IV. KẾT LUẬN

Máu tụ dưới màng cứng mạn tính là bệnh thường gặp trong phẫu thuật thần kinh. Bơm rửa, dẫn lưu máu tụ bằng một lỗ mở sọ là phương pháp phẫu thuật phổ biến và hiệu quả để điều trị. Biến chứng hiếm gặp máu tụ dưới màng cứng cấp tính đối bên có thể xảy ra, đặc biệt là khi tồn tại máu tụ dưới màng cứng mạn tính đối bên mà không phát hiện ra. Biến chứng này rất nguy hiểm, cần phát hiện sớm và điều trị kịp thời, hạn chế để lại những di chứng nặng nề cho người bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Liu W, Bakker NA, Groen RJM.** Chronic subdural hematoma: a systematic review and meta-analysis of surgical procedures: A systematic review. JNS. 2014; 121(3): 665-673. doi:1 0.3171/2014.5.JNS132715
2. **Sousa EB, Brandão LF, Tavares CB, Borges IB, Neto NGF, Kessler IM.** Epidemiological characteristics of 778 patients who underwent surgical drainage of chronic subdural hematomas in Brasília, Brazil. BMC Surg. 2013;13(1):5. doi:10.1186/1471-2482-13-5
3. **Kim BS, Jallo GI, Kothbauer K, Abbott IR.** Chronic subdural hematoma as a complication of endoscopic third ventriculostomy. Surgical Neurology. 2004; 62(1):64-68. doi: 10.1016/ .surneu.2003.07.001
4. **Sun HL, Chang CJ, Hsieh CT.** Contralateral acute subdural hematoma occurring after evacuation of subdural hematoma with coexistent contralateral subdural hygroma. Neurosciences (Riyadh). 2014;19(3):229-232.
5. **Gelabert-González M, Iglesias-Pais M, García-Allut A, Martínez-Rumbo R.** Chronic subdural haematoma: surgical treatment and outcome in 1000 cases. Clinical Neurology and Neurosurgery. 2005;107(3):223-229. doi:10.1016/ j.clineuro.2004.09.015
6. **Ivamoto HS, Lemos HP, Atallah AN.** Surgical Treatments for Chronic Subdural Hematomas: A Comprehensive Systematic Review. World Neurosurgery. 2016;86: 399-418. doi: 10.1016/ j.wneu.2015.10.025
7. **Markwalder TM.** Chronic subdural hematomas: a review. Journal of Neurosurgery. 1981;54(5):637-645. doi:10.3171/jns.1981.54.5.0637
8. **Murakami H, Hirose Y, Sagoh M, et al.** Why do chronic subdural hematomas continue to grow slowly and not coagulate? Role of thrombomodulin in the mechanism. Journal of Neurosurgery. 2002;96(5):877-884. doi:10.3171/ jns.2002.96.5.0877
9. **Mori K, Maeda M.** Surgical Treatment of Chronic Subdural Hematoma in 500 Consecutive Cases: Clinical Characteristics, Surgical Outcome, Complications, and Recurrence Rate. Neurol Med Chir(Tokyo). 2001; 41(8):371-381. doi: 10.2176/ nmc.41.371
10. **Moon KS, Lee JK, Kim TS, et al.** Contralateral acute subdural hematoma occurring after removal of calcified chronic subdural hematoma. Journal of Clinical Neuroscience. 2007; 14(3): 283-286. doi: 10.1016/ j.jocn.2005.11.016

XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN RB1 TRÊN BỆNH NHÂN U NGUYÊN BÀO VÕNG MẠC BẰNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ GEN

Nguyễn Ngọc Chung[1], Phạm Trọng Văn[2], Trần Huy Thịnh[2], Trần Vân Khánh[2]

TÓM TẮT

Mục tiêu: xác định đột biến gen RB1 trên bệnh nhân u nguyên bào võng mạc và phân bố các đột biến trên toàn bộ chiều dài gen bằng phương pháp giải trình tự gen. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 43 bệnh nhân được chẩn đoán xác định u nguyên bào võng mạc tại Bệnh viện Mắt và Bệnh viện Nhi trung ương. Bệnh nhân được lấy máu ngoại vi và làm giải trình tự gen RB1 sau đó so sánh với GenBank để xác định các đột biến gen RB1. **Kết quả:** Tỷ lệ đột biến gen là 55,8% , trong đó đột biến vô nghĩa là 12,50%, đột biến lệch khung dịch mã 29,20 %, đột biến sai nghĩa 20,80%, đột biến tại vị trí nối exon-intron là 37,5%, có tất cả 17 đột biến trong số các đột biến đã được phát hiện: 10 đột biến đã được công bố trong ngân hàng dữ liệu GeneBank và LOVD, 07 đột biến mới chưa được công bố trên các tài liệu quốc tế bao gồm. Xác định 5 đột biến trên 5 Intron và 12 đột biến khác nhau trải dài trên 11 exon có đột biến gen RB. **Kết luận**: giải trình tự gen là phương pháp hiện đại xác định đột biến gen RB1 giúp cho chẩn đoán sớm và tư vấn di truyền cho người bệnh cũng như thân nhân được chính xác và dự phòng mang gen bệnh cho thế hệ sau. ***Từ khóa:*** U nguyên bào võng mạc, gen RB1, đột biến gen

