

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ ĐỘT BIẾN GEN RB1 Ở BỆNH NHÂN U NGUYÊN BÀO VĨNG MẠC MỘT MẮT

Đào Nguyễn Hà Linh¹, Nguyễn Văn Huy²
Phạm Trọng Văn¹ và Trần Văn Khánh^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Mắt Trung ương

U nguyên bào võng mạc (UNBVM), một bệnh ác tính nội nhãn thường được chẩn đoán ở trẻ em, phần lớn là do đột biến bất hoạt của cả hai alen của gen RB1. Chẩn đoán UNBVM chủ yếu dựa vào bệnh cảnh lâm sàng và cận lâm sàng. Đây là khối u không thể sinh thiết trước khi mổ cắt bỏ nhãn cầu do nguy cơ gây phát tán tế bào ác tính ra ngoài, do đó chẩn đoán hình ảnh và xét nghiệm di truyền có ý nghĩa quan trọng. Trong nghiên cứu này, 16 bệnh nhân bị bệnh một mắt cần cắt bỏ nhãn cầu cho thấy tuổi phát hiện trung bình là $26,3 \pm 18$ tháng. Triệu chứng đầu tiên hay gặp nhất là ánh đồng tử trắng với 81,3%. Đa số bệnh nhân mắc bệnh ở giai đoạn E (chiếm 93,7%) và có duy nhất 1 bệnh nhân có tiền sử gia đình (chiếm 6,3%). Tỷ lệ bệnh nhân bị bong võng mạc cao chiếm 56,3%. Nghiên cứu phát hiện 14 loại đột biến trên 12 bệnh nhân, trong đó có phát hiện cả đột biến trên exon (11/14) và đột biến vị trí cắt nối exon - intron (3/14). Trong 11 đột biến trên exon có 10 đột biến điểm (2 đột biến lệch khung, 7 đột biến tạo mã kết thúc và 1 đột biến sai nghĩa) và 1 đột biến mất đoạn lớn. Trong 14 loại đột biến, có 1 đột biến mới chưa được công bố.

Từ khóa: u nguyên bào võng mạc, gen RB1.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

U nguyên bào võng mạc (UNBVM) là một loại khối u võng mạc (retinoblastoma) ác tính. Đây là loại ung thư nội nhãn hay xuất hiện nhất ở trẻ em với tỷ lệ là 1/15.000 hay 1/18.000 trẻ sơ sinh còn sống. UNBVM chiếm 4% trong số các khối u ác tính ở trẻ em. Chẩn đoán UNBVM chủ yếu dựa vào bệnh cảnh lâm sàng (ánh đồng tử trắng, lác mắt, xuất huyết nội nhãn tự phát, lồi mắt hay sưng nề đau nhức mắt) và cận lâm sàng có hình ảnh u có calci hóa trên siêu âm hoặc cộng hưởng từ. Đây là khối u không thể sinh thiết trước khi mổ cắt bỏ nhãn cầu do nguy cơ gây phát tán tế bào ác tính ra ngoài, do đó việc khám sàng lọc và xét nghiệm di truyền

có ý nghĩa quan trọng.¹

UNBVM xảy ra khi đột biến bất hoạt cả hai alen của gen áp chế khối u *RB1*.² Bệnh di truyền trên nhiễm sắc thể thường, gây nên bởi đột biến gen *RB1*. *RB1* là gen áp chế khối u đầu tiên được tìm thấy, nằm tại vị trí 13q14.2, có kích thước DNA là 183 kb gồm 27 exon mã hóa 928 acid amin. Đến nay, hơn 1000 các biến thể khác nhau, nằm rải rác trên vùng promoter và toàn bộ 27 exon gen *RB1* đã được phát hiện ở bệnh nhân UNBVM và công bố trên ngân hàng dữ liệu các biến thể gen *RB1* bao gồm các đột biến điểm như đột biến tạo mã kết thúc, đột biến sai nghĩa, đột biến vị trí cắt nối intron-exon, đột biến lệch khung, và một phần nhỏ là đột biến mất đoạn lớn.^{3,4} Tỷ lệ phát hiện các đột biến trên mẫu mô ung thư là 94,9% trong khi tỷ lệ phát hiện đột biến trên mẫu máu chỉ là 42,4%; xác định đột biến soma trên mẫu mô ung thư là chỉ điểm để xác định đột biến tế bào mầm trên

