (chiếm 66,7%) là loại gây bệnh, 3 biến thể (chiếm 25%) là loại lành tính, 1 biến thể (chiếm 8,3%) không có dữ liệu trên công cụ *in-silico*. Dữ liệu về các biến thể của gen *PKD1* trong nghiên cứu của chúng tôi có ý nghĩa góp phần vào cơ sở dữ liệu chung trong bệnh thận đa nang di truyền. Tuy nhiên, cần thêm các nghiên cứu với số lượng người bệnh lớn hơn để khẳng định tính sinh bệnh của các biến thể chưa được báo cáo hoặc chưa rõ chức năng.

Từ khóa: Bệnh thận đa nang di truyền trội nhiễm sắc thể thường, biến thể gen *PKD1*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận đa nang di truyền gen trội nhiễm sắc thể thường (ADPKD) là bệnh thận di truyền hay gặp nhất. Bệnh có đặc trưng bởi sự xuất hiện các nang thận ở cả hai bên thận và tiến triển theo thời gian, về lâu dài các nang thận tăng dần cả về số lượng và kích thước sẽ dẫn đến một loạt các biến chứng, quan trọng nhất là gây suy giảm chức năng thận và dẫn đến bệnh thận giai đoạn cuối, với tỉ lệ người bệnh suy thận giai đoạn cuối do thận đa nang chiếm khoảng 5% số người bệnh lọc máu chu kỳ.¹⁽² Bệnh ADPKD cho đến nay đã phát hiện được ít

nhất 6 gen gây bệnh với hơn 2000 biến thể khác nhau được xác định. Ba gen gây bệnh phổ biến nhất bao gồm: *PKD1* (mã hóa cho polycystin-1) nằm trên nhiễm sắc thể số 16, *PKD2* (mã hóa cho polycystin-2) nằm trên nhiễm sắc thể số 4 và gen *GANAB* nằm trên nhiễm sắc thể số 11.² Trong đó, biến thể của gen *PKD1* là những biến thể hay gặp nhất gây bệnh, với 75 - 85% các trường hợp ADPKD được xác định do biến thể tại gen này.³ Tuy nhiên, cơ chế hoạt động của tất cả các biến thể đều chưa được làm rõ. Đồng thời, mối liên quan giữa kiểu gen và sự đa dạng trong kiểu hình của người bệnh ADPKD chưa thật sự rõ ràng, một số nghiên cứu đã cho thấy người bệnh mang biến thể làm ngắn chuỗi acid amin, biến thể lệch khung tại *PKD1* có xu hướng gây bệnh nặng hơn.⁴ Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài "Khảo sát tính sinh bệnh của

Tác giả liên hệ: Nghiêm Trung Dũng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: ngiemtrungdung@gmail.com

Ngày nhận: 19/07/2024

Ngày được chấp nhận: 01/08/2024

biến thể gen *PKD1* trong bệnh thận đa nang di truyền trội nhiễm sắc thể thường”, nhằm cung cấp thêm một số thông tin về tính di truyền của loại biến thể gen này, góp phần làm sáng tỏ mối liên hệ giữa kiểu gen và kiểu hình cho người bệnh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Người bệnh đến khám và điều trị nội trú tại Trung tâm Thận tiết niệu và lọc máu - Bệnh viện Bạch Mai, được chẩn đoán xác định bệnh thận đa nang theo tiêu chuẩn KDIGO 2015, đồng ý và ký giấy chấp thuận tham gia nghiên cứu.³ Loại trừ những người bệnh không đồng ý tham gia nghiên cứu và không thỏa mãn tiêu chuẩn siêu âm theo độ tuổi.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: mô tả loạt ca bệnh.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành từ 01/01/2024 đến 31/05/2024. Mẫu nghiên cứu được lấy tại Trung tâm Thận tiết niệu và lọc máu - Bệnh viện Bạch Mai. Xét nghiệm giải trình tự gen được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện, thu mẫu toàn bộ.

