

MỐI TƯƠNG QUAN KIỂU GEN - KIỂU HÌNH TRONG BỆNH PHENYLKETON NIỆU CỦA BIẾN THỂ GEN *PAH*:c.516G>T PHỔ BIẾN TẠI VIỆT NAM: BÁO CÁO BỐN CA BỆNH

Vũ Thị Huyền^{1,2}, Lương Thị Lan Anh^{1,2}, Đoàn Thị Kim Phượng^{1,2,3}
Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2,3}, Nguyễn Thị Trang^{1,2}, Lê Minh Châu¹, Phan Ngọc Anh¹
Tạ Thị Lan Anh¹, Nguyễn Thị Hào⁴, Nguyễn Thị Hoài⁵, Nguyễn Sơn Tùng⁵
Nguyễn Thị Lan Phương⁵, Vũ Đình Hùng⁶, Trần Thị Thu Hương⁶, Nguyễn Thị Duyên^{1,2},
Nguyễn Ngân Hà^{1,2}, Lê Thị Hạnh², Phạm Trường Giang¹ và Đào Thị Trang^{1,2,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Phụ sản Trung ương

⁴Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An

⁵Viện Di truyền Y học - TP.HCM, Gene Solutions Lab

⁶Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương

Biến thể c.516G>T (p.Gln172His) trên gen *PAH* là biến thể phổ biến nhất trên gen *PAH* được ghi nhận ở người Việt Nam (1,17%), tuy nhiên dữ liệu lâm sàng về ảnh hưởng kiểu hình của biến thể này còn hạn chế. Chúng tôi báo cáo bốn trường hợp mang biến thể này ở trạng thái dị hợp tử phức hoặc đồng hợp tử, được phát hiện thông qua sàng lọc người lành mang gen bệnh di truyền lặn phổ biến. Trong đó, hai trường hợp mang dị hợp tử phức giữa biến thể c.516G>T và các biến thể đã được phân loại gây bệnh, hai trường hợp còn lại mang đồng hợp tử c.516G>T. Các trường hợp này đều không có biểu hiện lâm sàng, với nồng độ phenylalanine trong máu nằm trong nhóm tăng nhẹ phenylalanine máu hoặc bình thường, không có trường hợp nào cần can thiệp chế độ ăn đặc biệt. Kết quả trên gợi ý rằng biến thể c.516G>T có thể liên quan đến tăng nhẹ phenylalanine/không triệu chứng, giúp định hướng chính xác hơn trong tư vấn di truyền trước sinh, hạn chế các can thiệp/chẩn đoán trước sinh quá mức và theo dõi sau sinh phù hợp.

Từ khóa: Phenylketon niệu, tăng nhẹ phenylalanine, c.516G>T, p.Gln172His, *PAH*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phenylketon niệu (PKU) là một bệnh lý chuyển hóa bẩm sinh do rối loạn chức năng enzyme phenylalanine hydroxylase (*PAH*), gây tích lũy phenylalanine trong máu và có thể dẫn đến tổn thương tâm - thần kinh nếu không được phát hiện và can thiệp sớm. Bệnh di truyền lặn

trên nhiễm sắc thể thường (gen *PAH* nằm trên nhiễm sắc thể thường số 12 - 12q23.2) và có biểu hiện lâm sàng rất đa dạng, từ thể cổ điển cần điều trị suốt đời đến thể tăng phenylalanine nhẹ không cần can thiệp.¹ Trên thế giới, tỉ lệ trẻ sơ sinh hiện mắc là 1/10.000 - 20.000. Theo nghiên cứu tại Việt Nam, tỷ lệ người lành mang gen *PAH* là 1/40, là một trong ba bệnh di truyền lặn có tỷ lệ mang gen cao nhất ở Việt Nam, bên cạnh thalassemia và bệnh thiếu hụt citrin.² Tính đến nay, đã có hơn 1500 biến thể gây bệnh trên

Tác giả liên hệ: Đào Thị Trang

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: trangdao@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 13/05/2025

Ngày được chấp nhận: 31/05/2025

gen *PAH* được ghi nhận.³ Bản chất của các biến thể *PAH* quyết định hoạt động của enzyme còn lại, điều này làm thay đổi kiểu hình lâm sàng ở bệnh PKU.⁴ Tính không đồng nhất về kiểu gen của PKU, bao gồm > 1000 biến thể *PAH* và hơn 2500 kiểu gen khác nhau, khiến việc dự đoán kiểu hình dựa trên kiểu gen trở nên khó khăn.⁵ Đánh giá ảnh hưởng của biến thể gen *PAH* có thể dựa vào mối liên quan tới kiểu hình chuyển hóa (định lượng Phenylalanine (Phe) máu), định lượng hoạt độ enzyme *PAH* và sử dụng mô hình/thuật toán dự đoán kiểu hình dựa trên kiểu gen trong bệnh PKU (APV: Allelic phenotype values: giá trị kiểu hình alen).⁴ Xác định dựa trên kiểu hình chuyển hóa đánh giá kiểu gen - kiểu hình, bao gồm định lượng Phe máu trên các ca bệnh được báo cáo y văn. Định lượng hoạt độ enzyme là phương pháp rất có giá trị, tuy nhiên *PAH* được biểu hiện chủ yếu ở gan, đồng thời đòi hỏi sự thiết lập hệ thống nuôi cấy *in vivo* được chuẩn hóa, khiến việc đo lường chính xác hoạt độ trở nên khó khăn và ít được áp dụng trên lâm sàng. Hiện nay theo dữ liệu trên BIOPKU (website: <https://www.biopku.org/>), có gần 150 biến thể được cung cấp APV và kiểu hình liên quan.³ Các giá trị này giúp hỗ trợ cung cấp thông tin quan trọng trong tư vấn di truyền cho các gia đình sinh con mắc bệnh PKU hoặc hai vợ chồng mang biến thể gây bệnh trên gen *PAH*.