Tác giả liên hệ: Trần Văn Khánh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 15/11/2022

Ngày được chấp nhận: 20/11/2022

mẫu máu.⁵

Khoảng 40% trường hợp RB là di truyền bao gồm tất cả bệnh nhân UNBVM hai mắt và 15% các trường hợp UNBVM một mắt. Trong khi 60% trường hợp còn lại là UNBVM không di truyền (85% UNBVM một mắt), xảy ra trong gia đình không có tiền sử mắc bệnh và gây ra bởi đột biến soma bất hoạt cả hai alen gen *RB1* xảy ra ở tế bào võng mạc trưởng thành. Ở Việt Nam, đối với bệnh UNBVM, cho đến nay các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, theo dõi và điều trị bệnh. Chẩn đoán bệnh và tư vấn di truyền đôi lúc còn gặp rất nhiều khó khăn do chưa áp dụng rộng rãi các xét nghiệm di truyền phân tử. Với nhóm bệnh nhân một mắt, các đột biến chủ yếu được phát hiện trên tế bào khối u trong khi thông tin về những đột biến này hầu như chưa được nghiên cứu tại Việt Nam. Nghiên cứu này được thực hiện với 2 mục tiêu: 1) Mô tả đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân u nguyên bào võng mạc một mắt. 2) Mô tả đặc điểm gen đột biến *RB1* ở bệnh nhân u nguyên bào võng mạc một mắt.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn: 16 bệnh nhân có độ tuổi < 6 tuổi, được chẩn đoán lâm sàng UNBVM 1 mắt và có chỉ định phẫu thuật khoét nhãn cầu cắt thị thần kinh dài tại khoa Mắt trẻ em Bệnh viện Mắt Trung ương giai đoạn 2020 - 2022. Bệnh nhân được chẩn đoán giải phẫu bệnh là UNBVM. Các bệnh nhân được thu thập mẫu khối u nguyên bào võng mạc.

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân/gia đình bệnh không đồng ý được loại trừ khỏi nghiên cứu.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang.

Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:

- Tách chiết DNA: DNA được tách chiết từ khối u nguyên bào võng mạc bằng kit

The QIAamp DNA Mini Kit (hãng Qiagen - Đức), quy trình tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất, nồng độ và độ tinh sạch DNA được kiểm tra nhờ phương pháp quang phổ (OD 260/280).

- Kỹ thuật PCR khuếch đại 27 exon của gen *RB1* sử dụng các cặp mồi đã công bố của Hana Abouzeid và cộng sự [5] who were seen between March 2004 and January 2006 and to report undescribed retinoblastoma 1 (RB1 bằng bộ kit GoTaq® Hot Start Master Mixes - Promega.

- Kiểm tra kết quả PCR bằng điện di sản phẩm PCR trên gen agarose 1,5%.

- Phản ứng giải trình tự Sanger toàn bộ gen *RB1* sử dụng bộ kit BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI - Mỹ).

- Tinh sạch sản phẩm PCR sequencing bằng kit BigDye XTerminator™ Purification Kit (ABI - Mỹ).

- Điện di sản phẩm giải trình tự trên hệ thống phân tích di truyền ABI3500 (Applied Biosystem - Mỹ).

- So sánh kết quả gen *RB1* của bệnh nhân với trình tự chuẩn trên GeneBank (NG_009009) bằng phần mềm CLC main workbench để phát hiện các đột biến.

3. Đạo đức nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu được lấy khi bố mẹ bệnh nhân hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu và có quyền rút lui khỏi nghiên cứu khi không đồng ý tiếp tục tham gia vì bất kỳ lý do nào. Kết quả xét nghiệm gen sẽ được thông báo cho bố mẹ bệnh nhân để giúp cho các bác sỹ tư vấn điều trị và tư vấn di truyền. Các thông tin cá nhân sẽ được đảm bảo bí mật.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Giới nam, nữ có tỷ lệ lần lượt là 75% và 25% (không có ý nghĩa thống kê $p > 0,05$).

