

BIẾN ĐỔI TRÊN GEN COX-2 TY THỂ Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNGPhạm Thị Bích¹, Nguyễn Thị Tươi¹, Trịnh Hồng Thái^{1*}**TÓM TẮT:**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm sàng lọc các biến đổi trên gen COX-2 ty thể ở 93 mẫu mô u, 13 mẫu máu của bệnh nhân ung thư đại trực tràng (UTĐTT) và 83 mẫu máu của người khỏe mạnh làm đối chứng. Sử dụng phương pháp giải trình tự ADN trực tiếp từ sản phẩm PCR và PCR-RFLP đã phát hiện được 13 biến đổi thuộc gen COX-2 ty thể trong đó có năm biến đổi làm thay đổi axit amin. Xác định được biến đổi G7853A trên gen COX-2 ty thể ở mô u, mẫu máu của bệnh nhân UTĐTT và mẫu máu đối chứng với tỷ lệ 20,4%, 23,1% và 19,3% tương ứng và là dạng đột biến soma. Biến đổi G7853A không liên quan rõ rệt đến bệnh UTĐTT, nhưng có xu hướng làm tăng nguy cơ gây bệnh đối với những người mang biến đổi này (OR: 1,25; CI 95%: 0,27 - 4,48). Biến đổi G7853A trên gen COX-2 ty thể phụ thuộc vào kích thước khối u và giai đoạn T theo phân loại TNM ($P < 0,05$), nhưng không phụ thuộc vào độ tuổi, giới tính, mức độ biệt hóa, vị trí khối u, giai đoạn bệnh ($P > 0,05$).

Từ khóa: gen COX-2 ty thể, biến đổi G7853A, PCR -RFLP, ung thư đại trực tràng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng là một trong những loại ung thư phổ biến trên thế giới với tỷ lệ mắc bệnh là 9,7%, xếp thứ 3 sau ung thư phổi (13,0%) và ung thư vú (11,9%). Tỷ lệ ung thư này tăng lên cùng với sự công nghiệp hóa, đô thị hóa. UTĐTT phổ biến hơn ở các nước phát triển như: các nước Châu Âu, Úc, Mỹ, Nhật Bản... Tại Việt Nam, UTĐTT cũng là dạng ung thư phổ biến, tỷ lệ mắc mới và tử vong cao, đứng thứ 4 ở nam giới và thứ 5 ở nữ giới so với tổng số các loại ung thư [9]. Tuy nhiên, UTĐTT là loại ung thư có tiên lượng tốt nếu được chẩn đoán và điều trị khi còn ở giai đoạn sớm [2].

Gen COX-2 ty thể (còn được gọi là gen COXII, MT-CO2) có kích thước 684 bp từ vị trí 7586 đến 8269 trên hệ gen ty thể. Gen COX-2 ty thể mã hóa cho protein cytochrome c oxidase II (MTCO2) là tiểu

phần thứ hai thuộc phức hệ hô hấp IV (cytochrome c oxidase) đóng vai trò quan trọng trong hô hấp tế bào [3]. Protein MTCO2 là chất nhận điện tử từ cytochrome c qua trung tâm hoạt động CuA sau đó truyền điện tử sang tiểu phần I của phức hệ hô hấp IV [5]. Sự thay đổi trong cấu trúc và chức năng của các protein thuộc phức hệ này có thể tác động tới quá trình sinh năng lượng của tế bào gây ảnh hưởng đến chức năng của cơ thể. Đặc biệt một số đột biến trên gen COX-2 ty thể đã được tìm thấy trên một số bệnh ở người bao gồm cả bệnh ung thư trong đó có UTĐTT [8]. Vì vậy, việc điều tra biến đổi của gen COX-2 ty thể là rất cần thiết nhằm đánh giá nguy cơ của bệnh cũng như hỗ trợ có hiệu quả trong chẩn đoán và điều trị bệnh UTĐTT.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Mẫu nghiên cứu là mẫu mô UTĐTT nguyên phát được thu thập từ 93 bệnh nhân trong đó 13 bệnh nhân có kèm theo mẫu máu đến điều trị tại Bệnh viện K và

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

* Tác giả chịu trách nhiệm chính :

Trịnh Hồng Thái

Email: thaith@vnu.edu.vn

Ngày nhận bài: 1/8/2016

Ngày nhận bài phản biện: 15/8/2016

Ngày chấp nhận đăng: 20/10/2016

Bệnh viện Việt-Đức Hà Nội từ năm 2012 đến 2015.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân: Bệnh nhân có kết quả giải phẫu bệnh sau phẫu thuật là ung thư biểu mô tuyến, được xác định tại Khoa giải phẫu bệnh của bệnh viện.