[1]*Bệnh viện Nhi trung ương*
[2]*Trường Đại học Y Hà Nội*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Ngọc Chung
Email: chungviennhi@yahoo.com

Ngày nhận bài: 6.9.2023
Ngày phản biện khoa học: 18.10.2023
Ngày duyệt bài: 9.11.2023

SUMMARY

DENTIFYING RB1 GENE MUTATION IN PATIENTS WITH RETINOBLASTOMA USED DIRECT SEQUENCING METHORD

Objective: identifying RB1 gene mutations in retinoblastoma patients and distribute mutations across the entire gene length by gene sequencing method. **Subjects and research methods**: 43 patients were diagnosed with retinoblastoma at the National Eye Hospital and National Children's Hospital. PCR and direct sequencing were used to identify mutation in RB1 geneand then compared with GenBank. **Results**: The rate of gene mutations is 55.8%, of which nonsense mutations are 12.50%, translation frameshift mutations are 29.20%, missense mutations are 20.80%, and site mutations Exon-intron splicing is 37.5%, there are a total of 17 mutations among the discovered mutations: 10 mutations have been published in GeneBank and LOVD data banks, 07 new mutations have not been published. Published on international documents included. Identified 5 mutations on 5 Introns and 12 different mutations spanning 11 exons with RB1 gene mutations.**Conclusions:** Gene sequencing is a modern method to identify mutations in the RB1 gene, helping to accurately diagnose and provide genetic counseling to patients and their relatives, and to prevent carrying the disease gene to the next generation. ***Keywords:*** Retinoblastoma, RB1 gene, gene mutation

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U nguyên bào võng mạc (UNBVM) là một bệnh lý ác tính nội nhãn gặp ở trẻ nhỏ sau sinh, với tần suất thường gặp từ 1/15.000-1/18.000 trong số trẻ được sinh ra. Bệnh do đột biến ở gen RB1 trên nhiễm sắc thể 13 gây nên. Khi gen RB1 bị đột biến, sản phẩm của gen là protein RB bị mất chức năng kiềm chế khối u làm cho các tế bào cảm quang võng mạc tăng sinh mất kiểm soát và tạo thành khối u.Việc chẩn đoán sớm UNBVM có vai trò quan trọng trong việc điều trị, tiên lượng giúp có thể bảo tồn mắt bị bệnh và tăng khả năng sống của bệnh nhân. Nếu phát hiện muộn bệnh thường để lại nhiều biến chứng về mắt, phần lớn bệnh đã lan rộng xâm lấn vào hốc mắt hay di căn, phải loại bỏ nhãn cầu, nạo vét hốc mắt, làm mất thị lực và đe dọa đến tính mạng của trẻ. Nếu trẻ không tử vong thì xương mặt trẻ cũng bị biến dạng ảnh hưởng đến tinh thần và chất lượng cuộc sống của trẻ [1], [7]

Các nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng u nguyên bào võng mạc do đột biến bất hoạt cả 2 bản sao của gen RB1. Khoảng 40% các trường hợp u nguyên bào võng mạc nguyên nhân do di truyền, kiểu di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, tuy nhiên có đặc điểm giống như là một gen trội, bởi vì các đột biến gen RB1ở các cá thể mang đột biến dị hợp tử sẽ bị mất alen thứ hai và phát triển thành u nguyên bào võng mạc; khoảng 60% các trường hợp còn lại là dạng ngẫu nhiên, không có tính chất di truyền gia đình, chỉ phát hiện đột biến trên mẫu mô u nguyên bào võng mạc [1- 7] Tỷ lệ phát hiện các đột biến trên mẫu khối u tại mắt 94,9%, trong khi tỷ lệ phát hiện đột biến trên mẫu máu thấp hơn chỉ từ 45%- 84,7% tùy nghiên cứu và có sự phối hợp nhiều phương pháp xác định đột biến gen RB1[3-9]. Cho đến nay, đã có hàng nghìn đột biến gen RB1 khác nhau được phát hiện ở bệnh nhân u nguyên bào võng mạc và đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu đột biến gen RB1(RB1 GeneMutation Database. Trên thế giới đã công bố nhiều báo cáo nghiên cứu xác định các đột biến gen RB1, là cơ sở dữ liệu quan trọng cho tư vấn di truyền và cho biết đặc điểm giữa mối quan hệ kiểu gen và kiểu hình của bệnh [9]