Tại Việt Nam, nhờ sự triển khai ngày càng rộng rãi chương trình sàng lọc người lành mang gen bệnh di truyền lặn (đặc biệt là cho phụ nữ mang thai), các biến thể phổ biến dần được phát hiện, từ đó đặt ra vấn đề tư vấn di truyền trước sinh. Đối với bệnh PKU, biến thể c.516G>T (p.Gln172His) đã được ghi nhận là một biến thể gây bệnh trên gen *PAH* phổ biến nhất ở người Việt Nam với tần suất khoảng 1,17%.² Biến thể được phân loại “Có khả năng gây bệnh” (Likely Pathogenic) trên dữ liệu biến thể lâm sàng ClinVar của viện sức khỏe quốc gia Hoa Kỳ với

7 bản ghi (submission), trong đó có 1 bản ghi được ghi nhận trong kho lưu trữ bằng chứng Clingen, là cơ sở lưu trữ biến thể di truyền ở người được FDA công nhận, với phân loại “Có khả năng gây bệnh” (Likely Pathogenic).⁶ Các bản ghi đã ghi nhận c.516G>T trên gen *PAH* là biến thể có tần suất xuất hiện cao ở người Đông Á (0,055%), được phát hiện trên các cá thể mang kiểu hình của PKU cổ điển hoặc thể tăng phenylalanine với trạng thái dị hợp tử phức in-trans cùng các biến thể gây bệnh đã biết như: c.331C>T (p.Arg111Ter) và c.728G>A (p.R243Q).^{7,8} Tuy nhiên, dữ liệu kiểu hình chuyển hóa chưa đầy đủ và hiện chưa có APV của biến thể này.⁹ Thực tế đó cũng cho thấy sự thiếu hụt dữ liệu lâm sàng từ các nhóm quần thể chưa được đại diện đầy đủ, trong đó có người Việt Nam. Việc thiếu dữ liệu về tương quan kiểu gen kiểu hình của biến thể gây ra nhiều khó khăn trong tư vấn di truyền trước sinh như sự cần thiết của chọc ối chẩn đoán trước sinh, can thiệp sau sinh, khi người được sàng lọc phát hiện mang biến thể đó.

Trong bối cảnh đó, chúng tôi báo cáo 4 ca bệnh mang biến thể c.516G>T trên gen *PAH*, bao gồm các trường hợp mang trạng thái đồng hợp tử và dị hợp tử phức (in trans), với mục tiêu làm rõ mối tương quan kiểu gen - kiểu hình với biến thể này. Từ đó đóng góp thêm vào dữ liệu biến thể giúp hỗ trợ cho công tác tư vấn di truyền trước sinh và định hướng quản lý người bệnh trong thực hành lâm sàng tại Việt Nam.

II. GIỚI THIỆU CA BỆNH

Ca bệnh số 1:

Trẻ nữ, 4 tuổi (III.1 - Hình 1), được khám và tư vấn di truyền trong quá trình người mẹ đang mang thai con lần hai, thai 12 tuần. Tiền sử bản thân: Trẻ là con đầu của gia đình, quá trình mẹ mang thai không phát hiện bất thường. Trẻ sinh thường, đủ tháng, không ngạt, trẻ được sàng lọc sơ sinh và phát hiện nguy cơ cao

