

MỨC ĐỘ MẤT ĐOẠN LỚN CỦA ADN TY THỂ Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Phạm Thị Bích¹, Tạ Văn Tò², Trịnh Hồng Thái^{1,3*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,

²Bộ môn Giải phẫu bệnh - Tế bào, Bệnh viện K

³Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein,

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

*Tác giả chịu trách nhiệm: thaith@vnu.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định được mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể ở mẫu mô u, mô lân cận u và mẫu máu của bệnh nhân ung thư đại trực tràng (UTĐTT) qua đó đánh giá mối liên quan giữa mức độ mất đoạn với các đặc điểm bệnh học, so sánh mức độ mất đoạn giữa mẫu máu của bệnh nhân ung thư với mẫu máu của người khỏe mạnh làm đối chứng.

Phương pháp: Mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể đã được xác định bằng phương pháp PCR định lượng (real-time PCR). Mức độ mất đoạn được so sánh bằng các kiểm định thống kê phù hợp. Chúng tôi đã phân tích mức độ mất đoạn trên bộ mẫu từ 94 bệnh nhân UTĐTT, trong đó 54 cặp mẫu mô u và lân cận u (LCU) được cung cấp bởi bệnh viện K, 40 cặp mẫu mô u và LCU có kèm theo mẫu máu của 40 bệnh nhân được cung cấp tại Bệnh viện Quân Y 103. Mẫu máu của 67 người khỏe mạnh được sử dụng làm đối chứng. **Kết quả:** Nghiên cứu đã xác định được mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể trên mô u, mô LCU, mẫu máu ở một nhóm bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam và mẫu máu đối chứng tương ứng là 56,89%; 58,09%; 59,37% và 53,61%. Mức độ mất đoạn ở mẫu máu của bệnh nhân cao hơn so với mẫu máu đối chứng ($p < 0,05$). Mức độ mất đoạn không phụ thuộc vào độ tuổi, giới tính và các đặc điểm bệnh học. **Kết luận:** Phần lớn bệnh nhân có mức độ mất đoạn thuộc khoảng 50-60%. Mức độ mất đoạn ở mẫu máu của bệnh nhân cao hơn so với mẫu máu đối chứng ($p < 0,05$). Mức độ mất đoạn không phụ thuộc vào các đặc điểm bệnh học của bệnh nhân. Sự tương quan về mức độ mất đoạn giữa mẫu mô và máu của bệnh nhân UTĐTT là tương quan yếu ($p > 0,05$).

Từ khóa: Mức độ mất đoạn lớn ADN ty thể, ung thư đại trực tràng và PCR định lượng.

1. MỞ ĐẦU

Ung thư đại trực tràng là một trong 5 loại ung thư phổ biến nhất trên thế giới và cả ở Việt Nam. Tỷ lệ mắc mới của bệnh cao thứ ba và là nguyên nhân dẫn đến tử vong cao thứ tư trong tổng số các loại ung thư. Nhìn chung, tỷ lệ mắc UTĐTT có xu hướng tăng ở các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình, ổn định và có xu hướng giảm ở các nước có thu nhập cao. Ước tính đến năm 2030 có khoảng 2,2 triệu ca mắc mới và khoảng 1,1 triệu ca tử vong, điều đó cho thấy UTĐTT là căn bệnh nguy hiểm và vẫn đang là gánh nặng toàn cầu [6].

Ty thể là bào quan có mặt trong tế bào nhân chuẩn, có hệ gen riêng với chức năng chính là nhà máy sản xuất năng lượng của tế bào thông qua quá

trình hô hấp tế bào. Ngoài ra, ty thể còn tham gia vào quá trình apoptosis (quá trình tế bào chết theo chương trình) [15], quá trình lão hóa [7], điều chỉnh tín hiệu canxi nội bào [13]. Vì vậy, biến đổi của hệ gen ty thể đã được xác định liên quan đến sự phát sinh ung thư [10]. Các dạng biến đổi của hệ gen ty thể như đột biến mất đoạn, sự thay đổi số lượng bản sao ADN ty thể, đột biến điểm và các đa hình thường xuyên được quan sát thấy trong nhiều loại ung thư khác nhau [2, 5, 8]. Do ADN ty thể có nhiều bản sao trong một tế bào vì vậy biểu hiện của bệnh do đột biến ADN ty thể còn phụ thuộc vào tỷ lệ bản sao bị đột biến so với bản sao dạng bình thường (mức độ dị tế bào chất) [5, 10], thường khi đột biến đạt đến ngưỡng nhất định khoảng từ 50% đến 90% [4]. Hơn

