VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology, Vol. 40, No. 3 (2024) 98-106

VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology

Journal homepage: https://js.vnu.edu.vn/NST

Original Article

Mitochondrial DNA Copy Number in Colorectal Cancer in Vietnamese Patients

Pham Thi Bich, Trinh Hong Thai*

VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

Received 28th May 2024
Revised 25th August 2024; Accepted 30th August 2024

Abstract: Mitochondria are organelles in most eukaryotic cells, have their genome, and replicate independently of the nuclear genome. Alterations of mitochondrial DNA (mtDNA) are associated with cancer. In particular, each cell has many mtDNA copies, the copy number depends on the cell type and the pathological state of the cell. To understand the role of mtDNA copy number in colorectal cancer (CRC), we quantified mtDNA copy number using real-time PCR method on 115 pairs of cancer tissue samples and 40 blood samples of CRC patients which were provided by hospital K, Military Hospital 103, and 67 blood samples of healthy people were used as controls. The results showed that, on tissue samples, most patients had mtDNA copy numbers in the range of 500-1500. The mtDNA copy number in the tissue sample of colon cancer patients (median: 1487.90) was higher than that of rectal cancer patients (median: 694.84) ($p<0.05$). The mtDNA copy number increases with age, women are higher than men and decreases with lymph node metastasis and cancer stage. The mtDNA copy number of blood samples from cancer patients is 3.4 times higher than that of blood samples from healthy people ($p<0.05$). The correlation of mtDNA copy number between tissue and blood samples from the same cancer patient is weak.

Keywords: Mitochondrial DNA, mtDNA copy number, colorectal cancer, real-time PCR.

* Corresponding author.
E-mail address: thaith@vnu.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5721

Số bản sao DNA ty thể ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng người Việt Nam

Phạm Thị Bích, Trịnh Hồng Thái*

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 28 tháng 5 năm 2024
Chỉnh sửa ngày 25 tháng 8 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 8 năm 2024

Tóm tắt: Ty thể là bào quan có mặt ở hầu hết các tế bào nhân chuẩn, có hệ gen riêng và nhân bản độc lập với hệ gen nhân. Biến đổi của DNA ty thể (mtDNA) đã được chứng minh có liên quan đến ung thư. Đặc biệt, mỗi tế bào có nhiều bản sao mtDNA, số lượng bản sao phụ thuộc vào loại tế bào và trạng thái bệnh lý của tế bào. Để tìm hiểu vai trò của số lượng bản sao mtDNA đối với bệnh ung thư đại trực tràng (UTĐTT), chúng tôi đã tiến hành định lượng số bản sao mtDNA bằng phương pháp PCR định lượng (real- time PCR) của 115 cặp mẫu mô ung thư, 40 mẫu máu của bệnh nhân UTĐTT được cung cấp bởi Bệnh viện K, Bệnh viện Quân Y 103 và 67 mẫu máu của người khỏe mạnh dùng làm đối chứng. Kết quả cho thấy, trên mẫu mô, phần lớn bệnh nhân có số bản sao mtDNA thuộc khoảng 500-1500. Số lượng bản sao mtDNA trên mô của bệnh nhân ung thư đại tràng (trung vị: 1487,90) cao hơn so với bệnh nhân ung thư trực tràng (trung vị: 694,84) ($p<0,05$). Số bản sao mtDNA có xu hướng tăng theo độ tuổi, nữ cao hơn nam và giảm theo sự di căn hạch và giai đoạn bệnh của ung thư. Số bản sao mtDNA của mẫu máu bệnh nhân ung thư cao hơn 3,4 lần trên mẫu máu của người khỏe mạnh ($p<0,05$). Mối tương quan về số bản sao mtDNA giữa mẫu mô và máu của cùng bệnh nhân ung thư là tương quan yếu.

Từ khóa: Số bản sao, mtDNA, 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. 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 [1].

Ty thể là bào quan có mặt ở hầu hết tế bào nhân chuẩn, có hệ gen riêng với chức năng chính là nhà máy sản xuất năng lượng của tế bào [2-4]. Biến đổi của hệ gen ty thể đã được xác định liên quan đến sự phát sinh ung thư [5-12]. Tuy nhiên, biểu hiện của bệnh do đột biến mtDNA còn phụ thuộc vào tỷ lệ bản sao bị đột biến so với bản sao dạng bình thường (mức độ dị tế bào chất) [13], thường khi đột biến đạt đến ngưỡng nhất định khoảng từ 50% đến 90% [14, 15]. Hơn nữa, ngưỡng đột biến ảnh hưởng đến biểu hiện bệnh còn phụ thuộc từng loại đột biến và từng loại mô [6].

