

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Nguyễn Thị Khánh Ly**

**NGHIÊN CỨU TƯƠNG QUAN HAI ĐA HÌNH rs4471347 VÀ  
rs4294502 TRÊN GEN *CFAP70* VỚI VÔ SINH NAM Ở NGƯỜI  
VIỆT NAM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC THỰC NGHIỆM**

*Hà Nội - 2023*

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Thị Khánh Ly**

**NGHIÊN CỨU TƯƠNG QUAN HAI ĐA HÌNH rs4471347 VÀ  
rs4294502 TRÊN GEN *CFAP70* VỚI VÔ SINH NAM Ở  
NGƯỜI VIỆT NAM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC THỰC NGHIỆM**  
Mã số: 8420114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC :  
PGS.TS. Nguyễn Thủy Dương

**Hà Nội - 2023**

**LỜI CAM ĐOAN**

*Tôi xin cam đoan luận văn thạc sĩ này là công trình nghiên cứu của bản thân tôi, dựa trên việc tìm hiểu và nghiên cứu những số liệu, tài liệu do chính tôi thu thập, dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương. Do đó, những kết quả nghiên cứu trong luận văn này đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.*

**Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên**



**Nguyễn Thị Khánh Ly**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS. Nguyễn Thuỳ Dương, Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Cô đã tận tình hướng dẫn, tạo điều kiện thuận lợi và luôn động viên em trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu, làm thí nghiệm tại phòng Hệ gen học người, Viện Nghiên cứu hệ gen để em có thể hoàn thành luận văn đúng tiến độ.

Luận văn được thực hiện bằng kinh phí của Đề tài “Xây dựng cơ sở dữ liệu hệ gen biến thể ty thể và nhiễm sắc thể Y của một số dân tộc người Việt Nam” mã số ĐTĐL.CN.60/19, do PGS.TS. Nguyễn Thuỳ Dương làm chủ nhiệm thuộc đề tài độc lập của Bộ Khoa học và Công nghệ, năm 2019 – 2023.

Trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn thạc sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ, em xin trân trọng cảm ơn ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ, các thầy giáo, cô giáo đã tận tình giảng dạy và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho em để em hoàn thành được luận văn.

Em cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các anh, chị và các bạn công tác tại phòng Hệ gen học người, Viện Nghiên cứu hệ gen vì đã chia sẻ kinh nghiệm, luôn quan tâm giúp đỡ em trong quá trình em thực hiện luận văn tại phòng.

Và để có được kết quả như ngày hôm nay, em xin cảm ơn bố mẹ, những người thân trong gia đình và bạn bè đã luôn bên cạnh khích lệ, động viên em trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Xin chân thành cảm ơn!

Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên



Nguyễn Thị Khánh Ly

## MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN .....	i
LỜI CẢM ƠN .....	ii
MỤC LỤC .....	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT .....	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG .....	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH .....	ix
ĐẶT VẤN ĐỀ .....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU .....	3
1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH VÔ SINH NAM .....	3
1.1.1. Định nghĩa về bệnh vô sinh nam .....	3
1.1.2. Các tiêu chuẩn xét nghiệm bệnh vô sinh nam .....	3
1.1.3. Một số dạng bất thường của tinh trùng .....	5
1.2. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ GÂY VÔ SINH Ở NAM GIỚI .....	7
1.2.1. Các yếu tố không di truyền .....	7
1.2.2. Các yếu tố di truyền .....	9
1.3. VAI TRÒ CỦA GEN <i>CFAP70</i> VỚI VÔ SINH NAM .....	12
1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÔ SINH NAM .....	13
1.4.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới .....	13
1.4.2. Tình hình nghiên cứu bệnh vô sinh nam ở Việt Nam .....	15
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	17
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU .....	17
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu .....	17
2.1.2. Phạm vi nghiên cứu .....	17
2.2. HOÁ CHẤT VÀ TRANG THIẾT BỊ .....	17
2.2.1. Hoá chất sử dụng .....	17
2.2.2. Trang thiết bị .....	17
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	18

2.3.1. Tách chiết DNA từ mẫu máu toàn phần .....	18
2.3.2. Phương pháp định lượng DNA bằng quang phổ kế.....	19
2.3.3. Thiết kế môi cho phản ứng PCR.....	19
2.3.4. Khuếch đại vùng DNA chứa đa hình bằng kỹ thuật PCR .....	21
2.3.5. Xác định kiểu gen bằng PCR – RFLP .....	22
2.3.6. Kiểm tra sản phẩm PCR sau khi xử lý với enzyme bằng phương pháp điện di trên gel agarose.....	23
2.3.7. Giải trình tự Sanger .....	24
2.3.8. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu.....	24
2.4. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU .....	25
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	26
3.1. PHÂN TÍCH CÁC ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở NHÓM BỆNH VÀ NHÓM ĐỐI CHỨNG .....	26
3.2. KẾT QUẢ TÁCH CHIẾT DNA TỔNG SỐ.....	27
3.3. PHÂN TÍCH MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH <i>CFAP70</i> rs4294502 VÀ BỆNH VÔ SINH NAM.....	31
3.3.1. Xác định thành phần kiểu gen đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502.....	31
3.3.2. Phân tích sự liên quan giữa đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502 với bệnh vô sinh nam .....	36
3.4. ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH <i>CFAP70</i> rs4471347 VÀ BỆNH VÔ SINH NAM.....	38
3.4.1. Xác định thành phần kiểu gen đa hình <i>CFAP70</i> rs4471347.....	38
3.4.2. Đánh giá mối liên quan giữa đa hình <i>CFAP70</i> rs4471347 với bệnh vô sinh nam .....	43
3.5. ĐÁNH GIÁ SỰ LIÊN QUAN CÁC HAPLOTYPE TRÊN GEN <i>CFAP70</i> VÀ BỆNH VÔ SINH NAM.....	45
3.6. BÀN LUẬN .....	46
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....	49
4.1. KẾT LUẬN.....	49

4.2. KIẾN NGHỊ.....	49
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....	50
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	51
PHỤ LỤC.....	59

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
95% CI	95% Confident interval	Khoảng tin cậy 95%
Array CGH	Microarray-based comparative genomic hybridization	Lai bộ gen so sánh dựa trên microarray
AZF	Azoospermia factor	Vùng yếu tố không tinh trùng
AR	Androgen receptor	Thụ thể Androgen
AIS	Androgen insensitivity syndrome	Hội chứng không nhạy cảm với androgen
ART	Assisted Reproductive Technologies	Kỹ thuật hỗ trợ sinh sản
bp	Base pair	Cặp bazơ
<i>CFAP70</i>	Cilia and flagella associated protein 70	Gen biểu hiện protein liên quan đến lông mao và roi số 70
CNV	Copy Number Variation	Biến đổi số lượng bản sao
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate	Deoxyribonucleotide triphosphate
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axit deoxyribonucleic
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis	Điện di DNA biến tính trên gel gradient
EDTA	Etylene diamine tetra acetic axit	Axit etylendiamine
FISH	Fluorescence in situ hybridization	Kỹ thuật lai tại chỗ huỳnh quang
MMAF	Multiple morphologic abnormalities of the flagella	Đa dạng bất thường hình thái đuôi tinh trùng
mtDNA	Mitochondrial DNA	DNA ty thể
NCBI	National Center for Biotechnology Information	Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia
NGS	Next generation sequencing	Giải trình tự gen thế hệ mới
NOA	Non – obstructive <i>Azoospermia</i>	Vô tinh không tắc nghẽn
OA	Obstructive <i>Azoospermia</i>	Vô tinh do tắc nghẽn
OAT	Oligoasthenoteratozoospermia	Thiểu nhược quái tinh



SNP	Single nucleotide polymorphism	Đa hình đơn nucleotide
GWAS	Genome – wide association study	Nghiên cứu liên quan trên toàn bộ hệ gen
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế Thế giới
OD	Optical density	Mật độ quang học
OR	Odds ratio	Tỷ lệ odds
PCR	Polemerase chain reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
HWE	Hardy – Weinberg equilibrium	Trạng thái cân bằng Hardy – Weinberg
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Kỹ thuật đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn
RE	Restriction enzyme	Enzyme cắt giới hạn

**DANH MỤC CÁC BẢNG**

Bảng 2.1. Trình tự các cặp môi sử dụng cho PCR.....	20
Bảng 2.2. Thành phần các chất trong một phản ứng PCR.....	21
Bảng 2.3. Số lượng và kích thước đoạn DNA tương đương với các kiểu gen của hai đa hình trên <i>CFAP70</i> .....	23
Bảng 2.4. Thành phần các chất tham gia phản ứng cắt bằng enzyme giới hạn .....	23
Bảng 3.1. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ của các đối tượng nghiên cứu ....	26
Bảng 3.2. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA ở một số mẫu đại diện .....	28
Bảng 3.3. Bảng thống kê kiểu gen và tần số allele của đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502 .....	36
Bảng 3.4. Đánh giá sự liên quan giữa đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502 và bệnh vô sinh nam .....	37
Bảng 3.5. Bảng thống kê kiểu gen và tần số allele của đa hình <i>CFAP70</i> rs1471347 .....	43
Bảng 3.6. Đánh giá liên quan giữa đa hình <i>CFAP70</i> rs4471347 và bệnh vô sinh nam .....	44
Bảng 3.7. Đánh giá liên quan haplotype các đa hình trên gen <i>CFAP70</i> và vô sinh nam .....	46

## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Minh hoạ ngưỡng giá trị tham khảo giữa các phiên bản [12].....	5
Hình 1.2. Các gen trên vùng AZF (a,b,c) trên nhiễm sắc thể Y .....	11
Hình 2.1. Sơ đồ vị trí các cặp môi trên gen <i>CFAP70</i> được thể hiện bằng phần mềm SnapGene Viewer.....	20
Hình 2.2. Chu trình của phản ứng PCR .....	22
Hình 2.3. Trình tự nhận biết của enzyme <i>Psp1406I</i> và <i>BsuRI</i> .....	22
Hình 3.1. Kết quả điện di DNA tổng số các mẫu trên gel agarose 1%.....	30
Hình 3.2. Sản phẩm PCR khuếch đại vùng DNA chứa đa hình .....	31
Hình 3.3. Điện di sản phẩm PCR sau khi được xử lý với enzyme <i>Psp1406I</i> . 33	
Hình 3.4. Kết quả giải trình tự đoạn gen chứa đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502 bằng phương pháp Sanger.....	34
Hình 3.5. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của 20 mẫu được giải trình tự bằng phương pháp Sanger với trình tự của gen <i>CFAP70</i> với mã số NC_000010.11 .....	35
Hình 3.6. Tần số allele C của đa hình <i>CFAP70</i> rs4294502 ở quần thể người Việt Nam trong nghiên cứu và các quần thể khác .....	38
Hình 3.7. Sản phẩm PCR khuếch đại vùng DNA chứa <i>CFAP70</i> rs4471347 . 39	
Hình 3.8. Điện di sản phẩm PCR sau khi được xử lý với enzyme <i>BsuRI</i> .....	40
Hình 3.9. Kết quả giải trình tự đoạn gen chứa đa hình <i>CFAP70</i> rs4471347 bằng phương pháp Sanger.....	41
Hình 3.10. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của 20 mẫu được giải trình tự bằng phương pháp Sanger với trình tự của gen <i>CFAP70</i> mã số NC_000010.11 .....	42
Hình 3.11. Tần số allele G của đa hình <i>CFAP70</i> rs4471347 ở quần thể người Việt Nam trong nghiên cứu và các quần thể khác .....	45
Hình 3.12. Hình thái tinh trùng ở chuột WT và chuột bị knockout gen <i>CFAP70</i> được quan sát bằng phương pháp nhuộm Papanicolaou (bên trái); Hình ảnh SEM và TEM đại diện của tinh trùng từ những con chuột bị knockout gen <i>CFAP70</i> và những con chuột WT (bên phải) [89]......	47

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh vô sinh là một trong những vấn đề quan trọng hàng đầu trong chiến lược chăm sóc sức khỏe sinh sản của Tổ chức y tế thế giới (WHO). Vô sinh là một bệnh lý của hệ thống sinh sản nam và nữ, trong đó, các ca vô sinh có nguồn gốc từ nam giới chiếm tới khoảng 50% trong tổng số ca bệnh. Ở Việt Nam, đây cũng là một vấn đề cấp bách cần giải quyết khi tỷ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ trên toàn quốc lên tới 7,7%. Bên cạnh những nguyên nhân do các tác động từ môi trường như stress, uống quá nhiều bia rượu, hút thuốc, nhiễm trùng tuyến sinh dục, tiếp xúc với nhiều hoá chất độc hại,... yếu tố di truyền cũng chiếm ít nhất 15% nguyên nhân gây ra vô sinh ở nam giới. Các đột biến gây ra vô sinh nam bao gồm bất thường về số lượng nhiễm sắc thể, lặp đoạn, đảo đoạn, mất đoạn siêu nhỏ, và đột biến gen. Việc xác định chính xác tác nhân di truyền gây ra bệnh là rất khó khăn, với khoảng 30% những ca vô sinh ở nam chưa tìm được nguyên nhân.

