

Mối liên quan giữa đa hình rs1801321 gen RAD51 và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng

Lê Nguyễn Trọng Nhân^{1,2}, Nguyễn Thu Thúy², Nguyễn Quý Linh²,
Trần Văn Khánh^{2*}, Trần Huy Thịnh², Tạ Thành Văn², Nguyễn Việt Tiến²

¹Bệnh viện Sản Nhi Cà Mau

²Trường Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận bài 5/11/2020; ngày chuyển phản biện 8/11/2020; ngày nhận phản biện 17/12/2020; ngày chấp nhận đăng 31/12/2020

Tóm tắt:

Ung thư buồng trứng là một trong những bệnh lý phụ khoa ác tính phổ biến. Gen RAD51 tham gia vào quá trình tái tổ hợp tương đồng, sửa chữa đứt gãy sợi đôi DNA, do đó những đa hình và đột biến của gen RAD51 có thể liên quan đến nguy cơ mắc ung thư. Bằng mô hình phân tích bệnh chứng, nhóm tác giả đã nghiên cứu xem liệu đa hình đơn nucleotide rs1801321 gen RAD51 có liên quan đến nguy cơ ung thư buồng trứng ở phụ nữ Việt Nam hay không. 380 bệnh nhân được chẩn đoán mắc ung thư buồng trứng và 380 người phụ nữ khỏe mạnh đã tham gia vào nghiên cứu. Các kiểu gen đa hình rs1801321 của các đối tượng nghiên cứu được xác định bằng kỹ thuật PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism). Tỷ lệ các kiểu gen GG, GT, TT được xác định lần lượt ở nhóm bệnh là 55,3; 29,2; 15,5% và ở nhóm đối chứng là 47,9; 41,8; 10,3%, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm với $p=0,001$. Kết quả nghiên cứu cho thấy, đa hình đơn nucleotide rs1801321 gen RAD51 có liên quan đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng ở phụ nữ Việt Nam.

Từ khóa: đa hình đơn nucleotide, G172T, RAD51, rs1801321, ung thư buồng trứng.

Chỉ số phân loại: 3.1

Đặt vấn đề

Trong số các bệnh lý ác tính ở phụ nữ, ung thư buồng trứng có tỷ lệ mắc mới và tử vong cao trên toàn thế giới. Riêng ở Việt Nam, năm 2018, số ca ung thư buồng trứng là 1500, với 856 ca tử vong [1]. Nguyên nhân ung thư buồng trứng vẫn còn chưa rõ ràng và có nhiều yếu tố nguy cơ, trong đó yếu tố di truyền đã được chứng minh là đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành ung thư buồng trứng.

Sự đứt gãy sợi đôi DNA (double strand breaks of DNA-DSBs) là tổn thương nguy hiểm nhất của DNA. Nếu không được sửa chữa, sự tích lũy của chúng làm mất ổn định hệ gen và dẫn đến phát triển nhiều bệnh ung thư khác nhau [2]. Gen RAD51 mã hóa protein RAD51 tham gia và đóng vai trò quan trọng trong quá trình sửa chữa tái tổ hợp tương đồng (Homologous recombination repair) nhằm phục hồi những tổn thương DNA [3, 4]. Các dữ liệu cho thấy, nồng độ RAD51 không tăng ở các tế bào bình thường. Raderschall và cs (2002) [5] chỉ ra rằng nồng độ RAD51 ở các tế bào ung thư tăng liên quan đến sự mất ổn định gen và quá trình tái tổ hợp tương đồng bất thường, có lẽ là dấu hiệu xuất hiện quá nhiều tổn thương DNA. Sự thay đổi trong tổng hợp RAD51 thường bắt đầu từ sự thay đổi trong phiên mã mRNA, và đa hình thái gen có thể ảnh hưởng sinh tổng hợp protein RAD51.

