

Kiểu gen và kiểu hình của tăng cholesterol máu tiên phát ở trẻ em

Đỗ Thị Thanh Mai và Vũ Chí Dũng✉

Bệnh viện Nhi Trung ương

Tăng cholesterol tiên phát gây ra rối loạn chuyển hoá lipoprotein, gây tăng cholesterol trọng lượng phân tử thấp, do đó tăng nguy cơ gặp biến chứng tim mạch sớm. Nghiên cứu với mục tiêu là phát hiện đột biến các gen gây tăng cholesterol tiên phát và mô tả kiểu hình lâm sàng và hóa sinh của các bệnh nhi có tăng cholesterol. Nghiên cứu một loạt ca bệnh bao gồm mô tả các đặc điểm lâm sàng, hóa sinh, biến chứng và phân tích đột biến các gen gây tăng cholesterol tiên phát bằng giải trình tự gen thế hệ mới. Các đặc điểm kiểu hình của 10 bệnh nhân từ 8 gia đình khác nhau với tuổi chẩn đoán trung bình là $5,9 \pm 6,2$ tuổi (nam/nữ là 4/6) bao gồm u hạt vàng (6 bệnh nhi), chưa có triệu chứng (4 bệnh nhi); nồng độ cholesterol toàn phần trung bình trong máu là $9,8 \pm 4,6$ mmol/l, nồng độ LDL-cholesterol trung bình $7 \pm 3,1$ mmol/l, nồng độ HDL-cholesterol trung bình $1,3 \pm 0,2$ mmol/l, nồng độ triglyceride trung bình $1,7 \pm 0,7$ mmol/l. Có 7 bệnh nhân có đột biến của gen LDLR và 3 bệnh nhân đột biến của gen ABCG5. Tăng cholesterol tiên phát ở trẻ em có triệu chứng lâm sàng nghèo nàn và phát hiện đột biến các gen gây tăng cholesterol tiên phát giúp tư vấn di truyền và phòng bệnh.

Từ khoá: tăng cholesterol tiên phát, gen LDLR, gen ABCG5.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng cholesterol máu di truyền đơn gen đặc trưng bởi tăng nồng độ LDL - cholesterol (Low Density Lipoprotein Cholesterol) và gây nguy cơ biến chứng tim mạch sớm. Cho đến nay các gen đã được xác định gây tăng LDL-cholesterol bao gồm gen LDLR, gây giảm hấp thu và chuyển hoá các hạt LDL, dẫn đến giảm thanh thải các hạt LDL, đột biến gen LDLR gây ra 79% các trường hợp tăng LDL-cholesterol; đột biến gen APOB mã hoá cho Apolipoprotein B giúp thụ thể LDL gắn với LDL, chiếm 5% các trường hợp; đột biến gen PCSK9 mã hoá cho proprotein convertase subtilisin/kexin típ 9, làm suy giảm thụ thể LDL, chỉ chiếm < 1% các trường hợp, đột biến gen ABCG5/ABCG8 gây tăng hấp thu cholesterol có nguồn gốc thực vật,

giảm liên kết cholesterol với acid mật.¹⁻³

Để góp phần chẩn đoán bệnh, sàng lọc cho các thành viên trong gia đình và làm cơ sở cho tư vấn di truyền thì phân tích gen phát hiện các đột biến và nhận xét liên quan giữa kiểu hình với kiểu gen là có vai trò quan trọng. Xuất phát từ thực tế đó, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu: phát hiện đột biến các gen gây tăng cholesterol tiên phát và mô tả kiểu hình lâm sàng và hóa sinh của các bệnh nhi tăng cholesterol.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Đối tượng gồm 10 bệnh nhi tăng cholesterol đã xác định được đột biến gây bệnh của các gen có liên quan, đã được chẩn đoán và điều trị tại khoa Nội tiết – Chuyển hóa – Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung Ương, từ năm 2019 - 2020.

