

MỨC ĐỘ MẤT ĐOẠN LỚN VÀ SỐ BẢN SAO DNA TY THỂ TRONG MÔ PHỔI CỦA BỆNH NHÂN MẮC BỆNH PHỔI KHÔNG UNG THƯ

Lê Lan Phương¹, Lê Thị Thanh Nhân^{1,2}, Hoàng Văn Sơn¹, Bùi Phương Thảo^{1,2},
Nguyễn Thị Tú Linh^{1,2}, Lê Trung Thọ³, Trịnh Hồng Thái^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu xác định mức độ mất đoạn lớn và số bản sao DNA ty thể (mtDNA) trong mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư nhằm đánh giá tình trạng mtDNA trong mô làm cơ sở ứng dụng trong chẩn đoán, đánh giá tiến triển và điều trị bệnh phổi ở Việt Nam. **Đối tượng và phương pháp:** Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao mtDNA được xác định trên 51 mẫu mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư bằng phương pháp PCR định lượng. Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao được so sánh giữa mẫu bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư với mẫu mô lân cận u của bệnh nhân mắc ung thư phổi không tế bào nhỏ. **Kết quả:** Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao DNA ty thể ở nhóm bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư thấp hơn so với mô lân cận u của nhóm bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ ($P < 0,05$). Ngoài ra, độ tuổi có tương quan âm với mức độ mất đoạn lớn trong mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư ($r = -0,3621$; $P = 0,0090$). **Kết luận:** Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao DNA ty thể có tiềm năng trở thành một dấu ấn sinh học giúp đánh giá, theo dõi tiến triển của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư trong nhóm bệnh nhân mắc bệnh phổi.

Từ khóa: Bệnh phổi không ung thư, mtDNA, mất đoạn lớn, số bản sao.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2020, số ca tử vong do bệnh phổi ở Việt Nam đạt 35.875 ca, chiếm 5,23% tổng số ca tử vong. Tỷ lệ tử vong theo độ tuổi là 34,16 trên 100.000 người dân và Việt Nam đứng thứ 39 trên thế giới về số ca tử vong do bệnh phổi [1]. Bệnh phổi có thể được chia thành hai nhóm: bệnh phổi không ung thư (BPKUT) và bệnh ung thư phổi (BUTP). BPKUT bao gồm nhóm bệnh chính là bệnh phổi tắc nghẽn, nhiễm trùng phổi/ bệnh phổi truyền nhiễm và bệnh phổi khác.

Phổi của động vật có vú gồm hơn bốn mươi loại tế bào khác nhau, khu trú theo vùng và không gian khắp cơ quan.

¹Khoa Sinh học, ²PTNTĐ Công nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN ³Bệnh viện Phổi Trung ương

Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Trịnh Hồng Thái

Tác giả liên hệ chính: **Trịnh Hồng Thái**

Email: thaith@vnu.edu.vn

Ngày nhận bài: 21/11/2022

Ngày phản biện: 08/3/2023

Ngày chấp nhận đăng: 30/3/2023

Chúng có diện tích bề mặt lớn và các tế bào phổi luôn tồn tại trong môi trường nhiều oxy nên phổi dễ bị tổn thương do stress oxy hóa [2]. Ở phổi, các loại tế bào khác nhau số lượng ty thể khác nhau. Về mặt chức năng, gần như mọi tế bào trong phổi phụ thuộc vào các hoạt động trao đổi chất của ty thể, đòi hỏi nguồn cung cấp năng lượng liên tục từ quá trình phosphoryl hóa oxy hóa mặc dù quá trình này tạo ra phần lớn các gốc tự do chứa oxy (ROS) [3]. Rối loạn chức năng ty thể là nguyên nhân trong nhiều bệnh phổi [4]. Từ đó cho thấy các dấu hiệu bất thường của ty thể đóng một vai trò quan trọng trong các bệnh này. Mặc dù vai trò gây bệnh của từng biến đổi ty thể trong phổi vẫn còn phức tạp, nhưng các dấu hiệu phân biệt chính xác của ty thể trong các loại tế bào phổi cụ thể có thể giúp làm sáng tỏ những thay đổi lâm sàng, xạ hình và bệnh lý liên quan đến từng bệnh. Do đó, ty thể có thể cung cấp các mục tiêu tiềm năng đầy hứa hẹn trong việc tìm kiếm các phương pháp chẩn đoán và điều trị mới trong các bệnh phổi [5].

