



## Biến đổi A10398G của gen *ND3* ty thể ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng

Phạm Thị Bích<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Tú<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Khuyên<sup>1</sup>,  
Đỗ Minh Hà<sup>1</sup>, Tạ Văn Tờ<sup>2</sup>, Trịnh Hồng Thái<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội  
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam*

<sup>2</sup>*Khoa Giải phẫu bệnh - Tế bào, Bệnh viện K, 43 Quán Sứ, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 20 tháng 9 năm 2018

Chỉnh sửa ngày 10 tháng 11 năm 2018; Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 12 năm 2018

**Tóm tắt:** Biến đổi A10398G của gen *ND3* ty thể dẫn đến thay thế axit amin Threonine thành Alanine của protein NADH dehydrogenase 3 được xác định có liên quan đến ung thư vú, ung thư phổi. Tuy nhiên, đối với ung thư đại trực tràng (UTĐTT) dữ liệu về tần suất và mối liên quan của biến đổi A10398G với các đặc điểm bệnh học của bệnh vẫn còn chưa được xác định. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành sàng lọc biến đổi A10398G ở 86 bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam và đánh giá mối liên quan giữa biến đổi này với các đặc điểm bệnh học của bệnh. Sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP và giải trình tự ADN, biến đổi A10398G đã được xác định với tỷ lệ 50/86 (chiếm 58,1%) bệnh nhân. Trong đó, trên mô u tần suất biến đổi là 47/86 mẫu (chiếm 54,5%), trên mô lân cận u là 49/86 mẫu (chiếm 56,9%). Biến đổi A10398G liên quan đến mức độ xâm lấn của khối u (giai đoạn T) ( $p < 0,05$ ) với 100% bệnh nhân ở giai đoạn T1 đều có biến đổi này. Ngoài ra, chúng tôi không xác định thấy mối liên quan giữa biến đổi A10398G với các đặc điểm như độ tuổi, giới tính, kích thước khối u, vị trí khối u, mức độ biệt hóa và giai đoạn bệnh của UTĐTT ( $p > 0,05$ ).

**Từ khóa:** Biến đổi A10398G, gen *ND3* ty thể, UTĐTT, PCR -RFLP, giải trình tự ADN.

### 1. Mở đầu

UTĐTT đứng thứ ba về mức độ phổ biến và là nguyên nhân gây tử vong cao thứ tư do ung thư trên toàn cầu [1]. Tỷ lệ mắc và tử vong của UTĐTT khác nhau đáng kể giữa các vùng trên

thế giới. Tại Việt Nam, số ca bệnh UTĐTT được chẩn đoán đứng thứ 5 với tỷ lệ khoảng 7% trong tổng số các ca ung thư [2]. Trong các yếu tố liên quan đến ung thư thì rối loạn ADN ty thể là một yếu tố nguy cơ [3]. Hơn nữa, hệ gen ty thể dễ bị biến đổi hơn ADN nhân do không có các đoạn intron, không có protein histon và phân bố gần các phức hệ hô hấp của tế bào, nơi mà các gốc tự do được tạo ra trong quá trình phosphoryl hóa oxy hóa [4].

\* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-0912691460.

Email: [thaith@vnu.edu.vn](mailto:thaith@vnu.edu.vn)