Mẫu máu của 83 người khỏe mạnh do Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương cung cấp được dùng làm đối chứng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết ADN tổng số

ADN tổng số từ các mẫu nghiên cứu được tách chiết bằng kit QIAamp ADN Mini Kit (QIAGEN, Đức) và GeneJET Mini Kit (Thermo Scientific, Mỹ). Các bước tách chiết được tiến hành theo đúng quy trình của nhà sản xuất. Nồng độ ADN tổng số được xác định bằng máy quang phổ NanoDrop 2000c (Thermoscientific, Mỹ). ADN sau khi tách chiết được bảo quản ở -20°C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Thiết kế mỗi nhân gen COX-2

Các cặp mồi dùng trong nghiên cứu được thiết kế dựa vào chương trình Primer-BLAST thuộc NCBI (Mỹ), sử dụng trình tự ADN ty thể chuẩn (NC_012920.1).

Giải trình tự ADN

Sử dụng cặp mồi (7375F, 8434R), đoạn ADN 1060bp chứa toàn bộ gen COX-2 ty thể được nhân lên bằng PCR. Sau đó, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Affymetrix, Mỹ) và giải trình tự trực tiếp theo nguyên lý của Sanger. Trình tự cặp mồi gồm: mồi xuôi 5'-ACC TGG AGT GAC TAT ATG GAT-3', mồi ngược: 5'-GAT GAG GAA TAG TGT AAG GAG-3'. Thành phần PCR bao gồm: OneTaq Hot Start 2X Master Mix (NEB, Mỹ); 200 nM mồi xuôi và mồi ngược; 2 ng/ μl ADN khuôn, sau đó bổ sung H_2O đến 12,5 μl . Chu trình nhiệt gồm các bước: biến tính ở 94°C trong 30 giây, khuếch đại 35 chu kỳ (94°C : 30 giây, 52°C : 30 giây, 68°C : 60

giây), 68°C : 5 phút. Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự ADN ty thể chuẩn bằng chương trình BLAST.

PCR - RFLP

Sử dụng phương pháp PCR - RFLP với cặp mồi (7743F, 8214R) và enzyme cắt giới hạn FastDigest *HincII* để sàng lọc biến đổi G7853A. Trình tự cặp mồi gồm: mồi xuôi 5'-CTA ACA TCT CAG ACG CTC AGG A-3', mồi ngược: 5'-ACG ATG GGC ATG AAA CTG TG-3'. Chu trình nhiệt và thành phần của phản ứng PCR với cặp mồi (7743F, 8214R) tương tự như đối với cặp mồi (7375F, 8434R) chỉ thay đổi thời gian kéo dài chuỗi ADN là 30 giây. Sản phẩm PCR 472bp được cắt bằng enzyme *HincII* với trình tự nhận biết 5'-GTY↓RAC-3' (Thermo Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Trong trường hợp 7853G, enzyme *HincII* cắt đoạn ADN ở hai vị trí và tạo thành 3 đoạn có kích thước là 113, 144 và 215 bp. Trong trường hợp 7853A, enzyme *HincII* cắt đoạn ADN ở 1 vị trí và tạo thành 2 đoạn có kích thước 257, 215 bp. Sản phẩm PCR-RFLP được điện di kiểm tra trên gel agarose 2.5% và nhuộm ethidium bromide.

Tính toán thống kê: Sử dụng test chính xác của Fisher để đánh giá mối liên quan giữa biến đổi G7853A và các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT. Mức ý nghĩa thống kê được xác định với $P < 0,05$. Tỷ số chênh OR (odds ratio) và khoảng tin cậy 95% (CI) được tính toán để đánh giá nguy cơ đối với bệnh.