nữa, ngưỡng đột biến ảnh hưởng đến biểu hiện bệnh còn phụ thuộc từng loại đột biến và từng loại mô trong cơ thể [14]. Các mất đoạn lớn khá thường xuyên xảy ra trong hệ gen ty thể, trong đó mất đoạn 4977bp được xác định là mất đoạn phổ biến. Mất đoạn này làm mất đi 7 gen mã hóa cho các polypeptide của phức hệ I, IV và V, 5 gen mã hóa cho các tARN. Đột biến này đã được xác định có liên quan đến ung thư vú, phổi, niêm mạc tử cung, thực quản, dạ dày, gan, thận, tuyến giáp và UTĐTT [1, 8, 9].

Ở Việt nam, nghiên cứu về mức độ mất đoạn của ADN ty thể trong mối liên quan với bệnh ung thư vẫn còn hạn chế. Đặc biệt, trên đối tượng bệnh nhân UTĐTT chưa thấy có công bố. Vì vậy, nghiên cứu: “Mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng” được tiến hành để xác định mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể qua đó đánh giá mối liên quan giữa mức độ mất đoạn với tiến triển của ung thư UTĐTT.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mẫu nghiên cứu thu được từ 94 bệnh nhân UTĐTT, trong đó 54 cặp mẫu mô u và mô lân cận u (LCU) do Bệnh viện K cung cấp; 40 cặp mẫu mô u, LCU và mẫu máu do Bệnh viện Quân Y 103 cung cấp. Các thông tin của bệnh nhân như độ tuổi, giới tính, kích thước u, giai đoạn bệnh cũng được cung cấp đầy đủ. Mô LCU đảm bảo không chứa tế bào ung thư. Ngoài ra nghiên cứu sử dụng 67 mẫu máu của người khỏe mạnh bình thường làm đối chứng. Đối tượng nghiên cứu tự nguyện tham gia nghiên cứu và cho mẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết ADN tổng số: ADN tổng số từ mẫu mô, mẫu máu của bệnh nhân UTĐTT và mẫu đối chứng được tách chiết bằng các kit QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Đức). Chi tiết các bước của quy trình tách chiết theo hướng dẫn của

nhà sản xuất. Kit tách chiết này đảm bảo việc tách được cả ADN ty thể. Nồng độ và độ sạch ADN sau khi tách chiết được xác định bằng máy quang phổ Nano drop 2000c (Thermo, Mỹ) và bảo quản ở -20°C.

Xác định mức độ mất đoạn ADN ty thể bằng kỹ thuật PCR định lượng (Real-time PCR)

Trong nghiên cứu này, mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể được xác định bằng kỹ thuật real-time PCR trên máy Mygopro (IT-IS Life Science, Anh) với màu huỳnh quang chèn là SYBR Green I. Kết quả real-time PCR cho giá trị chu kỳ ngưỡng (Threshold cycle, Ct). Tùy thuộc vào số lượng bản sao ADN đích ban đầu có trong ống phản ứng mà giá trị Ct của các mẫu khác nhau là khác nhau. Trong nghiên này mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể được định lượng tương đối.