Để thực hiện chức năng của mình, ty thể mang hệ gen riêng và độc lập với hệ gen nhân. Ở người, DNA ty thể (mtDNA) là một phân tử mạch kép, dạng vòng, dài 16,5 kb, gồm 37 gen mã hóa cho 2 phân tử rRNA (12S, 16S), 22 phân tử tRNA và 13 phân tử protein thuộc các phức hợp của chuỗi hô hấp nằm ở màng trong ty thể [6]. Do mtDNA thiếu các histon bảo vệ và cơ chế sửa chữa kém hiệu quả hơn so với DNA nhân, các đột biến có thể tích tụ trong vùng mã hóa và dễ gây ra hậu quả sinh học hơn [7]. Vậy nên, các phân tích về biến đổi mtDNA có thể được sử dụng như một dấu ấn sinh học để phát hiện sớm, theo dõi tiến triển bệnh và đáp ứng điều trị, hay dự đoán phân tầng bệnh nhân. Trên thực tế, rối loạn chức năng ty thể do ROS gây ra và biến đổi mtDNA như số bản sao hay các đoạn mtDNA bị hư hỏng có liên quan đến bệnh sinh của các bệnh thoái hóa phổi khác nhau, bệnh xơ hóa phổi và hình thành khối u ở phổi. Thay đổi số bản sao và mất đoạn lớn mtDNA là các biến đổi mtDNA thường gặp nhất và có liên quan đến nhiều bệnh nói chung và bệnh phổi nói riêng [4] [5] [7].

Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về mtDNA trong bệnh phổi nói chung, đặc biệt bệnh ung thư phổi. Tuy nhiên, ở Việt Nam nghiên cứu về mtDNA trong bệnh phổi còn ít được quan tâm, đáng chú ý là cho tới nay chưa có công bố nào về mtDNA trong bệnh phổi không ung thư. Vì vậy, chúng tôi tiến hành xác định mức độ mất đoạn lớn và số bản sao mtDNA trong mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư nhằm đánh giá tình trạng mtDNA trong mô, làm cơ sở cho việc nghiên cứu ứng dụng chúng trong chẩn đoán, đánh giá tiến triển và điều trị bệnh phổi ở Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Mẫu nghiên cứu bao gồm mẫu mô phổi của 51 bệnh nhân (BN) mắc bệnh phổi không ung thư (BPKUT) (gồm: bệnh

phổi tắc nghẽn, nhiễm trùng phổi/ bệnh phổi truyền nhiễm và bệnh phổi khác) và 60 mẫu mô bình thường (được lấy ở vùng lân cận u (LCU) cách khối u ít nhất 5 cm ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN)) đã được xác nhận bằng chẩn đoán mô bệnh học. Mẫu mô sử dụng trong nghiên cứu này do khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Phổi Trung ương cung cấp. Bệnh nhân tham gia lấy mẫu đã được biết về mục đích nghiên cứu và chấp thuận cho mẫu.

2.2. Tách chiết DNA tổng số

Sử dụng G-spin™ Total DNA Extraction Kit (iNtRON, Hàn Quốc) để tách chiết DNA tổng số từ mẫu mô theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ DNA tổng số sau tách được định lượng bằng cách đo ở bước sóng 260 nm (A260) bằng máy NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, Mỹ) và được kiểm tra thông qua điện di trên gel agarose 1%. DNA tổng số được bảo quản ở -20°C cho đến khi tiến hành các bước thí nghiệm tiếp theo.