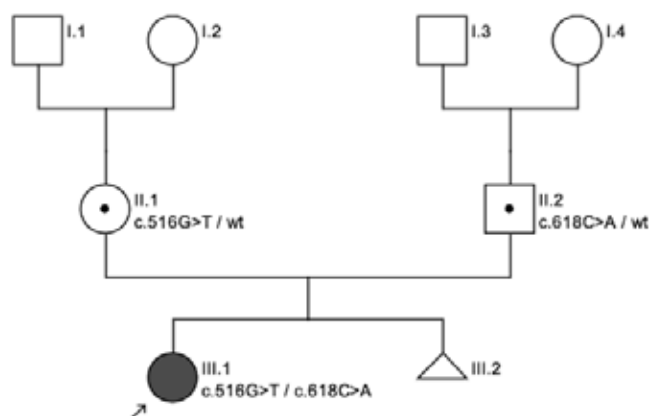
mắc bệnh PKU. Phân tích acid amin máu tại Bệnh viện Nhi Trung ương bằng phân tích sắc ký lỏng siêu cao áp (Ultra-Performance Liquid Chromatography - UPLC) (ngày 12/9/2023) cho kết quả: phenylalanin (Phe) và tyrosin (Tyr) với kết quả nồng độ các chất lần lượt là 152,62 $\mu\text{mol/L}$ (giá trị tham chiếu: 26 - 91 $\mu\text{mol/L}$) và 84,8 $\mu\text{mol/L}$ (giá trị tham chiếu: 40 - 120 $\mu\text{mol/L}$), các acid amin khác trong giới hạn bình thường. Khám lâm sàng chưa phát hiện bất thường: màu da, màu tóc bình thường, vòng đầu 49cm, thể chất và các mốc phát triển tâm thần - vận động của trẻ phù hợp theo lứa tuổi, trẻ hiện không có chế độ ăn đặc biệt. Do nồng độ Phe dưới ngưỡng điều trị 360 $\mu\text{mol/L}$ và trẻ không có biểu hiện lâm sàng, nên không chỉ định điều trị hay can thiệp chế độ ăn kiêng Phenylalanine. Trẻ được theo dõi định kỳ 12 tháng/lần. Hiện tại, sau 2 năm theo dõi, nồng độ Phenylalanine của trẻ dao động trong khoảng 79,2 - 152,62 $\mu\text{mol/L}$. Từ đánh giá lâm sàng và kết hợp kết quả xét nghiệm hóa sinh, trẻ được chẩn đoán mắc thể tăng nhẹ phenylalanin máu (MHPA) không triệu chứng.

Người mẹ (II.1 – Hình 1) của trẻ này trong quá trình mang thai lần hai, được thực hiện xét nghiệm sàng lọc lệch bội nhiễm sắc thể thai nhi bằng phương pháp phân tích DNA tự do (cfDNA/NIPT) kết hợp sàng lọc tình trạng mang gen 09 gen bệnh di truyền lặn phổ biến (*HBA1*, *HBA2* (Bệnh alpha thalassemia), *HBB* (Bệnh beta thalassemia), *GALT* (Bệnh thiếu hụt enzym galactose-1-phosphate uridylyltransferase), *PAH* (Bệnh phenylketon niệu), *G6PD* (Bệnh thiếu hụt enzym glucose-6-phosphate dehydrogenase), *SLC25A13*

(Bệnh thiếu hụt citrin), *SRD5A2* (Bệnh thiếu hụt enzyme steroid 5-alpha reductase 2), *GAA* (Bệnh Pompe), *ATP7B* (Bệnh Wilson). Kết quả người mẹ phát hiện mang biến thể dị hợp tử c.516G>T(p.Gln172His) trên gen *PAH*.

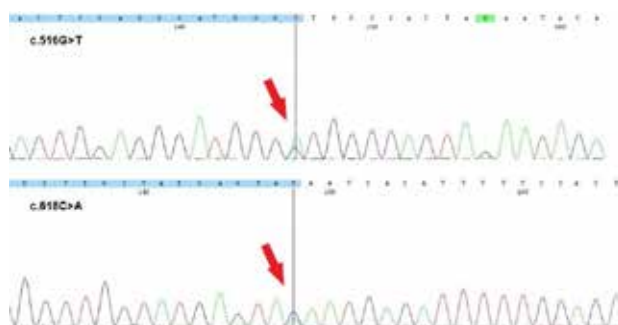
Chồng và người con đầu được tư vấn di truyền và thực hiện xét nghiệm giải trình tự gen khảo sát các biến thể trên gen *PAH*, kết quả: người chồng mang biến thể dị hợp tử c.618C>A(p.Tyr206Ter) trên gen *PAH* và con đầu mang biến thể dị hợp tử phức c.516G>T và c.618C>A trên gen *PAH*. Kết quả giải trình tự thể hệ mới ở trẻ III.1 đã được kiểm định bằng xét nghiệm giải trình tự Sanger (Hình 2). Biến thể c.618C>A (p.Tyr206Ter) là biến thể vô nghĩa ((đột biến tạo mã kết thúc - nonsense), nằm tại exon 6/13, tạo ra bộ ba kết thúc sớm tại vị trí acid amin 206, dẫn đến sản phẩm protein bị cắt ngắn. Biến thể được phân loại Gây bệnh trên hệ thống dữ liệu ClinVar (6 submissions) và theo tiêu chuẩn ACMG (PVS1, PP5, PM2).^{10,11} Biến thể này có APV bằng 0 và liên quan tới PKU thể cổ điển. Đã có 4 trường hợp được báo cáo phát hiện biến thể trên bệnh nhân mắc PKU thể cổ điển khi kết hợp dị hợp tử phức với biến thể gây bệnh đã biết trước đó.¹²⁻¹⁴ Biến thể c.618C>A đã được chứng minh trong nghiên cứu thực nghiệm gây mất hoàn toàn chức năng enzyme PAH. Các dữ liệu này cho thấy c.618C>A là biến thể ảnh hưởng mạnh tới hoạt độ enzyme, nhưng kiểu hình lâm sàng thực tế còn phụ thuộc vào alen thứ hai.