Công thức tính mức độ mất đoạn

Hai cặp mồi ND1 và ND4 được sử dụng cho phản ứng real-time PCR trong đó cặp mồi ND1 nhân đoạn ADN dài 115 bp thuộc gen ND1 là gen thuộc vùng có tỷ lệ mất đoạn thấp nên sự có mặt sản phẩm PCR từ mồi ND1 là chỉ thị cho sự có mặt của ADN ty thể. Cặp mồi ND4 nhân đoạn ADN dài 128 bp thuộc gen ND4 là gen thuộc vùng mất đoạn chính, sự có mặt sản phẩm PCR từ cặp mồi ND4 là chỉ thị cho sự có mặt của bản sao ADN ty thể không chứa mất đoạn. Trình tự hai cặp mồi: ND1- mồi xuôi: 5'-AGT GGC TCC TTT AAG GAG TG -3'; ND1- mồi ngược: 5'-GGT TGG TCT CTG CTA CAC GA -3'; ND4- mồi xuôi: 5'-CCT ATT TAG CTG TCT CCC AA -3'; ND4 - mồi ngược: 5'-GTG ATA GTG GTT CCA TGG ATA AGT -3'.

Dựa trên sự có mặt của đoạn ADN thuộc gen ND4 và gen ND1 qua phản ứng real-time PCR, chúng tôi tính được tỷ lệ số bản sao ADN ty thể không bị mất đoạn trong tổng số bản sao có

trong mẫu nghiên cứu (TLND4/ND1) theo công thức:

$$TL_{ND4/ND1} = 2^{\Delta Ct}$$

Trong đó: $\Delta Ct = Ct_{ND1} - Ct_{ND4}$. Từ đó, mức độ mất đoạn của ADN ty thể được xác định bằng công thức:

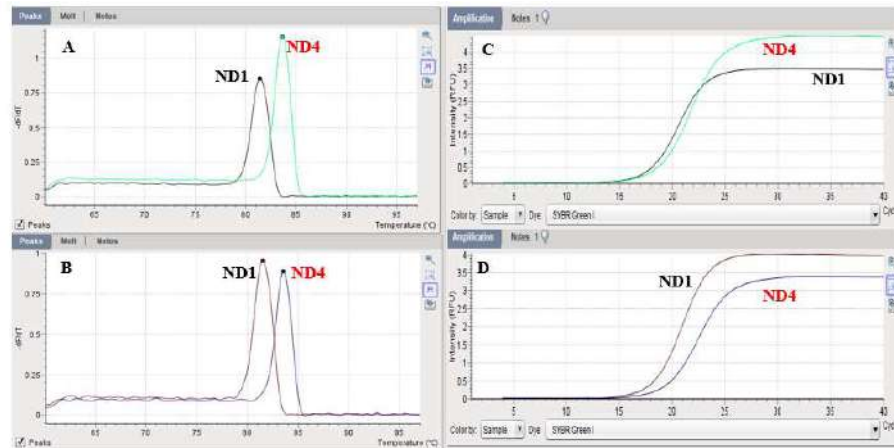
$$\text{Mức độ mất đoạn (\%)} = (1 - TL_{ND4/ND1}) \cdot 100\%$$

Các phương pháp thống kê được dùng trong nghiên cứu

Mức độ mất đoạn được so sánh bằng kiểm định Student t-test (nếu số liệu tuân theo phân phối chuẩn); kiểm định Man-Whitney U test hoặc Kruskal-Wallis đối với số liệu không tuân theo phân phối chuẩn. Các giá trị so sánh có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$ theo 2 phía.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết lập real-time PCR để xác



Hình 1. Minh họa biểu đồ phân tích nhiệt độ đỉnh chảy (A, B) và đường biểu diễn khuếch đại (C, D) trên mô u và LCU bệnh nhân số 65

Hình 1 cho thấy, ở biểu đồ phân tích nhiệt độ đỉnh chảy (hình A, B) chỉ có một đỉnh rõ nét tương ứng với từng cặp mồi, điều đó chứng tỏ cặp mồi dùng cho phản ứng là đặc hiệu. Các đường khuếch đại (C, D) rõ nét vì vậy kết quả định lượng trên các mẫu nghiên cứu là đáng tin cậy.