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để tìm các gen gây vô sinh và tìm hiểu mối liên quan của đa hình di truyền với vô sinh nam. Bằng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (Next generation sequencing – NGS) và nghiên cứu liên quan trên toàn bộ hệ gen (Genome wide association study – GWAS), nhiều gen gây bệnh cũng như các gen tiềm năng có liên quan với vô sinh nam đã được tìm thấy, bao gồm các gen thuộc họ cilia and flagella associated protein (CFAP) như *CFAP43*, *CFAP44*, *CFAP65*, *CFAP69*, *CFAP70*,... Trong đó, gen *CFAP70* đang được tập trung nghiên cứu trong những năm gần đây. Hầu hết các gen trong họ này được biểu hiện trong tinh hoàn và đóng vai trò quan trọng trong các giai đoạn khác nhau của quá trình sinh tinh. Biến đổi trên gen *CFAP70* gây khiếm khuyết ở đuôi tinh trùng với nhiều mức độ khác nhau. Tuy nhiên, nghiên cứu bệnh chứng để khảo sát mối liên quan giữa các đa hình của gen *CFAP70* với vô sinh nam chưa được thực hiện trên bất kỳ quần thể nào. Do đó, chúng tôi tiến hành thực hiện luận văn “Nghiên cứu tương quan hai đa hình rs4471347 và rs4294502 trên gen *CFAP70* với vô sinh nam ở người Việt Nam” nhằm xác định kiểu gen và tần số allele của các đa hình rs4294502 và rs4471347 trên gen *CFAP70* tiềm năng liên quan đến vô sinh nam, từ đó đánh giá sự ảnh hưởng của hai đa hình đơn nucleotide đối với vô sinh nam ở người Việt Nam, làm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu ứng dụng trong chẩn đoán, điều trị bệnh vô sinh nam.

## **Mục tiêu đề tài**

Nghiên cứu xác định thành phần kiểu gen và tần số các allele của hai đa hình rs4294502 và rs4471347 trên gen *CFAP70* ở nhóm bệnh nhân vô sinh nam và nhóm đối chứng khỏe mạnh từ đó phân tích mối liên quan giữa kiểu gen và allele của hai SNP này với bệnh vô sinh nam trên quần thể người Việt Nam.

## **Nội dung nghiên cứu**

1. Phân tích các yếu tố lâm sàng ở nhóm bệnh nhân vô sinh nam và nhóm đối chứng;
2. Thu thập mẫu máu và tách chiết DNA tổng số của 403 mẫu gồm 200 bệnh nhân vô sinh nam và 203 mẫu đối chứng;
3. Xác định kiểu gen và tần số allele hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 trên nhóm bệnh, nhóm đối chứng và cả quần thể nghiên cứu;
4. Đánh giá mối tương quan giữa hai đa hình trên với nguy cơ mắc vô sinh nam trên quần thể người Việt Nam.

## **CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU**

### **1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH VÔ SINH NAM**

#### **1.1.1. Định nghĩa về bệnh vô sinh nam**

Ngày nay, bệnh vô sinh đang trở thành vấn nạn sức khoẻ được quan tâm hàng đầu, đặc biệt là giới trẻ. Theo tổ chức Y tế thế giới WHO, vô sinh là tình trạng một cặp vợ chồng không có khả năng thụ thai sau 12 tháng chung sống, quan hệ bình thường mà không sử dụng biện pháp tránh thai [1]. Mặc dù thống kê về tỷ lệ mắc phải được báo cáo khác nhau giữa các nước, nhưng theo dữ liệu thống kê toàn cầu cho thấy có khoảng 48,5 đến 72,4 triệu cặp vợ chồng và 186 triệu cá nhân bị vô sinh [2], trong đó vô sinh nam ảnh hưởng đến khoảng 7% nam giới [3]. Tỷ lệ vô sinh ở các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản dao động từ 12,6% đến 17,5% với tỷ lệ tương đối cao ở các khu vực như Châu Mỹ, Châu Phi và Châu Âu [4]. Vô sinh nam có thể được chia thành hai dạng là vô sinh nguyên phát và vô sinh thứ phát. Vô sinh nguyên phát là những người đàn ông chưa bao giờ có con theo cách tự nhiên thành công và tỷ lệ này ước tính khoảng 0,38 – 0,57% vào năm 2010. Trong khi đó, vô sinh thứ phát dùng để chỉ những người đàn ông đã từng có 1 hoặc nhiều con theo cách tự nhiên nhưng sau đó không thể sinh con. Theo thống kê có khoảng 2,1 – 3,15% nam giới đã có con nhưng gặp khó khăn khi mong những đứa con tiếp theo [5, 6].

Quá trình sinh tinh ở nam giới bắt đầu từ lúc dậy thì. Mỗi ngày, hai tinh hoàn sản xuất trên 100 triệu tinh trùng, trung bình mỗi lần xuất tinh có khoảng 50 triệu tinh trùng để đảm bảo cho quá trình thụ tinh diễn ra bình thường. Do đó, sự suy giảm về số lượng và chất lượng tinh trùng có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh sản tự nhiên của nam giới. Nhiều số liệu thống kê và nghiên cứu khoa học đã chỉ ra rằng số lượng và chất lượng tinh trùng ở nam giới ngày càng suy giảm. Sự bất thường về số lượng và chất lượng tinh trùng được cho là nguyên nhân hiếm muộn phổ biến nhất hiện nay và chiếm trên 90% nguyên nhân vô sinh nam [7].

#### **1.1.2. Các tiêu chuẩn xét nghiệm bệnh vô sinh nam**

Các xét nghiệm lâm sàng và đánh giá tinh dịch đồ được thực hiện để đánh giá chất lượng của tinh trùng thông qua các chỉ số như: số lượng, khả năng di động, mật độ, hình dạng tinh trùng và các yếu tố khác [4]. Quy trình đánh giá này được thực hiện theo hướng dẫn mới nhất của Tổ chức Y tế Thế giới

(WHO) [8-10]. Từ phiên bản đầu tiên xuất bản năm 1980 đến phiên bản thứ 6 được xuất bản năm 2021 đã có nhiều thay đổi, được đánh giá là bước tiến lớn, giải quyết được những vấn đề gây tranh luận trong phiên bản 2010, khắc phục được các hạn chế, kém hiệu quả và không còn được áp dụng của phiên bản thứ V. Trong đó, bổ sung, cập nhật các kỹ thuật mới trong đánh giá tình trạng hiện nay và phân tích lại các thông số tham chiếu tinh dịch đồ, ý nghĩa các tham số này (Xem hình 1.1) bằng cách tiến hành phân tích các mẫu tinh dịch của 3589 người đàn ông có khả năng sinh sản bình thường khi vợ của họ có con trong vòng 12 tháng đến từ 12 quốc gia (Ý, Iran, Ai Cập, Trung Quốc, Úc, Mỹ, Pháp, Đan Mạch, Anh, Hy Lạp, Na Uy, Phần Lan), thuộc 5 châu lục để đưa ra thông số tham chiếu mang tính đại diện toàn cầu hơn so với các phiên bản trước đây. Cách đánh giá về đặc điểm liên quan đến tỷ lệ sống, mật độ và hình dạng tinh trùng đều có sự điều chỉnh. Các mô tả về bất thường hình dạng của tinh trùng cũng được mô tả chi tiết hơn. Hệ thống phân loại khả năng di động của tinh trùng cũng được thay đổi. Tỷ lệ di động của tinh trùng được phân làm bốn nhóm: tiến tới nhanh; tiến tới chậm; không tiến tới và bất động (ký hiệu lần lượt là a, b, c, d) [6] [11]. Bình thường, tinh dịch sẽ có màu đồng nhất xám – trắng, giọt tinh dịch đặc, dính và nhỏ rời rạc (độ nhớt). Đồng thời, nó có độ pH khoảng 7,2 đến dưới 8,0 và có thể chứa các tế bào bạch cầu. Các chỉ số bình thường của tinh dịch bao gồm: thể tích tinh dịch nhiều hơn 1,4 ml (1,3 ml – 1,5ml); nồng độ tinh trùng lớn hơn 16 triệu/ml; hình thái của tinh trùng có khoảng nhiều hơn 4% số lượng tinh trùng có hình thái bình thường; khả năng di động lớn hơn 42%, trong đó di động tiến tới lớn hơn 30% tổng số tinh trùng [7]; số lượng bạch cầu nhỏ hơn 1 triệu/ml; tỉ lệ tinh trùng còn sống trong tinh dịch khoảng hơn 54% tổng số lượng tinh trùng; các tế bào lạ hay các kháng thể trong tinh trùng chiếm khoảng 1 triệu/ml. Hình dạng tinh trùng được xác định là bình thường khi các bộ phận như đầu, cổ, phần giữa và đuôi đều có hình dạng bình thường. Đầu tinh trùng có hình bầu dục với kích thước dài 4,5 – 5  $\mu\text{m}$  và rộng 2,5 – 3,5  $\mu\text{m}$ . Phần giữa thường thon, bề ngang khoảng 0,5 – 0,7  $\mu\text{m}$  và có chiều dài khoảng 3,5 – 5,2  $\mu\text{m}$ , gắn thẳng trục với đầu. Bên cạnh đó, đuôi phải thẳng, đều, thon hơn phần giữa, không cuộn và dài khoảng 45 – 50  $\mu\text{m}$  (gấp 10 lần chiều dài phần đầu) [11].

Thông số	WHO 1980	WHO 1987	WHO 1992	WHO 1999	WHO 2010	WHO 2021
Thể tích (ml)	x	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≥ 1,5	≥ 1,4
Mật độ ( $10^6$ /ml)	20- 200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 15	≥ 16
Tổng số tinh trùng ( $10^6$ )	x	≥ 40	≥ 40	≥ 40	≥ 39	≥ 39
Tỷ lệ di động (%)	≥ 60	≥ 50	≥ 50	≥ 50	≥ 40	≥ 42
Tỉ lệ di động tiến tới (%)	≥ 2	≥ 25	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	≥ 32 (a+b)	≥ 30 (a)
Tỉ lệ sống (%)	x	≥ 50	≥ 75	≥ 75	≥ 58	≥ 54
Hình dạng bình thường (%)	80,5	≥ 50	≥ 30	≥ 14	≥ 4	≥ 4
Tế bào lạ ( $10^6$ )	< 4,7	< 1	<1	<1	<1	<1

**Hình 1.1. Minh họa ngưỡng giá trị tham khảo giữa các phiên bản [12]**

Khi xem xét các kết quả tinh dịch đồ không bình thường, tinh trùng có thể bị bất thường về một trong các yếu tố như số lượng, hình thái hoặc khả năng di chuyển, hoặc có thể bao gồm tất cả các yếu tố này. Khi tinh trùng có những bất thường như đầu to, đầu không tròn, đuôi không thẳng, đuôi kép... đều làm giảm khả năng xâm nhập vào trứng và ảnh hưởng đến quá trình thụ thai.