2.3. Xác định mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA bằng PCR định lượng.

Phản ứng PCR định lượng được thực hiện nhằm xác định các đoạn DNA của gen *ND1* nằm trong vùng ít xảy ra mất đoạn (đại diện cho mtDNA), gen *ND4* nằm trong vùng hay xảy ra mất đoạn lớn của mtDNA và gen *HBB* đại diện cho DNA nhân [8]. Ba cặp mồi được thiết kế nhân các đoạn gen này có trình tự lần lượt là *ND1* (kích thước sản phẩm 115 bp): mồi xuôi 5'-AGTGGCTCCTTTAACCTCTC-3' và mồi ngược 5'-GGTTGGTCTCTGCTAGTGTG-3'; *ND4* (kích thước sản phẩm 128 bp): mồi xuôi 5'-CCTATTTAGCTTCCCCAA-3' và mồi ngược 5'-GTGATAGTGGTTCACTGGATAAGT-3'; *HBB* (kích thước sản phẩm 104 bp): mồi xuôi 5'-GGAGAAGTCTGCCGTTACTG-3' và mồi ngược 5'-CCTTAAACCTGTCTTGTAACCT-3' dựa vào trình tự chuẩn của mtDNA (mã số

NC_012920.1) và gen *HBB* (mã số NG_000007.3) trên NCBI.

Quá trình khuếch đại sử dụng SensiFAST™ SYBR® Lo-ROX Kit (Meridian Bioscience, Anh) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với thành phần khuôn DNA tổng số có nồng độ cuối là 0,5 ng/μL và thực hiện phân tích trên hệ thống máy qPCR – abcylerQ (AITbiotech, Singapore) với chu trình nhiệt như sau: giai đoạn khởi đầu (95°C, 2 phút); giai đoạn khuếch đại 40 chu kỳ (95°C, 5 giây; 60°C, 30 giây); giai đoạn nóng chảy (95°C, 1 phút; 60°C, 15 giây; 98°C, 5 giây).

Cường độ tín hiệu huỳnh quang được ghi nhận sau khi kết thúc một chu kỳ và được phân tích bằng phần mềm abCycler Q v1.6. Giá trị chu kỳ ngưỡng (Ct) thu được của mẫu nghiên cứu được sử dụng để tính toán mức độ mất đoạn và số bản sao tương đối của mtDNA.

Mức độ mất đoạn lớn mtDNA được tính toán theo công thức:

$$D = (1 - 2^{-(Ct_{ND4} - Ct_{ND1})}) * 100\% \quad [9].$$

Số bản sao mtDNA được tính toán theo công thức: $C = 2^{-(Ct_{HBB} - Ct_{ND1})}$ [10].

2.4. Xử lý số liệu và phân tích thống kê

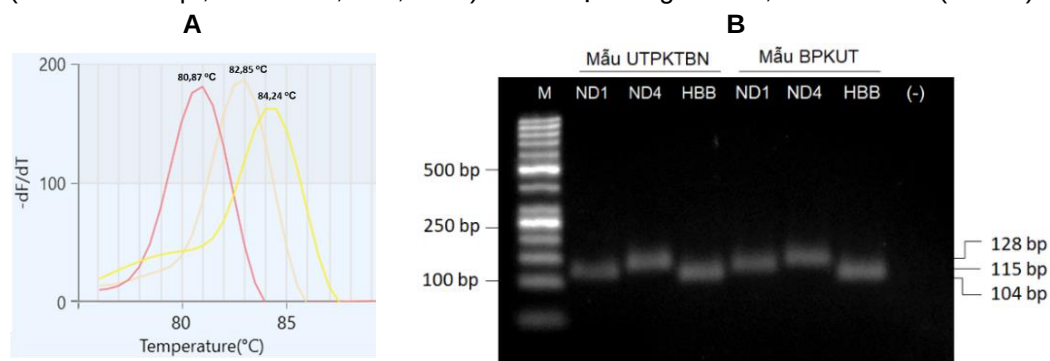
Sử dụng phần mềm Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) để