3.2. Mức độ mất đoạn trên các mẫu nghiên cứu

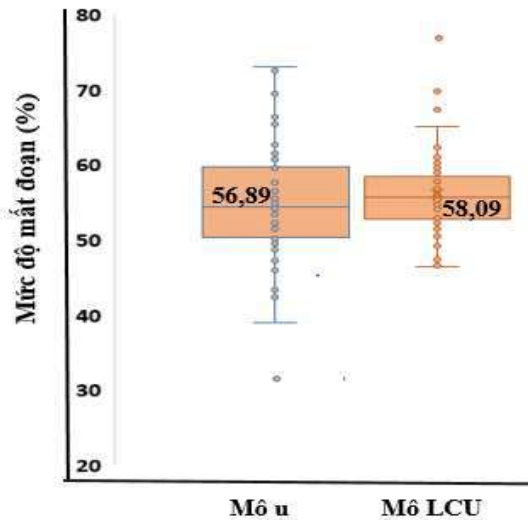
Sử dụng kỹ thuật real-time PCR đã thiết lập được với hai cặp mồi ND1 và

định mức độ mất đoạn ở các mẫu nghiên cứu

Trong nghiên cứu trước [1], chúng tôi đã xây dựng các đường chuẩn ND1 và ND4 từ các plasmid tinh sạch để đánh giá độ tin cậy, tính chính xác, ổn định của phương pháp real-time PCR. Các thông số của đường chuẩn như hệ số tương quan, hiệu quả khuếch đại và hệ số biến thiên đã khẳng định kỹ thuật real-time PCR được thiết lập để xác định mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể cho nghiên cứu là đảm bảo độ chính xác, tin cậy và ổn định, vì vậy có thể áp dụng trên các mẫu nghiên cứu.

Sử dụng 2 cặp mồi và các điều kiện phản ứng real-time PCR, khi áp dụng trên các mẫu UTĐTT, kết quả real-time PCR được minh họa trong Hình 1.

ND4, công thức tính mức độ mất đoạn (xem ở phần phương pháp), mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể đã được xác định trên 94 cặp mô u và LCU. Kết quả định lượng cho thấy, phần lớn bệnh nhân có mức độ mất đoạn trong khoảng 50-60%. Giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị của mức độ mất đoạn ở mô u và mô LCU tương ứng là 56,89 (53,70 – 61,44) và 58,09 (54,82 – 61,18) (Hình 2).



Hình 2. Mức độ mất đoạn ADN ty thể ở mô u và mô LCU

*Thanh trong hộp thể hiện giá trị trung vị, các dấu * là các giá trị ngoại biên*

Khi so sánh mức độ mất đoạn giữa mô u và LCU, kết quả cho thấy, mức độ mất đoạn lớn trên mô LCU và u không có sự khác biệt đáng kể ($p > 0,05$). Trong tổng số 94 bệnh nhân được định lượng mức độ mất đoạn chúng tôi thấy có 38 bệnh nhân có mức độ mất đoạn trên mô u cao hơn so với mô LCU, 46 bệnh nhân trên mô LCU cao hơn mô u. Kết quả này khá tương đồng với nhóm bệnh nhân UTĐTT người Trung Quốc, họ cũng xác định được mức độ mất đoạn trên mô LCU cao hơn so với mô u, tác giả cho rằng các tế bào ung thư có thể ít nhạy

cảm hơn với các mất đoạn lớn của ADN ty thể [8]. Đặc điểm này cũng thấy trên bệnh ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư vùng đầu cổ [9].

Đối với ung thư, các đặc điểm như kích thước u, di căn hạch hay giai đoạn bệnh phản ánh mức độ bệnh. Để xem xét mức độ mất đoạn ADN ty thể có liên quan đến các đặc điểm bệnh học nêu trên hay không, chúng tôi tiến hành phân tích mức độ mất đoạn theo các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT. Kết quả được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Mức độ mất đoạn theo đặc điểm bệnh học của bệnh nhân UTĐTT

	Đặc điểm	Số lượng mẫu	Số trung vị (25 th -75 th)	P
Tuổi	< 50	19	56,77 (54,55-60,39)	0,78*
	>= 50	75	58,71 (53,90 -60,93)	
Giới tính	Nam	48	56,73 (54,08-61,15)	0,84*
	Nữ	46	57,13 (53,77-62,73)	
Kích thước u (cm)	<3	21	55,16 (52,30-58,96)	0,38**
	>=3, <=3,5	21	59,56 (54,28-60,83)	