Các bước tiến hành nghiên cứu: Giải thích để người bệnh trong tiêu chuẩn lựa chọn hiểu và ký phiếu chấp thuận tham gia nghiên cứu. Thu thập 4mL máu tĩnh mạch để giải trình tự toàn bộ vùng gen mã hóa (Whole exon sequencing - WES) bằng máy giải trình tự thế hệ mới sử dụng bộ kit NexSeq 500TM High Output kit (bộ 150 cycles) của hãng Illumina

theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đánh giá khả năng gây bệnh của biến thể theo cơ sở dữ liệu OMIM, ACMG 2015 (American Society of Medical Genetic and Genomics), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) và bằng các phần mềm dự đoán chức năng protein in-silico, gồm: BayesDeladdAF và MetaSVM, Mutation Assessor (<http://mutationassessor.org/r3/>), Mutation Taster (<https://www.mutationtaster.org/>), FATHMM-XF (<http://fathmm.biocompute.org.uk/>). Tính sinh bệnh của biến thể được phân loại theo phân loại ACMG 2015, gồm các loại⁵: gây bệnh, có thể gây bệnh, lành tính/trung tính, chưa xác định.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội (số 1003/GCN- HMUIRB, ngày 04 tháng 01 năm 2024).

III. KẾT QUẢ

Trong thời gian tiến hành, nghiên cứu đã thu thập được 7 người bệnh thỏa mãn tiêu chuẩn chọn mẫu và được giải trình tự toàn bộ vùng gen mã hóa (WES) tập trung vào các gen gây bệnh theo cơ sở dữ liệu OMIM, đã xác định được 12 biến thể trên gen *PKD1*. Tất cả các biến thể này đều ở trạng thái dị hợp tử và kiểu di truyền là di truyền trội nhiễm sắc thể thường, với 6/12 biến thể (chiếm 50%) có vị trí trên Exon 15, 1/12 biến thể ở Exon 23. Các biến thể trên gen *PKD1* phát hiện trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Các biến thể trên gen *PKD1* trong nghiên cứu

BN số	STT	Vị trí trên gen <i>PKD1</i>	Thay đổi Nucleotide	Thay đổi Protein	Kiểu gen	Kiểu di truyền
5	1	Exon 15	c.6487C>T	Arg2163Ter	Het	AD

BN số	STT	Vị trí trên gen <i>PKD1</i>	Thay đổi Nucleotide	Thay đổi Protein	Kiểu gen	Kiểu di truyền
8	2	Exon 23	c.8311G>A	Glu2771Lys	Het	AD
9	3	Exon 44	c.12031C>T	Gln4011Ter	Het	AD
24	4	Exon 26	c.9395C>T	Ser3132Leu	Het	AD
	5	Exon 15	c.5524C>A	Pro1842Thr	Het	AD
	6	Exon 27	c.9506G>A	Arg3169Gln	Het	AD
28	7	Exon 15	c.4957C>T	Gln1653Ter	Het	AD
	8	Exon 40	c.11292C>A	Gly3764Gly	Het	AD
29	9	Exon 15	c.4478G>C	Gly1493Ala	Het	AD
	10	Exon 15	c.4673C>T	Thr1558Met	Het	AD
31	11	Exon 15	c.4387C>T	Gln1463Ter	Het	AD
	12	Exon 2	c.242C>T	Ala81Val	Het	AD

Het (heterozygous mutation): biến thể dị hợp tử

AD (autosomal dominant inheritance): di truyền trội nhiễm sắc thể thường.

Về đặc điểm của các biến thể trong nghiên cứu cho thấy 100% các biến thể đều có cơ chế là thay thế 1 nucleotit này bằng 1 nucleotit khác, gồm chủ yếu là loại đột biến sai nghĩa, chiếm

58,4% và đột biến vô nghĩa chiếm 33,3%; có 1/12 đột biến thuộc loại đồng nghĩa (chiếm 8,3%). Đặc điểm của biến thể gen *PKD1* được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm đột biến trên gen *PKD1* trong nghiên cứu