Tuổi phát hiện bệnh: 56,3% bệnh nhân được phát hiện ở lứa tuổi dưới 24 tháng và 43,6% bệnh nhân được phát hiện ở lứa tuổi trên 24 tháng. Tuổi phát hiện trung bình là $26,3 \pm 18,8$ tháng.

Dấu hiệu lâm sàng ở bệnh nhân UNBVM lần lượt là: ánh đồng tử trắng chiếm 81,3%, lác chiếm 12,5% và đỏ mắt chiếm 6,2%.

Giai đoạn bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 1 mắt (chiếm 6,3%) ở giai đoạn D, còn lại 15 mắt (chiếm 93,7%) ở giai đoạn E.

Tiền sử gia đình chỉ có 1 bệnh nhân (chiếm 6,3%) có anh trai bị bệnh đã mất, còn lại 15 bệnh nhân không có tiền sử gia đình.

Triệu chứng lâm sàng trong 16 mắt nghiên cứu của chúng tôi đều chỉ có 1 mắt có nhiều khối u, còn lại tất cả các mắt đều chỉ có 1 u duy nhất và chiếm gần toàn bộ nhãn cầu. Qua soi đáy mắt, chúng tôi nhận thấy có 1/16 bệnh

nhân có mắt bệnh bị xuất huyết dịch kính (chiếm 6,3%), 9/16 bệnh nhân có mắt bệnh bong võng mạc (chiếm 56,3%).

2. Kết quả xác định đột biến gen *RB1*

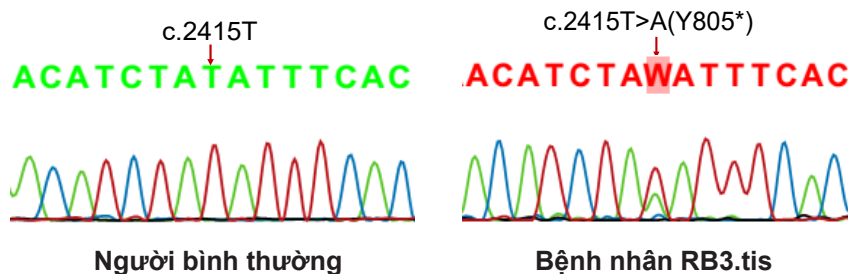
Nghiên cứu đã phát hiện được 12/16 (75%) bệnh nhân có đột biến trên gen *RB1*, với tổng số 14 loại đột biến, trong đó có phát hiện cả đột biến trên exon (11/14) và đột biến vị trí cắt nối exon - intron (3/14). Trong 11 đột biến trên exon có 10 đột biến điểm và 1 đột biến mất đoạn lớn (dị hợp EX18-23 DEL). Trong 10 đột biến điểm có 2 đột biến lệch khung, 7 đột biến tạo mã kết thúc và 1 đột biến sai nghĩa. Trong 12 bệnh nhân có tìm thấy đột biến, có 6 bệnh nhân mang đột biến đồng hợp tử, 5 bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử và đặc biệt có 1 bệnh nhân mang 2 loại đột biến: trong đó có 1 đột biến ở trạng thái đồng hợp tử và 1 đột biến ở trạng thái dị hợp tử.

Bảng 1. Kết quả đột biến đột biến gen *RB1* trên các bệnh nhân nghiên cứu

STT	Đột biến	Biến đổi acid amin	Vị trí	Mã số BN	Đồng hợp/ Dị hợp tử
Đột biến tạo mã kết thúc (nonsense)					
1	c.2415T>A	p.Tyr805*	Exon 23	Rb3	Dị hợp
2	c.1363C>T	p.Arg455*	Exon 14	Rb4	Đồng hợp
3	c.1333C>T	p.Arg445 *	Exon 14	Rb24, Rb58	Dị hợp
4	c.1654C>T	p.Arg552*	Exon17	Rb24 Rb45	Dị hợp Đồng hợp
5	c.1399C>T	p.Arg467*	Exon 15	Rb30	Đồng hợp
6	c.880A>T	p.Lys294*	Exon 9	Rb49	Dị hợp
7	c.341C>A	P.Ser114*	Exon 3	Rb52	Đồng hợp
Đột biến sai nghĩa(missense)					
1	c.1981C>T	p.Arg661Trp	Exon20	Rb22	Đồng hợp
Đột biến lệch khung (frameshift)					
1	c.1044delA	P.Ile348MetFs*19	Exon 10	Rb2	Đồng hợp
2	C2330delC	p.Pro777Leufs*19	Exon 23	Rb3	Dị hợp