Trong mỗi tế bào, số lượng bản sao mtDNA có thể thay đổi từ hàng trăm đến hàng nghìn bản sao tùy thuộc vào loại tế bào và trạng thái tế bào [6]. Nghiên cứu thay đổi số lượng bản sao mtDNA đã được xác định ở nhiều loại ung thư như ung thư vú [16] ung thư phổi [17], UTĐTT [11, 12, 18], ung thư gan, ung thư dạ dày ung thư biểu mô tuyến nước bọt, ung thư vùng đầu cổ, ung thư tuyến giáp, ung thư buồng trứng, ung thư nội mạc tử cung và ung thư tuyến tiền liệt [20, 26]. Trong số đó, có sự giảm số bản sao mtDNA ở ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư vú nhưng tăng trong ung thư biểu mô tuyến nước bọt, ung thư vùng đầu cổ, ung thư tuyến giáp, ung thư buồng trứng, ung thư

* Tác giả liên hệ.
Địa chỉ email: thaith@vnu.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5721

nội mạc tử cung, ung thư tuyến tiền liệt [26]. Đối với UTĐTT, ảnh hưởng của sự thay đổi số lượng bản sao mtDNA với sự tiến triển của bệnh vẫn còn nhiều quan điểm chưa thống nhất. Trong nghiên cứu của Feng và cộng sự [12] đã chỉ ra mối liên quan giữa sự giảm số bản sao DNA ty thể và sự tiến triển bệnh, số bản sao ở mô lân cận u cao hơn mô u. Trong khi đó nghiên cứu của Cui và cộng sự [11] và Mohideen và cộng sự [21], lại cho kết quả ngược lại, số bản sao ở mô u cao hơn ở mô lân cận u. Đặc biệt, trên đối tượng bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam, cho đến nay chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào được công bố. Vì vậy, nghiên cứu số bản sao mtDNA ở bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam qua đó đánh giá mối liên quan giữa số bản sao mtDNA với tiến triển của UTĐTT là cần thiết.

2. Thực nghiệm

2.1. Đối tượng

115 cặp mẫu mô UTĐTT gồm mô U và mô lân cận u (LCU) của 115 bệnh nhân, trong đó có 42 mẫu trực tràng, 73 mẫu đại tràng và 40 bệnh nhân được cung cấp cả mẫu máu cùng với các thông tin như độ tuổi, giới tính, kích thước u, mức độ biệt hóa, giai đoạn bệnh được cung cấp từ Khoa giải phẫu bệnh - Tế bào, Bệnh viện K và Bệnh viện Quân y 103. Mẫu đối chứng là 67 mẫu máu của người khỏe mạnh. Mẫu nghiên cứu được thu thập từ năm 2012 đến năm 2017. Quy trình thu thập mẫu do các bác sĩ thực hiện có thể tóm tắt như sau: mẫu được cung cấp từ những bệnh nhân đã được phẫu thuật với mục đích để điều trị bệnh, được chẩn đoán xác định bằng xét nghiệm mô bệnh học tại Khoa Giải phẫu bệnh - Tế bào của Bệnh viện, là UTĐTT nguyên phát, dạng ung thư biểu mô tuyến. Mẫu mô sau khi phẫu thuật được rửa bằng đệm Kali phosphate 100mM, pH 8,0 và được chia vào các ống 1,5 ml riêng biệt để chuẩn bị tách chiết DNA tổng số. Mô U lấy tại vị trí trung tâm khối u, mô LCU lấy cách trung tâm khối u ít nhất 5 cm đảm bảo không chứa tế bào ung thư. Mẫu máu là máu ngoại vi được chống đông bằng EDTA, đã được tách huyết tương. Máu được lưu trữ trong các ống chống đông, bảo quản ở tủ lạnh -25 ^{0}C cho đến khi tách chiết DNA. Quy trình thu thập mẫu được bệnh viện K, bệnh viện Quân Y 103 chấp thuận, đối tượng nghiên cứu đã ký giấy đồng ý tự nguyện tham gia nghiên cứu và cho mẫu.