Như vậy, sự kết hợp giữa biến thể c.516G>T với một biến thể gen *PAH* liên quan tới PKU cổ điển, có thể gây ra tình trạng tăng nhẹ Phe không triệu chứng.



Hình 1. Phả hệ ca bệnh số 1

Ghi chú: wt: wild-type: alen hoang dã (bình thường)



Hình 2. Hình ảnh kết quả giải trình tự Sanger biến thể c.516G>T và c.618C>A trên gen *PAH* ở mẫu máu của trẻ

Ghi chú: Mũi tên đỏ chỉ vị trí biến thể khảo sát.

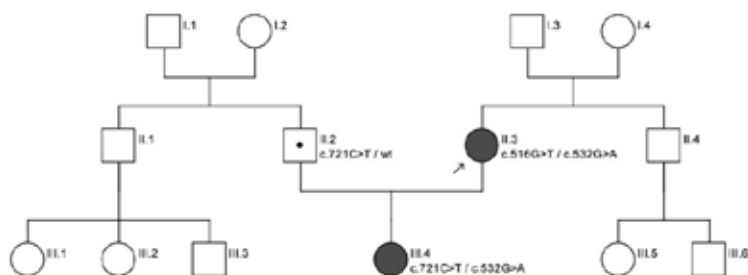
Cá bệnh số 2:

Bệnh nhân nữ, 29 tuổi (II.3 - Hình 3), tiền sử bản thân khỏe mạnh, được tư vấn di truyền về kết quả sàng lọc tình trạng mang gen 09 gen bệnh di truyền lặn phổ biến trước mang thai. Khai thác tiền sử gia đình không phát hiện bất thường, trình độ học vấn: Đại học, nghề nghiệp: nhân viên văn phòng. Kết quả xét nghiệm di truyền khi sàng lọc phát hiện bệnh nhân mang biến thể dị hợp tử phức: c.516G>T (p.Gln172His) và c.532G>A (p.Glu178Lys) trên gen *PAH*. Biến thể c.532G>A (p.Glu178Lys) là một biến thể sai nghĩa (đột biến dẫn tới thay thế một acid amin), dẫn đến sự thay thế

nucleotide guanine (G) bằng adenine (A) tại vị trí nucleotide thứ 532, thuộc exon 6/13 của gen *PAH*, thay thế axit amin Glutamate tại vị trí 178 thành Lysine. Biến thể này được phân loại Gây bệnh trên ClinVar với 6 bản ghi trong kiểu hình PKU, trong đó 5 bản ghi đánh giá Gây bệnh và 1 bản ghi đánh giá Chưa rõ chức năng (VUS). Theo hướng dẫn phân loại biến thể của Hiệp hội Di truyền Y khoa Hoa Kỳ, biến thể này được phân loại Gây bệnh (PM1, PP5, PM2, PM3, PM5).^{11,15} Biến thể c.532G>A (chưa có APV) đã được báo cáo trong kiểu gen dị hợp tử phức kết hợp với biến thể gây bệnh khác

(như c.733G>A; c.116_118del; c.442-1G>A) đều liên quan kiểu hình MHPA. Biến thể này đã được chứng minh trong nghiên cứu thực nghiệm cho thấy làm giảm biểu hiện protein PAH và giảm hoạt độ enzyme. Xét nghiệm phân tích acid amin cho kết quả nồng độ Phe dao

động từ 81 - 114 $\mu\text{mol/L}$ (giá trị tham chiếu: 24 - 91 $\mu\text{mol/L}$). Thăm khám lâm sàng không ghi nhận triệu chứng lâm sàng liên quan đến PKU. Bệnh nhân được xác định thuộc nhóm MHPA với nồng độ phenylalanine tăng nhẹ, không cần can thiệp điều trị.



Hình 3. Phả hệ ca bệnh số 2

Ghi chú: wt: wild-type: alen hoang dã (bình thường)

Chồng (II.3) của người bệnh được tư vấn kiểm tra tình trạng mang gen *PAH*, kết quả phát hiện dị hợp tử biến thể c.721C>T. Đây là biến thể gây bệnh có APV = 5,1, liên quan đến PKU thể trung bình (mPKU). Sau khi được tư vấn, gia đình quyết định thực hiện kiểm tra sau sinh cho con (III.4). Kết quả giải trình tự gen sau sinh cho thấy trẻ: dị hợp tử phức gồm biến thể c.532G>A có nguồn gốc từ mẹ và c.721C>T nguồn gốc từ bố. Trẻ sinh thường, đủ tháng, cân nặng lúc sinh 2500g, sau sinh có làm xét nghiệm sàng lọc sơ sinh tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội, có tăng nhẹ phenylalanine. Sau đó, trẻ được kiểm tra xét nghiệm phân tích acid amin máu tại Bệnh viện Nhi Trung ương cho kết quả bình thường. Hiện, trẻ được 6 tháng tuổi, phát triển tâm thần - vận động bình thường theo lứa tuổi.