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4125>

Trên gen *ND3* ty thể, một số vị trí biến đổi như G10176A, C10269T, C10272T, T10363C và A10398G đã được xác định ở một số loại ung thư [5]. Trong số các vị trí biến đổi nêu trên thì biến đổi A10398G được nghiên cứu nhiều hơn cả. Ở ung thư vú, biến đổi A10398G đã được khảo sát ở phụ nữ thuộc các nhóm người khác nhau như người Mỹ gốc Phi, Mỹ da trắng, Mỹ gốc Âu [6, 7] hoặc ở nhóm phụ nữ người Việt Nam [8]. Kết quả các nghiên cứu trên cho thấy mối liên quan giữa biến đổi A10398G với ung thư vú khác nhau ở các chủng tộc người khác nhau. Ở ung thư phổi, biến đổi A10398G đã được xác định ở dạng dị thể bào chất. Đặc biệt, những bệnh nhân có mức độ dị thể bào chất thấp là một dấu hiệu tiên lượng xấu của bệnh [9]. Đối với UTĐTT, dữ liệu liên quan đến biến đổi A10398G còn thiếu cả ở Việt Nam và thế giới. Vì vậy, nghiên cứu tần suất biến đổi A10398G ở UTĐTT và mối liên quan của biến đổi với bệnh là cần thiết.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp PCR-RFLP để xác định biến đổi A10398G của gen *ND3*, kết hợp phương pháp giải trình tự để khẳng định kết quả. Thống kê tỷ lệ biến đổi và đánh giá mối liên quan giữa biến đổi với các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT ở một nhóm bệnh nhân người Việt Nam.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp

### 2.1. Nguyên liệu

86 cặp mẫu mô gồm mô u và mô lân cận u của 86 bệnh nhân UTĐTT cùng với các thông tin của bệnh nhân được cung cấp từ Khoa Giải phẫu bệnh - Tế bào, Bệnh viện K Hà Nội. Mẫu lân cận u lấy cách khối u tối thiểu 5cm, diện cắt được xác định không còn tế bào ung thư. Những thông tin của bệnh nhân như độ tuổi, giới tính, vị trí, kích thước u, độ biệt hóa và giai đoạn bệnh giúp phản ánh nguy cơ, mức độ và tiến triển của ung thư được bệnh viện cung cấp để đánh giá mối liên quan với biến đổi A10398G của gen *ND3*. Trong đó, độ biệt hóa và giai đoạn bệnh (theo phân loại TNM -

Tumor- lymph Node- Metastases) được phân chia theo tiêu chuẩn của tổ chức ung thư Hoa Kỳ [10], độ tuổi xếp thành 2 nhóm là trên 50 và dưới 50 tuổi (vì theo thống kê của tổ chức ung thư Hoa Kỳ thì trên 90% số ca mắc UTĐTT được xác định sau 50 tuổi [11], vị trí ung thư được chia thành hai nhóm là ung thư đại tràng và trực tràng theo cấu tạo giải phẫu. Kích thước khối u được chia thành 3 nhóm: kích thước nhỏ hơn 3cm; từ 3 đến 3,5cm và lớn hơn 3,5cm.

### 2.2. Phương pháp

*Tách chiết ADN tổng số:* ADN tổng số từ mẫu mô của bệnh nhân UTĐTT được tách chiết bằng kit QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Đức). Kit tách chiết này đảm bảo việc tách được cả ADN ty thể. Các bước tiến hành theo quy trình của nhà sản xuất. ADN sau khi tách chiết được xác định nồng độ và độ sạch bằng máy quang phổ Nano drop 2000c (Thermo, Mỹ) và bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$ .

*Khuếch đại đoạn gen ND3 bằng PCR:* đoạn gen *ND3* có chứa vị trí 10398 được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu (cặp mồi 10398) với trình tự: 5'-CTG CCA CTA ATA GTT ATG TC - 3' (mồi xuôi) và 5'-GAT ATG AGG TGT GAG CGA TA - 3' (mồi ngược). Cặp mồi 10398 được thiết kế bằng phần mềm Primer-BLAST trong NCBI. Phản ứng PCR gồm các thành phần: 6,25  $\mu\text{l}$  OneTaq Hot Start 2x Master Mix (Neb, Mỹ); 0,2  $\mu\text{M}$  mồi gồm mồi xuôi và mồi ngược, 12,5-31 ng ADN khuôn, sau đó bổ sung  $\text{H}_2\text{O}$  đến 12,5  $\mu\text{l}$ . Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm biến tính ở  $94^{\circ}\text{C}$  trong 30 giây, gắn mồi ở  $54^{\circ}\text{C}$  trong 30 giây và kéo dài mạch ở  $68^{\circ}\text{C}$  trong 30 giây, thực hiện phản ứng PCR với 34 chu kỳ. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 2%, nhuộm ethidium bromide. Quan sát và chụp ảnh bản gel bằng hệ thống máy Gel Doc TM XR (Biorad).