lưu giữ số liệu. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Dữ liệu được biểu diễn bằng số lượng bệnh nhân (phần trăm), ký hiệu là n (%) và số trung vị (phần vị thứ 25-phần vị thứ 75), ký hiệu là Me (25-75%). Sau khi kiểm định phân bố bằng Kolmogorov-Smirnov test, $P < 0,05$ chứng tỏ dữ liệu không tuân theo phân bố chuẩn. Sự khác biệt giữa 2 nhóm được so sánh bằng Unpaired t test đối với biến tuân theo phân bố chuẩn, Mann-Whitney test đối với biến liên tục không tuân theo phân bố chuẩn. Tương quan hạng Spearman được sử dụng để tìm ra mối tương quan giữa mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA với tuổi của nhóm bệnh nhân. Kiểm định thống kê được ghi nhận theo hai chiều với giá trị $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA ở mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư

Trong nghiên cứu này, mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA được xác định bằng phương pháp qPCR dựa vào sự có mặt của gen *ND1*, *ND4* và *HBB* (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh phân tích qPCR và điện di sản phẩm qPCR trên gel agarose 2,5%

A: Đường cong nóng chảy (Melt Curve) và nhiệt độ nóng chảy của các gen *ND1*, *ND4*, *HBB* (từ trái qua phải); **B:** Ảnh điện di các sản phẩm qPCR trên gel agarose 2,5%. M: Thang DNA chuẩn 50 bp; Giếng *ND1*, *ND4*, *HBB* là các giếng điện di sản phẩm qPCR của gen tương ứng; (-): Đối chứng âm.

Đánh giá kết quả qPCR thông qua đường biểu diễn nhiệt độ nóng chảy (hình 1A) và kết quả điện di các sản phẩm qPCR trên gel agarose 2,5% (Hình 1B) cho thấy

các sản phẩm qPCR đặc hiệu, các cặp mồi đã nhân bản được các gen quan tâm. Tiếp theo, mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA đã được xác định trên 51 mẫu mô

phổi của bệnh nhân mắc BPKUT. Dữ liệu loại bệnh phổi (Bảng 1).
thu được đã được phân nhóm theo một số

Bảng 1. Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao mtDNA ở mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư

Phân nhóm BPKUT	Số BN	Mức độ mất đoạn	Số bản sao
		Me (25-75%)	Me (25-75%)
Phổi tắc nghẽn (1)	18	71,14 (60,66-75,06)	281,31 (197,38-440,93)
Phổi truyền nhiễm (2)	13	72,77 (67,22-77,35)	234,75 (157,71-473,72)
Bệnh phổi khác (3)	20	67,41 (60,14-74,02)	216,40 (144,26-374,27)
So sánh các nhóm bệnh		P	P
(1) và (2)		0,2141 ^a	0,8283 ^b
(1) và (3)		0,7724 ^a	0,2930 ^b
(2) và (3)		0,1365 ^a	0,5730 ^b

Ghi chú: P là giá trị nhận được từ kiểm định Unpaired t test (^a) hoặc kiểm định Mann-Whitney U test (^b)

Từ Bảng 1 nhận thấy số lượng bệnh nhân mắc phổi truyền nhiễm chiếm tỷ lệ ít nhất (13 BN, 25,49%), tiếp đến là phổi tắc nghẽn (18BN, 35,29%) và tỷ lệ bệnh nhân mắc bệnh phổi khác chiếm tỷ lệ cao nhất (20 BN, 39,22%). Bên cạnh đó, kết quả phân tích định lượng đã cho thấy mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA giữa các nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê ($P > 0,05$).