Đặc điểm đột biến gen <i>PKD1</i>	Số lượng	Tỷ lệ
<i>Cơ chế đột biến</i>	(n = 12)	(100%)
Thay thế 1 nucleotit	12	100
<i>Loại đột biến</i>	(n = 12)	(100%)
Sai nghĩa	7	58,4
Vô nghĩa	4	33,3
Đồng nghĩa	1	8,3

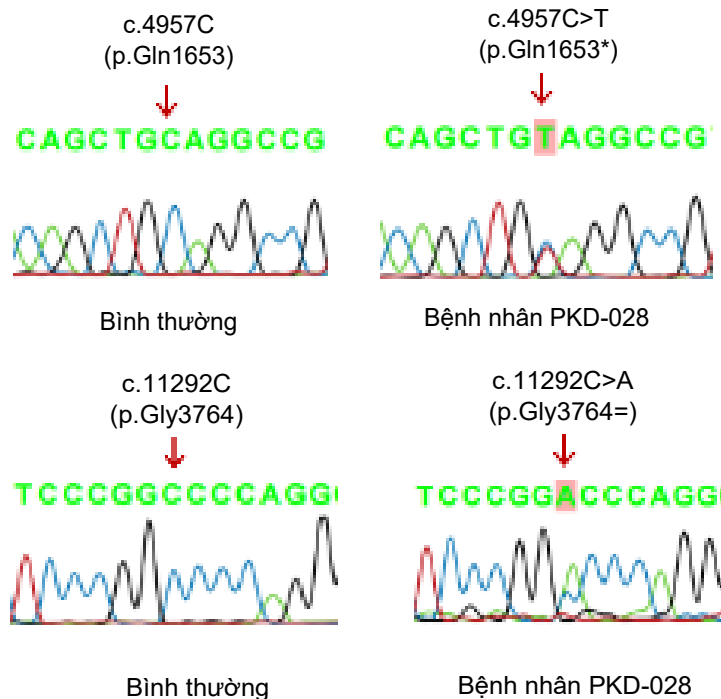
Kết quả giải trình tự Sanger biến thể c.4957C>T ở Exon 15 gen *PKD1*: Hình ảnh trình tự nucleotit vị trí 4957 trên Exon 15 gen *PKD1*: ở người bình thường là cytosine (C) bị thay thế bởi thymine (T) ở người bệnh thận đa nang di truyền trội nhiễm sắc thể thường, làm axit amin ở vị trí 1653 là glutamine (Gln) bị biến

đổi thành mã kết thúc (Ter), tạo thành biến thể c.4957C>T (Gln653Ter).

Kết quả giải trình tự Sanger biến thể c.11292C>A ở Exon 40 gen *PKD1*: Hình ảnh trình tự nucleotit vị trí 11292 trên Exon 40 gen *PKD1*: ở người bình thường là cytosine (C) bị thay thế bởi adenine (A) ở người bệnh thận đa

ngang di truyền trội nhiễm sắc thể thường, làm axit amin ở vị trí 3764 là glycine (Gly) bị biến

đổi, nhưng vẫn mã hóa thành glycine (Gly), tạo thành biến thể c.11292C>A (Gly3764Gly).



Hình 1. Hình ảnh giải trình tự Sanger một số biến thể trên gen *PKD1*

Để khảo sát đồng bộ về ý nghĩa của 12 biến thể, nghiên cứu đã tiến hành đánh giá khả năng gây bệnh của các biến thể theo cơ sở dữ

liệu OMIM, ClinVar, dsSNP (database Single Nucleotide Polymorphism) và ACMG, kết quả được mô tả trong bảng 3.