*Kỹ thuật đa hình chiều dài các đoạn cắt giới hạn (RFLP):* Sản phẩm PCR được nhân lên từ đoạn gen *ND3* có chứa vị trí 10398 dùng để phân tích RFLP với enzyme cắt giới hạn *DdeI* có vị trí nhận biết: 5'-C↓TNAG-3'. Thành phần

phản ứng cắt: 2 $\mu$ l Fast Digest® buffer 10X, 10 $\mu$ l sản phẩm PCR, 1 $\mu$ l Fast Digest® enzyme và bổ sung H<sub>2</sub>O đến đủ 30 $\mu$ l. Sản phẩm sau cắt được điện di trên gel agarose 2%, nhuộm ethidium bromide. Quan sát và chụp ảnh bản gel bằng hệ thống máy Gel Doc™ XR (Biorad). Phân tích vị trí nhận biết của enzyme này cho thấy: trường hợp mẫu không có biến đổi tại vị trí 10398 (10398A) thì sản phẩm PCR sau khi cắt bằng enzyme *DdeI* cho 2 băng có kích thước 196 bp và 50 bp. Trong trường hợp mẫu có biến đổi (10398G) thì sản phẩm sau khi cắt bằng enzyme cho 3 băng có kích thước 158 bp, 50 bp và 38 bp.

**Giải trình tự đoạn gen chứa biến đổi:** Giải trình tự ADN để khẳng định kết quả PCR-RFLP. Đoạn ADN cần giải trình tự sau khi tinh sạch được gửi đến công ty 1st BASE để giải trình tự. Phần mềm Bioedit được dùng để phân tích kết quả giải trình tự, so sánh kết quả giải trình tự thu được với trình tự ADN ty thể tham chiếu trên NCBI mã số NC\_012920.1 bằng chương trình BLAST nucleotide trên NCBI [12] để xác định biến đổi.

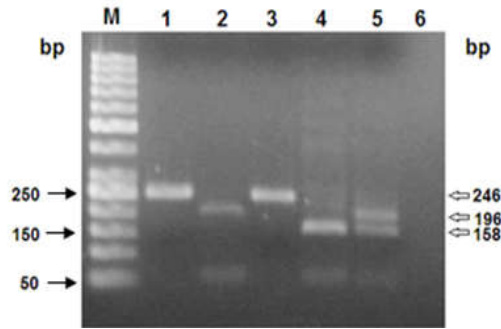
**Phân tích thống kê:** Kiểm định Khi bình phương (Chi square test -  $\chi^2$ ) hoặc kiểm định chính xác của Fisher (Fisher's Exact test) với mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$  được dùng để so sánh và phân tích mối liên quan giữa biến đổi A10398G với các đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư.

### 3. Kết quả và thảo luận

ADN tổng số của 86 cặp mẫu mô UTĐTT được dùng làm khuôn để nhân đoạn ADN chứa vị trí 10398 thuộc gen *ND3* ty thể bằng kỹ thuật PCR. Sau đó sản phẩm PCR này được cắt bằng enzyme *DdeI*. Kết quả PCR-RFLP được minh họa trong Hình 1.

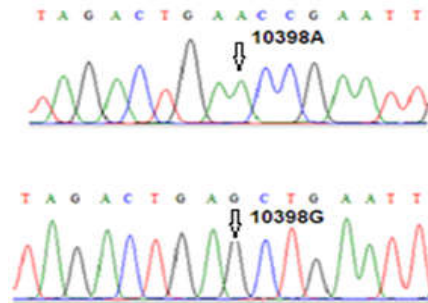
Hình 1 cho thấy, sản phẩm PCR ở các giếng số 1, 3 đều cho một băng sáng, rõ nét, không có băng phụ với kích thước tương ứng 246 bp đúng theo tính toán lý thuyết khi thiết kế mỗi chứng tỏ cặp mỗi được thiết kế là đặc hiệu, điều kiện phản ứng PCR là phù hợp. Ở giếng số 2, 4 là sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme *DdeI*.