Đa hình đơn nucleotide (SNP) rs1801321 (G172T) nằm trong

vùng không mã hóa 5'-UTR trên gen RAD51 là vị trí điều hòa của vùng khởi động phiên mã, liên quan đến sự biểu hiện mRNA, do đó ảnh hưởng đến nồng độ và chức năng của protein RAD51 [6]. Nhiều nghiên cứu nhận định, SNP rs1801321 là một yếu tố nguy cơ đối với một số bệnh ung thư khác nhau như ung thư vú, ung thư nội mạc tử cung, ung thư đại trực tràng, ung thư biểu mô miệng, vòm họng và ung thư buồng trứng [7-12]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về SNP này chủ yếu trên các cộng đồng người châu Âu và hiện nay chưa có nghiên cứu nào về vai trò của SNP rs1801321 đối với ung thư buồng trứng ở cộng đồng người Việt Nam. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ đa hình đơn nucleotide rs1801321 gen RAD51 ở bệnh nhân ung thư buồng trứng và tìm hiểu mối liên quan của nó với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng ở phụ nữ Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Nghiên cứu được thực hiện trên 380 bệnh nhân ung thư buồng trứng điều trị tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương và 380 phụ nữ khỏe mạnh, không mắc ung thư.

Nhóm bệnh:

Tiêu chuẩn lựa chọn: được chẩn đoán xác định ung thư buồng trứng bằng kết quả xét nghiệm giải phẫu bệnh, không mắc các ung

* Tác giả liên hệ: Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Association between RAD51 gene polymorphism rs1801321 and ovarian cancer risk

Nguyen Trong Nhan Le^{1,2}, Thu Thuy Nguyen²,
Quy Linh Nguyen², Van Khanh Tran^{2*},
Huy Thinh Tran², Thanh Van Ta², Viet Tien Nguyen²

¹Camau Obstetric Pediatric Hospital

²Hanoi Medical University

Received 5 November 2020; accepted 31 December 2020

Abstract:

Ovarian cancer is one of the most common gynecological malignancies. The gene RAD51 involves homologous recombination repair for double-strand breaks of DNA, so its polymorphisms and mutations are associated with cancer risk. The authors studied, by using a case-control design, whether single nucleotide polymorphism rs1801321 of RAD51 gene associated with ovarian cancer risk among Vietnamese females. Sample sets included 380 ovarian cancer cases and 380 healthy controls of similar age distribution. The genotypes of rs1801321 polymorphism were determined using the Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. The distribution of genotype GG, GT, TT was 55.3, 29.2, 15.5% for the patients group and 47.9, 41.8, 10.3% for the control group, respectively ($p=0.001$). The RAD51 rs1801321 polymorphism was associated with the risk of ovarian cancer among Vietnamese females.

Keywords: G172T, ovarian cancer, polymorphism, RAD51 gene, rs1801321.

Classification number: 3.1

thư khác, và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: ung thư buồng trứng có kèm các ung thư khác, hoặc không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Nhóm đối chứng: những người khỏe mạnh, có tiền sử không mắc ung thư buồng trứng hay các bệnh ung thư khác đến khám sức khỏe hoặc đến thăm khám điều trị các bệnh lành tính tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương. Độ tuổi tương đồng với nhóm bệnh.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu từ tháng 9/2017 đến tháng 12/2019 tại Trung tâm Nghiên cứu Gen-Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu bệnh - chứng, có ước tính tỷ số nguy cơ OR với cỡ mẫu được tính theo công thức:

$$n = Z^2_{\alpha/2} \frac{\{1/[p_1(1-p_1)] + 1/[p_0(1-p_0)]\}}{[\ln(1-\epsilon)]^2}$$

trong đó: p_1 - tỷ lệ alen T ước lượng cho nhóm bệnh, p_0 - tỷ lệ alen T ước lượng cho nhóm chứng, α - mức ý nghĩa thống kê, $Z_{\alpha/2}$ - hệ số tin cậy, ϵ - mức độ chính xác mong muốn (chênh lệch cho phép giữa tỷ số nguy cơ OR thực của quần thể và OR thu được từ mẫu). Dựa vào nghiên cứu của Smolarz [12] với $p_1=0,529$ và $p_0=0,510$, $\epsilon=25\%$, $Z_{\alpha/2}=1,96$ khi $\alpha=0,05$ (độ tin cậy 95%), ta có $N=373$. Nên cỡ mẫu mỗi nhóm tối thiểu là 373 người. Nghiên cứu được tiến hành với 380 bệnh nhân và 380 phụ nữ thuộc nhóm chứng.

Quy trình

Bước 1 - Lấy mẫu: các đối tượng nghiên cứu được lấy 2 ml máu chống đông bằng EDTA.