STT	Đột biến	Biến đổi acid amin	Vị trí	Mã số BN	Đồng hợp/ Dị hợp tử
Đột biến vị trí cắt nối (splice)					
1	c.2520+5G>A	Mất các vị trí cắt nối intron-exon	Intron 24	Rb2	Dị hợp
2	c.1215+1G>A	Mất các vị trí cắt nối intron-exon	Intron 12	Rb32	Đồng hợp
3	c.1421+1_1421 +2delGT	Mất các vị trí cắt nối intron-exon	Intron 15i	Rb34	Dị hợp
Đột biến xóa đoạn lớn					
1	EX18-23 DEL			Rb65	Dị hợp

Hình ảnh minh họa bệnh nhân có đột biến tạo mã kết thúc sớm

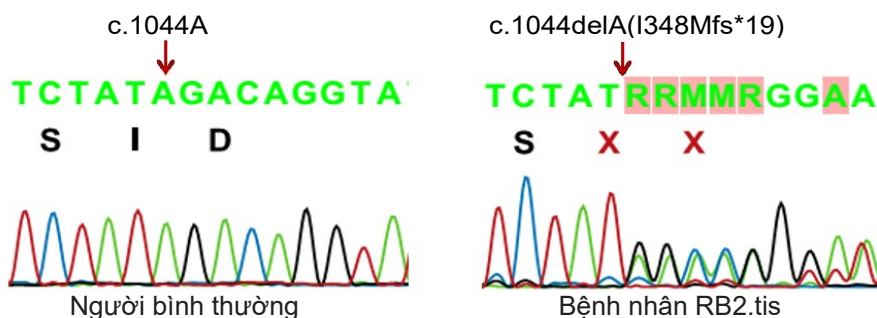


Hình 1. Hình ảnh bệnh nhân mã số RB3 có đột biến tạo mã kết thúc sớm c.2415T>A(Y805*)

Kết quả hình 1 cho thấy, tại vị trí c.2415 của gen *RB1* có trình tự là nucleotid T ở người bình thường đã được thay thế bằng nucleotid A ở bệnh nhân RB3, sự thay thế chỉ xảy ra trên 1 alen nên kết quả giải trình tự tại điểm này có 2 đỉnh chồng lên nhau. Đột biến thay thế dị hợp

từ A bằng T dẫn đến sự thay thế bộ ba TAT mã hoá tyrosine(Y) ở vị trí codon 805 bằng bộ ba kết thúc TAA.

Hình ảnh minh họa bệnh nhân có đột biến mất nucleotid A



Hình 2. Hình ảnh bệnh nhân mã số RB2 có đột biến mất nucleotid A

Kết quả hình 2 cho thấy, tại vị trí c.1044 của gen *RB1* ở bệnh nhân Rb2 mất một nucleotid A

so với người bình thường, dẫn đến tạo mã kết thúc sớm ở vị trí 348 (I348Mfs*19).