2.2. Phương pháp

Tách chiết DNA tổng số: DNA tổng số từ mẫu mô của bệnh nhân UTĐTT và từ mẫu máu được tách chiết bằng các kit của hãng QIAGEN, Đức. Chi tiết các bước của quy trình tách chiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Kit tách chiết đảm bảo việc tách được cả mtDNA. Nồng độ và độ sạch DNA sau khi tách chiết được xác định bằng máy quang phổ Nano drop 2000c (Thermo, Mỹ) và bảo quản ở -20 ^{0}C.

Định lượng số bản sao mtDNA bằng kỹ thuật real - time PCR.

Trong nghiên cứu này, số bản sao mtDNA được xác định bằng kỹ thuật real - time PCR trên máy Mygopro (IT-IS Life Science, Anh) với chất màu huỳnh quang là SYBR Green I. Nguyên tắc của phản ứng real - time PCR là sự tăng lên về số lượng bản sao mtDNA tỷ lệ thuận với sự tăng lên về tín hiệu huỳnh quang. Kết quả real - time PCR cho giá trị chu kỳ ngưỡng (Threshold cycle, Ct). Tùy thuộc vào số lượng bản sao DNA đích ban đầu có trong ống phản ứng mà giá trị Ct của các mẫu khác nhau là khác nhau và số bản sao mtDNA được định lượng tương đối. Các bước như lập đường chuẩn, thiết lập các điều kiện cũng như thành phần và chu kỳ nhiệt của phản ứng real - time PCR dùng trong định lượng số bản sao đã được thực hiện trước đó [19].

Hai cặp mồi ND1 và HBB được sử dụng cho phản ứng real - time PCR trong đó cặp mồi ND1 nhân đoạn DNA 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 mtDNA. Cặp mồi HBB nhân đoạn DNA dài 104 bp thuộc gen *HBB* là gen nhân luôn biểu hiện - đại diện cho sự có mặt của hệ gen nhân. 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'; HBB- mồi xuôi: 5'- GGA GAA GTC TGC CGT CAA C -3'; HBB- mồi ngược: 5'- CCT TAA ACC TGT CTT GTA CGG AA -3'.

Dựa vào giá trị Ct xác định được từ cặp mồi ND1 và cặp mồi HBB qua phản ứng real - time PCR từ các mẫu nghiên cứu, số bản sao mtDNA được tính theo công thức được tham khảo từ các nghiên cứu trước [19].

Số bản sao tương đối của mtDNA $=2^{\Delta Ct}$

(Trong đó: $\Delta Ct = Ct_{HBB} - Ct_{ND1-2}$)

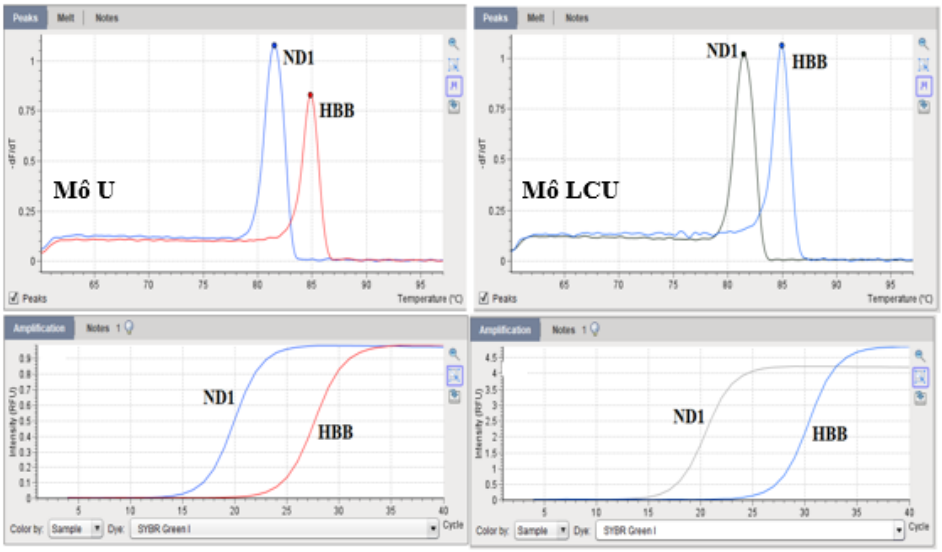
Các phương pháp thống kê được dùng trong nghiên cứu.