Bước 2 - Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu theo kit PROMEGA (USA). Độ tinh sạch của mẫu DNA sau tách chiết của cả 2 nhóm được đo ở tỷ số A260/A280 đều nằm trong khoảng 1,80-2,00.

Bước 3 - Khuếch đại đoạn gen RAD51 chứa SNP rs1801321 bằng kỹ thuật PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu có trình tự như sau:

Mỗi xuôi: 5'-TGGGAAGTCACTCATCTGG-3'

Mỗi ngược: 5'-GCTCCGACTTCACCCCGCCGG-3'

Thành phần phản ứng PCR (thể tích 10 μ l) gồm: 5,0 μ l GoTaq Master mix, 2,5 pmol mỗi mồi xuôi và ngược, 100 ng DNA và H₂O. Chu trình nhiệt phản ứng: 94°C/5 phút, [94°C/30 giây, 56°C/30 giây, 72°C/30 giây] 35 chu kỳ, 72°C/5 phút. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1,5% ở điện thế 100 V trong 30 phút. Kết quả điện di được chụp ảnh bằng máy UVP EC3 Imaging System P/N95-0310-12.

Bước 4 - Xác định đa hình đơn nucleotide gen RAD51 bằng kỹ thuật phân tích đa hình độ dài cắt giới hạn (PCR-RFLP). Thành phần của phản ứng RFLP gồm: 0,5 μ l enzyme NgoMIV, 1 μ l buffer Cutsmart, 1,5 μ l H₂O và 7 μ l sản phẩm PCR. Hỗn hợp phản ứng cắt được ủ ở 37°C trong khoảng 12 giờ. Sản phẩm cắt được điện di trên gel agarose 3% với điện thế 80 V trong 60 phút để phân tách các băng DNA. Kết quả điện di được chụp ảnh bằng máy UVP EC3 Imaging System P/N95-0310-12.

Phân tích số liệu

Sự khác biệt về kiểu gen và tần số alen giữa nhóm bệnh và nhóm chứng cũng được đánh giá bằng kiểm định χ^2 . Tỷ số chênh (OR) và khoảng tin cậy (CI) 95% tương ứng để ước tính mối liên quan giữa các kiểu gen và khả năng mắc ung thư buồng trứng. Các kiểm định có ý nghĩa khi $p < 0,05$. Phần mềm SPSS 20.0 được sử dụng để phân tích số liệu.

Đạo đức nghiên cứu

Đề tài đã được Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà

Nội chấp thuận theo Chứng nhận số 107/HĐĐDDHYN ngày 30/5/2017. Bệnh nhân hoàn toàn tự nguyện tham gia nghiên cứu. Các thông tin cá nhân được bảo mật.

Kết quả

Đặc điểm chung của các đối tượng tham gia nghiên cứu

Những đặc điểm chung như tuổi trung bình, phân bố các nhóm tuổi và tình trạng kinh nguyệt ở cả hai nhóm được mô tả ở bảng 1. Độ tuổi và sự phân bố nhóm tuổi giữa nhóm bệnh và nhóm chứng là tương đồng ($p=0,610$ và $0,739$). Tuổi trung bình nhóm bệnh là 49,80 và tuổi trung bình nhóm chứng là 49,26. Ở những bệnh nhân ung thư buồng trứng, nhóm tuổi mắc bệnh nhiều nhất là từ 40 đến 59, chiếm 45,5% và ít nhất là nhóm tuổi <40 tuổi (chiếm 24,5%). Trung bình tuổi có kinh ở nhóm ung thư buồng trứng là 15,22, tương đồng với trung bình tuổi có kinh ở nhóm chứng là 15,01 ($p=0,096$). Tỷ lệ bệnh nhân mắc bệnh đã mãn kinh chiếm 56,3%, nhiều hơn so với những bệnh nhân chưa mãn kinh hoặc chưa có kinh chiếm 43,7% và tỷ lệ này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm nghiên cứu ($p=0,423$).

Bảng 1. Đặc điểm chung của các đối tượng tham gia nghiên cứu.

Đặc điểm		Nhóm bệnh		Nhóm chứng	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Tuổi	≤39	93	24,5	223	58,7
	40-59	173	45,5	128	33,7
	≥60	114	30,0	29	7,6
	Tuổi trung bình	49,8		49,26	
Tình trạng kinh nguyệt	Chưa mãn kinh/chưa có kinh	166	43,7	313	82,4
	Mãn kinh	214	56,3	67	17,6
Giải phẫu bệnh	UT biểu mô	308	81,1		
	UT tế bào mầm	44	11,6		
	UT tế bào đệm - sinh dục	28	7,4		
Giai đoạn bệnh	I	111	29,2		
	II	50	13,2		
	III	181	47,6		
	IV	38	10,0		

UT: ung thư.