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu, bệnh nhân phát hiện bệnh ở lứa tuổi dưới 24 tháng chiếm tỉ lệ cao hơn (56,3%), phát hiện bệnh khi trên 24 tháng chiếm tỉ lệ thấp hơn (43,7%). Tuổi phát hiện bệnh trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi được p là $26,3 \pm 18,8$ tháng sớm hơn nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Chung (2018) với tuổi phát hiện bệnh trung bình ở nhóm một mắt là 32,86 tháng.⁶ Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi có tuổi phát hiện muộn hơn nghiên cứu của Tomar và cộng sự trên 59 bệnh nhân Singapor với tuổi phát hiện bệnh trung bình là $22,1 \pm 16,5$ tháng.⁵ Dấu hiệu lâm sàng ở bệnh nhân UNBVM lần lượt là: ánh đồng tử trắng chiếm 81,3%, lác chiếm 12,5% và đỏ mắt chiếm 6,2%. Nghiên cứu này tuy số lượng bệnh nhân ít nhưng cũng phù hợp với các nghiên cứu khác tại các nước đang phát triển như Ấn Độ với dấu hiệu ánh đồng tử trắng dao động từ 70 - 96%.⁷ Về giai đoạn bệnh, trong nghiên cứu của chúng tôi đa số là mắt bệnh ở giai đoạn E (chiếm 93,7%). Kết quả tương đồng với các nghiên cứu ở một số nước khu vực Đông Nam Á với nhóm D, E là hai nhóm giai đoạn muộn gặp > 60%. Nghiên cứu của tác giả Kalibi và cộng sự cho thấy 73% mắt khoét bỏ có khối u nhóm D, E.⁸ Cũng các tác giả này trong một nghiên cứu khác có 100% mắt bệnh cần khoét bỏ ở giai đoạn D, E.⁷ Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có 1 bệnh nhân (chiếm 6,3%) có tiền sử gia đình anh trai bị bệnh đã mất, còn lại 15 bệnh nhân không có tiền sử gia đình. Theo các nghiên cứu trên thế giới, bệnh nhân có tiền sử gia đình dao động chung từ 10 - 18,5%. Một nghiên cứu của Kalsoom (Parkistan) 5,7% có tiền sử gia đình ở nhóm bệnh nhân thể một mắt.⁹

Trong 16 mắt nghiên cứu của chúng tôi đều chỉ có 1 mắt có nhiều khối u. Theo nghiên cứu trên thế giới, những bệnh nhân bị UNBVM đa khối u thì thường có yếu tố di truyền. Tuy nhiên,

trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân có nhiều khối u trong mắt lại không có tiền sử gia đình mắc bệnh. Qua khám lâm sàng soi đáy mắt, chúng tôi nhận thấy có 56,3% mắt bệnh bị bong võng mạc. Điều này cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị bong võng mạc trong nhóm u nguyên bào võng mạc 1 mắt cần khoét bỏ là tương đối cao.

Nghiên cứu đã phát hiện 1 đột biến sai nghĩa tại vị trí 1981 trên cDNA của gen *RB1*. Dù đột biến sai nghĩa ít khi ảnh hưởng nhiều tới hoạt tính nhưng nếu xảy ra tại những vị trí quan trọng cũng có thể gây mất chức năng. Một đột biến thay thế nucleotid dạng đột biến sai nghĩa đã được tìm thấy là c.1981C>T(p.Arg661Trp) ở exon 20, đột biến này cũng đã được báo cáo ở nhiều bệnh nhân u nguyên bào võng mạc trên toàn thế giới, Whitaker LL và cộng sự đã chứng minh đột biến c.1981C>T(p.Arg661Trp) làm giảm hoạt động của protein RB1 gây nên bệnh lý u nguyên bào võng mạc.¹²

Các đột biến tạo mã kết thúc sớm là dạng đột biến gen *RB1* thường gặp nhất, đột biến làm thay thế nucleotid tạo nên bộ ba kết thúc sớm hay tín hiệu dừng dịch mã sớm dẫn đến hậu quả không tạo được sản phẩm protein RB1 hoặc tạo ra protein RB1 không có chức năng gây nên bệnh UNBVM.⁵ Điều này là phù hợp với kết quả của chúng tôi với tỷ lệ đột biến tạo mã kết thúc là 7/10 đột biến. Các đột biến lệch khung cũng được tìm thấy trong nhiều nghiên cứu và giống như đột biến vô nghĩa, các đột biến khung cũng ảnh hưởng lớn tới chức năng của protein gây mất hoạt tính. Những đột biến này sẽ gây lệch khung dịch mã ngay tại vị trí nucleotide bị mất và sẽ tạo nên một tín hiệu kết thúc sớm sau đó một hoặc một số acid amin vì vậy sẽ không tạo được protein RB1 hoặc tạo ra protein RB1 không có chức năng gây nên bệnh UNBVM. Không chỉ những đột biến ở exon mà các đột biến ở vị trí cắt nối intron cũng