Trường hợp thai phụ mang biến thể c.516G>T (p.Gln172His) và c.532G>A (p.Glu178Lys) trên gen *PAH* có kiểu hình bình thường, ủng hộ thêm căn cứ cho rằng dị hợp tử phức biến thể c.516G>T (p.Gln172His) với một biến thể gây bệnh trên gen *PAH* (c.532G>A) có thể không gây ra các triệu chứng lâm sàng và không đòi hỏi can thiệp điều trị.

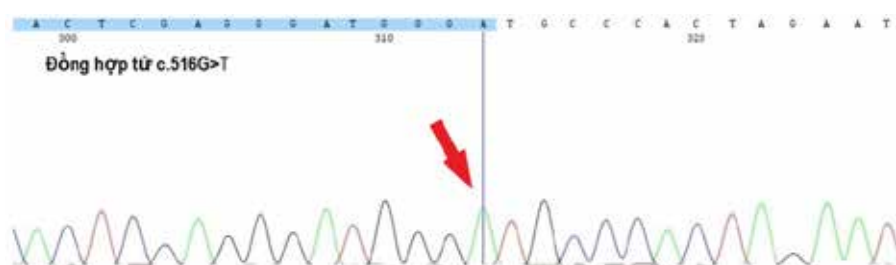
Ca bệnh số 3:

Thai phụ mang thai ở tuần thứ 17 được tư vấn kiểm tra sau sinh cho trẻ/chọc ối do cả hai vợ chồng đều mang dị hợp tử biến thể *PAH* c.516G>T. Gia đình có một con gái 5 tuổi mang cùng kiểu gen dị hợp tử biến thể này, hiện khỏe mạnh. Sau khi được tư vấn, gia đình có nguyện vọng chọc ối chẩn đoán kiểu gen trước sinh. Kết quả xét nghiệm gen từ tế bào ối nuôi cấy cho thấy thai nhi mang đồng hợp tử biến thể *PAH* c.516G>T (Kết quả nhiễm sắc đồ của thai nhi chưa phát hiện bất thường). Gia đình được tư vấn về kết quả chọc ối và kiểm tra lại lâm sàng, xét nghiệm sinh hóa cho trẻ sau sinh.

Trẻ được sinh thường, đủ tháng, cân nặng lúc sinh 3100 g, không có dị tật bẩm sinh ghi nhận ngay sau sinh. Xét nghiệm sàng lọc sơ sinh bằng máu gót chân cho thấy nồng độ Phe là 70,12 $\mu\text{mol/L}$, nằm trong giới hạn bình thường (23 - 118 $\mu\text{mol/L}$). Kết quả sàng lọc sơ sinh mở rộng 56 chỉ tiêu rối loạn chuyển hóa bẩm sinh (tại bệnh viện Phụ sản Trung ương) không ghi nhận bất thường về chuyển hóa acid amin, acid béo và acid hữu cơ. Hiện tại, trẻ được 5 tháng tuổi, phát triển tâm thần - vận động bình thường.

Biến thể *PAH* c.516G>T được phân loại Có khả năng gây bệnh, tuy nhiên trong trường hợp này, việc trẻ mang đồng hợp tử biến thể trên nhưng có nồng độ Phe trong giới hạn bình thường ở cả xét nghiệm sàng lọc sơ sinh lẫn xét nghiệm mở rộng về chuyển hóa, cùng với theo dõi lâm sàng ổn định trong 5 tháng đầu đời, gợi ý rằng biến thể này nếu ở trạng thái riêng lẻ (đồng hợp tử), không kết hợp dạng dị hợp tử phức với biến thể gây bệnh (ở nhóm PKU cổ điển/trung bình) sẽ ảnh hưởng rất ít tới kiểu hình

lâm sàng và chuyển hóa. Trường hợp này minh chứng cho giá trị bổ sung của xét nghiệm sàng lọc sơ sinh, phân tích acid amin trong việc đánh giá hậu quả lâm sàng của các biến thể gen còn thiếu dữ liệu tương quan kiểu gen - kiểu hình. Việc kết hợp giữa dữ liệu di truyền và thông tin sinh hóa giúp củng cố độ tin cậy trong đánh giá mức độ nguy cơ và hướng dẫn tư vấn di truyền chính xác hơn, hạn chế can thiệp trước sinh và đặc biệt là đình chỉ thai nghén đáng tiếc.



Hình 4. Hình ảnh kết quả giải trình tự Sanger biến thể đồng hợp tử c.516G>T trên gen *PAH* ở mẫu máu của trẻ

Ca bệnh số 4:

Bệnh nhân nữ 23 tuổi, tiền sử bản thân khỏe mạnh, trình độ học vấn: Đại học, nghề nghiệp: cử nhân xét nghiệm. Thai phụ phát hiện mang biến thể c.516G>T trên gen *PAH* ở trạng thái đồng hợp tử thông qua xét nghiệm sàng lọc các bệnh lý di truyền lặn phổ biến tích hợp trong xét nghiệm NIPT. Tại thời điểm đánh giá, thai phụ không có biểu hiện lâm sàng liên quan đến PKU. Kết quả kiểm tra tình trạng mang gen

PAH ở chồng: không phát hiện biến thể gen gây bệnh. Thai phụ không thực hiện xét nghiệm phân tích acid amin. Trường hợp này mặc dù không được đánh giá đầy đủ về mặt kiểu hình chuyển hóa, tuy nhiên lâm sàng của thai phụ không ghi nhận bất thường, cùng với ca lâm sàng 3, gợi ý rằng biến thể này nếu ở trạng thái đồng hợp tử sẽ ảnh hưởng rất ít tới kiểu hình lâm sàng.