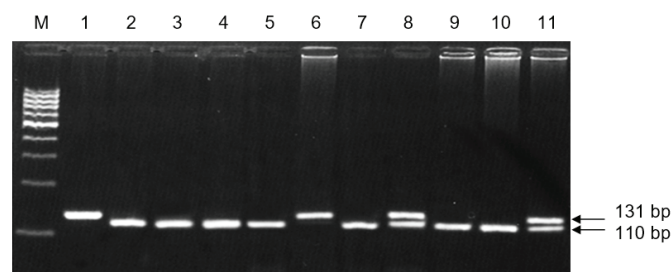
Ngoài ra, nhóm nghiên cứu còn phân tích sự phân bố tỷ lệ nhóm bệnh nhân được phân loại giai đoạn theo FIGO và mô bệnh học theo WHO (bảng 1). Kết quả phân loại theo giải phẫu bệnh cho thấy, ung thư biểu mô buồng trứng chiếm tỷ lệ cao nhất là 81,1%. Nhóm bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển (III và IV-57,6%) chiếm tỷ lệ cao hơn so với nhóm bệnh nhân phát hiện bệnh sớm (I và II-42,4%).

Mối liên quan giữa đa hình rs1801321 và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng

Trong trường hợp allele G, nhóm nghiên cứu sử dụng cặp mồi với trình tự mồi ngược có nucleotide ở vị trí thứ 3 đầu 3' là G (sai khác với nucleotide C trên trình tự DNA khuôn) để tạo thành trình tự nhận biết của enzyme NgoMVI ($G\downarrow CCGGC$) trong đoạn gen RAD51 chứa SNP rs1801321 được khuếch đại. Đoạn gen này sẽ bị

enzyme NgoMVI cắt thành 2 băng có kích thước 110 bp và 21 bp. Trong trường hợp allele T, đoạn gen được khuếch đại sẽ không có trình tự nhận biết của enzyme NgoMVI nên sẽ không bị cắt. Các kiểu gen sẽ có sản phẩm cắt tương ứng như sau:

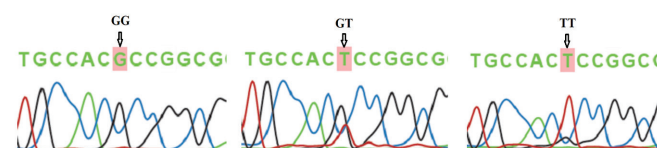
- Kiểu gen GG: sản phẩm cắt gồm các đoạn 110 bp, 21 bp.
- Kiểu gen TT: sản phẩm cắt gồm đoạn 131 bp.
- Kiểu gen GT: sản phẩm cắt gồm các đoạn 131 bp, 110 bp, 21 bp.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm cắt của đoạn gen chứa SNP rs1801321 bởi enzyme NgoMVI. M: Marker 100 bp; sản phẩm PCR của đoạn gen chứa rs1801321 (1); kiểu gen GG (2-5, 7, 9, 10); kiểu gen TT (6); kiểu gen GT (8, 11).

Hình ảnh điện di trên gel agarose sản phẩm cắt đoạn gen chứa SNP rs1801321 bằng enzyme NgoMVI được thể hiện ở hình 1. Kết quả điện di sản phẩm của phản ứng cắt enzym cho thấy ở tất cả các mẫu băng thu được rõ nét, có kích thước khoảng 131 bp, 110 bp so trên thang DNA chuẩn tùy thuộc từng kiểu gen. Từ kết quả trên ta thấy enzym NgoMVI đã cắt sản phẩm PCR thành các đoạn DNA có kích thước đúng như tính toán lý thuyết của nghiên cứu.