Giếng 2 là mẫu dạng không có biến đổi (10398A) vì sản phẩm PCR sau khi cắt bằng enzyme cho 2 băng có kích thước tương ứng 196 và 50 bp, giếng 4 có các băng kích thước tương ứng 158 bp và 50 bp nên là mẫu dạng có biến đổi (10398G).



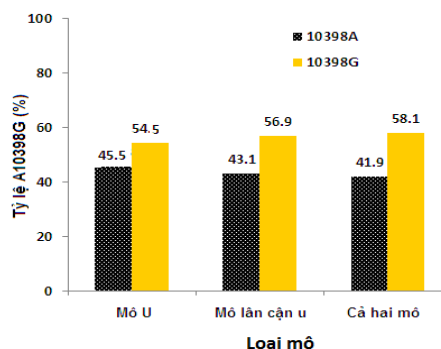
Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR đoạn gen *ND3* và sản phẩm được cắt bằng enzyme *DdeI* tương ứng (gel agarose 2,0%, nhuộm ethidium bromide).

Giếng M: Thang chuẩn ADN 50 bp, giếng 1, 3: sản phẩm PCR, giếng 2, 4: sản phẩm cắt bằng enzyme tương ứng của mẫu nghiên cứu, giếng 5: đối chứng dương là sản phẩm cắt bằng enzyme đoạn ADN chứa vị trí 10398 dạng 10398A và G (đã được khẳng định bằng giải trình tự) được trộn lại với nhau, giếng 6: đối chứng âm.



Hình 2. Trình tự đoạn ADN của gen *ND3* có chứa dạng 10398A và 10398G.

Để khẳng định chính xác kết quả PCR-RFLP, chúng tôi đã giải trình tự đoạn gen *ND3* có chứa vị trí 10398 ở hai mẫu nghiên cứu có dạng 10398A và 10398G (đã được xác định bằng phương pháp PCR-RFLP) thì thấy kết quả giải trình tự gen hoàn toàn phù hợp với kết quả PCR-RFLP (Hình 2).



Hình 3. Phân bố A10398G ở các vị trí mô của bệnh nhân UTĐTT.

Tổng hợp kết quả sàng lọc biến đổi A10398G bằng phương pháp PCR-RFLP, chúng tôi đã xác định được 50/86 (chiếm 58,1%) bệnh nhân có biến đổi A10398G trên mô u hoặc mô lân cận u. Trong đó, ở mô u tần suất biến đổi là 47/86 mẫu (chiếm 54,5%), trên mô lân cận u là 49/86 mẫu (chiếm 56,9%) (Hình 3). Không có sự khác biệt về tần suất biến đổi A10398G giữa mô u và mô lân cận u ( $p>0,05$ ).

Bảng 1. Tần suất và mối liên quan của biến đổi A10398G với các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT

Đặc điểm	Số lượng	Tần suất A10398G (%) n			p
		10398A	10398G		
Tuổi	<50	18	22,2 (4)	77,8 (14)	0,07 **
	>=50	66	45,5 (30)	54,5 (36)	
Giới tính	Nam	41	39,0 (16)	61,0 (25)	0,61 **
	Nữ	45	44,4 (20)	55,6 (25)	
Vị trí ung thư	Đại tràng	45	33,3 (15)	66,7 (30)	0,09 **
	Trực tràng	41	51,2 (21)	48,8 (20)	
Độ biệt hóa	Rõ	10	40,0 (4)	60 (6)	1,00*
	Vừa	39	43,6 (17)	56,4 (22)	
	Kém	6	50,0 (3)	50,0 (3)	
Kích thước u (cm)	<3	21	23,8 (5)	76,2 (16)	0,11 **
	>=3; <=3,5	16	56,3 (9)	43,8 (7)	
	>3,5	42	45,2 (19)	54,8 (23)	
Giai đoạn N	No	51	49,0 (25)	51,0 (26)	0,11 **
	N1 và N2	32	37,0 (10)	63,0 (22)	
Giai đoạn T	T1	9	0,0 (0)	100 (9)	0,03*
	T2	35	45,7 (16)	54,3 (19)	
	T3 và T4	40	47,5 (19)	52,5 (21)	
Giai đoạn bệnh	I	30	43,3 (13)	56,7 (17)	0,37**
	II	21	52,4 (11)	47,6 (10)	
	III và IV	33	33,3 (11)	66,7 (22)	