Bảng 1. Kết quả kiểu gen - kiểu hình của 04 ca lâm sàng

Ca bệnh	Giới tính	Tuổi phát hiện	Biến thể trên gen <i>PAH</i>	Kiểu gen	Nồng độ Phe (μmol/L)	Lâm sàng
1	Nữ	4 tuổi	c.516G>T (p.Gln172His) c.618C>A (p.Tyr206*)	Dị hợp tử phức (in-trans)	152	Chưa phát hiện bất thường

Ca bệnh	Giới tính	Tuổi phát hiện	Biến thể trên gen <i>PAH</i>	Kiểu gen	Nồng độ Phe ($\mu\text{mol/L}$)	Lâm sàng
2	Nữ	29 tuổi	c.516G>T (p.Gln172His) c.532G>A (p.Glu178Lys)	Dị hợp tử phức	81 - 144	Chưa phát hiện bất thường
3	Nam	5 tháng tuổi	c.516G>T (p.Gln172His)	Đồng hợp tử	70,12	Chưa phát hiện bất thường
4	Nữ	23 tuổi	c.516G>T (p.Gln172His)	Đồng hợp tử	Không có thông tin	Chưa phát hiện bất thường

III. BÀN LUẬN

Chúng tôi báo cáo bốn trường hợp mang biến thể c.516G>T trên gen *PAH* ở các trạng thái dị hợp tử phức và đồng hợp tử. Các trường hợp dị hợp tử phức (ca bệnh 1 và 2) đều có sự kết hợp của các biến thể được phân loại Gây bệnh. Các báo cáo trước đây đều thấy biến thể c.516G>T khi kết hợp với một biến thể Gây bệnh đều gây ra bệnh PKU thể cổ điển hoặc thể tăng nhẹ phenylalanine.^{7,8} Tuy nhiên, chưa có báo cáo nào ghi nhận về sự kết hợp biến thể dị hợp tử phức hoặc đồng hợp tử giống với các trường hợp chúng tôi đưa ra.

Đối với 4 ca bệnh được báo cáo, tất cả bệnh nhân mang biến thể c.516G>T ở trạng thái đồng hợp tử hoặc dị hợp tử phức với các biến thể được phân loại là gây bệnh như c.618C>A (p.Tyr206*) hoặc c.532G>A (p.Glu178Lys). Tuy nhiên, không có bệnh nhân nào biểu hiện kiểu hình PKU cổ điển, và tất cả đều được phân loại vào nhóm MHPA hoặc không tăng Phe, hoặc hoàn toàn không triệu chứng lâm sàng.

Trong ca bệnh 1, dị hợp tử phức giữa biến thể c.516G>T và một biến thể vô nghĩa (p.Tyr206*) gây mất chức năng protein, thường được kỳ vọng gây biểu hiện lâm sàng nặng tương tự với các trường hợp dị hợp tử phức được báo cáo trước đó.⁸ Tuy nhiên, bệnh nhi không có biểu hiện lâm sàng và chỉ tăng nhẹ Phe máu, cho thấy hoạt tính enzyme phần nào

vẫn được bảo tồn và dẫn đến kiểu hình nhẹ hoặc không biểu hiện. Trong ca bệnh 2, dị hợp tử phức giữa biến thể c.516G>T với một biến thể gây giảm hoạt độ *PAH* (c.532G>A) cũng chỉ gây tăng nhẹ/không tăng Phe ở người nữ trưởng thành, kiểu hình bình thường. Điều này phù hợp với lý thuyết rằng kiểu hình PKU phụ thuộc chặt chẽ vào mức độ còn lại của hoạt tính enzyme *PAH*, với các biến thể gây mất chức năng hoàn toàn thường liên quan đến PKU cổ điển, trong khi các biến thể bảo tồn một phần chức năng có thể chỉ gây MHPA hoặc thậm chí không có triệu chứng.^{1,14}

Đặc biệt, trường hợp đồng hợp tử c.516G>T (ca bệnh 3 và 4) cho thấy kiểu hình không có biểu hiện lâm sàng bất thường, với kết quả sinh hóa nằm trong hoặc gần ngưỡng bình thường. Dù biến thể c.516G>T được phân loại là biến thể Gây bệnh, các quan sát này cho thấy mức độ ảnh hưởng của biến thể có thể nhẹ hơn so với đánh giá ban đầu. Đã có một số báo cáo cho thấy những trường hợp cá thể mang cùng biến thể trên gen *PAH* có thể biểu hiện các kiểu hình rất khác nhau, từ MHPA cho đến PKU thể cổ điển.^{5,14} Sự khác biệt này đặt ra một thách thức lớn trong dự đoán chính xác mức độ ảnh hưởng của từng biến thể, đặc biệt là trong tư vấn di truyền và đưa ra quyết định lâm sàng. Có nhiều yếu tố có thể góp phần vào sự biến