Sản phẩm PCR-RFLP của các kiểu gen GG, GT, TT được kiểm tra lại bằng phương pháp giải trình tự gen và so sánh với trình tự chuẩn của gen RAD51 trên ngân hàng Genebank (NG_012120:c.-61G>T), tín hiệu giải trình tự của các kiểu gen với các đỉnh nucleotide rõ ràng, không nhiễu (hình 2). Mẫu PCR của kiểu gen TT có một đỉnh nucleotide T duy nhất, kiểu gen GT có hai đỉnh nucleotide G và nucleotide T, kiểu gen GG có một đỉnh nucleotide G duy nhất. Như vậy, kết quả giải trình tự thu được là trùng khớp với kết quả xác định kiểu gen bằng phương pháp PCR-RFLP.



Hình 2. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR đoạn gen RAD51 chứa đa hình đơn nucleotide rs1801321 của các bệnh nhân mang kiểu gen GG, GT, TT.

Alen T chiếm tỷ lệ thấp lần lượt ở nhóm bệnh là 30,1% và nhóm đối chứng là 31,2%. Tỷ lệ các kiểu gen GG, GT, TT lần lượt ở nhóm bệnh là 55,3, 29,2, 15,5% và ở nhóm đối chứng là 47,9, 41,8, 10,3%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong sự phân bố tỷ lệ alen giữa nhóm bệnh và nhóm đối chứng với

$p < 0,656$, tuy nhiên có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các kiểu gen hai nhóm nghiên cứu với $p = 0,001$ (bảng 2).

Bảng 2. Mối liên quan giữa đa hình rs1801321 với nguy cơ ung thư buồng trứng.

Kiểu gen/allele	Nhóm bệnh		Nhóm chứng		OR	95%CI	p
	n	%	n	%			
Kiểu allele	G	531	69,9	523	68,8	1,000	0,656
	T	229	30,1	237	31,2	0,952	
Kiểu gen	GG	210	55,3	182	47,9	0,001	0,001
	GT	111	29,2	159	41,8		
	TT	59	15,5	39	10,3		
TT và GG	GG	210	78,1	182	82,4	1,000	0,238
	TT	59	21,9	39	17,6	1,311	
GG và GT	GG	210	65,4	182	53,4	1,000	0,002
	GT	111	34,6	159	46,6	0,605	
GT và TT	TT	59	34,7	39	19,7	1,000	0,001
	GT	111	65,3	159	80,3	0,461	
TT và GT+GG	GT+GG	321	84,5	341	89,7	1,000	0,030
	TT	59	15,5	39	10,3	1,607	
GG và TT+GT	GG	210	55,3	182	47,9	1,000	0,042
	TT+GT	170	44,7	198	52,1	0,744	

Nghiên cứu tiếp tục tiến hành so sánh khả năng mắc bệnh của các kiểu gen chứa alen T với các kiểu gen khác theo cặp mô hình di truyền khác. Đối với mô hình so sánh đồng hợp (TT với GG) cho kết quả không khác biệt về sự phân bố của hai kiểu gen giữa hai nhóm bệnh và chứng với $p = 0,238$, $OR = 1,311$ (CI 95% [0,836-2,057]). Trong khi hai mô hình so sánh dị hợp cho kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,05$ và OR với khoảng tin cậy 95% không chứa giá trị 1, trong phân bố hai kiểu gen GG và GT giữa hai nhóm bệnh và chứng với $p = 0,002$, $OR = 0,605$ (CI 95% [0,442-0,828]), và trong phân bố hai kiểu gen TT và GT giữa hai nhóm bệnh và chứng với $p = 0,001$, $OR = 0,461$ (CI 95% [0,288-0,739]).

Khi so sánh mô hình di truyền lặn, nhóm kiểu gen TT với nhóm kết hợp kiểu gen GG và GT cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm nghiên cứu với $p = 0,030$, $OR = 1,607$ (CI 95% [1,043-2,476]). Và so sánh mô hình di truyền trội, nhóm kiểu gen chứa alen T (GT và TT) với nhóm kiểu gen GG, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm nghiên cứu với $p = 0,042$, $OR = 0,744$ (CI 95% [0,559-0,990]).

Mối liên quan giữa đa hình rs1801321 với giai đoạn bệnh và mô bệnh học

So sánh sự phân bố kiểu gen trong các nhóm chia theo giai đoạn bệnh của FIGO không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê ($p = 0,979$) (bảng 3). Tương tự, khi so sánh sự phân bố kiểu gen trong các nhóm chia theo type mô bệnh học (ung thư biểu mô, ung thư tế bào mầm và ung thư tế bào mô đệm - sinh dục) cũng không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,701$) (bảng 3).