Các biến định lượng được so sánh bằng kiểm định Student t-test đối với biến tuân theo phân phối chuẩn, kiểm định Man-Withney U test hoặc Kruskall-Wallis, Wilconxon đối với các biến không tuân theo phân phối chuẩn. Các giá trị có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$ theo 2 phía.

3. Kết quả

3.1. Kết quả xác định độ đặc hiệu của các cặp mồi trong định lượng số bản sao ở các mẫu nghiên cứu

Trong nghiên cứu trước, chúng tôi đã thiết kế được các cặp mồi, thiết lập được các điều kiện cho phản ứng real - time PCR và thực hiện thành công phản ứng trên các plasmid tinh sạch mang các đoạn chèn của gen *ND1, HBB* để dựng đường chuẩn [19]. Áp dụng trên các mẫu nghiên cứu, chúng tôi thu được kết quả real - time PCR được minh họa trong Hình 1.

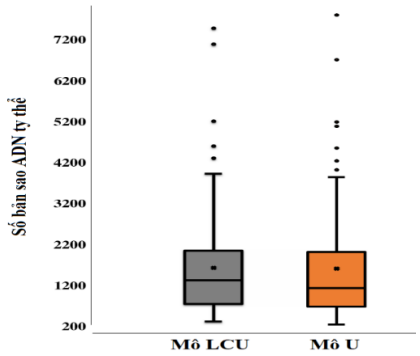


Hình 1. Biểu đồ phân tích nhiệt độ đỉnh chảy và đường biểu diễn khuếch đại trên mô U và mô LCU của bệnh nhân số 46.

Biểu đồ phân tích nhiệt độ đỉnh chảy trên cả mô U và LCU (Hình 1) cho thấy chỉ có một đỉnh rõ nét tương ứng với từng cặp mồi ND1 và HBB, điều đó chứng tỏ các cặp mồi dùng cho phản ứng là đặc hiệu. Các đường khuếch đại trên các mẫu nghiên cứu rõ nét vì vậy kết quả định lượng trên các mẫu nghiên cứu là tin cậy.

Dựa vào giá trị chu kỳ ngưỡng xác định được qua phản ứng real - time PCR, công thức tính số bản sao mtDNA tương đối (đã nêu ở phần phương pháp), chúng tôi đã xác định được 53/115 (chiếm 46,08%) bệnh nhân UTĐTT có số bản sao tương đối của mtDNA ở mô U cao so với mô LCU; 62/115 (chiếm 53,92%) bệnh nhân có số bản sao tương đối của mtDNA ở mô U thấp so với mô LCU. Phần lớn bệnh nhân có số bản sao trên mẫu mô U trong khoảng từ 500-1500 bản sao. Giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị số bản sao mtDNA trên mô U, LCU tương ứng là 1108,02 (652,04-1984,73) và

1295,12 (731,01-2011,72). Sự khác biệt về số bản sao tương đối của mtDNA giữa mô U và mô LCU không có nghĩa thống kê (Hình 2). Kết quả Hình 2 cho thấy số bản sao mtDNA ở mô LCU có xu hướng cao hơn so với mô U, điều này khác với với kết quả nghiên cứu trên ung thư tuyến giáp nhưng lại tương đồng với kết quả nghiên cứu ở ung thư vú [20]. Trên đối tượng bệnh nhân UTĐTT, kết quả này tương đồng với kết quả của Cui và cộng sự [11] và Mohideen và cộng sự [21], nhưng trái ngược so với công bố của Chen và cộng sự [10], Feng và cộng sự [12]. Kết quả chưa thống nhất có thể do giai đoạn bệnh của các bệnh nhân sử dụng trong các nghiên cứu là khác nhau.



Hình 2. Số bản sao mtDNA ở mô U và mô LCU.
Thanh ngang trong hộp là giá trị trung vị, các dấu • là các giá trị ngoại biên.