thiên kiểu hình này trong bệnh PKU, có thể kể đến như mức độ tồn dư hoạt tính enzyme PAH không chỉ phụ thuộc vào bản thân biến thể mà còn chịu sự chi phối bởi các yếu tố điều hòa biểu hiện gen, điều hòa phiên mã, sự ổn định protein; các yếu tố môi trường như chế độ dinh dưỡng, lượng Phe hấp thụ; và các đặc điểm cá thể khác như chủng tộc, giới tính. Chính vì vậy, một biến thể được phân loại Gây bệnh trên hệ thống dữ liệu biến thể chung không đồng nghĩa rằng mọi cá thể mang biến thể đó đều sẽ biểu hiện bệnh lý ở cùng mức độ. Sự biến thiên kiểu hình này cũng cho thấy cần thận trọng trong việc diễn giải kết quả xét nghiệm di truyền để tránh đưa ra các dự đoán hay can thiệp quá mức không cần thiết. Với công nghệ giải trình tự gen ngày càng được áp dụng rộng rãi trong tầm soát nguy cơ trước sinh, việc xác định chính xác ý nghĩa lâm sàng của các biến thể trở nên vô cùng quan trọng đối với bác sĩ di truyền, sản khoa và nhi khoa trong việc tư vấn di truyền cho các trường hợp hai vợ chồng mang biến thể gây bệnh trên gen *PAH*. Đặc biệt trong bối cảnh các gia đình thường tự tìm kiếm các nguồn thông tin, từ việc tham khảo các nguồn dữ liệu công khai trên mạng đến hỏi các “lời khuyên” từ các gia đình có con bị bệnh PKU (thường là thể cổ điển), có thể dẫn đến những lựa chọn chưa thực sự thích hợp cho thai kỳ.

Với báo cáo của chúng tôi, hệ thống dữ liệu biến thể có thể được đóng góp thêm bằng chứng cho rằng c.516G>T có thể là một biến thể gây bệnh “nhẹ”, đặc biệt khi ở trạng thái đồng hợp tử. Dù trẻ mang đồng hợp tử *PAH* c.516G>T, có thể gây lo ngại về nguy cơ mắc tăng phenylalanine máu, lại có kết quả sàng lọc sơ sinh và diễn tiến lâm sàng hoàn toàn bình thường. Trong khi dữ liệu di truyền cung cấp thông tin nền tảng về nguy cơ tiềm ẩn, thì dữ liệu sinh hóa đóng vai trò kiểm chứng tính hiện thực của nguy cơ đó. Khi kết hợp dữ liệu hóa sinh (định lượng phenylalanine trong máu) hoặc kết

quả sàng lọc sơ sinh hậu kiểm ở những trường hợp trẻ mới sinh được khẳng định mang biến thể trong thời kì trước sinh, các nhà lâm sàng có thể xác định được mức ảnh hưởng thực tế của biến thể đến chức năng enzyme. Nhờ đó giúp làm rõ rằng liệu một biến thể được xác định Gây bệnh trên cơ sở phân tích in silico hay dữ liệu biến thể quốc tế có thực sự gây rối loạn chuyển hóa ở mức độ có ý nghĩa lâm sàng hay không trong bối cảnh dân số cụ thể.

Sự phân tích rõ ràng mối tương quan kiểu gen - kiểu hình trong bệnh PKU có ý nghĩa rất lớn trong tư vấn di truyền, đặc biệt là trong bối cảnh Việt Nam - nơi có tỉ lệ lưu hành biến thể bệnh cao. Việc hiểu rõ hơn về tác động thực sự của biến thể sẽ hạn chế các quyết định chọn lọc không cần thiết hoặc đình chỉ thai kỳ dựa trên giả định sai lầm về nguy cơ cao gây bệnh PKU thể nặng. Tuy nhiên, do số lượng ca bệnh còn hạn chế và chưa có dữ liệu theo dõi dài hạn về phát triển tâm thần kinh nên cần tiếp tục theo dõi và ghi nhận thêm các trường hợp mang biến thể này, cũng như phối hợp đánh giá in vivo và xác định APV, để đánh giá chắc chắn hơn mức độ kiểu hình nhẹ của biến thể gen *PAH*:c.516G>T. Dữ liệu này đóng góp vào hiểu biết tương quan kiểu gen - kiểu hình trong bệnh PKU và nhấn mạnh tầm quan trọng của dữ liệu đặc hiệu cho từng quần thể trong phân tích bệnh di truyền hiếm gặp.