### 1.1.3. Một số dạng bất thường của tinh trùng

Thuật ngữ “Aspermia – vô tinh dịch” được định nghĩa là hoàn toàn không có tinh dịch được xuất ra hay còn được gọi là xuất tinh khô. Khác với chứng vô tinh (Azoospermia) là có thể xuất tinh nhưng trong tinh dịch không có tinh trùng. Với Aspermia, người đàn ông có thể đạt cực khoái, nhưng không xuất tinh. Hiện tượng này đôi khi còn được gọi là “cực khoái khô”. Bệnh Aspermia có thể do rất nhiều nguyên nhân, bao gồm: xuất tinh ngược, rối loạn di truyền (như hội chứng Klinefelter hoặc xơ nang), bất thường bẩm sinh của đường sinh sản, mất cân bằng nội tiết tố, tiểu đường, ung thư tinh hoàn sau điều trị hoặc rối loạn chức năng tình dục nghiêm trọng... [13]

Thuật ngữ “Azoospermia – vô tinh” là hiện tượng không có tinh trùng khi xuất tinh. Đây là một dạng vô sinh nam nghiêm trọng, không thể xác định thông qua các phương pháp khám lâm sàng, mà chủ yếu dựa vào kết quả phân tích tinh dịch và kiểm tra hormone. Vô tinh được phân loại thành hai loại chính là “Obstructive azoospermia (OA) – vô tinh do tắc nghẽn” và “Non-obstructive azoospermia (NOA) – vô tinh không do tắc nghẽn”. Trong đó, vô tinh không do tắc nghẽn (NOA) được cho là phổ biến nhất, chiếm khoảng 60% trong số các trường hợp vô sinh nam [14]. Nguyên nhân chính của NOA thường là do khiếm khuyết nghiêm trọng trong quá trình sinh tinh trùng, suy hoặc rối loạn



chức năng tinh hoàn nguyên phát. Nó cũng có thể là kết quả của rối loạn chức năng của tuyến yên hoặc vùng dưới đồi [15]. Không có tinh trùng do tắc nghẽn có thể do các nguyên nhân sau: bẩm sinh không có ống dẫn tinh hai bên, tắc ống phóng tinh và ống mào tinh, teo túi tinh, nhiễm trùng đường tiết niệu sinh dục, quá trình điều trị hay phẫu thuật dẫn đến tắc nghẽn hoàn toàn như thắt ống dẫn tinh hai bên [16, 17].

Thuật ngữ “Oligospermia – mật độ tinh trùng thấp” đề cập đến tình trạng mật độ tinh trùng trong tinh dịch thấp hơn bình thường (dưới 15 triệu tinh trùng/ml) [18]. Oligospermia được phân loại theo nhiều mức độ như nhẹ (10 – 15 triệu tinh trùng/ml), trung bình (5 – 10 triệu tinh trùng/ml), nặng (<5 triệu tinh trùng/ml), hoặc nghiêm trọng (<100000 tinh trùng/ml) [19]. Chứng giảm số lượng tinh trùng nghiêm trọng này đôi khi còn được gọi là thiếu tinh (Cyrptozoospermia). Thông thường khi mật độ tinh trùng thấp thường đi cùng các vấn đề khác như tinh trùng không di chuyển, tinh trùng dị dạng... Có rất nhiều nguyên nhân khác nhau dẫn đến mật độ tinh trùng thấp như rối loạn chức năng tuyến yên, rối loạn hormone, hội chứng Klinefelter,... Tuy nhiên, ngay cả khi được kiểm tra toàn diện, có khoảng 60% – 75% nam giới sẽ không xác định được nguyên nhân chính xác.

Thuật ngữ “Asthenozoospermia (AZS) – tinh trùng yếu” đề cập đến tình trạng trong đó mật độ tinh trùng trong tinh dịch nằm trong khoảng bình thường, nhưng có ít hơn 40% tinh trùng di chuyển về phía trước hoặc ít hơn 32% tinh trùng di chuyển nhanh và thẳng [20]. Nguyên nhân của AZS rất phức tạp, bên cạnh giãn tĩnh mạch thừng tinh, béo phì, nhiễm trùng hệ thống sinh sản, yếu tố di truyền, v.v. chiếm hơn 50% bệnh nhân AZS không rõ nguyên nhân [21]. Bên cạnh đó, huyết tương tinh dịch là môi trường sống duy nhất cho tinh trùng. Nó không chỉ cung cấp năng lượng và dinh dưỡng cho tinh trùng mà còn đóng vai trò quan trọng trong các chức năng sinh học như khả năng di chuyển của tinh trùng. Các nghiên cứu trước đây cho thấy sự chuyển hóa bất thường trong huyết tương tinh dịch là một trong những cơ chế bệnh lý quan trọng của AZS [20]. Hiện nay, việc chẩn đoán và điều trị lâm sàng của AZS vẫn là một thách thức lớn trong y học sinh sản ở nam giới.

“Teratozoospermia – quái tinh” được xác định bởi sự tồn tại của hơn 85% tinh trùng bất thường về hình thái trong tinh dịch, hầu như không có khả năng thụ tinh [22]. Tinh trùng dị dạng có thể được chia thành hai nhóm nhỏ là

trùng dị dạng đơn hình – trong đó tất cả các tinh trùng từ một lần xuất tinh đều cùng một kiểu dị dạng và tinh trùng dị dạng đa hình cho thấy sự xuất hiện nhiều dị dạng khác nhau của tinh trùng trong một lần xuất tinh [23-25].

“Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) – thiếu nhược quái tinh” là tình trạng mà nồng độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động và tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường đều thấp hơn giá trị tham chiếu của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [26]. Bệnh có 3 thể nhẹ, trung bình và nặng. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng đây là nguyên nhân phổ biến nhất của vô sinh nam.

## **1.2. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ GÂY VÔ SINH Ở NAM GIỚI**

Vô sinh nam là một tình trạng bệnh lý phức tạp do nhiều yếu tố gây ra. Các nguyên nhân gây vô sinh nam có thể được chia thành hai nhóm: các yếu tố di truyền và các yếu tố không di truyền.

### **1.2.1. Các yếu tố không di truyền**

Các yếu tố không di truyền có thể bao gồm các yếu tố lối sống và môi trường như hút thuốc, tiêu thụ bia rượu, tiếp xúc với chất độc hại và hóa chất, hoặc tổn thương vật lý do chấn thương. Ngoài ra, tổn thương tinh hoàn mắc phải, rối loạn nội tiết, bệnh lý toàn thân, nhiễm trùng tuyến sinh dục hoặc mất cân bằng hormone cũng có thể góp phần vào vô sinh nam.

Quá trình sản sinh tinh trùng diễn ra suốt cuộc đời của nam giới, nhưng chất lượng và khả năng thụ tinh của chúng dần dần giảm đi khi tuổi càng cao. Điều này cũng có liên quan đến sự xuất hiện ngày càng nhiều phân mảnh DNA trong tinh trùng.

Tiếp xúc với hoá chất và chất độc hại như thuốc trừ sâu (pyrethroids, organophosphates, phenoxyacetic acids, carbamates, organochlorines...), thủy ngân, kim loại nặng, bức xạ, các hợp chất nhựa, dung môi,... đã được chứng minh có liên quan đến sự suy giảm khả năng sinh sản của nam giới trên toàn cầu. Một nghiên cứu năm 1977 đã cho thấy mối liên hệ giữa dibromochloropropane (DBCP) và sự suy giảm nghiêm trọng khả năng sinh tinh ở những công nhân trong ngành sản xuất thuốc trừ sâu [27]. Dichlorodiphenyltrichloroethane (thường được biết đến với tên gọi DDT) là một trong những chất diệt côn trùng được chỉ ra nhiều nhất về sự liên kết của nó với các tác động xấu đến khả năng sinh sản [28]. Ngoài ra, hơn 100 loại thuốc trừ sâu cũng đã được phân loại là chất gây rối loạn nội tiết với các cơ chế

hoạt động khác nhau gây rối loạn nội tiết [29].

Nhiều nghiên cứu cũng đã được thực hiện để đánh giá tác động của ô nhiễm không khí và ô nhiễm tiếng ồn đối với khả năng sinh sản của nam giới. Một nghiên cứu của Min và cộng sự vào năm 2017 cho thấy sau khi kiểm soát độ tuổi, khu dân cư và các yếu tố lối sống khác, mặc dù mức tăng nhỏ hơn 1 decibel trong tiếng ồn ban ngày hoặc ban đêm không liên quan đến việc tăng nguy cơ vô sinh, nhưng nam giới tiếp xúc với mức độ tiếng ồn tăng cao từ hơn 55 decibel vào ban đêm có tỷ lệ vô sinh tăng đáng kể ( $P < 0,05$ ) [30]. Người ta đưa ra giả thuyết rằng nguy cơ vô sinh tăng lên ở nam giới tiếp xúc với mức độ ô nhiễm tiếng ồn cao có thể là do kích hoạt các phản ứng căng thẳng và thay đổi ở trục vùng dưới đồi tuyến yên – tuyến sinh dục (HPG). Năm 2019, Zhang và cộng sự đã phân tích các mẫu tinh dịch được thu thập ở Bắc Kinh, Trung Quốc, trong khoảng thời gian không kiểm soát ô nhiễm không khí từ năm 2015–2017 và so sánh các phân tích với các mẫu được thu thập trong khoảng thời gian kiểm soát ô nhiễm từ năm 2017 – 2018. Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ tiếp xúc với  $O_3$  có liên quan đến việc giảm nồng độ tinh trùng. Và giả thuyết được đưa ra khi tiếp xúc với  $O_3$  sẽ tác động đến chất lượng tinh dịch bằng cách tạo ra ROS (các gốc tự do) quá mức và làm tổn hại trực tiếp đến tính toàn vẹn DNA của tinh trùng [31].

Những người có lối sống không lành mạnh như lười vận động, chế độ ăn uống không khoa học, béo phì, sử dụng chất kích thích như ma túy, bia rượu cũng có thể ảnh hưởng xấu đến chất lượng tinh trùng. Một nghiên cứu gần đây của Nassan và cộng sự đã chứng minh rằng đàn ông Đan Mạch ăn thực phẩm chế biến sẵn có số lượng tinh trùng kém hơn so với những người ăn chay, hoặc chế độ ăn kiêng khoa học. Những người có chế độ ăn kiêng khoa học bao gồm cá, thịt gà, rau, trái cây và nước có số lượng tinh trùng cao nhất [32].

Hút thuốc lá cũng được coi là nguyên nhân gây vô sinh ở nam giới, trong đó hút thuốc lá có liên quan đến việc giảm lượng tinh dịch, số lượng tinh trùng và khả năng di chuyển của tinh trùng, cũng như làm suy giảm kết quả của kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (ART) [33].

Nhiễm khuẩn đường sinh dục nam dẫn đến sản sinh quá mức bạch cầu để chống lại sự nhiễm trùng. Sự gia tăng số lượng bạch cầu có thể làm giảm khả năng sinh sản của nam giới thông qua việc giảm khả năng di động, hình thái và gây tổn thương DNA tinh trùng [34].