Đối với ung thư, các đặc điểm như kích thước u, di căn hạch hay giai đoạn bệnh phản ánh mức độ bệnh. Để đánh giá mối liên quan giữa số bản sao mtDNA với các đặc điểm bệnh học, chúng tôi tiến hành so sánh số bản sao mtDNA theo các đặc điểm bệnh học của bệnh UTĐTT. Kết quả thu được khi đánh giá số liệu trên mô U và LCU tương đồng nhau nên chúng tôi lựa chọn số liệu trên mô U để trình bày trong bản thảo này. Kết quả đánh giá trên mô U được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Số bản sao mtDNA theo đặc điểm bệnh học của bệnh nhân ung thư đại trực tràng

Đặc điểm		Số lượng	Số trung vị (25^{th}-75^{th})		p
Tuổi	< 50	22	867,61	(608,43-1653,27)	0,17*
	>= 50	93	1289,86	(685,01-2011,42)	
Giới tính	Nam	60	1108,02	(632,77-2033,57)	0,86*
	Nữ	55	1219,44	(694,84-1907,91)	
Kích thước u (cm)	<3	25	967,46	(771,69-1329,36)	0,36***
	>=3, <=3,5	25	1348,30	(622,96-3299,32)	
	>3,5	65	1334,07	(647,16-2080,91)	
Vị trí khối u	Trực tràng	42	694,84	(506,36-1053,07)	0,00001*
	Đại tràng	73	1487,90	(972,80-2500,49)	
Mức độ xâm lấn của khối u (T)	T1	9	1270,34	(719,57-1806,52)	0,35***
	T2	41	972,80	(622,96-1601,69	
	T3 và T4	65	1348,36	(734,19-2495,15)	

Đặc điểm		Số lượng	Số trung vị (25^{th}-75^{th})		p
Hạch di căn (N)	N0	71	1113,58	(694,84-1973,37)	0,98*
	N1 và N2	44	1161,02	(644,72- 2337,00)	
Giai đoạn bệnh	I	34	1244,89	(642,31-1791,47)	0,90***
	II	35	1092,94	(734,94-2114,38)	
	III và IV	46	1073,98	(639,82-2216,07)	

Ghi chú: *: Giá trị p nhận được từ kiểm định Man-Whitney U test,
***: từ kiểm định Kruskal-Wallis; (25^{th}-75^{th}): khoảng tứ phân vị thứ 25 và 75.

Bảng 1.1. cho thấy, số bản sao mtDNA trên mô U của bệnh nhân ung thư đại tràng 1487,90 (972,80-2500,49) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh nhân ung thư trực tràng 694,84 (506,36-1053,07). Mặc dù không xác định được mối liên quan giữa số bản sao mtDNA với các đặc điểm bệnh học được nghiên cứu, nhưng số liệu cho thấy xu hướng tăng số bản sao theo độ tuổi. Sự tăng số bản sao theo độ tuổi có thể là cách thức để bù đắp cho sự suy giảm chức năng ty thể do quá trình lão hóa. Đặc biệt, số bản sao mtDNA giảm ở nhóm bệnh nhân thuộc các giai đoạn bệnh II, III và IV so với giai đoạn I của bệnh. Điều này gợi ý rằng có thể có mối liên quan giữa sự giảm số bản sao mtDNA với sự tiến triển nặng hơn của bệnh. Tương đồng với kết quả của Feng và cộng sự, nhóm nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng số bản sao cũng giảm ở giai đoạn muộn của bệnh UTĐTT [12]. Trong khi đó, trên mẫu của bệnh nhân ung thư vú, Xia và cộng sự [22] ghi nhận số bản sao mtDNA ở giai đoạn I thấp hơn so với các giai đoạn khác ($p<0,05$). Sự thay đổi số bản sao mtDNA có thể được sử dụng như một chỉ thị phân tử giúp xác định các bất thường di truyền trong khối u ở người hoặc là chỉ thị tiềm năng để phát hiện sớm ung thư vú [20].

Như vậy có thể thấy, sự thay đổi số bản sao mtDNA và ảnh hưởng của sự thay đổi đó với các giai đoạn bệnh phụ thuộc vào từng loại ung thư.