Bảng 3. Tính sinh bệnh của các biến thể trên gen *PKD1* theo cơ sở dữ liệu

BN số	STT	Thay đổi Protein	OMIM	ClinVar	dbSNP	ACMG
5	1	p.Arg2163Ter	PKD1	P	rs1555454411	P
8	2	p.Glu2771Lys	PKD1	P	rs1057518897	P
9	3	p.Gln4011Ter	PKD1	P	rs1555444985	P
	4	p.Ser3132Leu	PKD1	VUS	rs2092119222	VUS
24	5	p.Pro1842Thr	PKD1	NA	rs1450999462	VUS
	6	p.Arg3169Gln	PKD1	LP	rs375378535	VUS
28	7	p.Gln1653Ter	PKD1	P	rs1596557065	P
	8	p.Gly3764Gly	PKD1	LB	rs553713361	VUS
29	9	p.Gly1493Ala	PKD1	NA	rs2092479025	VUS
	10	p.Thr1558Met	PKD1	NA	rs774238210	VUS

BN số	STT	Thay đổi Protein	OMIM	ClinVar	dbSNP	ACMG
31	11	p.Gln1463Ter	PKD1	P	rs1183899324	P
	12	p.Ala81Val	PKD1	LB	rs531570028	VUS

P (Pathogenic): biến thể gây bệnh

LP (Likely pathogenic): có thể gây bệnh

VUS (Variant of Uncertain Significance)/U: chưa rõ tác hại trên lâm sàng (chưa xác định)

LB (Likely benign): có thể lành tính/trung tính

B (Benign): biến thể lành tính/trung tính

NA (not available): không có thông tin

Kết quả cho thấy toàn bộ 12 biến thể của 7 người bệnh trong nghiên cứu đều đã được công bố trên cơ sở dữ liệu OMIM và ngân hàng dữ liệu dbSNP. Theo ClinVar, số biến thể được báo cáo trên gen *PKD1* bao gồm: 6/12 biến thể (chiếm 50%) gây bệnh/có thể gây bệnh; 6/12 biến thể (chiếm 50%) thuộc nhóm chưa xác định/ có thể lành tính/ không có thông tin trên ClinVar. Theo phân loại ACMG, có 5/12 biến thể thuộc loại gây bệnh (chiếm 41,7%) tương ứng với 5/7 người bệnh, còn lại 7/12 biến thể thuộc loại chưa xác định (chiếm 58,3%). Theo các cơ sở dữ liệu di truyền trên, có 1/7 người

bệnh (số 29) mang 02 biến thể VUS. Hai biến thể VUS này đã được tính điểm trên hệ thống công cụ dự đoán *in-silico*, kết quả cho thấy biến thể p.Gly1493Ala có điểm là 5P/0B và biến thể p.Thr1558Met có điểm là 1P/0B. Các biến thể trong nghiên cứu tiếp tục được xem xét và khẳng định tính sinh bệnh bằng công cụ dự đoán *in-silico*. Kết quả cho thấy: có 8/12 biến thể (chiếm 66,7%) là loại gây bệnh, tương ứng 7/7 người bệnh nghiên cứu, 3/12 biến thể (chiếm 25%) là loại lành tính. Có 01 biến thể (chiếm 8,3%) trong nghiên cứu không có dữ liệu trên công cụ *in-silico*.

Bảng 4. Tính sinh bệnh của các biến thể trên gen *PKD1* theo công cụ dự đoán *in-silico*

BN số	TT	Thay đổi Protein	Các công cụ dự đoán tính sinh bệnh <i>in-silico</i> (kết luận về ý nghĩa; điểm nguy cơ dự đoán)					Tổng
			BayesDel addAF	Meta RNN	Mutation Assessor	Mutation Taster	FATHMM-XF	
5	1	p.Arg2163Ter	P (0,625)	NA (-)	NA (-)	U (1,1)	B (0,1191)	P
8	2	p.Glu2771Lys	P (0,258)	P (0,95)	U (2,85)	U (0,999)	P (0,898)	P
24	3	p.Gln4011Ter	P (0,625)	NA (-)	NA (-)	U (1,1)	B (0,2356)	P
	4	p.Ser3132Leu	P (0,2621)	P (0,896)	U (2,53)	U (0,9999)	P (0,933)	P
29	5	p.Pro1842Thr	U (0,007)	P (0,863)	U (2,625)	B (0,8463)	B (0,3711)	P
	6	p.Arg3169Gln	B (-0,422)	B (0,013)	B (-1,675)	B (0,9998)	B (0,066)	B
28	7	p.Gln1653Ter	P (0,625)	NA (-)	NA (-)	U (1,1)	B (0,3035)	P
29	8	p.Gly1493Ala	U (0,1337)	P (0,981)	U (2,805)	B (0,9988)	B (0,5354)	P
	9	p.Thr1558Met	B (-0,142)	U (0,532)	U (2,015)	B (0,8993)	U (0,5666)	B