Các bất thường về niệu sinh dục mắc phải – tắc nghẽn hoặc thắt ống dẫn tinh hai bên, cắt bỏ tinh hoàn hai bên, viêm mào tinh hoàn, giãn tĩnh mạch thừng tinh, xuất tinh ngược đều có ảnh hưởng đến vô sinh ở nam giới. Trong đó, giãn tĩnh mạch thừng tinh là nguyên nhân dẫn đến 1/4 các trường hợp vô sinh nam. Hậu quả của việc ứ trệ tuần hoàn trong hệ tĩnh mạch tinh cũng gây nên tình trạng mất cân bằng oxy hoá, từ đó dẫn đến sự phân mảnh DNA tinh trùng [35].

COVID-19 cũng có thể là nguyên nhân dẫn đến giảm khả năng sinh sản và thậm chí gây vô sinh ở một số nam giới đã hồi phục, đặc biệt là khi nhiễm bệnh nặng. Virus ảnh hưởng đến tinh hoàn thông qua việc gây nhiễm trùng trực tiếp các tế bào, thông qua bão cytokine và qua các tác dụng phụ của các phương pháp điều trị kháng vi rút và miễn dịch được sử dụng trong điều trị bệnh. Tuy nhiên, cần có thêm các nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ cả cơ chế ảnh hưởng và các biện pháp khắc phục cho vấn đề vô sinh liên quan đến nhiễm COVID-19 [36].

### 1.2.2. Các yếu tố di truyền

Ngoài những yếu tố không di truyền, các yếu tố di truyền là nguyên nhân chiếm khoảng hơn 15% – 30% các trường hợp vô sinh nam, bao gồm cả bất thường nhiễm sắc thể, các thay đổi đơn gen, mất đoạn nhiễm sắc thể Y, đột biến DNA ty thể (mtDNA), rối loạn nội tiết tố có nguồn gốc di truyền [37].

Bất thường nhiễm sắc thể liên quan đến vô sinh nam bao gồm bất thường cả về số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể. Chúng chiếm từ 5% đến 10% trong các trường hợp thiếu tinh và từ 15% đến 25% trong các trường hợp vô sinh không phải do tắc nghẽn. Trong đó, các biến đổi về cấu trúc nhiễm sắc thể thường là nguyên nhân di truyền chính gây ra tình trạng thiếu tinh [37-39]. Hội chứng Klinefelter (47 XXY) là bất thường về số lượng nhiễm sắc thể giới tính phổ biến nhất gây ra tình trạng vô tinh ở nam giới, và được chiếm đến 11% các trường hợp vô tinh [40]. Kiểu nhân của nam giới mắc hội chứng này có hai hoặc nhiều nhiễm sắc thể X; 47,XXY là kiểu nhân phổ biến nhất. Các triệu chứng thường nghiêm trọng hơn nếu có từ ba nhiễm sắc thể X trở lên (48,XXXXY hoặc 49,XXXXXY) [41]. Tỷ lệ mắc bệnh được báo cáo là khoảng 1 trên 1000 bé trai sơ sinh trong những năm 1970 và 1980 [42]. Và các nghiên cứu gần đây báo cáo rằng tỷ lệ hiện mắc đang ngày càng gia tăng, cứ 500 – 600

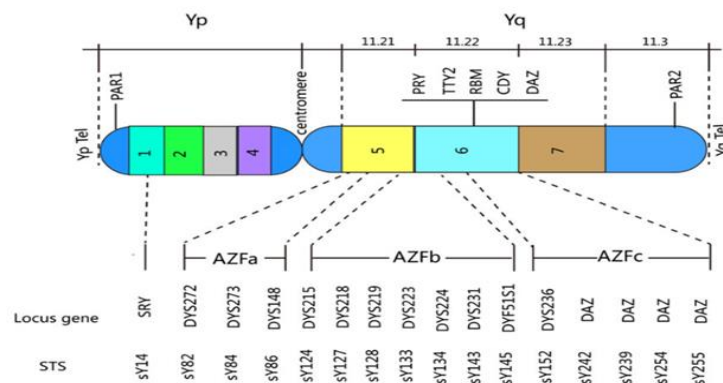
trẻ sơ sinh nam thì có 1 trẻ mắc Klinefelter [43,44]. Hội chứng Klinefelter có thể ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của tinh hoàn, dẫn đến nhỏ hơn tinh hoàn bình thường, có thể dẫn đến sản xuất testosterone thấp hơn. Hội chứng cũng có thể gây giảm khối lượng cơ, giảm cơ thể và lông mặt và mô vú mở rộng.

Ngoài rối loạn nhiễm sắc thể giới tính, rối loạn nhiễm sắc thể thường cũng có thể gây ra thiếu tinh và vô sinh ở nam giới [37-39]. Chuyển đoạn nhiễm sắc thể là rối loạn cấu trúc phổ biến nhất ở nam giới với tần suất 1,23 trên 1000 [45], và tỷ lệ mắc bệnh này ở nhóm vô sinh cao gấp 10 lần [46]. Chuyển đoạn nhiễm sắc thể được chia thành chuyển đoạn cân bằng và không cân bằng. Chuyển đoạn Robertsonian là dạng chuyển đoạn nhiễm sắc thể không cân bằng phổ biến nhất ở người và cũng là nguyên nhân phổ biến gây vô sinh nam. Chuyển đoạn Robertsonian được tìm thấy ở 0,9% – 3,4% nam giới vô sinh có rối loạn chức năng sinh tinh nghiêm trọng [47-49]. Những điều này có thể xảy ra ở năm cặp nhiễm sắc thể 13, 14, 15, 21, 22 và khiến chúng bị đứt ở tâm động, khiến hai nhánh dài hợp nhất với nhau tạo thành một nhiễm sắc thể lớn duy nhất. Do đó, những cá thể có chuyển đoạn Robertsonian có 45 nhiễm sắc thể, phần còn lại của nhánh ngắn của hai nhiễm sắc thể hợp nhất thường bị mất. Nam giới mang gen chuyển Robertsonian có tỷ lệ sảy thai hoặc sinh con mắc chứng tam nhiễm sắc thể chuyển vị cao hơn [50].

Nhiễm sắc thể Y là một trong những nhiễm sắc thể nhỏ nhất của con người (60 Mb). Nó đặc trưng cho nam giới và là thành phần đơn bội duy nhất trong bộ gen của con người. Vi mất đoạn trên nhánh dài của nhiễm sắc thể Y (Yq) là một trong những khiếm khuyết gây bệnh quan trọng nhất liên quan đến vô sinh nam, Tiepolo và Zuffardi vào năm 1976, đã đưa ra giả thuyết về mối tương quan giữa việc mất đoạn nhiễm sắc thể Y và vô sinh nam. Vi mất đoạn Yq được tìm thấy ở 13% nam giới không có tinh trùng, 1% – 7% nam giới bị thiếu tinh nghiêm trọng. Những phần mất đi này tập trung ở khoảng 5 và 6 của nhiễm sắc thể Y. Nó được định nghĩa là yếu tố Azoospermia (AZF) vì kiểu hình nghiêm trọng nhất liên quan đến việc mất nó là azoospermia. Vùng AZF được chia nhỏ thành 3 vùng không chồng chéo được gọi là AZFa, AZFb và AZFc [51]. AZFa có kích thước khoảng 400 – 600 kb và nằm ở phần gần nhất của khoảng xóa 5. Vùng AZFa chứa 2 gen mã hóa protein là USP9Y và DBY (gần đây được gọi là DDX3Y). Việc mất locus AZFa gây ra hội chứng chỉ có 1 lớp tế bào Sertoli (SCOS) là hội chứng trong ống sinh tinh chỉ tồn tại tế bào Sertoli

mà không có tế bào sinh tinh [52]. AZFb có kích thước khoảng 1 – 3 Mb và nằm ở phần xa của khoảng xóa 5 đến điểm cuối gần của khoảng xóa 6 (khoảng phụ 5O – 6B). Các gen mã hóa protein trong vùng AZFb là *EIF1AY*, *RPS4Y2* và *SMCY* nằm trong euchromatin thoái hóa X và *HSFY*, *XKRY*, *PRY* và *RBMY* nằm trong vùng ampliconic [52]. Họ gen RBMY mã hóa cho các protein biểu hiện ở tinh hoàn. Gen AZFb được biểu hiện ở các tế bào sinh tinh sơ cấp và do đó việc xóa nó dẫn đến ngừng quá trình phân bào và biểu hiện là ngừng trưởng thành với sự tích tụ của các tế bào sinh tinh sơ cấp. AZFc kéo dài 3,5 Mb và nằm ở phần xa của khoảng mất đoạn 6 (khoảng phụ 6C – 6E) trên nhiễm sắc thể Y [51]. Mất vùng AZFc thường gặp nhất ở nam giới mắc bệnh thiếu tinh hoặc vô tinh vô căn. Ngoài ra, một số nam giới vô sinh có tình trạng mất một phần locus AZFb và AZFc do có chứa các đoạn gen chồng lên nhau.

Ngoài các gen ở trên nhiễm sắc thể Y, một số gen khác trong bộ gen của con người cũng tham gia vào quá trình sinh tinh. Một số gen nhiễm sắc thể thường, chẳng hạn như gen acrosin, *BAX*, *BCL16*, *c – kit*, *ATM*, *HSP70.2*, *RAD6B*, *MDHC7*, *CREM*, *DNA11* đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển tế bào mầm và sinh tinh. Đột biến gen *CFTR* trên nhiễm sắc thể số 7 dẫn đến vô tinh do tắc nghẽn và được tìm thấy ở 60% – 90% bệnh nhân không có ống dẫn tinh hai bên bẩm sinh (CBAVD). F508 del là đột biến *CFTR* phổ biến nhất được tìm thấy ở 60% – 70% bệnh nhân CBAVD [53].



**Hình 1.2. Các gen trên vùng AZF (a,b,c) trên nhiễm sắc thể Y**

<https://ivie.vn/phuong-phap-xac-dinh-gay-vo-sinh-nam-xet-nghiem-mat-doan-azf-0>

Gần đây, các đa hình di truyền trong các gen có chức năng tế bào phổ biến và chức năng sinh tinh cụ thể đã được nghiên cứu để cho thấy mối liên kết với vô sinh nam. Trong số đó, đa hình của họ gen CFAP và các gen liên quan

đến con đường sinh tinh rất được chú ý và đã được nghiên cứu để tìm hiểu về mối liên quan của các gen này đến vô sinh nam.