3.2. Sự khác biệt về số bản sao mtDNA giữa mẫu máu và mô ung ung thư

Việc xác định số bản sao mtDNA 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 giá trị này được tiến hành trên nguồn mẫu lấy 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 thuận lợi và có nhiều ý nghĩa lâm sàng hơn. Do đó, chúng tôi tiến hành xác định mối tương quan về số bản sao mtDNA giữa mẫu mô và máu ngoại vi của cùng bệnh nhân để xem có thể sử dụng kết quả định lượng trên mẫu máu ngoại vi để đánh giá xu hướng biến đổi trên mẫu mô ung thư hay không.

Trong 115 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, có 40 bệnh nhân thu thập được cả mẫu máu và mẫu mô ung thư, điều này giúp cho việc đánh giá mối tương quan số bản sao mtDNA giữa máu ngoại vi với mô ung thư của cùng bệnh nhân. Mặt khác, kết hợp phân tích kết quả ở mẫu máu của bệnh nhân ung thư và máu đối chứng có thể xác định được nguy cơ mắc ung thư có liên quan đến sự thay đổi số bản sao mtDNA hay không.

Số bản sao mtDNA của mô U, mô LCU và máu ngoại vi tương ứng từ 40 bệnh nhân được xác định bằng kỹ thuật real - time PCR như đã mô tả ở phần phương pháp. Kết quả được tóm tắt trong Bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, số bản sao mtDNA trên máu của bệnh nhân ung thư cao hơn so với máu đối chứng, ở mẫu mô cao hơn ở mẫu máu ngoại vi của cùng bệnh nhân ($p<0,05$).

Để xác định các mối tương quan về số bản sao mtDNA giữa máu ngoại vi và mô ung thư của cùng bệnh nhân UTĐTT, chúng tôi sử dụng hệ số tương quan r được tính toán bằng phần mềm SPSS. Kết quả phân tích cho thấy mối

tương quan giữa mô và máu của bệnh nhân ung thư là tương quan yếu (r=-0,06; p=0,73). Như vậy, số bản sao mtDNA ở máu ngoại vi không phản ánh đầy đủ tình trạng của chúng ở trong mô ung thư. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Jakupciak và cộng sự [23], họ 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 mtDNA của khối u thông qua xác định chúng trong dịch cơ thể. Trong khi đó, cũng trên đối tượng UTĐTT, Qu và cộng sự [18] lại chỉ ra rằng số bản sao mtDNA trong máu ngoại vi tương quan thuận với số bản sao mtDNA trong mẫu mô (r=0,659, p=0,038). Như vậy, chưa có sự thống nhất giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi với kết quả nghiên cứu của Qu và cộng sự [18]. Sự chưa thống nhất này có thể được lý giải theo hai quan điểm: đột biến sôma của mtDNA và sự giải phóng mtDNA của tế bào mô ung thư vào trong máu.

Bảng 2. Số bản sao mtDNA ở các vị trí mẫu khác nhau của 40 bệnh nhân

Loại mẫu	Số lượng mẫu	Số bản sao	
		Trung vị	*p*
Máu bệnh nhân	40	519,04	<0,001*
Máu đối chứng	67	152,22	
Máu bệnh nhân	40	519,04	0,00**
Mô LCU	40	1935,14	
Máu bệnh nhân	40	519,04	0,00**
Mô U	40	2114,38	
Mô LCU	40	1935,14	0,24**
Mô U	40	2114,38	

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

Đột biến sôma trên mtDNA đã được xác định khá phổ biến ở một số loại ung thư ở người. Ở một số loại ung thư, mất đoạn 4977 bp cũng đã được xác định là dạng đột biến sôma [24]. Vì vậy, đột biến sôma có thể là cơ sở để giải thích cho kết quả không có mối tương quan về số bản sao mtDNA giữa mẫu mô ung thư và máu ngoại vi của cùng một bệnh nhân. Mặt khác, Nie và cộng sự [25] lại cho rằng, tế bào ung thư sẽ bị chết khi mức độ mất đoạn đạt đến một ngưỡng nhất định và lúc đó mtDNA sẽ được giải phóng từ mô vào máu, khi đó có thể xác định được mối tương quan về mức độ mất đoạn và số bản sao mtDNA giữa mẫu mô và máu ở bệnh nhân ung thư. Như vậy, có thể thấy, mối tương quan số bản sao mtDNA giữa mẫu mô và máu ngoại vi của cùng bệnh nhân có thể sẽ phụ thuộc vào giai đoạn phát triển của ung thư. Khi tế bào ung thư vẫn khu trú, chưa có sự di căn thì các biến đổi của mtDNA trên mô ung thư chỉ đặc trưng cho loại mô này. Ngược lại, khi tế bào ung thư từ mô di căn vào máu thì các đột biến mtDNA từ trong mô có thể được giải phóng một phần vào máu vì vậy lúc đó có thể xác định được tương quan về đột biến giữa mô và máu ngoại vi của cùng bệnh nhân ung thư.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được số bản sao mtDNA trên một nhóm bệnh nhân UTĐTT người Việt Nam. Kết quả cho thấy, phần lớn bệnh nhân có số bản sao mtDNA thuộc khoảng 500-1500. Số bản sao mtDNA trên mô U có xu hướng thấp hơn so với mô LCU, ở mô đại tràng thấp hơn so với mô trực tràng, trên mô ung thư