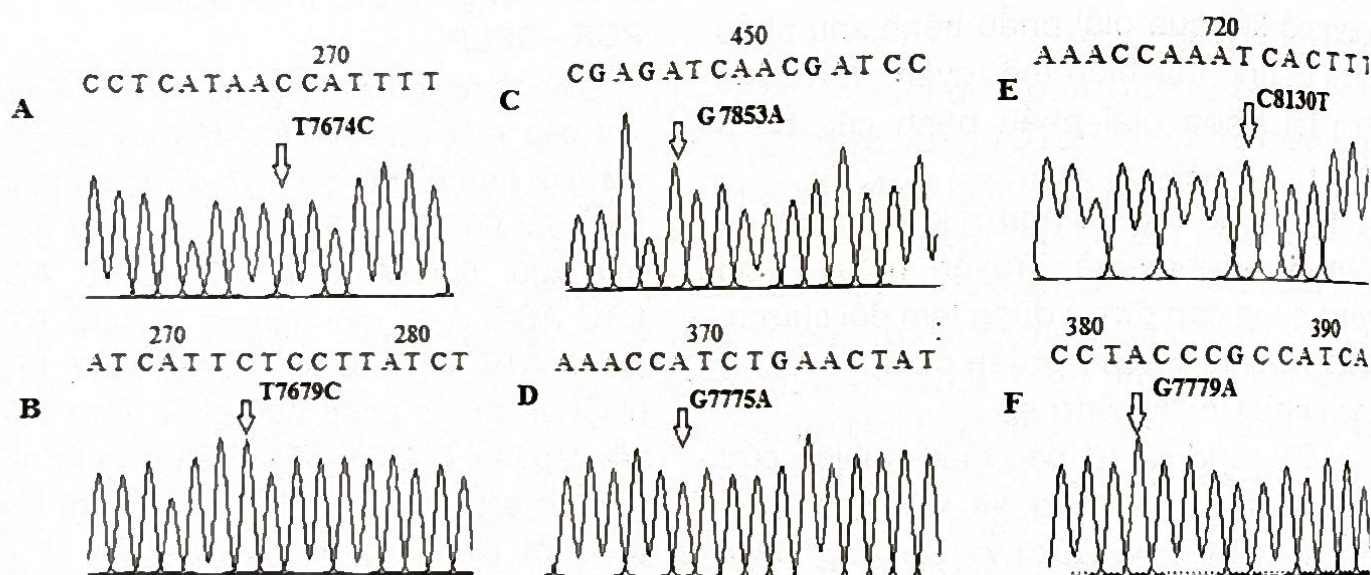
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Các biến đổi trên gen COX-2 ty thể

Bằng cặp mồi (7375F, 8434R), đoạn ADN 1060bp chứa toàn bộ gen COX-2 ty thể đã được khuếch đại thành công trên 31 mẫu mô u của 31 bệnh nhân UTĐTT. Sau đó sản phẩm PCR được tinh sạch để giải trình tự trực tiếp. Trong 31 mẫu được giải trình tự, chúng tôi đã xác định được

13 biến đổi, trong đó có 5 biến đổi làm thay đổi axit amin (T7674C, T7679C,

G7775A, G7853A và C8130T) và 8 biến đổi ở dạng đồng nghĩa (hình 1, bảng 1).



Hình 1. Một số vị trí biến đổi trên gen COX-2 ty thể

A, B, C, D, E: Các vị trí biến đổi nucleotide dẫn đến thay đổi axit amin ở các mẫu #4120, #3089, #19561, #37158, #11777, tương ứng.