### 1.3. VAI TRÒ CỦA GEN *CFAP70* VỚI VÔ SINH NAM

Họ cilia and flagella associated protein (CFAP) là họ protein đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh tinh. Đột biến ở họ gen này gây khiếm khuyết ở đuôi tinh trùng với nhiều mức độ khác nhau, dẫn tới tinh trùng dị dạng (teratozoospermia) hoặc tinh trùng yếu (asthenozoospermia)[54]. (Multiple morphologic abnormalities of the flagella – MMAF) là một phân nhóm của astheno–teratozoospermia được đề xuất vào năm 2014 [55]. MMAF là kết quả của các bất thường trong cấu trúc sợi trục của đuôi tinh trùng bao gồm 9 vi ống kép bao quanh 2 sợi vi ống đơn nằm ở trung tâm (cấu trúc axoneme), nhánh dynein bên ngoài và bên trong (ODA và IDA), phức hợp điều hòa nexin–dynein (DRC),... dẫn đến làm suy yếu khả năng vận động của tinh trùng. Các gen trong họ protein CFAP như *CFAP43*, *CFAP44*, *CFAP47* [56], *CFAP58* [57], *CFAP61* [58], *CFAP65* [59], *CFAP69* [60], *CFAP91* [61], *CFAP206* [62], *CFAP251* [63] đã được chứng minh là gen liên quan đến MMAF nhờ vào kỹ thuật nhuộm miễn dịch huỳnh quang, giải trình tự hệ gen biểu hiện,... được thực hiện trên mô hình chuột và các quần thể người khác nhau. Ví dụ như một nghiên cứu vào năm 2017 đã cho thấy các đột biến trên gen *CFAP43* và *CFAP44* có thể làm yếu liên kết giữa hai thể đơn trung tâm, dẫn tới cấu trúc bất thường “9+0” của sợi trục được phát hiện ở các bệnh nhân bị MMAF [64,65]. Gần đây, gen mã hóa cho protein CFAP70 đang được tập trung nghiên cứu như là một gen tiềm năng liên quan tới vô sinh nam. *CFAP70* (NM\_145170.3, trước đây được báo cáo là *TTC18*) nằm trên nhiễm sắc thể số 10 chứa 27 exon mã hóa cho 1121 axit amin. CFAP70 chủ yếu được biểu hiện trong tinh hoàn theo dữ liệu từ GTEx [66] và được mô tả có liên quan đến khiếm khuyết ở đuôi tinh trùng [67]. Các đột biến trên gen này thường được tìm thấy ở các bệnh nhân mắc vô sinh nguyên phát, đặc biệt là trong những ca vô sinh nam có kiểu hình kết hợp giữa dị tật acrosome và đa dị tật về hình thái đuôi tinh trùng (Multiple morphologic abnormalities of the flagella – MMAF). Đây là bệnh lý liên quan đến các rối loạn trong sự di chuyển của tinh trùng hoặc cấu trúc tế bào của chúng do rối loạn chức năng của sợi trục hoặc bao sợi ở đuôi tinh trùng [68]. Vào năm 2018, Shamoto và cộng sự đã thực hiện hóa mô miễn dịch ở các mô

hình chuột khác nhau và cho thấy gen *CFAP70* mã hóa một protein điều hòa của các nhánh dynein bên ngoài (ODA) trong lông mao của chuột. Ngoài ra, mô hình chuột knockout gen *CFAP70* đã dẫn đến lông mao của chuột bị rút ngắn bên cạnh các khiếm khuyết về khả năng vận động và đều bị vô sinh với kiểu hình đặc trưng của MMAF [67]. Một nghiên cứu khác của Julie Beurois và cộng sự (2019) cũng đã phát hiện được mối liên quan của hai đột biến trên gen *CFAP70* (c.1723-1G>T và p.Phe60Ile) với sự điều hòa của các nhánh dynein bên ngoài được biểu hiện mạnh mẽ trong tinh hoàn của người có tinh trùng ngắn và đuôi tinh trùng bất động [67]. Do đó, những nghiên cứu này càng góp phần củng cố vai trò quan trọng của gen *CFAP70* trong cấu trúc và hoạt động ở đuôi tinh trùng. Mặc dù, *CFAP70* là một trong những gen tiềm năng để giải thích nguyên nhân gây vô sinh ở nam giới, nhưng đến nay vẫn chưa có nghiên cứu liên quan nào được thực hiện ở bất kỳ một quần thể nào trên thế giới.

## **1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÔ SINH NAM**

### **1.4.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới**

Ngay từ những năm 1980, nhiều nhà khoa học và bác sĩ lâm sàng đã báo cáo mối lo ngại ngày càng tăng về vô sinh nam, đặc biệt là chất lượng tinh dịch suy giảm. Một nghiên cứu đã được thực hiện vào năm 1992, bao gồm phân tích tổng hợp về 61 bài báo bao gồm 14.947 nam giới không có tiền sử vô sinh trước đó. Nghiên cứu này kết luận rằng số lượng tinh trùng trung bình của những người đàn ông khỏe mạnh giảm 1% mỗi năm từ năm 1938 đến năm 1990. Số lượng tinh trùng trung bình giảm đáng kể về mặt thống kê 50% từ  $113 \times 10^6$  mL vào năm 1940 đến  $66 \times 10^6$  mL vào năm 1990 và với thể tích tinh dịch từ 3,40 đến 2,75 mL, sử dụng dữ liệu hồi quy tuyến tính tính theo số lượng nam giới trong mỗi nghiên cứu [69]. Do đó, các nghiên cứu về nguyên nhân gây vô sinh ở nam giới, đặc biệt là nguyên nhân di truyền đã bắt đầu từ giữa thế kỷ 20 và tiếp tục được tiến hành cho đến hiện nay. Các kỹ thuật phân tử mới và sự tiến bộ trong công nghệ đã cho phép chúng ta phát hiện và mô tả các gen quan trọng liên quan đến vô sinh nam. Một trong những xét nghiệm ban đầu để xác định các bất thường di truyền ẩn ở nam giới vô sinh là Karyotyping (lập nhiễm sắc thể). Phương pháp này vẫn được sử dụng cho đến ngày nay [70]. Karyotyping, hay còn gọi là lập nhiễm sắc thể đồ, đã trở thành xét nghiệm đầu



tiên được sử dụng để phát hiện các bất thường di truyền tiềm ẩn ở nam giới vô sinh. Đến ngày nay, phương pháp này vẫn là một trong những công cụ chẩn đoán vô sinh nam được áp dụng rộng rãi nhất. Kỹ thuật tế bào học này có khả năng phát hiện một số bất thường quan trọng liên quan đến vô sinh nam, trong đó có sự xuất hiện của một loại nhiễm sắc thể X bổ sung (47, XXY), được biết đến như hội chứng Klinefelter [70]. Phân tích Karyotype cũng rất cần thiết để xác định vị trí của các yếu tố di truyền kiểm soát quá trình sinh tinh bình thường. Thông qua việc sử dụng kỹ thuật này mà vào năm 1976, người ta đã tìm thấy việc xóa phần xa của dải q11 của nhiễm sắc thể Y ở 6 người đàn ông mắc chứng vô tinh và vùng này được xác định là cần thiết cho quá trình sinh tinh [71]. Bên cạnh đó, sự kết hợp giữa phân tích karyotype với kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) có thể phát hiện ra một số bất thường nhiễm sắc thể gây vô sinh nguyên phát và rối loạn phát triển giới tính; ví dụ 46, XX nam; chuyển vị Robertsonian [72]. Tuy nhiên, việc xác định nguyên nhân vô sinh nam chỉ dựa trên kỹ thuật karyotyping chỉ xác định được nguyên nhân gây vô tinh và thiếu tinh [70].

Vào năm 1988, nhiễm sắc thể X là nhiễm sắc thể thứ hai được tìm thấy có gen liên quan đến vô sinh nam. Năm 1988, nhóm nghiên cứu do Brown và cộng sự tiến hành nghiên cứu về gen liên quan đến vô sinh nam bằng cách sử dụng phương pháp PCR kết hợp với phương pháp Southern blot để xác định gen trên nhiễm sắc thể X. Kết quả cho thấy mất đoạn một phần gen thụ thể androgen (AR) là nguyên nhân gây vô sinh ở những bệnh nhân mắc hội chứng không nhạy cảm với androgen (AIS) [73]. Năm 1989, họ tiếp tục tìm hiểu và phát hiện ra đột biến của gen CFTR trên nhiễm sắc thể số 7 là nguyên nhân gây ra bệnh xơ nang bằng kỹ thuật đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn. Đặc biệt, các đột biến ở CFTR đã được phát hiện là nguyên nhân gây vô tinh do tắc nghẽn do sự vắng mặt ống dẫn tinh hai bên bẩm sinh bằng kỹ thuật DGGE và SSCP [74]. Các nhà nghiên cứu đã phát hiện được các gen ứng cử viên có tiềm năng nhất liên quan đến vô sinh ở nam giới thông qua việc sử dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự Sanger. Một ví dụ điển hình như việc xác định các đột biến trong gen SYCP3 liên quan đến việc ngừng giảm phân trong quá trình sinh tinh [75]. Ngoài ra, các nhà nghiên cứu tìm thấy 3 vùng gen trên nhiễm sắc thể Y thường bị xóa ở nam giới bị suy sinh tinh, được gọi là AZFa, AZFb và AZFc [51]. Ở các nghiên cứu sau này, đã phát hiện ra rằng trên nhiễm sắc thể Y có tồn tại các

biến dị di truyền như đột biến điểm, đột biến mất đoạn hoặc biến dị số lượng bản sao (CNV) ở nam giới vô sinh. Các nghiên cứu chỉ ra rằng những biến dị này có thể gây giảm hoặc mất hoàn toàn quá trình sinh tinh. Một trong số đó là mất đoạn siêu nhỏ trên nhiễm sắc thể Y (YCMD) trong "vùng yếu tố không tinh trùng" (AZF), là sai lệch di truyền phổ biến thứ hai ở nam giới vô sinh, thường xảy ra ở vùng euchromation của Yq [51].

Với các công nghệ giải trình tự hiện có cũng như sự ra đời của kỹ thuật SNP Microarray vào những năm 1990 đã một lần nữa thay đổi các phương pháp nghiên cứu để phân tích bộ gen của nam giới bị vô sinh và xác định được các gen mới liên quan đến vô sinh nam như *AURCK*, *SPATA16* và *DNAH1*. Sau đó, các đột biến mất đoạn và lặp đoạn gen dần được phát hiện nhiều hơn nhờ sử dụng phương pháp phép lai bộ gen so sánh dựa trên microarray (Array CGH) và SNP Array, trong đó một số gen bị mất đoạn đã được phát hiện như *DPY19L2*, *TEX11*, *DMRT1* [70].

Với sự phát triển của các kỹ thuật giải trình tự thông lượng cao trong thập kỷ qua, các nhà khoa học đã có thể giải trình tự một số lượng lớn gen, tất cả các exon mã hóa (Whole exome sequencing – WES) hoặc giải trình tự toàn bộ bộ gen của con người (Whole genome sequencing – WGS), được thực hiện trong các nhóm bệnh nhân và đối chứng rất lớn. Hơn nữa, NGS – Next generation sequencing đã trở thành một phương pháp tiêu chuẩn để sàng lọc di truyền nhanh chóng và giảm chi phí so với các phương pháp trước đó trong việc tìm ra các gen mới liên quan đến vô sinh nam.

#### **1.4.2. Tình hình nghiên cứu bệnh vô sinh nam ở Việt Nam**

Năm 2013, một nghiên cứu do Bệnh viện Phụ sản Trung ương và Đại học Y Hà Nội tiến hành trên 14.300 cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ (15 – 49 tuổi) ở 8 tỉnh đại diện cho các vùng sinh thái khác nhau, đã xác định tỉ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ là 7,7%. Trong đó, khoảng 50% các cặp vợ chồng vô sinh có độ tuổi dưới 30 [76]. Hiện nay, tỷ lệ vô sinh nam ở Việt Nam tăng cao, tuy nhiên những nghiên cứu chỉ tập trung chủ yếu vào các khía cạnh lâm sàng, phương pháp điều trị và chẩn đoán bệnh. Trong đó, các phương pháp chẩn đoán bệnh cũng chỉ tập trung vào các mất đoạn siêu nhỏ ở vùng AZF và những rối loạn khác ở nhiễm sắc thể Y [51]. Bên cạnh đó, những nghiên cứu tập trung vào ảnh hưởng của các đa hình và đột biến với vô sinh ở

nam giới cũng dần được các nhà khoa học quan tâm nhiều hơn. Tiêu biểu nhất là nhóm nghiên cứu của tác giả Trang và cộng sự (2018) với nghiên cứu đánh giá mối liên quan của các đa hình trên hai gen xenobiotic metabolism enzymes N-acetyltransferase-2 (*NAT2*) và Glutathione S-transferases (*GSTs*) với bệnh vô sinh nam ở nhóm quần thể gồm 300 người bệnh và 300 người khỏe mạnh. Nghiên cứu đã chỉ ra sự liên quan đáng kể giữa 4 điểm đa hình trên hai gen với vô sinh cũng như đề xuất rằng chúng có thể là chỉ thị phân tử mới cho bệnh vô sinh không rõ nguyên nhân [77]. Một nghiên cứu mới nhất của nhóm tác giả Anh và cộng sự (2023) thực hiện trên 107 bệnh nhân được chẩn đoán mắc vô sinh nam (từ 21 đến 50 tuổi) và 85 người khỏe mạnh (từ 23 đến 43 tuổi) được thu mẫu tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội cũng đã chứng minh được tính đa hình của các gen superoxide dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*), and nitric oxide synthase (*NOS*) có liên quan chặt chẽ đến chất lượng của tinh trùng và ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của nam giới [78]. Ngoài ra, trong những năm gần đây, một số nghiên cứu về đa hình trên các gen tiềm năng như: *AhRR*, *TEX15*, *DNAH1*, *PON2* và *FSIP2*,... cũng đã được thực hiện trên quần thể người Việt Nam bởi nhóm nghiên cứu của Nguyễn Thùy Dương và cộng sự, tuy nhiên các nghiên cứu đều không phát hiện được sự liên quan với vô sinh nam không rõ nguyên nhân [79-82]. Cho tới nay, chưa có nghiên cứu nào được thực hiện về các đa hình trên gen *CFAP70* trên bất kỳ quần thể nào, đặc biệt là về mối liên quan của chúng đến vô sinh nam trong quần thể người Việt Nam. Trong đó có thể kể đến hai đa hình có tần số xuất hiện khá cao trong quần thể người Việt Nam là đa hình *CFAP70* rs4294502 nằm trên exon 22 và *CFAP70* rs4471347 nằm trên vùng intron lần lượt là 0,262 và 0,25 theo thống kê được công bố trên Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia, Mỹ (National Center for Biotechnology – NCBI).