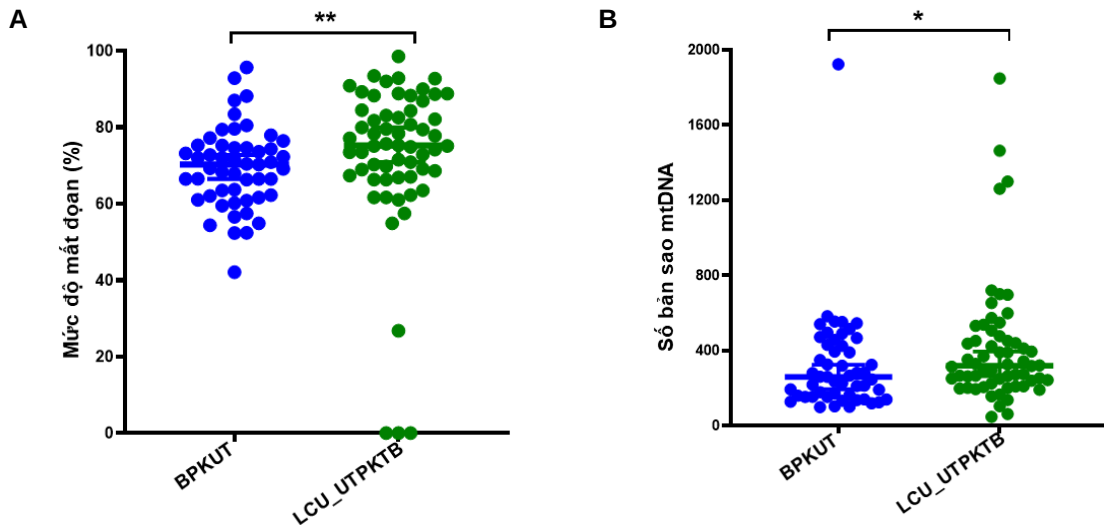
3.2. Mối liên quan giữa mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA ở mô phổi với các đặc điểm của bệnh nhân mắc bệnh phổi

Ở bệnh nhân mắc BPKUT, mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA đều thấp hơn so với mô LCU UTPKTBN với giá trị $P < 0,05$ (Bảng 2, Hình 2).

Bảng 2. Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao mtDNA ở mô phổi với các đặc điểm của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư

Đặc điểm		Số BN	Mức độ mất đoạn		Số bản sao	
		n (%)	Me (25-75%)	p	Me (25-75%)	p
Tuổi	≤ 50	27	71,99	0,0923	227,39	0,1213
		(47,06)	(66,50- 77,19)		(153,92- 324,93)	
	> 50	24	67,22		316,26	
		(52,94)	(60,33-74,14)		(163,62-494,31)	
Giới tính	Nam	29	70,90	0,5429	211, 90	0,0668
		(56,86)	(61,95- 76,22)		(138,44- 338,47)	
	Nữ	22	68,78		302,73	
		(43,14)	(61,79-74,77)		(208,59- 468,45)	
Nhóm mẫu	BPKUT	51	70,27	0,0065	260,11	0,0357
		(45,95)	(62,05-75,26)		(154,74-430,54)	
	UTPKTBN (Mô LCU)	60	75.21		319.69	
		(54,05)	(67,13-84,44)		(229,44-470,77)	

Ghi chú: P là giá trị nhận được từ kiểm định Mann-Whitney U test; Giá trị in đậm là có ý nghĩa thống kê



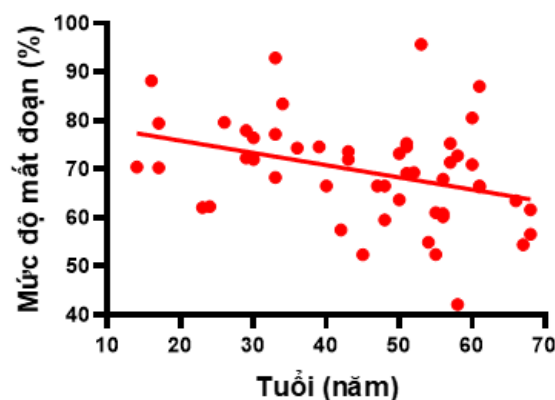
Hình 2. So sánh mức độ mất đoạn (A) và số bản sao mtDNA (B) ở các nhóm mẫu
* là $P < 0,05$; ** là giá trị $P < 0,01$