Tại Việt Nam, các nghiên cứu sinh học phân tử và di truyền liên quan đến u nguyên bào võng mạc còn rất ít, chủ yếu là các nghiên cứu về lĩnh vực lâm sàng nên số lượng nghiên cứu về đột biến gen liên quan tới u nguyên bào võng mạc còn chưa nhiều, thông tin còn hạn chế. Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: *"Xác định đột biến gen trên bệnh nhân u nguyên bào võng mạc bằng kỹ thuật giải trình tự gen".*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 43 bệnh nhân được chẩn đoán UNBVM tại Bệnh viện Mắt trung ương và bệnh viện Nhi trung ương dựa trên lâm sàng và chẩn đoán hình ảnh hoặc có kết quả giải phẫu bệnh trên bệnh nhân cắt bỏ nhãn cầu được chẩn đoán xác định bệnh, bệnh nhân và gia đình đồng ý tham gia nghiên cứu. Xác định đột biến gen RB1 tại Trung tâm Gen và Protein, Trường Đại học Y Hà Nội

Tiêu chuẩn loại trừ: gia đình bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tảcắt ngang.

Cỡ mẫu nghiên cứu: cỡ mẫu thuận tiện

Nội dung nghiên cứu: xác định tỷ lệ đột biến gen RB1, vị trí đột biến và phân bố đột biến trên gen RB1 bằng phương pháp giải trình tự gen

Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:

- Lấy mẫu bệnh phẩm: 2ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA

- Tách chiết DNA từ máu ngoại vi: DNA tổng số được tách chiết từ máu toàn phần bằng phenol-chloroform-isopropanol (25:24:1).

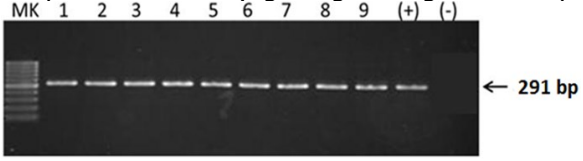
- Kỹ thuật PCR: PCR được sử dụng để khuếch đại gen RB1 với các cặp mồi được thiết kế. Thành phần phản ứng PCR (thể tích 20µl)

gồm: nước cất PCR 11,9µl; buffer 10X 2,0µl; 2,5mM dNTP, 0,5µM mồi xuôi và ngược, 0,5U Taq polymerase, 3,0µl DNA.Chu trình nhiệt của phản ứng PCR.

- Kỹ thuật giải trình tự gen: các sản phẩm PCR sẽ được tiến hành giải trình tự trực tiếp trên máy ABI 3100 Genetic Analyzer. Kết quả được thu thập và xử lý bằng phần mềm ABI PRISM TM 3100 – Avant Data Collection, DNA Sequencing Analysis 5.2 và BLAST NCBI. Trình tự được so sánh trên ngân hàng gen: DNA (NG_009009.1) bằng phần mềm CLC.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kiểm tra chất lượng của sản phẩm PCR của gen RB1. Sử dụng cặp mồi đặc hiệu cho toàn bộ 27 exon gen RB1 để khuyếch đại DNA từ mẫu máu của bệnh nhân. Kích thước các sản phẩm PCR dao động trong khoảng 250-550 bp



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR exon 10 của gen RB1

(+) mẫu đối chứng dương; (-) mẫu chứng âm; (1-9) mẫu bệnh nhân; (MK) Marker Φ174.

Sản phẩm PCR thu được chỉ có 1 băng đặc hiệu, rõ nét, kích thước 291 bp không có sản phẩm phụ. Sản phẩm khuếch đại PCR đảm bảo cho phản ứng giải trình tự tiếp theo để phát hiện đột biến điểm.