F: Biến đổi nucleotide không làm thay đổi axit amin ở mẫu #42440

Bảng 1. Thống kê các vị trí biến đổi trên gen COX-2 ty thể ở 31 mẫu UTĐTT

STT	Vị trí biến đổi	Loại biến đổi	Thay đổi axit amin	Số lượng mẫu có biến đổi	Tần suất (%)	Công bố trên MITOMAP
1	7674	T>C	I>T	1	3,1	+
2	7679	T>C	F>L	1	3,1	+
3	7684	T>C	L>L	3	9,4	+
4	7711	T>C	L>L	1	3,1	+
5	7759	T>C	A>A	1	3,1	+
6	7775	G>A	V>I	1	3,1	+
7	7789	G>A	L>L	2	6,3	+
8	7853	G>A	V>I	4	12,5	+
9	7861	T>C	D>D	1	3,1	+
10	8080	C>A	V>V	1	3,1	+
11	8130	C>T	T>I	1	3,1	+
12	8167	T>C	G>G	2	6,3	+
13	8200	T>C	S>S	1	3,1	+
Ghi chú: +: Đã có công bố						

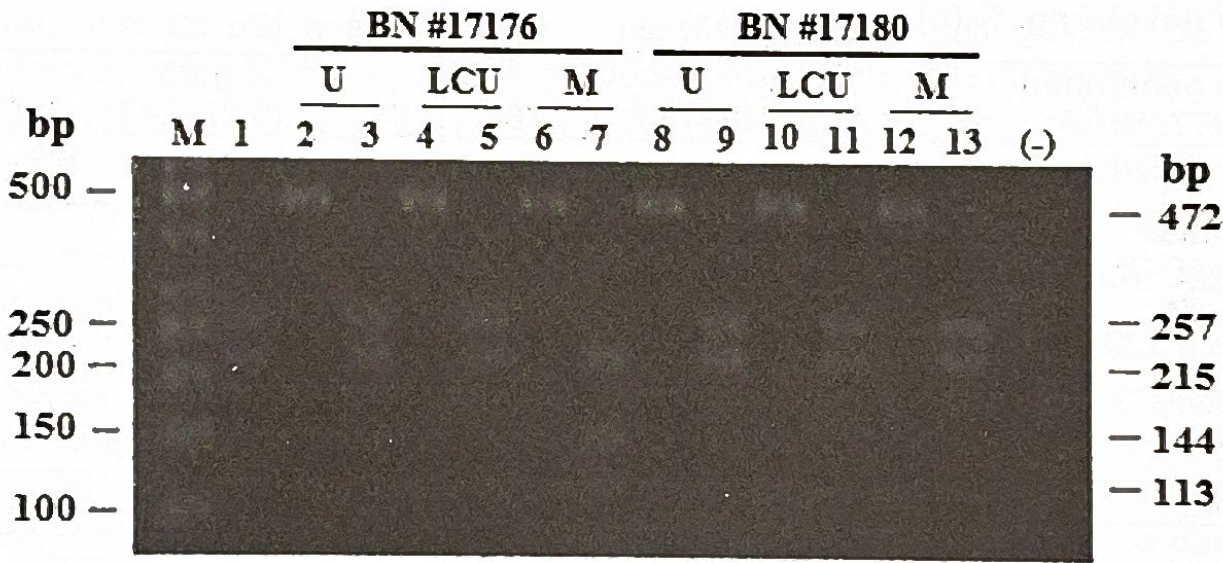
Theo kết quả bảng 1, dạng biến đổi T>C chiếm tỷ lệ cao nhất (61,5%, 8/13 trường hợp), tiếp theo là dạng biến đổi G>A (23,1%, 3/13 trường hợp).

3.2. Tần suất biến đổi G7853A trong các mẫu nghiên cứu

Qua xác định trình tự toàn bộ gen COX-2 ty thể trên bệnh nhân UTĐTT, biến

đổi G7853A đã được tìm thấy với tỷ lệ cao nhất (4/31 mẫu) và là biến đổi làm thay đổi axit amin. Vì vậy, để đánh giá mối liên quan giữa biến đổi G7853A với các đặc

điểm bệnh học của bệnh UTĐTT, chúng tôi đã tiến hành phân tích biến đổi này bằng phương pháp PCR-RFLP. Kết quả PCR-RFLP được minh họa trên hình 2.



Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme *HincII* trên mô u, lân cận u, mẫu máu của bệnh nhân UTĐTT (gel agarose 2.5%).

U: mô u, LCU: mô lân cận u, M: mẫu máu, BN: bệnh nhân. Giếng M: Thang ADN chuẩn 50bp. Giếng 1: Đối chứng dương- sản phẩm cắt enzyme (mẫu có biến đổi G7853A được khẳng định bằng giải trình tự); giếng: 2,4,6,8,10,12: Sản phẩm PCR; giếng: 3,5,7,9,11,13: Sản phẩm cắt bằng enzyme *HincII*; giếng (-): đối chứng âm.