Kết quả phân tích đã cho thấy mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA không phụ thuộc vào độ tuổi và giới của bệnh nhân mắc BPKUT (Bảng 2).

3.3. Mức độ mất đoạn giảm theo độ tuổi ở mô phổi của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư

Bằng cách sử dụng phương pháp PCR định lượng, chúng tôi đã xác định mức độ mất đoạn của mtDNA trong các mô phổi của 51 bệnh nhân mắc BPKUT từ

14–68 tuổi. Kết quả cho thấy mức độ mất đoạn của mtDNA trong các mô phổi có xu hướng giảm theo độ tuổi ($r = -0,3621$; $P = 0,0090$) (Hình 3). Tuy nhiên, dường như độ tuổi không ảnh hưởng đến số bản sao mtDNA trong mô ($P = 0,1981$) và giới tính không phải là yếu tố tác động đến mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA ($P > 0,05$) trong mẫu mô phổi của bệnh nhân mắc BPKUT (Bảng 2).



Hình 3. Tương quan âm giữa độ tuổi và mức độ mất đoạn mtDNA trong mẫu mô phổi của bệnh nhân BPKUT

4. BÀN LUẬN

Mất đoạn lớn của mtDNA có vai trò quan trọng trong các bệnh liên quan đến ty

thể, lão hóa và ung thư, mức độ mất đoạn được cho là khoảng 60% mới ảnh hưởng đến chức năng của chuỗi hô hấp ty thể

[11]. Khi mức độ mất đoạn càng cao thì ảnh hưởng càng lớn đến chức năng của chuỗi hô hấp, tăng ảnh hưởng đến quá trình hình thành và tiến triển bệnh. Các bệnh về phổi là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới, trong đó nhiễm trùng phổi, ung thư phổi và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính chiếm hơn 9,5 triệu ca tử vong trong năm 2008 [12]. Tại Việt Nam, năm 2020, số ca tử vong do bệnh phổi đạt 35.875 ca, chiếm 5,23% tổng số ca tử vong. Biến đổi mtDNA có liên quan đến một số bệnh phổi, bao gồm cả bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, tăng huyết áp phổi, ung thư phổi, hen suyễn, bệnh xơ hóa phổi vô căn ở người, ... [5]. Trong đó, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh xơ hóa phổi vô căn ở người, hội chứng suy hô hấp cấp tính và ung thư phổi là một vài bệnh phổi có tỷ lệ mắc tăng theo tuổi. Có bằng chứng cho thấy phổi lão hóa chứa tỷ lệ mtDNA bị đột biến và hư hỏng cao hơn [13] [14]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ mất đoạn mtDNA có tương quan âm với độ tuổi ở bệnh nhân mắc BPKUT. Phổi tiếp xúc với không khí xung quanh và chịu ảnh hưởng trực tiếp từ môi trường bên ngoài, nhiều tác nhân gây bệnh và quá trình lão hóa có thể làm hỏng các mô phổi, do đó làm giảm hoạt động của mô phổi kéo theo giảm hoạt động và số lượng ty thể trong tế bào mô phổi [13]. Điều này có thể dẫn tới số bản sao cũng như mức độ mất đoạn lớn mtDNA ở mô phổi giảm theo độ tuổi, lý giải này phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này trái ngược với kết quả nghiên cứu của Fahn và cộng sự chỉ ra rằng tăng tích lũy của mtDNA mang mất đoạn 4.977 bp có liên quan đến quá trình lão hóa phổi của con người [13]. Thực tế nghiên cứu cho thấy còn nhiều tranh cãi về mối liên quan giữa số bản sao và mức độ mất đoạn mtDNA với độ tuổi của mẫu nghiên cứu. Ngoài ra, trong nghiên cứu này, mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA ở nhóm bệnh nhân mắc BPKUT thấp hơn mô LCU của nhóm bệnh