cao hơn trên mẫu máu, ở mẫu máu của bệnh nhân cao hơn mẫu máu đối chứng ($p<0,05$). Không có mối liên quan giữa số bản sao mtDNA với các đặc điểm bệnh học được nghiên cứu gồm kích thước u, sự di căn hạch, giai đoạn bệnh của bệnh UTĐTT.

Lời cảm ơn

Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài cấp nhà nước mã số KC.04.10/11-15, đề tài QG.15.05. Quy trình và các thủ tục lấy mẫu nghiên cứu được sự giúp đỡ từ các bác sỹ, 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] M. Arnold, M. S. Sierra, M. Laversanne, I. Soerjomataram et al., Global Patterns and Trends in Colorectal Cancer Incidence and Mortality, Gut, Vol. 66, No. 4, 2017, pp. 683-691, https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912.

[2] C. Du, M. Fang, Y. Li, L. Li et al., Smac, A Mitochondrial Protein that Promotes Cytochrome C-Dependent Caspase Activation by Eliminating Iap Inhibition, Cell, Vol. 102, No. 1, 2000, pp. 33-42, https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00008-8.

[3] C. Wang, R. J. Youle, The Role of Mitochondria in Apoptosis, Annu Rev Genet, Vol. 43, No. 2, 2009, pp. 95-118, https://doi.org/10.10.1146/annurev-genet-102108-134850.

[4] X. Wang, The Expanding Role of Mitochondria in Apoptosis, Genes Dev, Vol. 15, No. 22, 2001, pp. 2922-2933, https://doi.org/10.1126/science.1076118.

[5] M. Mahmood, E. M. Liu, A. L. Shergold, M. Kim et al., Mitochondrial DNA Mutations Drive Aerobic Glycolysis to Enhance Checkpoint Blockade Response in Melanoma, Nat Cancer, Vol. 5, No. 4, 2024, pp. 659-672, https://doi.org/10.1038/s43018-023-00721.

[6] D. C. Wallace, D. Chalkia, Mitochondrial DNA Genetics and the Heteroplasmy Conundrum in Evolution and Disease, Cold Spring Harb Perspect Biol, Vol. 5, No. 11, 2013, pp. 210-220, https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021220.

[7] A. Chatterjee, E. Mambo, D. Sidransky, Mitochondrial DNA Mutations in Human Cancer, Oncogene, Vol. 25, No. 34, 2006, pp. 4663-4674, https://doi.org 10.1038/sj.onc.1209604.

[8] S. DiMauro, Mitochondrial DNA Medicine, Biosci Rep, Vol. 27, No. 1, 2007, pp. 5-9, https://doi.org/10.1007/s10540-007-9032-5.

[9] C. Aral, A. Ozer, Mitochondrial DNA and Cancer, Marmara Med J, Vol. 20, No. 2, 2007, pp. 127-136, https://doi.org/10.5472/marumj.3055.

[10] T. Chen, J. He, L. Shen, H. Li et al., The Mitochondrial DNA 4,977-bp Deletion and its Implication in Copy Number Alteration in Colorectal Cancer, BMC Med Genet, Vol. 12, No. 2, 2011, pp. 8-17, https://doi.org/10.1186/1471-2350-12-8.

[11] H. Cui, P. Huang, Z. Wang, Y. Zhang et al., Association of Decreased Mitochondrial DNA Content with the Progression of Colorectal Cancer, BMC Cancer, Vol. 13, No. 2, 2013, pp. 110-120, https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-110.