Kết quả điện di ở hình 2 cho thấy: sản phẩm PCR (giếng 2, 4, 6, 8, 10, 12) có kích thước ứng 472 bp, các băng rõ, không có băng phụ, chứng tỏ cặp mồi (7743F, 8214R) được thiết kế là đặc hiệu. Sản phẩm cắt enzyme của bệnh nhân #17176 (giếng 3, 5, 7) cho thấy ở mô U và LCU xuất hiện biến đổi (sản phẩm cắt có 2 băng: 257, 215 bp - giếng 3, 5), trong khi đó ở mẫu máu không có biến đổi (xuất hiện 3 băng: 113, 144, 215 bp - giếng 7). Ở bệnh nhân #17180 (giếng 9, 11, 13) xuất hiện biến đổi trên cả mô u, lân cận u, mẫu máu (sản phẩm cắt đều cho 2 băng 257 và 215 bp). Như vậy, kết quả PCR-RFLP cho thấy biến đổi G7853A có sự khác biệt giữa mẫu mô và mẫu máu trên cùng một bệnh nhân, do đó có thể cho

rằng biến đổi G7853A là dạng đột biến soma. Mặt khác, kết quả cắt enzyme cũng cho thấy ở tất cả các mẫu chỉ thu được 2 băng (257 và 215 bp với trường hợp có biến đổi) hoặc 3 băng (113, 144 và 215 bp với trường hợp không có biến đổi), chứng tỏ biến đổi G7853A trên gen COX-2 ty thể ở dạng đồng tế bào chất (homoplasmy).

Để đánh giá nguy cơ của biến đổi G7853A đối với bệnh UTĐTT, tần suất dạng biến đổi (7853A) được tính toán theo nhóm bệnh và nhóm đối chứng. Tần suất dạng biến đổi ở mô u và mô máu của bệnh nhân UTĐTT tương ứng là 20,4% và 23,1%, có xu hướng cao hơn so với mẫu đối chứng (19,3%), nhưng sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$) (bảng 2).

Bảng 2. Phân bố của biến đổi G7853A và nguy cơ của bệnh UTĐTT

Loại mô	Tần suất G7853A		OR (CI 95%)	P
	7853A, % (n)	7853G, % (n)		
Mô u của bệnh nhân UTĐTT, % (n)	20,4(19)	79,6(74)	1,075 (0,49-2,17)	0,50
Máu đối chứng, % (n)	19,3(16)	80,7(67)		
Máu bệnh nhân UTĐTT, % (n)	23,1 (3)	76,9 (10)	1,25 (0,27-4,48)	0,49

Ghi chú: n: Số bệnh nhân

3.3. Mối liên quan giữa biến đổi G7853A trên gen COX-2 ty thể với các

đặc điểm bệnh học của bệnh nhân UTĐTT

Bảng 3. Mối liên quan giữa biến đổi G7853A với một số đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT

Đặc điểm	Số lượng	Tần suất G7853A		P
		7853G, % (n)	7853A, % (n)	
Tuổi				0,2330
	<50	23	87,0 (20)	13,0 (3)
	>=50	69	76,8(53)	23,2 (16)
Giới tính				0,3069
	Nam	43	74,4(32)	25,6 (11)
	Nữ	50	84,0 (42)	16,0 (8)
Vị trí ung thư				0,8016
	Đại tràng	47	80,9(38)	19,1(9)
	Trực tràng	46	78,3(36)	21,7(10)
Độ biệt hóa				0,2960
	Rõ	12	91,7(11)	8,3 (1)
	Vừa	42	81,0(34)	19,0 (8)
	Kém	8	62,5(5)	37,5 (3)
Kích thước u(cm)				0,0004
	<3	25	88,0(22)	12,0 (3)
	>=3; <=3.5	12	67,3(8)	33,3 (4)
	>3.5	40	80,0(32)	20,0(8)
Giai đoạn N				0,0881
	No	52	88,5(46)	11,5(6)
	N1	33	69,7(23)	30,3(10)
	N2	5	80,0(4)	20,0(1)
Giai đoạn T				0,0095
	T1	7	41,9(3)	57,1(4)
	T2	38	76,3(29)	23,7(9)
	T3+T4	45	81,1(41)	8,9(4)
Giai đoạn bệnh				0,1860
	I	28	95,7(24)	14,3(4)
	II	22	90,9(20)	9,1(2)
	III + IV	40	72,5(29)	27,5 (11)