Bảng 3. Mối liên quan đa hình rs1801321 với giai đoạn bệnh và mô bệnh học.

	GG		GT		TT		p
	n	%	n	%	n	%	
Giai đoạn ung thư							
Giai đoạn I	62	29,5	31	27,9	18	30,5	0,979
Giai đoạn II	26	12,4	15	13,5	9	15,3	
Giai đoạn III	101	48,1	55	49,5	25	42,4	
Giai đoạn IV	21	10,0	10	9,0	7	11,9	
Mô bệnh học							
UT biểu mô	170	81,0	88	79,3	50	84,7	0,701
UT tế bào mầm	27	12,9	13	11,7	7	11,9	
UT mô đệm-sinh dục	13	6,2	10	9,0	2	3,4	

Bàn luận

Trong nghiên cứu này, độ tuổi hay gặp nhất của ung thư buồng trứng là 40-59. Nhóm tuổi ≥ 60 có tỷ lệ cao hơn nhóm tuổi ≤ 39 . Sự phân bố về nhóm tuổi này cũng tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu khác tại Việt Nam [13]. Về tình trạng kinh nguyệt của nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân ung thư buồng trứng trong nhóm chưa mãn kinh hoặc chưa có kinh là 43,7%, thấp hơn nhóm đã mãn kinh (56,3%). Tương đồng với các nhận định của các tác giả khác là ung thư buồng trứng đa phần xuất hiện ở các bệnh nhân cao tuổi đã mãn kinh [14]. Kết quả giải phẫu bệnh ung thư biểu mô buồng trứng chiếm tỷ lệ cao nhất, và nhóm bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển (III và IV) cao hơn nhóm bệnh nhân phát hiện bệnh sớm (I và II) là không khác biệt so với nhận định của các nghiên cứu trước đây [15].

Tỷ lệ alen T chiếm thấp hơn so với alen G ở trong cả hai nhóm nghiên cứu và sự phân bố tỷ lệ alen giữa hai nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Theo công bố Dữ liệu các biến thể di truyền người Việt Nam trên trang genomes.vn, nghiên cứu trên 206 người Kinh không có quan hệ huyết thống thì tỷ lệ alen T là 13,63% [16]. Tuy nhiên, tỷ lệ phân bố 3 kiểu gen giữa hai nhóm nghiên cứu lại có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,001$). Điều này cho thấy có mối liên quan giữa đa hình đơn nucleotide rs1801321 với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. Phân tích sâu hơn các dữ liệu để so sánh khả năng mắc bệnh của các kiểu gen chứa alen T và các kiểu gen còn lại, chúng tôi cũng ghi nhận được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong hai nhóm nghiên cứu khi so sánh kiểu gen dị hợp GT với các kiểu gen đồng hợp GG và TT lần lượt với $OR = 0,605$, CI 95% [0,442-0,828] ($p = 0,002$) và $OR = 0,461$, CI 95% [0,288-0,739] ($p = 0,001$). Nghiên cứu cho thấy kiểu gen dị hợp GT lại mang nguy cơ mắc ung thư buồng trứng thấp hơn hai kiểu gen đồng hợp là GG và TT.

Khi so sánh nhóm hai kiểu gen GG và GT với nhóm kiểu gen TT, với $OR = 1,607$ (CI 95% [1,043-2,476]) ($p = 0,030$) và so sánh nhóm kiểu gen GG với nhóm hai kiểu gen TT và GT, với $OR = 0,744$ (CI 95% [0,559-0,990]) ($p = 0,042$) cho thấy nhóm các cặp gen chứa kiểu gen GT đều có nguy cơ mắc ung thư buồng trứng thấp hơn kiểu gen còn lại.