	Đặc điểm	Số lượng mẫu	Số trung vị (25 th -75 th)		P
	>3,5	52	56,77	(53,91-62,73)	
Vị trí khối u	Trực tràng	24	54,93	(53,00-59,64)	0,11*
	Đại tràng	70	57,95	(53,93-62,79)	
Mức độ xâm lấn của khối u (T)	T1	7	52,66	(50,29-55,92)	0,09**
	T2	30	56,49	(53,55-59,81)	
	T3 và T4	57	58,61	(54,23-62,83)	
Hạch di căn (N)	N0	58	56,65	(52,71-60,83)	0,10*
	N1 và N2	36	58,38	(54,11-62,81)	
Giai đoạn bệnh	I	25	55,16	(52,30-57,93)	0,13**
	II	32	56,77	(53,47-62,45)	
	III và IV	37	58,38	(54,28-62,79)	

Ghi chú: *: Giá trị p nhận được từ kiểm định Man-Whitney U test,

**: từ kiểm định Kruskal-Wallis; (25th-75th): khoảng tứ phân vị thứ 25 và 75;

Bảng 1 cho thấy, mức độ mất đoạn không có sự khác biệt theo các đặc điểm bệnh học được nghiên cứu như kích thước u, vị trí u, sự di căn hạch, giai đoạn bệnh cũng như độ tuổi và giới tính của bệnh nhân ($p>0,05$). Trong khi đó, cũng trên bệnh nhân UTĐTT người Trung Quốc, mức độ mất đoạn có liên quan với giai đoạn bệnh, cụ thể mức độ mất đoạn giảm theo sự tiến triển của ung thư ($p=0,031$). Ngoài ra, mức độ mất đoạn cũng không liên quan đến các đặc điểm như độ tuổi hay sự di căn hạch của ung thư [8].

Việc xác định mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể trên mẫu mô ung thư yêu cầu phải có các thủ thuật xâm lấn như sinh thiết hay phẫu thuật. Vì vậy, nếu việc xác định các giá trị này được tiến hành trên nguồn mẫu lấy được từ dịch cơ thể như nước tiểu hay máu ngoại vi mà vẫn phản ánh được xu hướng biến đổi trên mô ung thư thì việc đánh giá sẽ

được thực hiện dễ dàng, thuận lợi và có nhiều ý nghĩa lâm sàng hơn. Trong bộ mẫu được cung cấp, chỉ có 40 bệnh nhân được cung cấp đầy đủ cả mẫu máu, mẫu mô ung thư. Do đó, chúng tôi đã tiến hành xác định mức độ mất đoạn trên 40 mẫu máu, mẫu mô của những bệnh nhân này và của 67 mẫu máu của người khỏe mạnh làm đối chứng. Kết quả so sánh giữa mẫu máu của bệnh nhân ung thư và máu đối chứng cho thấy mức độ mất đoạn trên máu bệnh nhân là 59,37% cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với mẫu máu đối chứng (53,61%). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nie và cs (2016) [12] khi so sánh mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể trên máu của bệnh nhân ung thư vú với máu của nhóm người không bị ung thư vú ($p<0,001$). Đặc biệt, cũng trong cùng bộ mẫu chúng tôi nghiên cứu, nhóm tác giả Mai và cs đã công bố về tình trạng stress oxy hóa ở mẫu huyết tương của bệnh

nhân cao hơn so với máu của nhóm đối chứng [3]. Tương tự Nie và cs cũng xác định thấy mức độ stress oxy hóa ở huyết tương của bệnh nhân ung thư vú cao hơn so với nhóm đối chứng [12]. Như vậy, trong bộ mẫu nghiên cứu của chúng tôi và của Nie đều cho thấy mức độ mất đoạn và tình trạng stress oxy hóa đều tăng cao hơn ở nhóm bệnh nhân ung thư so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, trong hai yếu tố tăng mức độ mất đoạn và tình trạng tăng stress oxy hóa đâu là yếu tố nguyên nhân thì cần các nghiên cứu sâu hơn. Nhưng theo Aral và cs đã chỉ ra rằng mức độ stress oxy hóa tăng dẫn đến

các gốc tự do được sản sinh ra nhiều vượt quá khả năng cân bằng của hệ thống chống oxy hóa của cơ thể, hậu quả là các gốc tự do sẽ tác động lên các phân tử sinh học như ADN, protein, lipid gây ra sự sai hỏng, đặc biệt đối với phân tử ADN ty thể dễ bị tổn thương hơn bởi các gốc tự do [5].