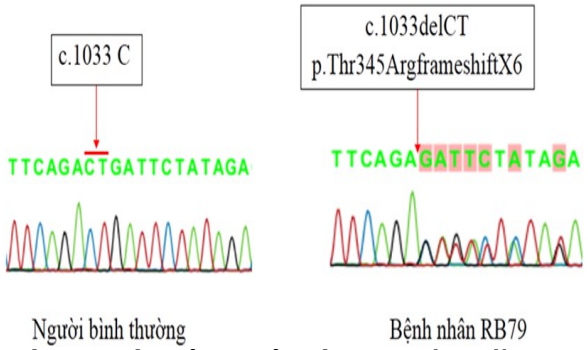
3.2. Kết quả xác định đột biến gen RB1

Sản phẩm PCR được giải trình tự gen để xác định đột biến, kết quả cho thấy có 24/43 (58%) trường hợp phát hiện có đột biến gen RB1. Trong số các đột biến đã được phát hiện có 10 đột biến đã được công bố trong ngân hàng dữ liệu GeneBank và LOVD: c.2664-10T>A, c.861G>A, c.2211+1G>A, c.265-1G>T, c.1333-2A>G, c.2520+1_2520+4del, p.Trp99X, p.Ile124Argfs*6, p.Val714*, p.Tyr651X. Còn lại có 07 đột biến mới chưa được công bố trên các tài liệu quốc tế: bao gồm 04 đột biến lệch khung dịch mã: p.Thy345Argfs*6, p.Pro232S erfs*8, p.893Glyfs24*, c.1312delT, 03 đột biến sai nghĩa: p.Trp681Cys, p.Phe162Tyr, p.Ser402Thr

Bảng 1: Kết quả phát hiện đột biến trên các bệnh nhân u nguyên bào võng mạc

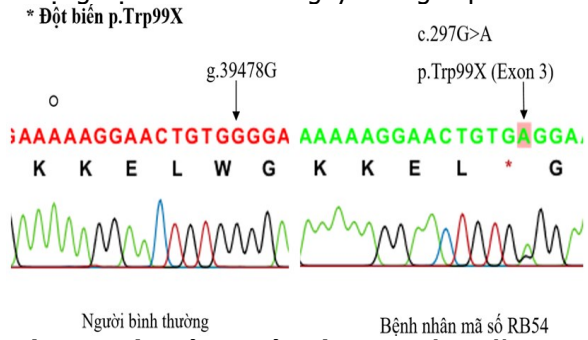
STT	Mã BN	Thay đổi nucleotid	Thay đổi c.DNA	Thay đổi proteinRB	Thể đột biến	Exon/ intron
1	RB5	g.59793G>A	c.861G>A	Variant	Dị hợp tử	Ex8
2	RB6	g.70318 T>A	c.1204T>A	p.Ser402Thr	Dị hợp tử	Ex12
3	RB8	g.160835G>A	c.2211+1G>A	p.I703_E737del	Dị hợp tử	In21
4	RB10	g.174351T>A	c.2664-10T>A	Variant	Đồng hợp tử	In25
5	RB11	g.174351T>A	c.2664-10T>A	Variant	Đồng hợp tử	In25
6	RB29	g.156775G>T	c.2041G>T	p.Trp681Cys	Dị hợp tử	Ex20
7	RB31	g.70318T>A	c.1204T>A	p.Ser402Thr	Dị hợp tử	Ex12
8	RB50	g.56938-56939insT	c.693-694insT	p.Pro232Serfs*8	Dị hợp tử	Ex7
9	RB51	g.42030T>A	c.485T>A	p.Phe162Tyr	Dị hợp tử	Ex4
10	RB54	g.39478G>A	c.297G>A	p.Trp99X	Dị hợp tử	Ex3
11	RB55	g.76428A>G	c.1333-2A>G	altered splicing	Dị hợp tử	In13
12	RB57	g.39552_39553delTA	c.371_372del	p.Ile124Argfs*6	Dị hợp tử	Ex3
13	RB59	g.39445 G>T	c.265- 1G>T	altered splicing	Dị hợp tử	In2
14	RB61	g.170403-170406Del 4TGAG	c.2520+1_2520+4del	DV	Dị hợp tử	In24
15	RB62	g.39552-39553 Del TA	c.371_372del	p.Ile124Argfs*6	Dị hợp tử	Ex3
16	RB65	g.153346T>A.	c.1953T>A	p.Tyr651X	Dị hợp tử	Ex19
17	RB66	g.174375insT	c.2677insT	p.893Glyfs24*	Dị hợp tử	E26
18	RB69	g.70318T>A	c.1204T>A	p.Ser402Thr	Dị hợp tử	Ex12
19	RB70	g.160762DelA	c.2139del	p.Val714*	Dị hợp tử	Ex21
20	RB71	g.153346T>A.	c.1953T>A	p.Tyr651X	Dị hợp tử	Ex19
21	RB75	g.174351T>A	c.2664-10T>A	Variant	Đồng hợp tử	In25
22	RB76	g.73849delT	c.1312delT	frameshift	Dị hợp tử	Ex13
23	RB78	g.174351T>A	c.2664- 10T>A	Variant	Đồng hợp tử	In25
24	RB79	g.64424delCT	c.1033delCT	p.Thy345Argfs*6	Dị hợp tử	Ex10