**Ghi chú:** \*: Giá trị p nhận được từ kiểm định Fisher, \*\*: Giá trị p nhận được từ kiểm định Khi bình phương ( $\chi^2$ )

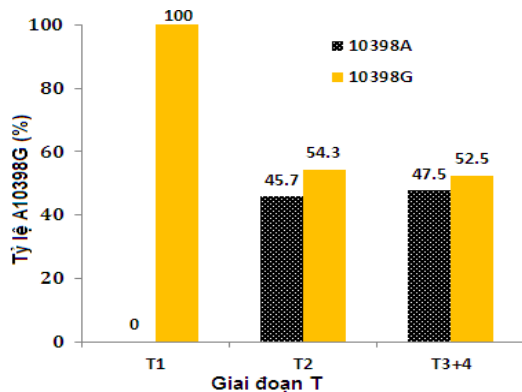
Theo các công bố trước đây, tỷ lệ biến đổi A10398G ở các loại ung thư khác nhau là khác nhau. Trên bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam chúng tôi xác định tỷ lệ biến đổi A10398G tính chung ở cả hai mô là 58,1%, trong khi đó tỷ lệ

này ở nhóm bệnh nhân ung thư vú người Ba Lan là 23% [13], ở bệnh nhân ung thư phổi với mức độ biến đổi từ 0,31-97,04% [8]. Như vậy có thể thấy rằng tần suất biến đổi có thể liên quan đến loại ung thư.

Mối liên quan giữa biến đổi A10398G với các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT được xác định bằng kiểm định Khi bình phương ( $\chi^2$ ) hoặc kiểm định chính xác của Fisher, kết quả được trình bày trong Bảng 1.

Kết quả kiểm định thống kê (Bảng 1) cho thấy tần suất biến đổi A10398G không liên quan với các đặc điểm như độ tuổi, giới tính của bệnh nhân, vị trí, độ biệt hóa, kích thước, giai đoạn TNM của khối u ( $p > 0,05$ ) nhưng liên quan với mức độ phát triển của khối u (giai đoạn T) ( $p < 0,05$ ). Đặc biệt, kết quả phân tích tần suất biến đổi A10398G theo giai đoạn T còn cho thấy dạng biến đổi 10398G cao nhất ở ở giai đoạn T1 (100%) và giảm dần ở các giai đoạn T2 và T3,4 (Hình 4). Kết quả này gợi ý rằng biến đổi A10398G có thể liên quan với giai đoạn đầu xâm lấn của khối u. Kết quả này cũng phù hợp với một số công bố trước đây cho rằng các biến đổi trên ADN ty thể có thể phát sinh và đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn sớm của ung thư [14, 15].

Biến đổi tại vị trí 10398 trong gen *ND3* có thể làm giảm hiệu quả vận chuyển điện tử của chuỗi vận chuyển điện tử trong phức hệ hô hấp ty thể, làm tăng tốc độ rò rỉ điện tử và gia tăng sự hình thành các gốc tự do chứa oxi (ROS) do vậy có thể liên quan đến quá trình phát sinh ung thư [7], tuy nhiên cơ chế tác động của biến đổi A10398G đối với sự phát sinh và tiến triển của ung thư vẫn chưa được hiểu một cách rõ ràng và còn nhiều quan điểm chưa thống nhất.



Hình 4. Phân bố A10398G ở các giai đoạn T của bệnh nhân UTĐTT.