Để tìm hiểu mối tương quan về mức độ mất đoạn giữa mẫu mô và mẫu máu của bệnh nhân UTĐTT, chúng tôi sử dụng hệ số tương quan Spearman (do số liệu không tuân theo phân phối chuẩn). Kết quả được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân tích tương quan về mức độ mất đoạn giữa các vị trí lấy mẫu

		Mức độ mất đoạn ở máu ngoại vi	Mức độ mất đoạn mô LCU
Mức độ mất đoạn mô LCU	r	0,15	
	p	0,37	
Mức độ mất đoạn mô u	r	0,13	0,42
	p	0,42	0,01

Ghi chú: r: hệ số tương quan Spearman, p: mức ý nghĩa theo hai phía.

Kết quả phân tích ở Bảng 2 cho thấy mối tương quan về mức độ mất đoạn ADN ty thể của bệnh nhân UTĐTT giữa máu ngoại vi và mô ung thư là tương quan yếu và không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy nhiên, giữa mẫu mô u và mô LCU có mối tương quan với hệ số tương quan là 0,42 ($p < 0,05$). Như vậy, mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể ở máu ngoại vi không phản ánh đầy đủ tình trạng của chúng ở mô ung thư. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Jakupciak và cs (2008) cũng chỉ ra rằng các đột biến trong dịch cơ thể không tương quan với các đột biến trong mô khối u nên không thể đánh giá các đột biến ADN ty thể của khối u thông qua xác định chúng trong dịch cơ thể [11].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được mức độ mất đoạn lớn của ADN ty thể trên mô u, mô LCU, mẫu máu ở một nhóm bệnh

nhân UTĐTT người Việt Nam và mẫu máu đối chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, phần lớn bệnh nhân có mức độ mất đoạn thuộc khoảng 50-60%. Mức độ mất đoạn ở mẫu máu của bệnh nhân cao hơn so với mẫu máu đối chứng ($p < 0,05$). Mức độ mất đoạn không phụ thuộc vào độ tuổi, giới tính và các đặc điểm bệnh học. Mối tương quan về mức độ mất đoạn giữa mẫu máu và mẫu mô ung thư của bệnh nhân UTĐTT là tương quan yếu.