Hình ảnh kết quả giải trình tự gen của các bệnh nhân u nguyên bào võng mạc có đột biến



Hình 2. Hình ảnh giải trình tự đột biến exon 10của bệnh nhân mã số RB79

Kết quả giải trình tự trên exon 10 của bệnh nhân RB79 cho thấy có đột biến dị hợp tử c.1033delCT làm mất 2 nucleotid C và T. Đột biến tại vị trí này làm thay đổi acid amin thứ 345 từ Threonin thành Arginin dẫn tới tạo mã kết thúc sớm (stop codon) sau 6 codon kế tiếp, đây là dạng đột biến cấu trúc gây cắt ngắn proteinRB



Hình 3. Hình ảnh giải trình tự đột biến exon 3 của bệnh nhân mã số RB54

Giải trình tự exon 3 của gen RB1 phát hiện bệnh nhân mã số RB54 có đột biến dị hợp tử thay thế nucleotid G thành A ở vị trí 297 trên trình tự cDNA dẫn đến bộ ba thứ 99 TGG mã hóa Triptophan chuyển thành mã kết thúc sớm TGA (X). Bởi vậy đột biến này làm cho pRB thay vì có 928 axit amin thì chỉ còn 99 axit amin, đây là dạng đột biến cấu trúc gây cắt ngắn proteinRB

IV. BÀN LUẬN

4.1. Xác định đột biến gen RB1. U nguyên bào võng mạc là một bệnh lý ác tính tuy nhiên phát hiện sớm và điều trị kịp thời thì tỷ lệ sống từ 88%- 95% ở các nước phát triển. Tuy nhiên nếu phát hiện và điều trị thì bệnh thường để lại nhiều biến chứng về mắt, khi bệnh đã lan rộng hay di căn, phải loại bỏ nhãn cầu, nạo vét hốc mắt, làm mất thị lực và đe dọa đến tính mạng của trẻ. Nếu không tử vong, xương mặt trẻ cũng bị biến dạng ảnh hưởng đến tinh thần và chất lượng cuộc sống của trẻ. Tại Việt Nam cũng như nhiều quốc gia đang phát triển khác, phần các bệnh nhân đều đến khám muộn với tình trạng biến chứng phải khoét bỏ nhãn cầu và tiên lượng tử vong cao gây hậu quả nặng nề cho gia đình và xã hội. Việc phát hiện ra đột biến gen RB1 là nguyên nhân gây ung thư võng mạc là cơ sở cho việc phát triển và triển khai các kỹ thuật sinh học phân tử phục vụ cho chẩn đoán trước sinh, đồng thời quản lý tốt những người mang gen bệnh nhằm giảm tỷ lệ mù lòa và thương tật ở trẻ.

Các nghiên cứu về các đột biến gene cũng đã và đang được tiến hành, cung cấp những thông tin dữ liệu cho ngân hàng gene RB1 (http://rb1-lsdb.d-lohmann.de/). Các nghiên cứu đã công bố có trên 900 đột biến gen RB1 là cơ sở dữ liệu quan trọng cho tư vấn di truyền và cho biết đặc điểm giữa mối quan hệ kiểu gen và kiểu hình của bệnh. Gần 40% đột biến gen RB1 tái diễn và tập trung tại 16 điểm bao gồm 12 đột biến vô nghĩa (nonsense), 02 đột biến sai nghĩa (missense), 03 đột biến vị trí nối (splicing). Những đột biến còn lại nằm rải rác dọc gen RB1 và tỷ lệ gặp cao nhất ở các exon 9, 10, 14, 17, 18, 20 và 23 [9].Vì vậy nghiên cứu của chúng tôi phát hiện đột biến chiếm 54, 8%, tương đương với một số nghiên cứu ở các quốc gia như Đức, Tây Ban Nha, Pháp, một số nghiên cứu khác. Tỷ lệ thấp hơn các nghiên cứu có phối hợp thêm phương pháp xét nghiệm để chẩn đoán như MLPA..[1-6]