có thể ảnh hưởng tới protein thông qua sai lệch các vị trí cắt nối trên mRNA. Nghiên cứu phát hiện 3 đột biến vị trí cắt nối: c.2520+5G>A; c.1215+1G>A; c.1421+1_1421+2delGT. Trong đó có 2 đột biến c.2520+5G>A; c.1215+1G>A đã được công bố gây bệnh và được mô tả trên ngân hàng dữ liệu biến thể gen RB1 (variant ID: 428703).¹⁰ Đột biến c.1421+1_1421+2delGT ở Exon 15i là một đột biến mới xác định được chạy thử trên MutationTaster (<https://www.mutationtaster.org/>) để quan sát ảnh hưởng của nó đối với protein RB. Điều này được dự đoán là dẫn đến sự thay đổi trong vị trí nối đã sử dụng, có khả năng làm xáo trộn mối nối bình thường, do đó, được kết luận là gây bệnh. Tuy nhiên, bệnh nhân RB34 được chẩn đoán mắc RB ở độ tuổi muộn hơn nhiều (72 tháng). Điều này có thể được giải thích là do nhận thức về RB ở Việt Nam tương đối thấp dẫn đến bệnh nhân đến khám muộn, hoặc đột biến này được di truyền dị hợp tử nên khối u này cần nhiều thời gian hơn để phát triển. Đột biến này dễ gây ra ung thư thì phải đột biến trên 2 alen, tuy nghiên cứu có 7/12 bệnh nhân có đột biến đồng hợp tử và 3 bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử kép và 2 bệnh nhân chỉ phát hiện 1 đột biến dị hợp tử (rb65 - het EX 18 - 23 DEL và rb27 - het c.880A>T). Có thể nghiên cứu này vẫn chưa tìm thấy đột biến còn lại.

Việc xác định đột biến tế bào soma trên mẫu mô ung thư là chỉ điểm cho việc xác định đột biến tế bào mầm trên mẫu máu ở các bệnh nhân U nguyên bào võng mạc, làm cơ sở để xác định được tình trạng mang gen trên các thành viên gia đình bệnh nhân. Việc này không chỉ giúp bác sĩ lâm sàng khẳng định chẩn đoán, lựa chọn phương pháp điều trị kịp thời, mà còn giúp tăng nhận thức về nguy cơ mắc để khám đáy mắt định kỳ ở những thành viên gia đình. Nó cũng là cơ sở để tư vấn di truyền, tư vấn trước hôn nhân, chẩn đoán trước sinh hay

trước làm tổ đối với những người mang gen nhóm bệnh lý này.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 16 bệnh nhân gồm 12 nam (75%), 4 nữ (25%). Tuổi phát hiện trung bình là $26,3 \pm 18$ tháng. Triệu chứng đầu tiên hay gặp nhất là ánh đồng tử trắng với 81,3%. 93,7% bệnh nhân mắc bệnh ở giai đoạn E và 6,3% ở giai đoạn D. 1 bệnh nhân có tiền sử gia đình (6,3%). 56,3% BN có bong võng mạc, 6,3% BN có xuất huyết dịch kính, 6,3% BN có khối u đa ổ.

Nghiên cứu đã phát hiện được 12/16 (75%) bệnh nhân có đột biến trên gen *RB1*, với tổng số 14 loại đột biến, trong đó có phát hiện cả đột biến trên exon (11/14) và đột biến vị trí cắt nối exon - intron (3/14). Trong 11 đột biến trên exon có 10 đột biến điểm (2 đột biến lệch khung, 7 đột biến tạo mã kết thúc và 1 đột biến sai nghĩa) và 1 đột biến mất đoạn lớn. Có 1 đột biến mới đã được phát hiện trong nghiên cứu.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí bởi Đề tài nghiên cứu Khoa học và công nghệ cấp Bộ Y tế “Nghiên cứu đặc điểm di truyền đột biến gen *RB1* trên bệnh nhân u nguyên bào võng mạc và các thành viên trong gia đình; Đề xuất quy trình xét nghiệm di truyền sàng lọc và chẩn đoán sớm” theo Quyết định số 2385/QĐ-BYT ngày 14/5/2021.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. American cancer society. Tests for Retinoblastoma. In: *Retinoblastoma Early Detection, Diagnosis, and Staging*. Published 2018. <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8800.00.pdf>.
2. Berry JL, Polski A, Cavenee WK, Dryja TP, Murphree AL, Gallie BL. The RB1 story: Characterization and cloning of the first tumor

suppressor gene. *Genes*. 2019;10(11):879. doi: 10.3390/genes10110879.