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Hai trăm (200) người nam giới mắc bệnh vô sinh (chẩn đoán vô sinh nam được tham khảo theo hướng dẫn của Hiệp hội Tiết niệu Hoa Kỳ [83]), đều trong độ tuổi sinh đẻ từ 22 đến 49 tuổi, được tuyển chọn theo các tiêu chí sau:

- (1) đã được chẩn đoán mắc vô sinh nguyên phát không rõ nguyên nhân;
- (2) có hệ nhiễm sắc thể bình thường, không rối loạn hoặc bị mất đoạn ở vùng AZF;
- (3) không bị tắc đường ống dẫn tinh;
- (4) không bị mắc các bệnh gây vô sinh như quai bị (làm teo tinh hoàn);
- (5) không có tiền sử bị mắc các bệnh truyền nhiễm qua đường sinh dục hay nghiện ma túy.

- Hai trăm lẻ ba (203) người nam giới khỏe mạnh, từ 24 đến 58 tuổi, có ít nhất một người con sinh ra bằng phương pháp tự nhiên được tuyển chọn vào nhóm đối chứng.

Các đối tượng tình nguyện tham gia cung cấp mẫu máu cho nghiên cứu phải ký tên vào bản xác nhận đồng ý hiến mẫu cho mục đích nghiên cứu.

#### 2.1.2. Phạm vi nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu được thu thập ở bệnh viên Đại học Y Nội. Đề tài được thực hiện tại Phòng Hệ gen học người, Viện Nghiên cứu hệ gen trong thời gian từ 2021 – 2023. Vấn đề liên quan đến đối tượng nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Nghiên cứu Hệ gen đồng ý thông qua (Số: 2-2019/NCHGHĐĐĐ).

### 2.2. HOÁ CHẤT VÀ TRANG THIẾT BỊ

#### 2.2.1. Hoá chất sử dụng

- Hóa chất tách chiết DNA tổng số, tinh sạch sản phẩm PCR thuộc bộ kit GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification (Thermo Fisher);
- Hóa chất dùng cho phản ứng PCR: đệm, dNTPs, Taq DNA polymerase của hãng Fermentas;....

#### 2.2.2. Trang thiết bị

- Ống chứa máu EDTA-K2 (Việt Nam); Găng tay, cốc đong, bình thủy tinh, lò vi sóng, khay đổ gel;
- Pipet và đầu côn các loại 1000µl, 200µl, 100µl, 20µl, 10µl, 2,5µl;

- Ống Eppendorf loại 1,5 ml và 0,2 ml;
- Tủ lạnh sâu -20°C; cân phân tích (Mettler Toledo, Thụy Sĩ); máy đo pH (Mettler); máy li tâm Eppendorf 5415C (Eppendorf, CHLB Đức); Máy Nanodrop 2000; máy ly tâm (Eppendorf); máy điện di Mupid Exu (Nhật Bản);  
...

### **2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.3.1. Tách chiết DNA từ mẫu máu toàn phần**

- **Nguyên lý**

DNA từ mẫu máu toàn phần được tách chiết dựa vào khả năng bám của acid nucleotide vào màng silica. Mẫu được ly giải bằng proteinase K trong điều kiện môi trường đệm được điều chỉnh pH và nồng độ muối để tối ưu khả năng bám của DNA vào màng silica. DNA sau khi bám vào màng silica sẽ được rửa giải và thu hồi bằng dung dịch đệm elution chứa 0.5 mM EDTA và 10 mM Tris-HCl, pH 9.0. Protein và các tạp chất khác không bám được vào màng silica sẽ được loại bỏ. Cuối cùng, DNA được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ thấp (4°C hoặc -20°C) cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

- **Các bước tiến hành**

Quy trình tách chiết DNA tổng số của các mẫu máu được thực hiện trên bộ kit tách chiết và tinh sạch thương mại (Thermo), từng bước cụ thể như sau:

- Bước 1: Máu nghiên cứu bảo quản trong ống chống đông EDTA và cất giữ ở -20°C được lấy ra và rã đông ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút.
- Bước 2: Thêm 20 µl Proteinase K vào ống 1,5 ml đã tiệt trùng.
- Bước 3: Chuyển 200 µl máu sang ống chứa Proteinase K, mix bằng vortex. Thêm 400 µl Lysis solution, mix hoàn toàn bằng vortex hoặc pipet.
- Bước 4: Ủ mẫu ở 56°C trong 10 phút và thỉnh thoảng vortex hoặc sử dụng bể lắc đến khi tế bào tan hoàn toàn.
- Bước 5: Thêm 200 µl ethanol (96 – 100%) ở nhiệt độ phòng và mix bằng vortex hoặc pipet để tủa DNA.
- Bước 6: Chuyển hỗn hợp trên vào cột được cung cấp theo bộ kit. Ly tâm ở 10000 vòng/phút trong vòng 1 phút. Loại bỏ ống thu có chứa dịch. Đặt cột vào một ống thu 2 ml mới.
- Bước 7: Thêm 500 µl Wash Buffer I (đã thêm ethanol). Ly tâm ở 10000 vòng/phút trong vòng 1 phút. Loại bỏ dịch sau khi ly tâm.

- Bước 8: Thêm 500  $\mu$ l Wash Buffer II (đã thêm ethanol). Ly tâm ở tốc độ tối đa trong 3 phút ( $\geq$  12000 vòng trên phút). Loại bỏ dịch sau khi ly tâm.
- Bước 9: Đặt cột vào ống ly tâm 1.5 ml sạch để thu DNA. Thêm 200  $\mu$ l Elution Buffer vào giữa màng cột để elute DNA. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 phút và ly tâm ở 10000 vòng/phút trong 1 phút.
- Bước 10: Bỏ cột. Dung dịch chứa DNA được đo nồng độ và đánh giá chất lượng bằng máy Nanodrop và điện di trên gel agarose. DNA đã được tinh sạch và lưu trữ ở  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 2.3.2. Phương pháp định lượng DNA bằng quang phổ kế

- **Nguyên lý**

Dựa vào sự hấp thụ ánh sáng tối đa ở bước sóng 260 nm của hai đơn phân cấu tạo nên DNA là base purin và pyrimidin, người ta sử dụng giá trị mật độ quang ở bước sóng 260 nm để xác định nồng độ axit nucleic trong mẫu. Ngoài ra, mật độ quang tại bước sóng 280 nm còn xác định được nồng độ protein. Từ đó dựa vào tỷ lệ A260/A280 để kiểm tra chất lượng của DNA tách chiết. Sản phẩm đạt yêu cầu khi tỷ lệ A260/A280 = 1,7 – 2,0.

- **Các bước tiến hành**

- Lấy 2  $\mu$ l dung môi (dung dịch elution dùng để hoà DNA hoặc nước khử ion vô trùng) để làm blank.
- Sử dụng 2  $\mu$ l mỗi mẫu để xác định nồng độ DNA và độ tinh sạch.
- Ghi lại kết quả nồng độ DNA sau mỗi lần đo.

### 2.3.3. Thiết kế môi cho phản ứng PCR

Các đoạn môi đặc hiệu tương ứng với từng đoạn gen có chứa SNP được thiết kế dựa trên vị trí của từng SNP. Đối với SNP có các vùng vị trí nhận biết tự nhiên, trình tự môi được thiết kế bằng phần mềm NCBI Primer BLAST với các tham số mặc định. Với các SNP không có vị trí phân cắt enzyme tự nhiên, các nucleotide gần đầu 3' của đoạn môi ngay trước (hoặc sau) vị trí SNP sẽ được sửa đổi để tạo vị trí nhận biết enzyme cắt giới hạn theo các điều kiện sau: nucleotide cải biến không trùng vào vị trí nucleotide cuối cùng của môi, số lượng nucleotide cải biến không vượt quá ba nucleotide. Cuối cùng, cả hai đoạn môi ngược và xuôi đều được kiểm tra hóa bằng cách sử dụng công cụ OligoAnalyzer ([www.idtdna.com/calc/analyzer](http://www.idtdna.com/calc/analyzer)).

**Bảng 2.1. Trình tự các cặp mồi sử dụng cho PCR**

Gen	SNP	Trình tự mồi	Kích thước (bp)
<b>CFAP70</b>	rs4294502	F: 5'-TAAGGAAGTTTCCTGTAATAACG-3'	267bp
		R: 5'-GTAATTCTGTATCTTTAAGTTGC-3'	
	rs447137	F: 5'-CTTTCCCAGAAATGATTGCATATAA-3'	272bp
		R: 5'-CAGTCAGAAAAGCACATTAAG-3'	

Sơ đồ vị trí các cặp mồi được thiết kế của hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 được thể hiện ở Hình 2.1



**Hình 2.1. Sơ đồ vị trí các cặp mồi trên gen *CFAP70* được thể hiện bằng phần mềm SnapGene Viewer**

### 2.3.4. Khuếch đại vùng DNA chứa đa hình bằng kỹ thuật PCR

Các mẫu DNA tổng số được pha loãng về nồng độ đồng nhất (5 ng/ $\mu$ L) và sau đó được sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR. Đoạn DNA chứa các đa hình nghiên cứu được khuếch đại bằng phương pháp PCR với các cặp mồi đặc hiệu.

Phản ứng PCR bao gồm 3 giai đoạn

- Giai đoạn 1 (giai đoạn biến tính): giai đoạn này được thực hiện với nhiệt độ cao từ 94 – 95°C để làm đứt các liên kết hidro, từ đó DNA mạch kép tách thành 2 mạch đơn tạo mạch khuôn cho quá trình tổng hợp.
- Giai đoạn 2 (giai đoạn gắn mồi): nhiệt độ được hạ thấp xuống về nhiệt độ gắn mồi cho phép các đoạn oligonucleotid gắn với sợi DNA khuôn.
- Giai đoạn 3 (giai đoạn kéo dài): nhiệt độ được tăng lên đến 72°C là nhiệt độ hoạt động tối ưu nhất của enzyme Taq polymerase để các mạch đơn được tổng hợp theo nguyên tắc bổ sung.