[12] S. Feng, L. Xiong, Z. Ji, W. Cheng et al., Correlation between Increased Copy Number of Mitochondrial DNA and Clinico Pathological Stage in Colorectal Cancer, Oncol Lett, Vol. 2, No. 5, 2011, pp. 899-903, https://doi.org/10.3892/ol.2011.322.

[13] R. S. Arnold, Q. Sun, C. Q. Sun, D. C. Wallace et al., An Inherited Heteroplasmic Mutation in Mitochondrial Gene Coi in A Patient with Prostate Cancer Alters Reactive Oxygen, Reactive Nitrogen and Proliferation, Biomed Res Int, Vol. 5, No. 22, 2013, pp. 239-257, https://doi.org/10.1155/2013/239257.

[14] J. A. Abbott, C. S. Francklyn, Transfer RNA and Human Disease, Front Genet, Vol. 5, No 5, 2014, pp. 158-167, https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00158.

[15] L. Chen, M. Zhou, H. Li, Y. Zong et al., Mitochondrial Heterogeneity in Diseases, Signal Transduct Target Ther, Vol. 8, No. 1, 2023, pp. 311-321.

[16] B. Thyagarajan, R. Wang, H. Nelson, W. P. Koh et al., Mitochondrial DNA Copy Number is Associated with Breast Cancer Risk, PLoS One, Vol. 8, No. 6, 2013, pp. 65968-65977.

[17] H. D. Hosgood, C. S. Liu, N. Rothman, D. Albanes et al., Mitochondrial DNA Copy Number and Lung Cancer Risk in A Prospective Cohort Study, Carcinogenesis, Vol. 31, No. 5, 2010, pp. 847-859, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065968.

[18] F. Qu, X. Liu, F. Zhou, G. Bao et al., Association between Mitochondrial DNA Content in Leukocytes and Colorectal Cancer Risk: A Case-Control Analysis, Cancer, Vol. 117, No. 14, 2011, pp. 3148-3155, https://doi.org/10.1002/cncr.25906.

[19] P. T. Bich, Doctoral Thesis in Biology, University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi, 2018 (in Vietnamese).

[20] E. Mambo, A. Chatterjee, G. Tallini, S. Sukumar et al., Tumor-Specific Changes in mtDNA Content in Human Cancer, Int J Cancer, Vol. 116, No. 6, 2005, pp. 920-924, https://doi.org/10.1002/ijc.21110.

[21] A. M. Mohideen, E. Dicks, P. Parfrey, R. Green et al., Mitochondrial DNA Polymorphisms, its Copy Number Change and Outcome in Colorectal Cancer, BMC Res Notes, Vol. 8, No.5, 2015, pp. 272-281, https://doi.org/10.1186/s13104-015-1250-5.

[22] P. Xia, H. X. An, C. X. Dang, W. Holzgreve et al., Decreased Mitochondrial DNA Content in Blood Samples of Patients with Stage Breast Cancer, BMC Cancer, Vol. 9, No. 4, 2009, pp. 454-465, https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-454.

[23] J. P. Jakupciak, S. Maragh, M. E. Markowitz, D. Sidransky et al., Performance of Mitochondrial DNA Mutations Detecting Early Stage Cancer, BMC Cancer, Vol. 8, No. 4, 2008, pp. 285-295, https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-285.

[24] S. D. Maria Angela, C. Dani, Silmara, P. G. Lima, F. Soares et al., Less Δmtdna4977 than Normal in Various Types of Tumors Suggests that Cancer Cells Are Essentially Free of this Mutation, Genetics and Molecular Research, Vol. 3, No. 3, 2004, pp. 395-409.

[25] H. Nie, G. Chen, J. He, J. Lyu et al., Mitochondrial Common Deletion Is Elevated in Blood of Breast Cancer Patients Mediated by Oxidative Stress, Mitochondrion, Vol. 26, No. 4, 2016, pp. 104-118, https://doi.org/10.1016/j.mito.2015.12.001.

[26] H. C Lee, Y. H Wei, Mitochondrial DNA Instability and Metabolic Shift in Human Cancers, Int J Mol Sci, Vol. 10, No. 2, 2009, pp. 674-701, https://doi.org/10.3390/ijms10020674.