nhân UTPKTBN, điều này khá phù hợp với sự chuyển hướng, tiến triển bệnh bởi UTPKTBN là dạng bệnh lý nặng hơn các dạng BPKUT đơn lẻ.

Thay đổi số bản sao mtDNA là một dấu hiệu của rối loạn chức năng ty thể, số bản sao mtDNA tăng lên khi mtDNA bị tổn thương hoặc rối loạn chức năng của ty thể để bù đắp cho quá trình chuyển hóa năng lượng của ty thể hoặc cũng có thể là kết quả của việc tăng sinh tế bào trong các mô ung thư. Năm 2013, nghiên cứu của Gu và cộng sự đã chỉ ra rằng bệnh tự kỷ có liên quan đến rối loạn chức năng ty thể trong não, theo đó số bản sao mtDNA ở người bệnh tự kỷ cao hơn so với người bình thường [15]. Năm 2017, Moore và cộng sự đã quan sát thấy số bản sao mtDNA tăng lên trong tế bào ung thư tiền liệt tuyến, mặc dù chưa tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa số bản sao mtDNA với nguy cơ mắc ung thư tiền liệt tuyến, nhưng số bản sao mtDNA tăng có liên quan đến tăng nguy cơ mắc ung thư tiền liệt tuyến không xâm lấn (OR=1,29, 95% CI: 1,01-1,65, P = 0,044) [16]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có cùng xu hướng với kết quả của các nghiên cứu trên, đó là số bản sao mtDNA ở mô phổi của bệnh nhân UTPKTBN cao hơn so với mô phổi không ung thư của bệnh nhân mắc BPKUT. Tuy nhiên, kết quả này lại trái ngược với kết quả nghiên cứu ở mô vú của bệnh nhân ung thư vú: số bản sao mtDNA giảm ở 82% mô vú ung thư so với mô vú bình thường của cùng bệnh nhân [10].

5. KẾT LUẬN

Mức độ mất đoạn lớn và số bản sao mtDNA trong mô phổi của bệnh nhân mắc BPKUT thấp hơn so với mô phổi lân cận u của bệnh nhân UTPKTBN, và chúng có tiềm năng trở thành một dấu ấn sinh học giúp đánh giá, theo dõi tiến triển của bệnh nhân mắc bệnh phổi không ung thư trong nhóm bệnh nhân mắc bệnh phổi.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân đã tự nguyện cho mẫu