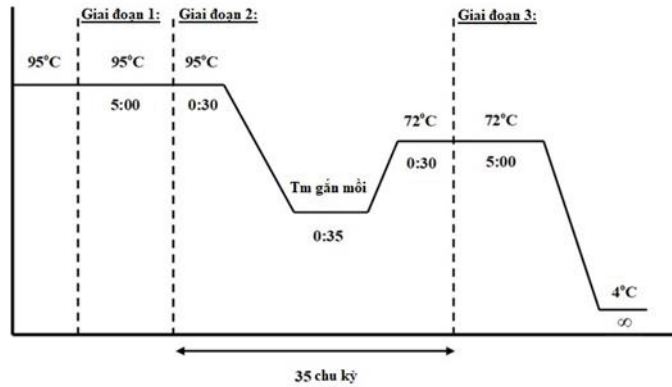
Tổng thể tích phản ứng PCR là 10  $\mu$ L. Thể tích của các thành phần được sử dụng cụ thể theo Bảng 2.2. Sản phẩm PCR sẽ được kiểm tra định tính bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%.

**Bảng 2.2. Thành phần các chất trong một phản ứng PCR**

Thành phần	Nồng độ	Thể tích ( $\mu$ L)
H <sub>2</sub> O		6,35
Buffer Dream Taq	10X	1
dNTPs	2,5 mM	0,6
Taq polymerase	5U/ $\mu$ L	0,05
Mồi xuôi (F)	10 pmol	0,5
Mồi ngược (R)	10 pmol	0,5
Mẫu DNA	~ 5 ng / $\mu$ L	1
<b>Tổng</b>		10

Phản ứng khuếch đại vùng gen có chứa các đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 bằng phương pháp PCR có điều kiện như sau: 95°C – 5 phút; (95°C – 30 giây; T<sub>m</sub> – 30 giây; 72°C – 30 phút) x 35 chu kỳ; 72°C – 5 phút. Sau đó giữ sản phẩm ở 4°C. Nhiệt độ gắn mồi T<sub>m</sub> của cả hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 đều là 55°C. Điều kiện PCR được minh họa trong hình dưới đây (Hình 2.2).



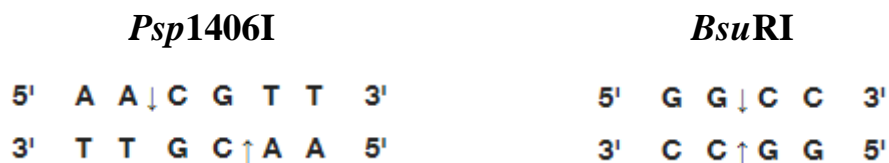


**Hình 2.2. Chu trình của phản ứng PCR**

### 2.3.5. Xác định kiểu gen bằng PCR – RFLP

Sản phẩm PCR của đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 được cắt lần lượt bằng các enzyme cắt giới hạn (RE) *Psp1406I* và *BsuRI* (Thermo Fisher) (Hình 2.3) theo kỹ thuật đa hình chiều dài đoạn giới hạn (PCR – RFLP).

Nguyên tắc của kỹ thuật đa hình chiều dài đoạn giới hạn (PCR – RFLP) là dựa trên độ đặc hiệu của các enzyme cắt giới hạn đối với vị trí nhận biết của chúng trên DNA. Khi ủ với enzyme cắt giới hạn ở điều kiện (dung dịch đệm, nhiệt độ, độ pH và thời gian) thích hợp thì DNA sẽ bị enzyme cắt giới hạn cắt ở vị trí đặc hiệu để tạo ra những đoạn DNA với kích thước khác nhau. Từ đó, dựa vào kích thước của các đoạn DNA sau khi cắt để xác định alen và kiểu gen.



**Hình 2.3. Trình tự nhận biết của enzyme *Psp1406I* và *BsuRI***

*Psp1406I* là RE cắt đầu dính và *BsuRI* là một RE cắt đầu bằng. Các enzyme này sẽ nhận biết được vị trí cắt tại vùng trình tự xung quanh các SNP và sử dụng phần mềm SnapGene® (Insightful Science; có tại [snapgene.com](http://snapgene.com)) có thể nhận biết được các sản phẩm cắt enzyme dựa trên sản phẩm PCR. Trong điều kiện thích hợp, nếu không xảy ra biến đổi, enzyme giới hạn sẽ cắt sản phẩm PCR thành 2 đoạn, nếu có xảy ra biến đổi, enzyme không cắt sản phẩm PCR vì không nhận biết được vị trí cắt nên chỉ thu được 1 đoạn. Số lượng và kích thước của ba kiểu gen của các đa hình được phân tích trên lý thuyết khi điện di trên gel agarose 3,5% được mô tả trong Bảng 2.3.

**Bảng 2.3. Số lượng và kích thước đoạn DNA tương đương với các kiểu gen của hai đa hình trên *CFAP70***

SNP	Kiểu gen	Số lượng băng điện di	Kích thước các băng điện di (bp)
rs4294502	TT	2	248; 19
	TC	3	267; 248; 19
	CC	1	267
rs4471347	CC	2	251; 21
	CG	3	272; 251; 21
	GG	1	272

Tổng thể tích phản ứng cắt giới hạn bằng enzyme là 5  $\mu$ L, gồm nước không chứa nuclease ( $H_2O$ ), Buffer tương ứng và enzyme. Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong bể ủ nhiệt trong 5 giờ.

**Bảng 2.4. Thành phần các chất tham gia phản ứng cắt bằng enzyme giới hạn**

Thành phần	Nồng độ	Thể tích ( $\mu$ L)
$H_2O$		1,55
Buffer Tango cho <i>Psp1406I</i> Buffer R cho <i>BsuRI</i>	10X	0,35
Enzyme tương ứng	10 U/ $\mu$ L	0,1
Sản phẩm PCR		3,0
<b>Tổng</b>		<b>5</b>

### 2.3.6. Kiểm tra sản phẩm PCR và PCR – RFLP bằng phương pháp điện di trên gel agarose

Sản phẩm khuếch đại vùng gen chứa đa hình và sản phẩm PCR sau khi xử lý bằng enzyme cắt giới hạn được phân tích định tính nhờ phương pháp điện di trên gel agarose. Axit nucleic là phân tử mang điện tích âm, vì thế khi điện di các đoạn DNA đã được khuếch đại sẽ dịch chuyển về cực dương trong điện trường. Các đoạn DNA kích thước khác nhau sẽ chạy với tốc độ khác nhau trên gel. So sánh hình ảnh thu được với marker và độ dài gen đích sẽ cho thấy kích

thước sản phẩm PCR và sản phẩm sau khi xử lý enzyme.

- Chuẩn bị gel agarose 1% và 3,5%.
- Đặt bản gel vào bể điện di, sao cho bản gel ngập hoàn toàn trong đệm TBE 1X. Tra 2  $\mu$ l Marker 100 bp vào giếng đầu tiên. Tra 2 – 3  $\mu$ l sản phẩm PCR lần lượt vào các giếng còn lại trên bản gel.
- Chạy điện di trong khoảng 20 phút với hiệu điện thế (U: 100 – 150 V) và cường độ dòng điện (I: 80 – 100 mA).
- Nhuộm bản gel với Ethidium bromide.
- Chụp ảnh: Bản gel sau khi nhuộm với Ethidium bromide được soi bằng tia tử ngoại (UV). Quan sát các vạch sáng xuất hiện trên bản gel và chụp hình lưu trữ kết quả.

### 2.3.7. Giải trình tự Sanger

Để kiểm tra lại kết quả của phương pháp PCR – RFLP, khoảng 10% số mẫu được chọn ngẫu nhiên để tinh sạch bằng GeneJET PCR Purification kit (Thermo Fisher) và được thực hiện giải trình tự bằng hệ thống ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer (Applied Bio-systems, Carlsbad, CA, USA). Kết quả thu được sau khi giải trình tự được dùng để so sánh với trình tự tham khảo của gen *CFAP70* (NC\_000010.11) bằng phần mềm SnapGene Viewer.

### 2.3.8. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Dữ liệu thu thập từ các phương pháp PCR – RFLP được phân tích thống kê bằng Microsoft Excel (Microsoft Corp., Washington, DC, USA) và R phiên bản 4.1.2 [84]. Kiểm định Chi-bình phương ( $\chi^2$ ) (gói code "Hardy – Weinberg" trong R) được thực hiện để kiểm tra trạng thái cân bằng Hardy – Weinberg (HWE) của quần thể [85]. Mỗi liên quan giữa đa hình với vô sinh nam được khảo sát bằng ba mô hình thử nghiệm khác nhau (cộng gộp, trội và lặn) [86], trong đó phép kiểm định Fisher (Fisher exact test) được sử dụng cho những SNP với kích thước mẫu dự kiến dưới 5 và thử nghiệm Chi bình phương (Chi square test) cho những đa hình có kích thước mẫu dự kiến lớn hơn 5 [87]. Phân tích haplotype được thực hiện bằng phần mềm SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>) [88]. Tỷ lệ OR (odds ratio) với khoảng tin cậy 95% được tính toán để đánh giá mối liên quan đó. Kiểm định Mann – Whitney U được thực hiện để so sánh các giá trị chỉ số lâm sàng giữa 2 nhóm nghiên cứu bằng phần mềm SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0). Tất cả các phép kiểm định đều có tính chất tương đối. Các kiểm định được coi là có ý

nghĩa thống kê khi giá trị  $p < 0,05$ .

#### **2.4. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU**

- Các đối tượng tham gia nghiên cứu hoàn toàn tự nguyện.
- Đối tượng nghiên cứu được giải thích rõ ràng về mục tiêu nghiên cứu, thông tin riêng của đối tượng được đảm bảo bí mật.
- Nghiên cứu đảm bảo tuân thủ các quy định đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học.
- Nghiên cứu này đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Nghiên cứu hệ gen thông qua theo quyết định số 3.1 - 2019/NCHG-HĐĐĐ.

### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. PHÂN TÍCH CÁC ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở NHÓM BỆNH VÀ NHÓM ĐỐI CHỨNG

Các đặc điểm lâm sàng của 403 mẫu nghiên cứu gồm 200 bệnh nhân vô sinh nam và 203 mẫu đối chứng đã được phân tích để đánh giá liên quan lâm sàng giữa hai nhóm bệnh và nhóm chứng. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ được tổng hợp ở Bảng 3.1.

**Bảng 3.1. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ của các đối tượng nghiên cứu**

Các chỉ số tinh dịch	Nhóm vô sinh nam	Nhóm đối chứng	Giá trị <i>p</i>
Độ pH	7,5	7,5	0,741
Thể tích tinh dịch (mL)	3	3,2	0,012
Tổng số lượng tinh trùng ( $10^6$ )	11,2	417,3	<0,001
Mật độ tinh trùng ( $10^6$ / mL)	4	120	<0,001
Khả năng di động (%)	3	68	<0,001

*Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung vị; sự khác biệt giữa hai nhóm được thể hiện qua giá trị *p* được tính bằng kiểm định Mann – Whitney U; giá trị *p* < 0,05 biểu thị ý nghĩa thống kê.*

Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ được đánh giá dựa trên 5 chỉ số bao gồm độ pH, thể tích tinh dịch, tổng số lượng tinh trùng, mật độ tinh trùng và khả năng di động của tinh trùng. Theo hướng dẫn mới nhất của tổ chức WHO 2021, giá trị tham chiếu cho một mẫu tinh trùng bình thường là: độ pH từ 7,2 – 8,0, thể tích tinh dịch lớn hơn hoặc bằng 1,4 mL, tổng số lượng tinh trùng trong một lần xuất tinh lớn hơn hoặc bằng 39 triệu, mật độ tinh trùng lớn hơn 16 triệu tinh trùng trên 1 ml và khả năng di động của tinh trùng lớn hơn 42%.