Canter và cs (2005) đã chỉ ra rằng alen 10398A làm tăng nguy cơ mắc ung thư vú ở phụ nữ người Mỹ gốc Phi (OR = 1,6; 95% CI: 1,10-2,31;  $p = 0,013$ ) nhưng lại không thấy mối liên quan này ở người Mỹ da trắng [7]. Trong khi đó ở nhóm phụ nữ người Mỹ gốc Âu dạng 10398G lại làm tăng nguy cơ mắc ung thư vú (OR = 1,8; 95% CI: 1,14-2,81). Đặc biệt hơn, những phụ nữ mang đồng thời biến thể 10398G và 12308G thì làm tăng hơn nguy cơ phát triển ung thư vú (OR = 3,03; 95% CI: 1,53-6,11), trái lại, nếu phụ nữ mang đồng thời biến thể 10398A và 12308G thì lại giảm nguy cơ phát triển ung thư vú (OR = 0,46; 95% CI: 0,24-0,88) [6]. Trong khi đó, nghiên cứu của Jiang và cs (2014) lại cho thấy không có sự khác biệt về tần suất biến đổi A10398G trong nhóm bệnh nhân ung thư vú và nhóm đối chứng thuộc người Hán [16]. Như vậy, kết quả các nghiên cứu trên cho thấy vai trò của biến đổi A10398G có thể khác nhau ở các chủng tộc người khác nhau.

Biến đổi A10398G cũng được nghiên cứu ở bệnh nhân ung thư phổi, Yue Xiao và cs, 2016 đã xác định được biến đổi A10398G tồn tại ở dạng dị thể bào chất (bệnh nhân chứa đồng thời cả bản sao ADN ty thể ở dạng 10398A và 10398G trong cùng một tế bào) với mức độ dị thể bào chất khác nhau ở các bệnh nhân khác nhau. Đặc biệt, những bệnh nhân có mức độ biến đổi A10398G thấp là một dấu hiệu tiên lượng xấu của bệnh [9].

Đối với UTĐTT, dữ liệu về biến đổi tại vị trí 10398 thuộc gen *ND3* vẫn còn thiếu trên cả thế giới và ở Việt Nam. Vì vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cung cấp thêm thông tin về tần suất cũng như mối liên quan giữa biến đổi A10398G với một số đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT người Việt Nam.

#### 4. Kết luận

Bằng kỹ thuật PCR-RFLP biến đổi A10398G của gen *ND3* ty thể ở bệnh nhân UTĐTT đã được xác định với tỷ lệ 58,1%. Trong đó, tỷ lệ biến đổi trên mô u là 54,5%, trên mô lân cận u là 56,9%. Biến đổi A10398G

không liên quan với các đặc điểm của bệnh nhân như độ tuổi, giới tính, vị trí khối u, kích thước khối u, độ biệt hóa, giai đoạn TNM của khối u ( $p > 0,05$ ), nhưng liên quan đến mức độ lan sâu vào thành ruột của khối u (giai đoạn T) ( $p < 0,05$ ) với 100% biến đổi được xác định ở giai đoạn T1 và tỷ lệ này giảm dần ở các giai đoạn T2, T3 và T4.

### 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. Quy trình và các thủ tục lấy mẫu được sự giúp đỡ từ các bác sỹ, y tá của Bệnh viện K– Hà Nội. Bệnh nhân tham gia nghiên cứu tự nguyện.