3. Dimaras H, Corson TW. Retinoblastoma, the visible CNS tumor: A review. *J Neurosci Res*. 2019;97(1):29-44. doi: 10.1002/jnr.24213.

4. Davies HR, Broad KD, Onadim Z, et al. Whole-genome sequencing of retinoblastoma reveals the diversity of rearrangements disrupting RB1 and uncovers a treatment-related mutational signature. *Cancers*. 2021;13(4):754. doi: 10.3390/cancers13040754.

5. Tomar S, Sethi R, Sundar G, Quah TC, Quah BL, Lai PS. Mutation spectrum of RB1 mutations in retinoblastoma cases from Singapore with implications for genetic management and counselling. *PloS One*. 2017;12(6):e0178776. doi: 10.1371/journal.pone.0178776.

6. Nguyễn Ngọc Chung. Nghiên cứu đột biến gen RB1 và mối liên quan đến đặc điểm lâm sàng trên bệnh nhân u nguyên bào võng mạc. Trường Đại học Y Hà Nội; 2018.

7. Kaliki S, Srinivasan V, Gupta A, Mishra DK, Naik MN. Clinical features predictive of high-risk retinoblastoma in 403 Asian Indian patients: A case-control study. *Ophthalmology*.

2015;122(6):1165-1172. doi: 10.1016/j.optha.2015.01.018.

8. Kaliki S, Patel A, Iram S, Palkonda VAR, Mohamed A, Ramappa G. Retinoblastoma in India: Clinical presentation and outcome in 1457 patients (2074 eyes). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(8):3341.

9. Kalsoom S, Wasim M, Afzal S, et al. Alterations in the RB1 gene in Pakistani patients with retinoblastoma using direct sequencing analysis. *Mol Vis*. 2015;21:1085.

10. ClinVar Miner. List of variants in gene RB1 reported as likely pathogenic. Accessed November 15, 2022. <https://clinvarminer.genetics.utah.edu/variants-by-gene/RB1/significance/likely%20pathogenic>.

11. Valverde JR, Alonso J, Palacios I, Pestaña A. RB1 gene mutation up-date, a meta-analysis based on 932 reported mutations available in a searchable database. *BMC Genet*. 2005;6:53. doi: 10.1186/1471-2156-6-53.

12. Whitaker LL, Su H, Baskaran R, Knudsen ES, Wang JYJ. Growth Suppression by an E2F-Binding-Defective Retinoblastoma Protein (RB): Contribution from the RB C Pocket. *Mol Cell Biol*. 1998;18(7):4032-4042.

Summary

CLINICAL CHARACTERISTICS AND MUTATIONS OF RB1 GENE IN UNILATERAL RETINOBLASTOMA PATIENTS

Retinoblastoma (RB), an intraocular malignancy commonly diagnosed in children, is largely due to inactivating mutations of both alleles of the *RB1* gene. Diagnosis of UNBVM is mainly based on clinical and subclinical conditions. This is a tumor that cannot be biopsied before enucleation due to the risk of spreading malignant cells, so imaging and genetic testing are important. In the research, 16 patients with unilateral retinoblastoma, the mean age of diagnosis was 26.3 ± 18 months. The most common first symptom was leukocoria (81.3%). The majority of patients had stage E disease (93.7%) and only 1 patient had a family history (6.3%). 56,3% patients with retinal detachment. 12/16 patients have mutations on the RB1 gene (75%), with a total of 14 different

mutations, including mutations on exon (11/14) and splice site mutations (3/14). In 11 exon mutations, there are 10 point mutations (2 frameshift mutations, 7 nonsense mutations and 1 missense mutation), 1 deleted mutation with 01 novel mutation that has not been reported before.

Keywords: retinoblastoma, RB1 gene mutation.