Bảng 2. Tỷ lệ phát hiện đột biến trên gen RB1 ở một số nghiên cứu

Quốc gia	Tác giả/Năm công bố	Phương pháp nghiên cứu	Cỡ mẫu	Tỷ lệ đột biến
Đức	Lohmann D (1996) [5]	SSCP, giải trình tự	71	72%
Tây Ban Nha	Alonso J (2001)[1]	Giải trình tự, RT-PCR	43	67%
Tây Ban Nha, Colombia, Cuba	Alonso J (2005)[2]	Giải trình tự, Microsatellite	107	50%
Châu Âu, Bắc Mỹ	Rushlow D (2009)[6]	QM-PCR, giải trình tự	1020	49%
Thụy Sỹ	Abouzeid H (2009)[3]	DHPLC, giải trình tự	65	45%
Ấn Độ	Parsam VL (2009)[8]	QM-PCR, giải trình tự	74	66%

Nghiên cứu có 24 bệnh nhân được phát hiện đột biến trong số 43 bệnh nhân (55,8%). 24 bệnh nhân mang đột biến trong đó có đột biến tại Intron 25 là c.2664-10T>A là chiếm tỷ lệ cao nhất sau đó là đột biến p.Ser402Thr, p.Ile124Argfs*6, p.Trp99X, p.Tyr651X, c.1333-

2A>G… Các đột biến này được đối chiếu với trình tự chuẩn trên GeneBank và tham khảo cơ sở dữ liệu rb1-lovd.d-lohmann.de, phần mềm Mutation Taster, phần mềm Polyphen-2

Tỷ lệ đột biến phát hiện được đã được báo cáo trong các nghiên cứu trên thế giới dao động tử 45% đến 72% (Bảng 2), tuy nhiên còn phụ thuộc vào các xét nghiệm được phối hợp để tăng tỷ lệ phát hiện được đột biến gen RB1 của từng nghiên cứu, số mẫu nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương với kết quả nghiên cứu trên 1020 bệnh nhân UNBVM tại Châu Âu, Bắc Mỹ và châu Á (49%)[6], hay tương tự như tỷ lệ đột biến phát hiện ở 192 bệnh nhân UNBVM tại Pháp (46%) của Houdayer và tương đương tỷ lệ phát hiện đột biến gen RB1 tại Đức của Lohmann D.Tại châu Á tỷ lệ đột biến trong nghiên cứu của chúng tôi tháp hơn nghiên cứu của nhóm tác giả Ấn Độ [8]

Tỷ lệ đột biến trong UNBVM dao động có thể được giải thích là do trong các nghiên cứu sử dụng đa dạng các phương pháp khác nhau và cỡ mẫu nghiên cứu xác định các đột biến. Hệ thống quản lý chất lượng di truyền phân tử châu Âu (European Molecular Genetics Quality Network: EMQN) kiến nghị nên kết hợp hai hoặc nhiều hơn các phương pháp khác nhau để tăng tỷ lệ phát hiện các đột biến RB,.

4.2. Phân bố các đột biến trên toàn bộ gen RB1. Nghiên cứu phát hiện thấy 12 đột biến khác nhau trên 11 exon của gen RB1, chiếm tỷ lệ 70,59%. Đột biến trên intron chiếm tỷ lệ thấp hơn (29,41%) với 5 đột biến khác nhau trên 5 vùng Intron.Trong nghiên cứu của chúng tôi các đột biến khác nhau đã được phát hiện và được đối chiếu với trình tự chuẩn trên GenBank và tham khảo cơ sở dữ liệu UNBVM. Đã phát hiện được các đột biến trải dài trên toàn bộ gen RB1 ở vùng exon 3, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 19, 20, 21, 24 và intron 2, 12, 13, 21, 24, 25.

Các dạng đột biến đã được phát hiện trên gen RB1 ở 43 bệnh nhân UNBVM Việt Nam bao gồm: đột biến vô lệch khung dịch mã, đột biến sai nghĩa, đột biến vô nghĩa, đột biến vị trí nối exon-intron làm ảnh hưởng đến quá trình cắt nối.