BN số	TT	Thay đổi Protein	Các công cụ dự đoán tính sinh bệnh in-silico (kết luận về ý nghĩa; điểm nguy cơ dự đoán)					Tổng
			BayesDel addAF	Meta RNN	Mutation Assessor	Mutation Taster	FATHMM-XF	
31	10	p.Gln1463Ter	P (0,625)	NA (-)	NA (-)	U (1,1)	B (0,1205)	P
	11	p.Ala81Val	B (-0,587)	B (0,034)	B (0,725)	U (1,1)	B (0,1071)	B

Như vậy tất cả người bệnh trong nghiên cứu đều mang biến thể gây bệnh. Kiểu hình của 7 trường hợp này được liệt kê trong bảng 5, trong đó: 6/7 người bệnh có tiền sử gia đình có người mắc bệnh thận đa nang; 5/7 người bệnh phát hiện thận đa nang lúc trên 30 tuổi; 100% người

bệnh có THA và đã tiến đến suy thận mạn (2/7 người bệnh đã phải LMCK, 5/7 người bệnh đang điều trị bảo tồn suy thận mạn); 3/7 người bệnh đã từng chảy máu trong nang, nhiễm trùng trong nang thận.

Bảng 5. Đặc điểm kiểu hình của các biến thể gây bệnh trên gen PKD1

STT	BN số	Giới	Tuổi	Tên/loại biến thể gây bệnh	Đặc điểm kiểu hình bệnh/tiền sử bệnh
1	5	Nữ	65	p.Arg2163Ter/ Vô nghĩa	Tiền sử (TS) chị gái, con gái bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang lúc 48 tuổi, suy thận năm 56 tuổi, chảy máu nang thận, cắt thận phải 62 tuổi. Hiện đang LMCK 8 năm.
2	8	Nữ	40	p.Glu2771Lys/ Sai nghĩa	TS mẹ, bác ruột bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang lúc 20 tuổi, THA lúc 28 tuổi, suy thận, nhiễm trùng nang thận lúc 39 tuổi. Hiện suy thận mạn do thận đa nang đang điều trị bảo tồn.
3	9	Nữ	53	p.Gln4011Ter/ Vô nghĩa	TS con gái, con trai bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang có suy thận - THA năm 37 tuổi. Hiện suy thận mạn do thận đa nang đang điều trị bảo tồn.
4	24	Nam	43	p.Ser3132Leu/ Sai nghĩa p.Pro1842Thr/ Sai nghĩa	TS bố, anh trai, 2 con trai bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang năm 15 tuổi. Phát hiện THA - suy thận do thận đa nang năm 38 tuổi. Hiện suy thận điều trị bảo tồn.
5	28	Nam	35	p.Gln1653Ter/ Vô nghĩa	TS gia đình không có ai bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang - THA năm 30 tuổi. Bắt đầu suy thận năm 34 tuổi. Hiện suy thận mạn do thận đa nang đang điều trị bảo tồn.

STT	BN số	Giới	Tuổi	Tên/loại biến thể gây bệnh	Đặc điểm kiểu hình bệnh/tiền sử bệnh
6	29	Nam	79	p.Gly1493Ala/ Sai nghĩa	TS con gái bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang năm 50 tuổi. THA lúc 65 tuổi, suy thận năm 76 tuổi. Hiện suy thận mạn đang điều trị bảo tồn.
7	31	Nữ	73	p.Gln1463Ter/ Vô nghĩa	TS mẹ, 2 em trai, 1 em gái, con trai bị thận đa nang. Phát hiện thận đa nang có suy thận lúc 42 tuổi, từng bị chảy máu, nhiễm trùng trong nang, THA. Hiện LMCK được 7 năm.