2. Phương pháp

Nghiên cứu một loạt ca bệnh bao gồm mô

Tác giả liên hệ: Vũ Chí Dũng

Bệnh viện Nhi Trung Ương

Email: dungvu@nch.org.vn

Ngày nhận: 16/12/2020

Ngày được chấp nhận: 06/01/2021

tả các đặc điểm lâm sàng và hóa sinh: định lượng cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride ở bệnh phẩm máu. Phân tích đột biến các gen gây tăng lipid máu tiên phát: DNA được chiết tách từ bạch cầu máu ngoại vi; 31 gen (84 795 bp) liên quan đến tăng lipid máu di truyền được giải trình tự bằng hệ thống giải trình tự gen thế hệ mới để xác định đột biến gây bệnh (MiSeq Dx (150 bp x2 paired-end). Phương pháp sử dụng là lai với các đầu dò oligonucleotide probes (GRM v1) và phân tích bằng phần mềm tin sinh BI_GRM v1.1 (Alignment: BWA, Variant calling: GATK).

III. KẾT QUẢ

Có 10 bệnh nhân từ 8 gia đình khác nhau với tuổi chẩn đoán trung bình $5,8 \pm 6,2$ tuổi; tỷ lệ nam/nữ là 4/6; có 6 bệnh nhân biểu hiện u hạt vàng, 4 bệnh nhân không có triệu chứng; nồng độ cholesterol toàn phần trung bình $9,8 \pm 4,6$ mmol/l, nồng độ LDL-cholesterol trung bình $7 \pm 3,1$ mmol/l, nồng độ HDL-cholesterol trung bình $1,3 \pm 0,2$ mmol/l, nồng độ triglyceride trung bình $1,7 \pm 0,7$ mmol/l; có 7 bệnh nhân có đột biến trên gen *LDLR* và 3 bệnh nhân đột biến trên gen *ABCG5* (bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm lâm sàng

Bệnh nhân	Tuổi chẩn đoán (năm)	Giới	BMI	U hạt vàng	Tiền sử gia đình	Cholesterol toàn phần (mmol/l)	LDL- C (mmol/l)	HDL- C (mmol/l)	Triglyceride (mmol/l)
01	1,75	Nam	15,7	Có	Có	10,96	8,58	1,62	0,93
02	3,7	Nữ	14,1	Có	Không	16,9	10,9	0,99	1,98
03	15,2	Nữ	18,5	Có	Có	8,33	5,69	1,21	2,81
04	8,3	Nữ	14,4	Không	Có	7,57	5,51	1,61	1
05	17,6	Nữ	19,5	Không	Có	5,23	3,88	1,05	-
06	0,9	Nam	-	Không	Không	6,73	-	-	2,29
07	1,2	Nữ	14,04	Không	Không	7,55	5,32	1,11	1,2
08	1,1	Nam	15,75	Có	Có	6,77	4,32	1,18	0,93
09	1,42	Nam	13,49	Có	Không	18,89	13,01	1,49	2,02
10	7,5	Nữ	18,2	Có	Không	8,79	6,15	1,16	2,64
Trung bình/ tỷ lệ	$5,9 \pm 6,2$	4 nam/ 6 nữ	$15,9 \pm 2,4$	6/10	5/10	$9,8 \pm 4,6$	$7 \pm 3,1$	$1,3 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,7$

(-): không có dữ liệu

3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm STATA version 15.0. Các số liệu được diễn tả dưới dạng các phân bố về tần số hoặc các tham số thống kê mô tả và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm, hoặc trị số trung bình \pm SD và trung vị.