Ghi chú: Giai đoạn I: T₁₋₂N₀M₀; giai đoạn II: T₃₋₄N₀M₀; giai đoạn III: T_{bất kỳ} N₁₋₂M₀; giai đoạn IV: T_{bất kỳ} N_{bất kỳ} M₁

Phân tích mối liên quan giữa biến đổi G7853A với một số đặc điểm bệnh học của bệnh nhân UTĐTT đã cho thấy: biến đổi G7853A phụ thuộc vào kích thước khối u và giai đoạn T ($P < 0,05$), nhưng không phụ thuộc vào độ tuổi, giới tính, vị trí ung thư, mức độ biệt hóa, phân loại TNM với $P > 0,05$ (bảng 3).

4. BÀN LUẬN

Biến đổi trên gen COX-2 ty thể đã được xác định trong một số bệnh như: bệnh não, bệnh teo cơ vân, bệnh mất thính giác, bệnh UTĐTT [8]. Năm 2013, bằng phương pháp giải trình tự ADN, Venesio và cs đã thực hiện nghiên cứu trên hai nhóm bệnh nhân thuộc hội chứng MAP (MUTYH associated polyposis) và hội chứng FAP (Familial Adenomatous Polyposis), là hai hội chứng đều có nguy cơ cao dẫn đến UTĐTT. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng: các biến đổi trên gen *MT-CO1*, *MT-CO2* chỉ xuất hiện ở nhóm bệnh nhân hội chứng MAP không xuất hiện ở nhóm bệnh nhân FAP và phần lớn là các biến đổi từ nucleotide dạng G thành A. Đột biến G7763A trên gen *MT-CO2* xuất hiện với tần suất cao và đặc trưng cho bệnh nhân MAP tiến triển thành UTĐTT. Đột biến trên gen *MT-CO1*, *MT-CO2* có liên quan với đột biến gen *KRAS* (gen nhân đã được chứng minh có liên quan đến hội chứng MAP) trên bệnh nhân MAP ($P = 0,0085$). Từ kết quả đó, nhóm nghiên cứu đưa ra kết luận rằng: Đột biến trên gen *MT-CO1*, *MT-CO2* và *KRAS* có liên quan đến việc hình thành UTĐTT từ bệnh nhân hội chứng MAP. Nhóm nghiên cứu đã đưa ra một đề xuất kết hợp phân tích biến đổi trên gen *MT-CO2*, vùng D-loop thuộc ADN ty thể và gen *KRAS* ở những bệnh nhân mắc hội chứng MAP để phân loại nguy cơ gây UTĐTT tốt hơn [7]. Năm 2015, Errichiello và cs nghiên cứu mối liên quan giữa các biến đổi trên gen *MT-CO2*, vùng D-loop với hội chứng MAP. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng đột biến ADN ty

thể xảy ra chủ yếu ở bệnh nhân MAP ($p = 0,0055$), phát hiện 17 đột biến, thường phân bố chủ yếu ở gen *MT-CO2* ($p < 0,0001$) và thường ở dạng đột biến nucleotide dạng G thành A [4]. Trên cơ sở đó họ đưa ra đề xuất: có thể sử dụng đột biến dạng G>A ở gen *MT-CO2* để chẩn đoán sớm bệnh UTĐTT trong giai đoạn tiến triển từ u tuyến ban đầu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng đã sàng lọc được một số biến đổi thuộc gen COX-2 ty thể làm thay đổi axit amin, trong đó có biến đổi G7853A có liên quan đến kích thước khối u và giai đoạn T trong UTĐTT và cũng là dạng đột biến G>A. Như vậy, đây có thể là một kết quả tiềm năng cho các bước nghiên cứu sâu hơn nhằm mục đích sàng lọc các yếu tố nguy cơ dẫn đến UTĐTT trong giai đoạn tiến triển từ u tuyến ban đầu. Mặt khác, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra rằng biến đổi G7853A tồn tại ở dạng đồng tế bào chất và là dạng đột biến sôma, kết quả này cũng phù hợp với một số công bố trước đó: đột biến sôma trên ADN ty thể là dạng đột biến phổ biến trong một số loại ung thư ở người [6, 1].