Thống kê từ các nghiên cứu trên thế giới đượcValverde và cộng sự cập nhật vào năm 2005 có 932 báo cáo đột biến gây bệnh, trong đó đột biến vô nghĩa có tỷ lệ cao nhất chiếm 42,4%, và đột biến gây lệch khung dịch mã chiếm 27,3%, hai đột biến này (gây cắt ngắn pRB làm cho pRB mất chức năng) gặp nhiều nhất, các đột biến tại vị trí nối exon-intron làm ảnh hưởng tới quá trình cắt nối ARN thông tin chiếm 20,8% và đột biến sai nghĩa chiếm 8,7%[9]. Với phổ đột biến trên các exon có tỉ lệ đột biến cao là các exon: 9, 10, 14, 17, 18, 20 và 23. Trong đó exon có tỉ lệ cao nhất là exon 17 còn exon 14 có tỉ lệ đột biến thấp hơn.

Gần 40% đột biến gen RB1 lặp lại và tập trung ở 16 điểm, bao gồm 12 đột biến vô nghĩa, 2 đột biến sai nghĩa và 2 đột biến tại khớp nối exon- intron. Các đột biến còn lại nằm rải rác trên toàn bộ gen RB1, thường xuyên nhất trong exon 9, 10, 14, 17, 18, 20 và 23. [9]

Theo thống kê tại ngân hàng dữ liệu về bệnh UNBVM cho tới thời điểm hiện tại có 3390 đột biến trên toàn bộ gen RB1 đã được báo cáo trên toàn thế giới bao gồm: đột biến thay thế nucleotid, đột biến lặp đoạn, đột biến chèn nucleotid, đột biến chèn thêm đoạn, đột biến xóa đoạn, đột biến thêm/mất nucleotid (đột biến vô nghĩa, đột biến sai nghĩa, đột biến lệch khung dịch mã, đột biến tại khớp nối exon- intron, đột biến xóa nucleotid). Các đột biến này vẫn hay gặp trên các exon 9, 10, 14, 17, 18, 20 và 23.

Tỉ lệ phát hiện đột biến trên các vùng Exon trọng điểm ở các nước khác nhau là khác nhau. Ngoài ra trong nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện đột biến trọng điểm trên 4 exon bao gồm: 8, 12, 13, 20.

Valvedre và cộng sự đã tổng kết đột biến gen RB1 trên 932 báo cáo khác nhau và tổng kết kết quả đã chỉ ra intron 6, 12, 16, 17, 19 và 24 có tỉ lệ đột biến cao.Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi gặp ở các Intron 2, 12, 13, 21, 25, các đột biến trên intron ảnh hưởng đến quá trình cắt nối tạo ARN thông tin hoàn chỉnh (đột biến tại vị trí nối) chiếm tỉ lệ 37,5%, tiếp theo là đột biến lệch khung dịch mã (chiếm tỉ lệ 29,2%), đột biến sai nghĩa chiếm 20,8%, đột biến vô nghĩa chiếm 12,5% [9].Sự khác biệt này có thể do khác biệt về cấu trúc di truyền của các quần thể khác nhau có đặc điểm đột biến và phân bố đột biến khác nhau và có thể do cỡ mẫu nghiên cứu chưa đủ lớn

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu phát hiện 24 bệnh nhân có đột biến gen RB1, tỷ lệ 55,8%. Đột biến vô nghĩa: 12,50%, lệch khung dịch mã: 29,20%, sai nghĩa: 20,80%, đột biến tại vị trí nối exon- intron là 37,5%.

Nghiên cứu xác định có tất cả 17 đột biến trong số các đột biến đã được phát hiện: 10 đột biến đã được công bố trong ngân hàng dữ liệu GeneBank và LOVD bao gồm: c.2664-10T>A,

c.861G>A, c.2211+1G>A, c.265-1G>T, c.1333-2A>G, c.2520+1_2520+4del, p.Trp99X, p.Ile124Argfs*6, p.Val714*, p.Tyr651X. 07 đột biến mới chưa được công bố trên các tài liệu quốc tế bao gồm: 04 đột biến lệch khung dịch mã: p.Thy345Argfs*6, p.Pro232Serfs*8, p.893Glyfs24*,c.1312delT, và 03 đột biến sai nghĩa: p.Trp681Cys, p.Phe162Tyr, p.Ser402Thr.