Lời cảm ơn

Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài cấp nhà nước KC.04.10/11-15, đề tài QG15.05. Quy trình và các thủ tục lấy mẫu nghiên cứu được sự giúp đỡ từ các bác sĩ, y tá của Bệnh viện K - Hà Nội và Bệnh viện Quân y 103. Bệnh nhân tham gia nghiên cứu tự nguyện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Thị Bích (2018)**, Luận án tiến sĩ ngành Sinh học, Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG Hà Nội.
2. **Phạm Thị Bích, Đặng Thị Len, Đỗ Minh Hà, Tạ Văn Tờ, Trịnh Hồng Thái (2015)**, Mất đoạn lớn của ADN ty thể ở bệnh nhân ung thư biểu mô đại trực tràng. Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và công nghệ., 31(4S): 16-24.
3. **Lê Thị Mai (2016)**, Nghiên cứu tình trạng stress oxi hóa ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng, Luận văn thạc sĩ khoa học, Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG Hà Nội.
4. **Abbott J.A., Francklyn C.S., Robey S. M (2014)**, Transfer RNA and human disease. Front in Genet., DOI: 10.3389 fgene.2014.00158.
5. **Aral C., Ayşe Ö (2007)**. Mitochondrial ADN and cancer. Marmara Med J., 20(2): 127-136.
6. **Arnold M., Sierra MS., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F (2017)**, Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut., 66(4): 683-691.
7. **Bratic A., Larsson N.G (2013)**, The role of mitochondria in aging. J Clin Invest., 123(3): 951-957.
8. **Chen T., He J., Shen L., Fang H., Nie H., Jin T., Wei X., Xin Y., Jiang Y., Li H., Chen G., Lu J., Bai Y (2011)**, The mitochondrial ADN 4977-bp deletion and its implication in copy number alteration in colorectal cancer. BMC Med Genet., 2350: 12-18.
9. **Dani M.A., Dani S.U., Lima S.P., Martinez A., Rossi B.M., Soares F., Zago M.A., Simpson A.J (2004)**, Less Deltamt 4977 than normal in various types of tumors suggests that cancer cells are essentially free of this mutation. Genet Mol Res., 3(3): 395-409.
10. **DiMauro S., (2007)**, Mitochondrial ADN medicine. Biosci Rep., 27(3): 5-9.
11. **Jakupciak J.P., Maragh S., Markowitz M.E., Greenberg A.K., Hoque M.O., Maitra, A., Barker P.E., Wagner P.D., Rom W.N., Srivastava S., Sidransk D., O'Connell, C.D (2008)**, Performance of mitochondrial ADN mutations detecting early stage cancer. BMC Cancer., 8: 285-295.
12. **Nie H., Chen G., He J., Zhang F., Li M., Wang Q., Zhou H., Lyu J., Bai Y (2016)**, Mitochondrial common deletion is elevated in blood of breast cancer patients mediated by oxidative stress. Mitochondrion., 26: 104-112.
13. **Rizzuto R., De Stefani D., Raffaello A., Mammucari C (2012)**, Mitochondria as sensors and regulators of calcium signaling. Nat Rev Mol Cell Biol., 13(9): 566-578.
14. **Wallace D.C., Chalkia D (2013)**, Mitochondrial ADN genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 5(11)., DOI: 10.1101/cshperspect.a021220.
15. **Wang X (2016)**, The expanding role of mitochondria in apoptosis. Genes Dev., 15(22): 2922-2933.

LEVEL OF LARGE DELETIONS OF MITOCHONDRIAL DNA IN COLORECTAL CANCER PATIENTS

Pham Thi Bich, Ta Van To², Trinh Hong Thai^{3*}

¹Faculty of Biology, VNU University of Science

²Department of Anatomical Pathology - Cytopatology, Vietnam National Cancer Hospital,

³Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, VNU University of Science

Tác giả chịu trách nhiệm: thaith@vnu.edu.vn

ABSTRACT

Objectives: To determine the level of large-scale deletions of mitochondrial DNA in tumor tissues, tumor-adjacent normal tissues and blood samples from patients with colorectal cancer; thereby, evaluating the relationship between the levels of these deletion with clinico-pathological characteristics, comparing the level of these deletions in blood samples obtained from cancer patients and normal healthy people (serves as controls).

Methods: The level of large-scale deletions was determined by quantitative PCR (real-time PCR). The relationship between the level of deletion and the pathological characteristics of colorectal cancer was also tested by using suitable statistic methods. A total of 94 patients with colorectal cancer were analyzed. In which, 54 paired tumor and tumor-adjacent normal tissues from 54 patients were provided by Vietnam National Cancer Hospital; 40 paired tumor and adjacent normal tissues associated with blood samples from 40 patients were provided by Military Hospital 103. Blood samples of 67 normal healthy people were used as controls. **Results:** The obtained results showed that the levels of large-scale deletions of mitochondrial DNA in tumor tissue, tumor-adjacent normal tissues, blood patient's samples and blood control samples were 56.89%, 58.09%, 59.37% and 53.61%, respectively. The level of large deletions in the patient's blood sample was higher than in the control blood sample ($p < 0.05$). The level of large-scale deletions of mitochondrial DNA was independent of age, sex and pathological features. **Conclusions:** The level of large-scale deletions in the range of 50-60% was mostly found in the subjected patients. The mtDNA deletion level in the patients' blood sample was significantly higher than that in the control sample ($p < 0.05$). The deletion level was not associated with clinico-pathological characteristics of the studied patients. There was a weak correlation of deletion level between tissue samples and blood samples of patients with colorectal cancer ($p > 0.05$).

Keywords: Level of large deletions of mitochondrial DNA, colorectal cancer, real-time PCR