IV. KẾT LUẬN

Báo cáo bốn ca lâm sàng mang biến thể c.516G>T trên gen *PAH* cho thấy đây có thể là một biến thể liên quan đến tăng nhẹ phenylalanine máu (MHPA)/không tăng phenylalanine hoặc không gây biểu hiện lâm sàng, ngay cả khi ở trạng thái đồng hợp tử hoặc dị hợp tử phức với một số biến thể gây bệnh khác. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong tư vấn di truyền, đặc biệt là trong bối cảnh biến thể c.516G>T có tần suất cao trong cộng đồng

người Việt Nam. Việc xác định mối liên hệ kiểu gen - kiểu hình giúp cải thiện khả năng tiên lượng và đưa ra được tư vấn di truyền trước và sau sinh một cách phù hợp. Đồng thời, cần có thêm các nghiên cứu thực nghiệm và theo dõi dài hạn để làm rõ hơn vai trò bệnh học của biến thể này trong bệnh PKU.

LỜI CẢM ƠN

Xin trân trọng cảm ơn các gia đình người bệnh đã đồng ý tham gia nghiên cứu. Cảm ơn các thành viên của Trung tâm Di truyền lâm sàng và Hệ gen, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Y Sinh học - Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội, Viện di truyền Y học, TP. HCM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arnold G, Vockley J. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Amemiya A, eds. *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed May 4, 2025. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1504/>.
2. Tran NH, Nguyen Thi TH, Tang HS, et al. Genetic landscape of recessive diseases in the Vietnamese population from large-scale clinical exome sequencing. *Hum Mutat.* 2021; 42(10): 1229-1238. doi:10.1002/humu.24253.
3. BIOPKU: International Database of Patients and Mutations causing BH4-responsive HPA/PKU. Accessed May 4, 2025. <https://www.biopku.org/home/biopku.asp#>.
4. Garbade SF, Shen N, Himmelreich N, et al. Allelic phenotype values: a model for genotype-based phenotype prediction in phenylketonuria. *Genet Med.* 2019; 21(3): 580-590. doi:10.1038/s41436-018-0081-x.
5. Himmelreich N, Shen N, Okun JG, Thiel C, Hoffmann GF, Blau N. Relationship between genotype, phenylalanine hydroxylase expression and in vitro activity and metabolic phenotype in phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2018; 125(1-2): 86-95. doi:10.1016/j.ymgme.2018.06.011.
6. Evidence Repository - Clinical Genome Resources. Accessed May 3, 2025. <https://erepo.clinicalgenome.org/evrepo/ui/interpretation/1a22d5d2-0724-4358-8520-7a45806690cb>.
7. Tao J, Li N, Jia H, et al. Correlation between genotype and the tetrahydrobiopterin-responsive phenotype in Chinese patients with phenylketonuria. *Pediatr Res.* 2015; 78(6): 691-699. doi:10.1038/pr.2015.167.
8. Liu N, Huang Q, Li Q, et al. Spectrum of PAH gene variants among a population of Han Chinese patients with phenylketonuria from northern China. *BMC Med Genet.* 2017; 18(1): 108. doi:10.1186/s12881-017-0467-7.
9. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000664621.18], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000664621.18> (accessed May 22, 2025).
10. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000556660.12], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000556660.12> (accessed May 22, 2025).
11. 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. doi:10.1038/gim.2015.30.
12. Cao Y yan, Qu Y jin, Song F, et al. Fast clinical molecular diagnosis of hyperphenylalaninemia using next-generation sequencing-based on a custom AmpliSeq™ panel and Ion Torrent PGM sequencing. *Mol Genet Metab.* 2014; 113(4): 261-266. doi:10.1016/j.ymgme.2014.10.004.

13. Song F, Qu Y jin, Zhang T, Jin Y wei, Wang H, Zheng X ying. Phenylketonuria mutations in Northern China. *Mol Genet Metab.* 2005; 86 Suppl 1: S107-118. doi:10.1016/j.ymgme.2005.09.001.
14. Li N, He C, Li J, et al. Analysis of the genotype-phenotype correlation in patients with phenylketonuria in mainland China. *Sci Rep.* 2018; 8: 11251. doi:10.1038/s41598-018-29640-y.
15. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000928885.10], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000928885.10> (accessed May 22, 2025).

Summary

GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION IN PHENYLKETONURIA OF A COMMON GENE VARIANT *PAH*:c.516G>T IN VIETNAM: REPORT OF FOUR CASES

The c.516G>T (p.Gln172His) variant in the *PAH* gene is the most prevalent variant in the Vietnamese population, yet clinical data on its phenotypic impact remain extremely limited. We report four cases carrying this variant in either compound heterozygous or homozygous states, identified through a prenatal carrier screening program. Two cases were compound heterozygotes with c.516G>T in trans with previously classified pathogenic variants, while the remaining two were homozygous for c.516G>T. All individuals were asymptomatic with no clinical abnormality and had mildly elevated or normal phenylalaninemia levels, consistent with mild hyperphenylalaninemia (MHPA) or a clinically normal state; none required dietary restriction or medical intervention. These findings suggest that the *PAH*:c.516G>T variant may be associated with a mild phenotype or limited functional impact, even in homozygosity. This has important implications for clinical genetics practice in Vietnam, particularly in prenatal counseling, as it may help prevent unnecessary interventions or overestimated prenatal diagnosis, and ensure proper postnatal follow-up.

Keywords: Phenylketonuria, mild hyperphenylalaninemia, c.516G>T, p.Gln172His, *PAH*.