Xác định 5 đột biến trên 5 Intron và 12 đột biến khác nhau trải dài trên 11 exon có đột biến gen RB1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Alonso J, García-Miguel P, Abelairas J, et al (2001).** Spectrum of germline RB1 gene mutations in Spanish retinoblastoma patients: Phenotypic and molecular epidemiological implications. Hum Mutat. 17, 412-22
2. **Alonso J, Frayle H, Menéndez I et al (2005).** Indentification of 26 new constititional RB1 gene mutationsin Spanish, Colombian, and Cuban retinoblastoma patients. Hum Mutat. 25, 99.
3. **Abouzeid H, Schorderet DF, Balmer A et al (2009).** Germline mutation in retinoma patients: relevance to low-penetrance and low-expressivity molecular basis. Mol Vis. 15, 771-777
4. **Houdayer C, Gauthier-Villars M, Lauges A et al (2004).** Comperehensive screening for constitutional RB1 mutations by DHPLC and QMPSF. Hum Mutat. 23, 193-202
5. **Lohmann D.R, Brandt B, Hopping W et al (1996).** The spectrum of RB1 germ-line mutations in hereditary retinoblastoma. Am J Hum Genet, 58, 940-949.
6. **Rushlow D, Piovesan B, Zhang K et al (2009).** Detection of mosaic RB1 mutations in families with retinoblastoma. Hum Mutat. 30, 842-851.
7. **Mallipatna A, Marino M, Singh AD (2016).** Genetics of Retinoblastoma. Asia Pac J Ophthalmol (Phila). 5(4),260-264
8. **Parsam VL, Kannabrian C, Honavar S et al (2009).** A comprehensive, sensitive and economical approach for detection of mutations in RB1 gene in retinoblastoma. J Genet. 88, 517-527.
9. **Valverde J.R., Alonso J., et al. (2005).** RB1 gene mutation up-date, a meta analysis based on 932 reported mutations available in a searchable database.BMC Genet. 6: p. 53.

U LYMPHO KHÔNG HODGKIN TỔ CHỨC HỐC MẮT: BÁO CÁO CA BỆNH

Phùng Thị Thúy Hằng[1], Lê Việt Sơn[1], Nguyễn Thị Thanh Tâm[1], Hàn Viết Trung[1], Lê Thị Thanh Vui[1], Ngô Thị Khánh Huyền[1] Hoàng Trường Sơn[2], Nguyễn Văn Trường[2], Bùi Văn San[2]

TÓM TẮT

U lympho không Hodgkin là bệnh lý ác tính phổ biến nhất của máu, chiếm gần 3% tổng số ca bệnh ung thư trên toàn cầu, với khả năng mắc suốt đời khoảng 0,72% với nam và 0,35% với nữ.[1] U lympho hốc mắt là trường hợp hiếm gặp của biểu hiện khối u ngoại hạch của u lympho, với triệu chứng không điển hình, bệnh lý rất dễ bị chẩn đoán nhầm và điều trị muộn. Trong quá trình điều trị chúng tôi có ghi nhận một trường hợp bệnh nhân nữ 38 tuổi biểu hiện các triệu chứng ở mắt, tai mũi họng. Diễn biến bệnh qua nhiều giai đoạn tiến triển và bước đầu đáp ứng điều trị tại Trung tâm huyết học, Bệnh viện Bạch Mai.

Từ khoá: U lympho không Hodgkin, U lympho hốc mắt

SUMMARY

OCULAR ADNEXAL NON-HODGKIN LYMPHOMA: A CASE REPORT

Non-Hodgkin lymphoma is the most common hematological malignancy, which accounts for almost 3% of all cancer diagnosis worldwide, with lifetime incidence of 0.72% for men and 0.35% for women. Ocular adnexal lymphoma is a rare manifestation of extranodal lymphoma, with atypical symptoms, this disease is easily misdiagnosed, leading to delayed treatment. During the course of treatment, we have recorded a case of a 38-year-old female patient presenting with symptoms in the eyes, ears, nose and throat. The disease progressed through many stages of progression and initially responded to treatment at the Hematology Center, Bach Mai Hospital.

Keywords: Non- Hodgkin Lymphoma, Ocular Adnexal Lymphoma

[1]Bệnh viện Bạch Mai
[2]Đại học Y Hà Nội
Chịu trách nhiệm chính: Phùng Thị Thúy Hằng
Email: phunghangbachmai@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.9.2023
Ngày phản biện khoa học: 19.10.2023
Ngày duyệt bài: 8.11.2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U lympho là một nhóm bệnh không đồng nhất liên quan đến tình trạng tăng sinh đơn dòng ác tính của các tế bào dòng lympho ở các vị trí mô lưới bạch huyết, bao gồm hạch bạch huyết, tủy xương, lách, gan và đường tiêu hóa. Nhóm bệnh lý này chiếm khoảng 5% tất cả các bệnh lý ác tính. U lympho được chia thành 2 nhóm lớn là: U lympho tế bào Hodgkin và U lympho không tế bào Hodgkin, trong đó u lympho không Hodgkin chiếm 85%.[2] U lympho không Hodgkin là