5. KẾT LUẬN

Sử dụng phương pháp giải trình tự trực tiếp đã xác định thấy 13 biến đổi trên gen COX-2 ty thể ở bệnh nhân UTĐTT, trong đó có 5 biến đổi làm thay đổi axit amin. Biến đổi G7853A trên gen COX-2 ty thể đã được phân tích bằng PCR-RFLP và là dạng đột biến sôma. Biến đổi G7853A có liên quan với kích thước khối u và giai đoạn T ($P < 0,05$), nhưng không có liên quan với các đặc điểm khác của bệnh UTĐTT gồm: độ tuổi, giới tính, vị trí khối u, mức độ biệt hóa, giai đoạn bệnh ($P > 0,05$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bích PT, Chang HT, Hà ĐM, và cs. (2014) Biến đổi A4164G của gen *MT-ND1* ty thể ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng.

Tạp chí Khoa học ĐHQGHN 30(6s-c): 626-634.

2. **American Cancer Society.** Colorectal Cancer facts and figures: 2014-2016.

3. **Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. (1981)** Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290(5806): 457-465.

4. **Errichiello E, Balsamo A, Cerni M, et al. (2015)** Mitochondrial variants in *MT-COX2* and D-loop instability are involved in *MUTYH*-associated polyposis. *J Mol Med* 93(11):1271-81.

5. **García-Horsman JA, Barquera B, Rumbley J, et al. (1994)** The Superfamily of Heme-Copper Respiratory Oxidases. *J Bacteriol* 176(18): 5587-5600.

6. **Polyak K, Li Y, Zhu H, Lengauer C, Willson JK, et al. (1998)** Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumours. *Nat Genet* 20(3): 291 – 293.

7. **Venesio T, Balsamo A, Errichiello E, et al. (2013)** Oxidative DNA damage drives carcinogenesis in *MUTYH*-associated-polyposis by specific mutations of mitochondrial and *MAPK* genes. *Mod pathol* 2013 (26): 1371-1381.

8. <http://www.mitomap.org>

9. **GLOBOCAN 2012:** Cancer estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. <http://globocan.iarc.fr/old/factsheet.asp> (26/6/2015).

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành từ nguồn kinh phí của Đề tài QG.15.05. Quy trình và các thủ tục lấy mẫu được sự giúp đỡ từ các bác sỹ, y tá của Bệnh viện K, Bệnh viện Việt Đức – Hà Nội và Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương.

SUMMARY

ALTERATIONS OF MITOCHONDRIAL COX-2 GENE IN COLORECTAL CANCER PATIENTS

Pham Thi Bich¹, Nguyen Thi Tuoi¹, Trinh Hong Thai¹
¹University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi

The study was carried out to screen alterations of mitochondrial COX-2 gene in 93 tumor tissues, 13 blood samples from patients with colorectal cancer (CRC) and 83 samples of blood donor used as controls. 13 alterations of COX-2 gene were detected by using DNA sequencing and PCR-RFLP methods in which five alterations result in substitution of amino acid. Percentage of samples carrying G7853A in CRC tissues group, CRC blood group and blood 'control group was 20,4%, 23,1% and 19,3%, respectively. The G7853A alteration was shown to be a somatic mutation. Overall, the study demonstrated a lack of association between G7853A alteration and CRC susceptibility. However, a tendency to increase risk of CRC was in patients harbouring the G7853A alteration (OR: 1,25; 95% CI: 0,27-4,48). This alteration was significantly associated with tumor size and T stage ($P < 0,05$), but not with some other pathological characteristics including the age, gender, tumor location, cell differentiation and TNM stage ($P > 0,05$).

Keywords: Mitochondrial COX-2 gene, G7853A alteration, PCR-RFLP, Colorectal cancer.