### Tài liệu tham khảo

- [1] Arnold, M.Sierra, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A.Jemal, F. Bray, Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality, *Gut* 66(4) (2017) 683.
- [2] <http://globocan.iarc.fr/Pages/online.aspx> (11/2017).
- [3] M. Brandon, P. Baldi, D.C Wallace, Mitochondrial mutations in cancer, *Oncogen* 25 (34) (2006) 4647.
- [4] C. Aral, O. Ayse, Mitochondrial DNA and cancer, *Marmara Medical Journal* 20 (2) (2007) 127.
- [5] <http://www.mitomap.org/MITOMAP> (11/2017).
- [6] D. Covarrubias, R.K. Ba, L.J. Wong, S.M. Leal, Mitochondrial DNA variant interactions modify breast cancer risk, *J Hum Genet* 53(10) (2008) 924.
- [7] J.A.Canter, A.R. Kallianpur, F.F. Parl, R.C. Millikan, Mitochondrial DNA G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women, *Cancer Res* 65(17)(2005) 8028
- [8] Nguyễn Thị Tú Linh, Nguyễn Bình Hiếu, Đỗ Minh Hà, Tạ Văn Tờ, Trịnh Hồng Thái, Phân tích biến đổi A10398 ty thể trên bệnh nhân ung thư vú ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học tự nhiên và công nghệ* 31(2) (2015) 36.
- [9] I. Yuexiao, Yuehua Wei, W. Qiaoli, X. Hui, W. You, Y. Anqi, Y. Hui, G. Yan, Z. Fuxiang, Heteroplasmy of mutant mitochondrial DNA A10398G and analysis of its prognostic value in non-small cell lung cancer, *Oncol Lett* 12(5)(2016) 3081.
- [10] AJCC - American Joint Committee on Cancer. Colon and rectum. In: *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th New York, Springer (2010) 143.
- [11] American Cancer Society. *Colorectal Cancer facts and figures: 2014-2016*.
- [12] <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (11/2017).
- [13] A.M.Czarnecka, T.Krawczyk, M.Zdrozny, J.Lubiński, R.S.Arnold, W.Kukwa, A.Scińska, P.Golik, E.Bartnik, J.A.Petros, Mitochondrial NADH- dehydrogenase subunit 3 (ND3) polymorphism (A10398G) and sporadic breast cancer in Poland, *Breast Cancer Res Treat* 121(2) (2010) 511.
- [14] T. Chen, J. He, L. Shen, H.Fang, H. Nie, T. Jin, X. Wei, Y. Xin, Y. Jiang, H. Li, G. Chen, J. Lu, Y. Bai, The mitochondrial DNA 4,977-bp deletion and its implication in copy number alteration in colorectal cancer, *BMC Med Genet* 2350 (2011) 12.
- [15] J.Lu, L.K. Sharma, Y. Bai, Implications of mitochondrial DNA mutations and mitochondrial dysfunction in tumorigenesis, *Cell Research* 19(7) (2009) 802.
- [16] H. Jiang, H.Zhao, H. Xu, L. Hu, W. Wang, Y. Wei, Y. Wang, X.Peng, F Zhou, Peripheral blood mitochondrial DNA content, A10398G polymorphism and risk of breast cancer in a Han Chinese population, *Cancer Sci* 105(6) (2014) 639.

## The A10398G Alteration of Mitochondrial *ND3* gene in Colorectal Cancer Patients

Pham Thi Bích<sup>1</sup>, Nguyen Thi Khuyen<sup>1</sup>, Do Minh Ha<sup>1</sup>, Nguyen Ngoc Tu<sup>1</sup>,  
Ta Van To<sup>2</sup>, Trinh Hong Thai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam*

<sup>2</sup>*Department of Anatomical Pathology - Cytopatology, Vietnam National Cancer Hospital,  
43 Quan Su, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

**Abstract:** The A10398G alteration of *ND3* mitochondrial gene results in an amino acid change from Threonine to Alanine in NADH dehydrogenase 3. The A10398G alteration was shown to be associated with breast cancer and lung cancer. However, there is no data on the frequency and association of the A10398G alteration with pathological characteristics in colorectal cancer. Therefore, this study screened the A10398G in 86 Vietnamese CRC patients and then evaluated the probable association between this alteration and pathological characteristics. A10398G alteration was identified by using PCR-RFLP and DNA sequencing in 50 out of the 86 patients (about 58.1%); among these, the frequency of A10398G alteration in tumor tissue and non-tumor tissue were 54.5% and 56.9%, respectively. A10398G alteration was associated with T-stage of TNM classification ( $p < 0.05$ ) with 100% of patients in T1 stage bearing A10398G ( $p < 0.05$ ). In contrast, this alteration appeared not to associate with the patients' age, gender, tumour size, tumour location and lymph node metastases of tumors.

**Keywords:** A10398G alteration, mitochondrial *ND3* gene, colorectal cancer, PCR-RFLP, DNA sequencing.