4. Đạo đức nghiên cứu

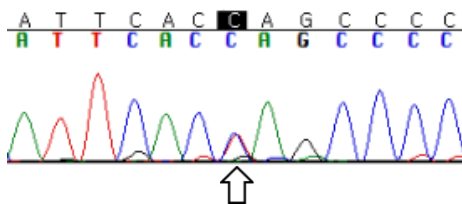
Nghiên cứu được tiến hành đảm bảo khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu y sinh, được sự đồng ý tham gia nghiên cứu của bố mẹ/người giám hộ bệnh nhân, đảm bảo các thông tin bí mật cá nhân.

Bảng 2. Đặc điểm kiểu gen

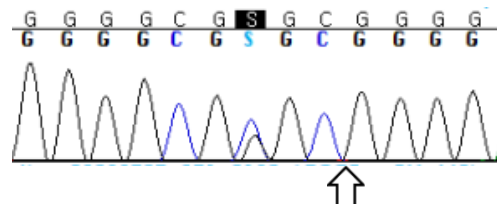
Bệnh nhân	Gen	cDNA	Protein đột biến	Di truyền
01	LDLR	c.888C>A	p.C296X	Trội
02	LDLR	c.2397del	p.V800SfsX129	Trội
03	LDLR	Mất đoạn lớn exon 15	p.(?)	Trội
04	LDLR	Mất đoạn lớn exon 15	p.(?)	Trội
05	LDLR	Mất đoạn lớn exon 15	p.(?)	Trội
06	LDLR	c.161A>C	p.D54A	Trội
07	LDLR	c.1427C>G	p.P476R	Trội
08	ABCG5	c.335dup/c.329T>A	p.V113GfsX85/p.L110Q	Lặn
09	ABCG5	c.751C>T/c.315C>G	p.Q251X/p.R105=	Lặn
10	ABCG5	c.446C>A/c.446C>A	p.P149Q/p.P149Q	Lặn



Hình 1. U hạt vàng bệnh nhân 09



ABCG5 NM_022436.2:c.751C>T



ABCG5 NM_022436.2:c.315C>G

Hình 2. Đột biến gen *ABCG5* của bệnh nhân 09

IV. BÀN LUẬN

Triệu chứng lâm sàng của bệnh nghèo nàn, có tới 4/10 bệnh nhân không có triệu chứng, thậm chí ca bệnh 1 có u hạt vàng nhưng không được phát hiện. Vì vậy, nên xét nghiệm sàng lọc lipid máu cho trẻ từ 2 tuổi khi trong gia đình có nhiều người, nhiều thể hệ tăng lipid máu theo khuyến cáo của Viện Hàn lâm Nhi khoa Hoa Kỳ.⁴ Tuy nhiên chỉ dựa vào lâm sàng và chỉ số sinh hoá có thể bỏ sót chẩn đoán, vì có bệnh nhân không đủ tiêu chuẩn sinh hoá như cholesterol toàn phần > 7,5 mmol/l hoặc LDL- cholesterol > 4,9 mmol/l (ở trẻ >16 tuổi) như bệnh nhân số 05, nếu em gái không được chẩn đoán, rất có thể bệnh nhân chỉ phát hiện bệnh khi đã trưởng thành và có biến chứng tim mạch. Bệnh nhân số 03,04,05 là 3 chị em gái tuy có cùng 1 kiểu gen nhưng mức độ tăng cholesterol và LDL- C rất khác nhau. Phải chăng kiểu hình của bệnh nhân còn phụ thuộc vào yếu tố môi trường (chế độ ăn uống, luyện tập...)? Như vậy, phân tích gen để phát hiện đột biến cho bệnh nhân chỉ điểm và các thành viên trong gia đình là cần thiết, đặc biệt trong trường hợp bệnh nhân tăng mỡ máu dai dẳng, không béo phì, không có các bệnh lý gây tăng lipid máu thứ phát khác, gia đình có nhiều thể hệ, nhiều người tăng lipid máu.