Nhiều nghiên cứu khác trên thế giới được thực hiện và đã công bố nhằm mục đích làm sáng tỏ vai trò của đa hình rs1801321 gen RAD51 trong nguy cơ ung thư buồng trứng, nhưng kết quả còn gây tranh cãi, phụ thuộc vào thiết kế, phương pháp nghiên cứu, và quần

thể người được nghiên cứu. Trong nghiên cứu của Smolarz và cs (2013) [12] trên phụ nữ Ba Lan với 210 bệnh nhân ung thư buồng trứng và 210 đối chứng, mẫu nghiên cứu là mô buồng trứng (có và không có tế bào ung thư), kết quả cho thấy không có sự khác biệt trong phân bố các alen ($p=0,631$) cũng như kiểu gen ($p=0,689$) giữa hai nhóm nghiên cứu, họ nhận định SNP rs1801321 gen RAD51 không liên quan đến nguy cơ ung thư buồng trứng ở phụ nữ Ba Lan. Nghiên cứu của Auranen và cs (2005) [17] phân tích tổng hợp 4 nghiên cứu lớn trên 1644 bệnh nhân ung thư buồng trứng và 2602 đối chứng cho kết quả alen T chiếm tỷ lệ 42% ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng, và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong sự phân bố các kiểu gen ở hai nhóm nghiên cứu ($p=0,39$). Nghiên cứu này chưa tìm thấy mối liên quan giữa đa hình 1801321 với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. Quay và cs (2009) [18] tổng hợp từ 3 nghiên cứu bệnh chứng lớn ở Anh, Mỹ và Đan Mạch với cỡ mẫu gồm 1412 bệnh nhân ung thư buồng trứng và 1986 đối chứng đã kết luận rằng, không có mối liên quan giữa đa hình rs1801321 gen RAD51 với nguy cơ mắc ung thư buồng trứng ($p=0,053$). Nghiên cứu của Wang và cs (2001) [19] trên những người mang đột biến BRCA1/2 cũng chỉ ra SNP 172G>T gen RAD51 không liên quan đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

Ngoài ra, mối liên quan giữa rs1801321 với một số bệnh ung thư khác cũng được nghiên cứu và thu được những kết quả khác nhau. Nghiên cứu của Tulbah và cs (2016) [7] cho thấy đa hình 172G>T của gen RAD51 có liên quan đến nguy cơ mắc ung thư vú ở phụ nữ Ả Rập, alen T có ảnh hưởng bảo vệ khỏi nguy cơ mắc ung thư vú cao với $OR=0,126$ ($CI\ 95\%=0,080-0,199$), $p<0,001$. Kết quả nghiên cứu của nhóm Romanowicz-Makowska và cs (2012) [9] chỉ ra rằng không có mối liên quan giữa rs1801321 với ung thư đại trực tràng ở bệnh nhân người Ba Lan. Tuy nhiên, một nghiên cứu của Petrovic-Sunderic và cs (2018) [10] lại chứng minh được mối liên quan có ý nghĩa giữa rs1801321 với ung thư đại trực tràng ở người Serbia. Santos và cs (2019) [11] đã chứng minh rs1801321 kết hợp với các chất gây ung thư từ môi trường (rượu, thuốc lá) có liên quan đến sự tiến triển của ung thư biểu mô miệng và vòm họng. Một nghiên cứu của Michalska và cs (2014) [8] cũng trên cộng đồng phụ nữ Ba Lan với 630 bệnh nhân ung thư nội mạc tử cung và 630 đối chứng cũng cho kết luận rs1801321 gen RAD51 không liên quan với nguy cơ ung thư nội mạc tử cung vì không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong sự phân bố các alen ($p=0,359$) và các kiểu gen ($p=0,392$) giữa các nhóm nghiên cứu.

Phân tích vai trò các alen và kiểu gen đa hình đơn nucleotide rs1801321 đối với giai đoạn bệnh theo FIGO và type mô bệnh học ung thư buồng trứng nhận thấy, không có sự liên quan giữa đa hình đơn nucleotide rs1801321 với giai đoạn bệnh và type mô bệnh học của ung thư buồng trứng. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Smolarz và cs (2013) [12].

Kết luận

Trong nghiên cứu của chúng tôi hiện tại tìm thấy mối liên quan giữa đa hình đơn nucleotide rs1801321 gen RAD51 và nguy cơ mắc ung thư buồng trứng ở người Việt Nam, cụ thể kiểu gen GT có khả năng làm giảm nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. Kết quả xét nghiệm đa hình đơn nucleotide rs1801321 gen RAD51 góp phần vào đánh giá khả năng mắc ung thư buồng trứng ở phụ nữ Việt Nam. Từ đó