IV. BÀN LUẬN

ADPKD là bệnh lý thận di truyền gặp phổ biến ở người trưởng thành chủ yếu do biến thể trên gen *PKD1* gây ra, chiếm đến 85% trường hợp. Tuy nhiên, gen *PKD1* có cấu trúc rất phức tạp do gen *PKD1* là một gen lớn, chuỗi mRNA phiên mã từ gen *PKD1* có độ dài ~14,5kb với 46 exon, thêm vào đó có đến 6 vùng gen giả tại vùng 5' từ exon 1 đến exon 33.⁶ Do đó, việc phân tích các biến thể gen *PKD1* ở những người bệnh ADPKD thường gặp khó khăn. Trong thời gian tiến hành, nghiên cứu đã thu thập được 7 người bệnh thỏa mãn tiêu chuẩn chọn mẫu và được giải trình tự toàn bộ vùng gen mã hóa (WES) tập trung vào các gen gây bệnh theo cơ sở dữ liệu OMIM, đã xác định được 12 biến thể trên gen *PKD1*. Tất cả các biến thể này đều ở trạng thái dị hợp tử và kiểu di truyền trội nhiễm sắc thể thường, trong đó có đến 6/12 biến thể (chiếm 50%) có vị trí biến thể tại exon 15. Exon 15 cùng với các exon 5, 13, 14 đã được chứng minh đóng vai trò quan trọng trong vùng mã hóa của gen *PKD1* cho vùng hình cầu của protein Polycystin-1 (PC1) là vùng biểu lộ cấu trúc và chức năng của PC1 trong việc tương tác với các protein khác. Bên cạnh đó, exon 23 góp phần trong sản xuất phần đuôi tế bào chất đầu C của PC1, một vùng cơ bản cho tương tác giữa protein PC1 và PC2.⁷ Những nghiên cứu gần đây cho thấy loại biến

thể là quan trọng hơn cả vì những người bệnh với biến thể cắt đoạn đã chỉ ra kiểu hình bệnh tật nặng nề hơn so với biến thể không cắt đoạn. Biến thể cắt đoạn bao gồm các loại như biến thể lệch khung dịch mã, biến thể vô nghĩa, biến thể cắt nối intron; biến thể không cắt đoạn bao gồm biến thể sai nghĩa và biến thể xóa hoặc chèn trong khung.⁸ Khi xem xét về đặc điểm của các biến thể trong nghiên cứu (Bảng 2) cho thấy 100% các biến thể đều có cơ chế là thay thế 1 nucleotit này bằng 1 nucleotit khác, gồm chủ yếu là loại biến thể sai nghĩa (chiếm 58,4%) và biến thể vô nghĩa (chiếm 33,3%); có 1/12 biến thể thuộc loại đồng nghĩa (chiếm 8,3%). Nghiên cứu của tác giả Emilie Cornec và cs đã chỉ ra ảnh hưởng của loại biến thể trên gen *PKD1* lên kiểu hình thận, cụ thể trong đó người bệnh mang biến thể cắt đoạn có tốc độ tiến triển đến ESRD nhanh hơn trung bình là 12 năm và nguy cơ tiến triển đến ESRD cao gấp 2,74 lần so với người bệnh mang biến thể không cắt đoạn.⁸ Trong nghiên cứu của chúng tôi kết quả từ bảng 5 cũng cho thấy 2 người bệnh đã phải lọc máu chu kỳ cũng thuộc loại biến thể vô nghĩa.

Cho đến nay, ngày càng có nhiều phân tích gen được thực hiện trên những người bệnh ADPKD ở nhiều quốc gia khác nhau, do đó ngày càng có nhiều loại biến thể gây ADPKD