Về kiểu gen, đột biến trên gen LDLR là chủ yếu (7/10 bệnh nhân). Tuy nhiên mặc dù đột biến gen ABCG5 rất hiếm gặp, trên thế giới mới chỉ báo cáo 30 bệnh nhân trong vòng 30 năm, tại nghiên cứu này chúng tôi có tới 3/10 bệnh nhân. Như vậy, đột biến của gen ABCG5 là nguyên nhân phổ biến sau đột biến gen LDLR ở 10 bệnh nhi người Việt tăng cholesterol tiên phát. Để khẳng định đột biến gen ABCG5 thực sự là một trong các nguyên nhân phổ biến gây tăng cholesterol di truyền thì cần tiếp tục nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn. Tuổi chẩn đoán trung bình của các bệnh nhân có đột biến gen

ABCG5 cũng nhỏ hơn tuổi chẩn đoán của các bệnh nhân có đột biến gen LDLR. Tất cả các bệnh nhân nghiên cứu có đột biến ABCG5 đều có biểu hiện lâm sàng u hạt vàng và nồng độ trung bình của cholesterol cũng cao hơn nhóm bệnh nhân có đột biến LDLR. Liệu đột biến gen ABCG5 có gây nên kiểu hình lâm sàng và hóa sinh nặng hơn đột biến LDLR hay không thì cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

V. KẾT LUẬN

Tăng cholesterol tiên phát có triệu chứng lâm sàng nghèo nàn, có thể có u hạt vàng, nồng độ LDL- cholesterol trung bình ở mức rất cao > 4,9 mmol/l. Đột biến gen LDLR là nguyên nhân phổ biến nhất, sau đó đến đột biến gen ABCG5. Cần mở rộng phân tích phân tử để có kế hoạch điều trị, dự phòng và tư vấn di truyền phòng bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wiegman A, Gidding SS et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J.* 2015;36(36):2425–37.
2. Salen G, Patel S, Batta AK. Sitosterolemia. *Cardiovasc. Drug Rev.* 2002; 20(4):255– 270.
3. Carter BA, Karpen SJ. Diet and disease: the 'phyte' over intestinal cholesterol. *Gastroenterology.* 2001;121(5):1255– 1256.
4. Daniels SR, Greer FR, Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics.* 2008;122(1):198–208.
5. Genest J, Hegele RA, Bergeron J et al. Canadian Cardiovascular Society position statement on familial hypercholesterolemia. *The Canadian Journal of Cardiology.* 2014;30(12):1471–1481.

5. Pullinger CR, Kane JP, Malloy MJ. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. Primary hypercholesterolemia: genetic causes and treatment of five monogenic disorders. 2003;1(1):107 – 119.

Summary

GENOTYPE AND PHENOTYPE OF MONOGENIC HYPERCHOLESTEROLEMIA IN CHILDRENS

Monogenic hypercholesterolemia is a group of single gene defects with Mendelian transmission characterized by elevated low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels and very high risk of premature atherosclerotic disease. Our purpose is to identify mutations in genes related with monogenic hypercholesterolemia, and to describe clinical and biochemical phenotype of children with hypercholesterolemia. This is a case series study including mutation analysis using next generation sequencing, description of clinical symptoms and biochemistry investigations. The clinical phenotype of 10 patients from 8 unrelated families (age at presentation was 5.9 ± 6.2 years old; male/female was 4/6) included xanthoma (6 cases) and asymptomatics (4 cases). 4/10 cases had family history with hypercholesterolemia. Serum total cholesterol levels was $9,8 \pm 4,6$ mmol/l, serum LDL- C levels was $7 \pm 3,1$ mmol/l, serum HDL-C level was $1,3 \pm 0,2$ mmol/l, serum triglyceride levels was $1,7 \pm 0,7$ mmol/l. 7 cases had heterozygous mutations in LDLR gene, 3 cases had compound heterozygous ones in ABCG5 gene. Primary hypercholesterolemia had poor clinical manifestations, and mutation analysis helps genetic counseling and complication prevention.

Keywords: primary hypercholesterolemia, LDLR, ABCG5.