có những biện pháp tầm soát, dự phòng hợp lý nhằm chẩn đoán, phát hiện kịp thời ung thư buồng trứng ở giai đoạn sớm để điều trị hiệu quả và ít tổn kém hơn. Ngoài đa hình rs1801321 gen RAD51 còn nhiều yếu tố nguy cơ di truyền và không di truyền ảnh hưởng đến nguy cơ mắc ung thư buồng trứng. Kết quả này đóng góp vào cơ sở dữ liệu cho những nghiên cứu phân tích lớn hơn và đa yếu tố để đánh giá chính xác hơn nguy cơ mắc ung thư buồng trứng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Bộ Y tế thông qua đề tài: “Nghiên cứu xây dựng quy trình xác định đột biến và đa hình thái đơn nucleotide trên một số gen liên quan đến ung thư vú và ung thư buồng trứng”. Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Bệnh viện Phụ sản Trung ương, Trung tâm Nghiên cứu Gen-Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Bray, et al. (2018), “Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries”, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**(6), pp.394-424.
- [2] S.P. Jackson (2002), “Sensing and repairing DNA double-strand breaks”, *Carcinogenesis*, **23**(5), pp.687-696.
- [3] T. Helleday (2003), “Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells”, *Mutation Research*, **532**(1-2), pp.103-115.
- [4] J. Thacker (2005), “The RAD51 gene family, genetic instability and cancer”, *Cancer Letters*, **219**(2), pp.125-135.
- [5] E. Raderschall, et al. (2002), “Elevated levels of Rad51 recombination protein in tumor cells”, *Cancer Research*, **62**(1), pp.219-225.
- [6] L. Hasselbach, et al. (2005), “Characterisation of the promoter region of the human DNA-repair gene Rad51”, *European Journal of Gynaecological Oncology*, **26**(6), pp.589-598.
- [7] S. Tulbah, et al. (2016), “Polymorphisms in RAD51 and their relation with breast cancer in Saudi females”, *Onco Targets and Therapy*, **9**, pp.269-277.
- [8] M.M. Michalska, et al. (2014), “Association of polymorphisms in the 5' untranslated region of RAD51 gene with risk of endometrial cancer in the Polish population”, *Archives of Gynecology Obstetrics*, **290**(5), pp.985-991.
- [9] H. Romanowicz-Makowska, et al. (2012), “RAD51 gene polymorphisms and sporadic colorectal cancer risk in Poland”, *Polish Journal of Pathology*, **63**(3), pp.193-198.
- [10] J. Petrovic-Sunderic, et al. (2018), “Polymorphism RAD51 172G>T in Serbian patients with colorectal cancer”, *Journal of B.U.ON.*, **23**(4), pp.936-940.
- [11] E.M. Santos, et al. (2019), “Clinicopathological significance of SNPs in RAD51 and XRCC3 in oral and oropharyngeal carcinomas”, *Oral Diseases*, **25**(1), pp.54-63.
- [12] B. Smolarz, et al. (2013), “Association between polymorphisms of the DNA repair gene RAD51 and ovarian cancer”, *Polish Journal of Pathology*, **64**(4), pp.290-295.
- [13] Phạm Thị Diệu Hà, Nguyễn Văn Tuyên (2013), “Nhận xét giá trị HE4 và test ROMA trong chẩn đoán ung thư buồng trứng”, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **82**(2), tr.37-44.
- [14] D. Jelovac, and D.K. Armstrong (2011), “Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer”, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **61**(3), pp.183-203.
- [15] Vũ Hồ, Vi Trần Doanh, Lê Thị Lộc và cộng sự (2010), “Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng - mô bệnh học và điều trị ung thư buồng trứng tại Trung tâm Ung bướu Thái Nguyên từ 2005 - T8/2010”, *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, **14**(4), tr.491 -494.
- [16] V.S. Le, et al. (2019), “A Vietnamese human genetic variation database”, *Human Mutation*, **40**(10), pp.1664-1675.
- [17] A. Auranen, et al. (2005), “Polymorphisms in DNA repair genes and epithelial ovarian cancer risk”, *International Journal of Cancer*, **117**(4), pp.611-618.
- [18] L. Quay, et al. (2009), “Association between common germline genetic variation in 94 candidate genes or regions and risks of invasive epithelial ovarian cancer”, *PLoS One*, **4**(6), p.e5983.
- [19] W.W. Wang, et al. (2001), “A single nucleotide polymorphism in the 5' untranslated region of RAD51 and risk of cancer among BRCA1/2 mutation carriers”, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, **10**(9), pp.955-960.