nghiên cứu, các y bác sĩ của Bệnh viện Phổi Trung ương đã hỗ trợ lấy mẫu. Nghiên cứu này được sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài QG.19.15, Đại học Quốc gia Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lung Disease in Viet Nam. <<https://www.worldlifeexpectancy.com/viet-nam-lung-disease>>, accessed: 11/19/2022.
2. Park H.S., Kim S.R., and Lee Y.C. (2009). Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology*, **14**(1), 27–38.
3. Tsushima K., Bugger H., Wende A.R., et al. (2018). Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Lipotoxic Hearts Induce Post-Translational Modifications of AKAP121, DRP1, and OPA1 That Promote Mitochondrial Fission. *Circ Res*, **122**(1), 58–73.
4. Schumacker P.T., Gillespie M.N., Nakahira K., et al. (2014). Mitochondria in lung biology and pathology: more than just a powerhouse. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **306**, 962–974.
5. Cloonan S.M. and Choi A.M.K. (2016). Mitochondria in lung disease. *J Clin Invest*, **126**(3), 809.
6. Turnbull D.M., Andrews R.M., Kubacka I., et al. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA - Nature Genetics. *Nat Genet*, **23**(2), 147.
7. Jakupciak J.P., Wang W., Markowitz M.E., et al. (2005). Mitochondrial DNA as a cancer biomarker. *J Mol Diagnostics*, **7**(2), 258–267.
8. He L., Chinnery P.F., Durham S.E., et al. (2002). Detection and quantification of mitochondrial DNA deletions in individual cells by real-time PCR. *Nucleic Acids Res*, **30**(14).
9. Krishnan K.J., Bender A., Taylor R.W., et al. (2007). A multiplex real-time PCR method to detect and quantify mitochondrial DNA deletions in individual cells. *Anal Biochem*, **370**(1), 127–129.
10. Fan A.X.C., Radpour R., Haghighi M.M., et al. (2009). Mitochondrial DNA content in paired normal and cancerous breast tissue samples from patients with breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* **135**(8), 983–989.
11. Rossignol R., Faustin B., Rocher C., et al. (2003). Mitochondrial threshold effects. *Biochem J*, **370**(3), 751–762.
12. Gibson G.J., Loddenkemper R., Lundbäck B., et al. (2013). Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur Respir J*, **42**(3), 559–563.
13. Fahn H.J., Wang L.S., Hsieh R.H., et al. (1996). Age-related 4,977 bp deletion in human lung mitochondrial DNA. *Am J Respir Crit Care Med*, **154**(4), 1141–1145.
14. Lee H.-C., Lu C.-Y., Fahn H.-J., et al. (1998). Aging- and smoking-associated alteration in the relative content of mitochondrial DNA in human lung. *FEBS Lett*, **441**(2), 292–296.
15. Gu F., Chauhan V., Kaur K., et al. (2013). Alterations in mitochondrial DNA copy number and the activities of electron transport chain complexes and pyruvate dehydrogenase in the frontal cortex from subjects with autism. *Transl Psychiatry*, **3**(February).
16. Moore A., Lan Q., Hofmann J.N., et al. (2017). A prospective study of mitochondrial DNA copy number and the risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control* **28**(6), 529–538.

SUMMARY**THE MITOCHONDRIAL DNA COPY NUMBER AND LEVEL OF LARGE-SCALE DELETIONS IN LUNG TISSUE OF PATIENTS WITH NON-CANCEROUS LUNG DISEASE**

**Le Lan Phuong¹, Le Thi Thanh Nhan^{1,2}, Hoang Van Son¹, Bui Phuong Thao^{1,2},
Nguyen Thi Tu Linh^{1,2}, Le Trung Tho³, và Trinh Hong Thai^{1,2}**

¹Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi

²Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, VNU University of Science

³National Lung Hospital

Objectives: The study was conducted to investigate mtDNA copy number and level of large deletion in the lung tissue of patients with non-cancerous lung disease in order to supply mtDNA data for potential application in the diagnosis and treatment of lung diseases in Vietnam. **Subjects and methods:** The mtDNA copy number and level of large deletion were determined in 51 lung tissue samples of patients with non-cancerous lung disease by realtime PCR. Statistical comparison of mtDNA copy number and level of large deletion was performed between two groups of patients with non-cancerous lung disease and non-small cell lung cancer. **Results:** The mtDNA copy number and level of large-scale deletion in the group of patients with non-cancerous lung disease was lower than that in the group of patients with non-small cell lung cancer ($P < 0.05$). In addition, the age was negatively correlated with the level of mtDNA large-scale deletion in the lung tissue of patients with noncancerous lung disease ($r = -0.3621$; $p = 0.0090$). **Conclusions:** The mtDNA copy number and level of large-scale deletion could be a potential biomarkers for evaluating, monitoring disease progression of patients with noncancerous lung disease in the group of patients with lung disease.

Key words: mtDNA, mtDNA copy number, large-scale deletions level, non-cancerous lung disease.