đã được biểu lộ và vị trí của mỗi loại biến thể đã cho thấy mức độ nghiêm trọng của bệnh. Kết quả từ bảng 3 cho thấy toàn bộ 12 biến thể của 7 người bệnh trong nghiên cứu đều đã được công bố trên cơ sở dữ liệu OMIM và ngân hàng dữ liệu dbSNP. Theo ClinVar, số biến thể gen *PKD1* phát hiện được theo từng nhóm tính chất là gây bệnh/có thể gây bệnh: 6/12 biến thể (chiếm 50%). Theo phân loại ACMG, có 5/12 biến thể thuộc loại gây bệnh (chiếm 41,7%) tương ứng với 5/7 người bệnh. Mặc dù vậy, các kiểu hình bệnh lý (người bệnh số 24 và 29) vẫn hiện diện ở trường hợp mang các biến thể chưa được xác định tính sinh bệnh này. Các biến thể này (ở người bệnh số 24 và 29) tiếp tục được xem xét và khẳng định tính sinh bệnh bằng các công cụ dự đoán trên phần mềm *in-silico* (Bảng 4). Người bệnh số 29 có kiểu hình gây bệnh rõ ràng (Bảng 5) nhưng mang 02 biến thể VUS, đã được tính điểm trên hệ thống công cụ dự đoán *in-silico*, kết quả cho thấy biến thể p.Gly1493Ala có điểm là 5P/0B và biến thể p.Thr1558Met có điểm là 1P/0B. Nghiên cứu của Shewata và cs trên 125 người bệnh cũng cho thấy biến thể gây bệnh chiếm 84% (105/125 người bệnh), trong đó 94,3% là biến thể trên gen *PKD1*.⁹ Các quan sát này càng củng cố tính chất di truyền vô cùng phức tạp của các biến thể trên gen *PKD1* trong bệnh ADPKD. Khi xem xét tính sinh bệnh của các biến thể theo các công cụ dự đoán trên các phần mềm *in-silico* là các phần mềm sử dụng nhiều cơ sở dữ liệu di truyền làm nguồn tham khảo cho tất cả các trình tự và chú giải về đặc tính của protein, từ đó phân tích cấu trúc và dự đoán biến đổi chức năng protein từ biến thể. Kết quả từ bảng 4 cho thấy có 8/12 biến thể gây bệnh (chiếm 66,7%) tương ứng 7/7 người bệnh nghiên cứu, 3/12 biến thể (chiếm 25%) là loại lành tính. Có 01 biến thể trong nghiên cứu không có dữ liệu trên công cụ *in-silico*.

Trong số 7/7 người bệnh mang biến thể gây bệnh, có 3 người bệnh mang từ 2 - 3 biến thể/1 người bệnh. Tuy nhiên, mỗi người bệnh này chỉ có 1 - 2 biến thể chịu trách nhiệm gây bệnh chính, 1 biến thể còn lại được dự đoán là lành tính. Nghiên cứu của Meiling Jin và cs trên 148 người bệnh ADPKD tại Trung Quốc cũng cho thấy những người bệnh mang những biến thể gây bệnh hoặc mang nhiều hơn một biến thể sẽ biểu hiện kiểu hình bệnh nặng hơn.¹⁰ Chính những biến thể gây bệnh này gây ra rối loạn điều hòa sản xuất protetin sản phẩm của gen *PKD1* là Polycystin 1 (PC1) - một protein đóng vai trò quan trọng trong điều hòa mức độ kết dính giữa các tế bào và hoạt động của các vi nhung mao trên màng tế bào biểu mô ống thận, do đó nó đóng vai trò quan trọng duy trì kiểu hình biệt hóa của biểu mô ống thận. Suy giảm PC1 khiến tế bào không duy trì được cực tính, tăng tốc độ tăng sinh tế bào và chết theo chương trình. Trong quá trình tiến triển, tăng sinh tế bào dẫn đến làm giãn các ống thận. Các vùng ống thận giãn dần, tiết dịch và bị phân tách khỏi ống thận gốc dẫn đến hình thành các nang thận.^{11,12}

Như vậy, chúng tôi đã vận dụng nhiều hơn một phương thức hiện có nhằm để cố gắng dự đoán tính sinh bệnh của các biến thể phát hiện được. Kiểu hình bệnh lý của 8 biến thể gây bệnh (Bảng 5) cho thấy mặc dù mang biến thể gây bệnh, các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của người bệnh rất đa dạng và không có tính quy luật. Có người bệnh mang từ 2 - 3 biến thể nhưng chỉ có 1 biến thể gây bệnh, có người bệnh lại mang biến thể không xác định. Do đó, việc xác định chắc chắn tính sinh bệnh của các biến thể có vai trò vô cùng quan trọng trong thực hành lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát và xác định tính sinh bệnh cho 12 biến thể trên gen *PKD1* được

phát hiện ở người bệnh ADPKD bằng cách sử dụng các cơ sở dữ liệu di truyền và các phần mềm dự đoán chức năng protein. Kết quả cho thấy có 8/12 biến thể (chiếm 66,7%) là loại gây bệnh phù hợp với kiểu hình của người bệnh, đồng thời 7/7 người bệnh đều mang biến thể gây bệnh; có 3/12 biến thể (chiếm 25%) là loại lành tính. Có những bệnh nhân mang từ 2 - 3 biến thể khác nhau trên gen *PKD1*. Do đó, việc khẳng định tính sinh bệnh của các biến thể sẽ giúp ích cho người thầy thuốc trong việc khẳng định nguyên nhân gây bệnh và tư vấn di truyền cho người bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lanktree MB, Haghghi A, di Bari I, et al. Insights into Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease from Genetic Studies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2021;16(5):790-799.
2. Gabow PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med*. 1993;329(5):332-342.
3. Chapman AB, Devuyst O, Eckardt KU, et al. Autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): executive summary from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2015;88(1):17-27.
4. Kim DY, Park JH. Genetic Mechanisms of ADPKD. In: Park JH, Ahn C, eds. *Cystogenesis*. Vol 933. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer Singapore; 2016:13-22.
5. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424.
6. Cornec-Le Gall E, Torres VE, Harris PC. Genetic Complexity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Diseases. *JASN*. 2018;29(1):13-23.
7. Nigro E, Amicone M, D'Arco D, et al. Molecular Diagnosis and Identification of Novel Pathogenic Variants in a Large Cohort of Italian Patients Affected by Polycystic Kidney Diseases. *Genes*. 2023;14(6):1236.
8. Cornec-Le Gall E, Audrézet MP, Chen JM, et al. Type of *PKD1* mutation influences renal outcome in ADPKD. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(6):1006-1013.
9. Pandita S, Ramachandran V, Balakrishnan P, et al. Identification of *PKD1* and *PKD2* gene variants in a cohort of 125 Asian Indian patients of ADPKD. *J Hum Genet*. 2019;64(5):409-419.
10. Jin M, Xie Y, Chen Z, et al. System analysis of gene mutations and clinical phenotype in Chinese patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Sci Rep*. 2016;6:35945.
11. Hughes J, Ward CJ, Peral B, et al. The polycystic kidney disease 1 (*PKD1*) gene encodes a novel protein with multiple cell recognition domains. *Nat Genet*. 1995;10(2):151-160.
12. Nims N, Vassmer D, Maser RL. Transmembrane domain analysis of polycystin-1, the product of the polycystic kidney disease-1 (*PKD1*) gene: Evidence for 11 membrane-spanning domains. *Biochemistry*. 2003;42(44):13035-13048.

Summary

INVESTIGATION OF THE PATHOGENICITY OF *PKD1* GENE VARIANTS IN AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is the most common inherited kidney disorder and the main cause of the disease is variants in the *PKD1* gene. However, the classification of variants and the relationship between the genotype and phenotype of ADPKD patients is unclear. We used whole exon sequencing - WES to identify *PKD1* gene variants in 7 patients with polycystic kidney disease and assess the pathogenicity of variants according to the genetic databases and in-silico prediction software. The results detected 12 variants in the *PKD1* gene. Among them, 8/12 variants (66.7%) are pathogenic, 3/12 variants (25%) are benign, and 1 variant (8.3%) has no data on in-silico tools. The data on variants of the *PKD1* gene in our study are meaningful in contributing to the general database in hereditary polycystic kidney disease. However, further studies with more patients are needed to confirm the pathogenicity of variants that have not been reported or have unknown functions.

Keywords: Autosomal dominant polycystic kidney disease, *PKD1* gene variants.