Nhóm đối chứng có giá trị trung vị của cả 5 chỉ số đều cao hơn giới hạn tham chiếu của tổ chức WHO. Điều này cho thấy nhóm đối chứng có chất lượng tinh trùng tốt và khả năng sinh sản. Trái lại, nhóm vô sinh nam chỉ có giá trị trung vị của độ pH và thể tích tinh dịch nằm trong khoảng tham chiếu bình thường. Các chỉ số khác như tổng số tinh trùng, mật độ tinh trùng và khả năng di động đều rất thấp so với giới hạn tham chiếu. Điều này cho thấy nhóm vô sinh nam bao gồm các đối tượng có vấn đề về sản xuất tinh trùng hoặc di động

kém.

So sánh giữa giá trị trung vị thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, mật độ tinh trùng và khả năng di động của hai nhóm vô sinh nam và nhóm đối chứng cho thấy sự khác biệt đáng kể với giá trị  $p < 0,05$ , cho thấy kết quả có ý nghĩa thống kê. Các thông tin lâm sàng thu được từ các đối tượng nghiên cứu cho thấy cả nhóm bệnh nhân vô sinh nam và nhóm đối chứng đều đáp ứng các tiêu chí nghiên cứu, điều này làm cho việc tiến hành các bước phân tích tiếp theo trở nên phù hợp và khả thi hơn.

### **3.2. KẾT QUẢ TÁCH CHIẾT DNA TỔNG SỐ**

Quy trình tách chiết DNA tổng số được thực hiện như đã trình bày trong phần 2.3.1. Nồng độ và độ tinh sạch DNA của các mẫu nghiên cứu được đánh giá bằng hai phương pháp là phương pháp đo quang phổ và phương pháp điện di trên gel agarose 1%.

Toàn bộ 403 mẫu DNA được định lượng bằng máy quang phổ NanoDrop để xác định chính xác hơn về nồng độ và độ tinh sạch của mẫu. Kết quả đo nồng độ DNA của 25 mẫu vô sinh nam và 25 mẫu vô sinh chứng được thể hiện ở Bảng 3.2, cho thấy nồng độ và giá trị mật độ quang học (Optical density – OD) trong mức chấp nhận. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 260 và 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ) trong khoảng 1,7 – 2,0. Nồng độ DNA của các mẫu còn lại được trình bày đầy đủ ở Phụ lục 1.

**Bảng 3.2. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA ở một số mẫu đại diện**

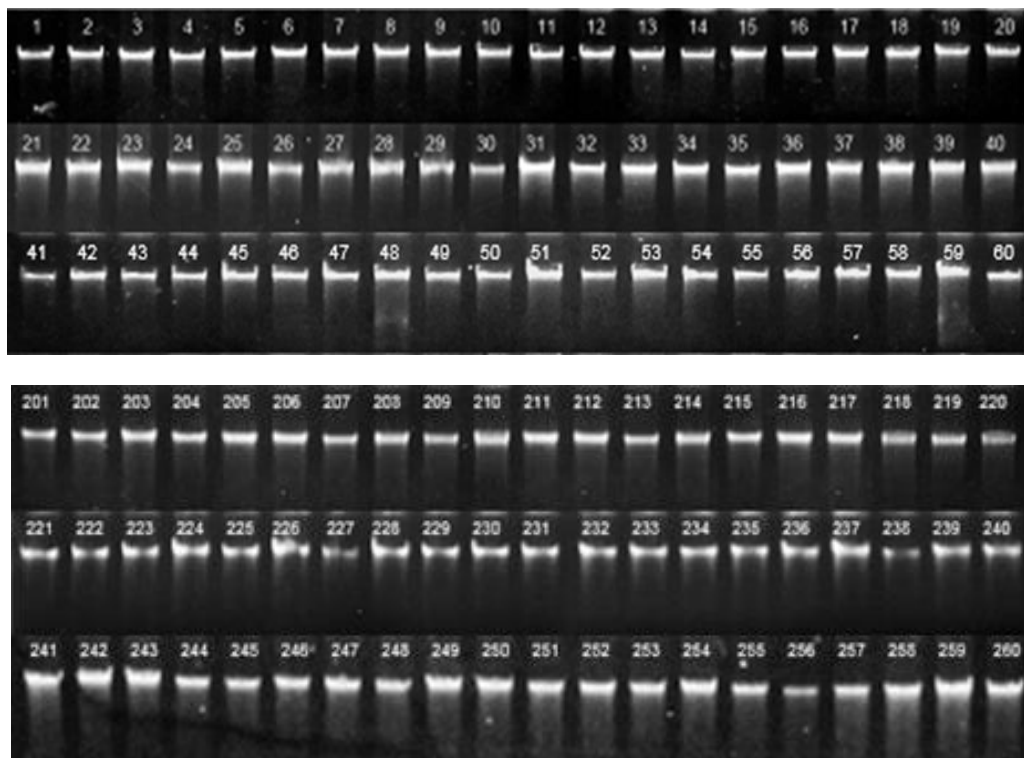
STT	Mã mẫu nghiên cứu	Nồng độ DNA (ng/ $\mu$ l)	Độ tinh sạch DNA ( $A_{260}/A_{280}$ )	Kiểu gen	
				rs4294502	rs4471347
1	VSN012	12,3	1,80	TC	CG
2	VSN013	11,3	1,87	TT	CC
3	VSN014	14,9	1,8	TT	CC
4	VSN015	6,2	1,86	TC	CG
5	VSN016	6,4	1,8	TT	CC
6	VSN018	10,2	1,8	TC	CG
7	VSN019	10,4	1,8	TT	CC
8	VSN020	14,3	1,83	TC	CG
9	VSN021	8,6	1,8	TC	GG
10	VSN022	14,4	1,8	TT	CG
11	VSN023	8,1	1,82	TC	CG
12	VSN025	10,0	1,8	TT	CC
13	VSN026	20,5	1,8	TT	CC
14	VSN027	13,4	1,95	TT	CC
15	VSN029	8,8	1,87	TT	CC
16	VSN030	13,7	1,88	TC	CG
17	VSN031	12,8	1,83	TT	CG
18	VSN032	8,1	2,00	TC	CG
19	VSN034	13,1	1,87	TC	CG
20	VSN035	12,3	1,87	TT	CC
21	VSN036	6,5	1,8	TC	CG
22	VSN037	10,1	1,8	TT	CC

STT	Mã mẫu nghiên cứu	Nồng độ DNA (ng/μl)	Độ tinh sạch DNA (A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> )	Kiểu gen	
				rs4294502	rs4294502
23	VSN038	9,8	1,8	TT	CG
24	VSN039	10,8	1,8	TC	CG
25	VSN040	7,9	1,81	TT	CC
26	VSC001	8,14	1,86	TT	CC
27	VSC002	23,8	1,83	TT	CC
28	VSC003	18,9	1,8	TT	CG
29	VSC005	24,5	1,83	TT	CC
30	VSC006	15,6	1,98	TC	CG
31	VSC007	28,40	1,8	TT	CC
32	VSC008	24,7	1,8	TT	CC
33	VSC009	22,0	1,80	TT	CC
34	VSC010	18,6	1,84	TT	CC
35	VSC011	20,6	1,8	CC	GG
36	VSC012	19,4	1,82	TT	CC
37	VSC013	21,0	1,81	TT	CC
38	VSC014	28,5	1,83	TC	CG
39	VSC015	13,1	1,81	TT	CC
40	VSC016	13,2	1,82	CC	GG
41	VSC017	12,0	1,89	TC	CC
42	VSC018	11,7	1,83	TT	CC
43	VSC020	16,3	1,80	TT	CC
44	VSC021	9,0	1,82	TT	CC
45	VSC024	8,8	1,91	TT	CC
46	VSC025	5,6	1,84	TT	CC



STT	Mã mẫu nghiên cứu	Nồng độ DNA (ng/ $\mu$ l)	Độ tinh sạch DNA ( $A_{260}/A_{280}$ )	Kiểu gen	
				rs4294502	rs4294502
47	VSC026	10,7	1,87	TC	CG
48	VSC027	13,7	1,83	TC	CC
49	VSC028	19,2	1,80	TC	CG
50	VSC029	11,1	1,81	TC	CG

Kết quả điện di của DNA tổng số tách chiết được từ 403 mẫu máu cho thấy các băng DNA sắc nét và sáng (Hình 3.1). Độ đậm nhạt của băng điện di phản ánh nồng độ của DNA thu được. Điện di của đầy đủ 403 mẫu DNA được cung cấp ở Phụ lục 2.



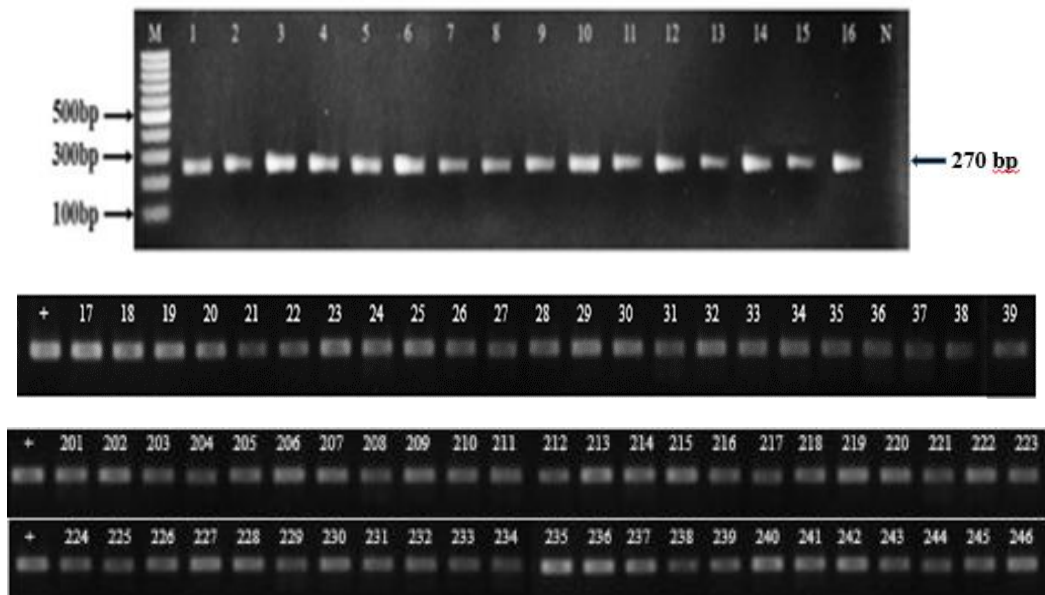
**Hình 3.1. Kết quả điện di DNA tổng số các mẫu trên gel agarose 1%**  
*01 – 60: DNA tổng số của 60 mẫu vô sinh nam ký hiệu từ VSN012 – VSN077*  
*201 – 260: DNA tổng số của 40 mẫu đối chứng ký hiệu từ VSC001 – VSC073*

Kết hợp kết quả thu được từ máy đo quang phổ và kết quả điện di trên gel agarose 1%, các mẫu DNA tổng số đều đạt chất lượng tốt. Các mẫu DNA tổng số này sẽ được tiến hành pha loãng về nồng độ tiêu chuẩn (5 ng/ $\mu$ l) để dùng làm khuôn cho các phản ứng PCR tiếp theo.

### 3.3. PHÂN TÍCH MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH *CFAP70* rs4294502 VÀ BỆNH VÔ SINH NAM

#### 3.3.1. Xác định thành phần kiểu gen đa hình *CFAP70* rs4294502

Vùng DNA chứa đa hình *CFAP70* rs4294502 được khuếch đại bằng phương pháp PCR. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1%. Kết quả điện di cho thấy đã khuếch đại thành công trình tự đặc hiệu cho tất cả các mẫu có kích thước phù hợp với tính toán lý thuyết. Một phần kết quả được trình bày trong Hình 3.2, các kết quả còn lại sẽ được trình bày đầy đủ trong Phụ lục 3.



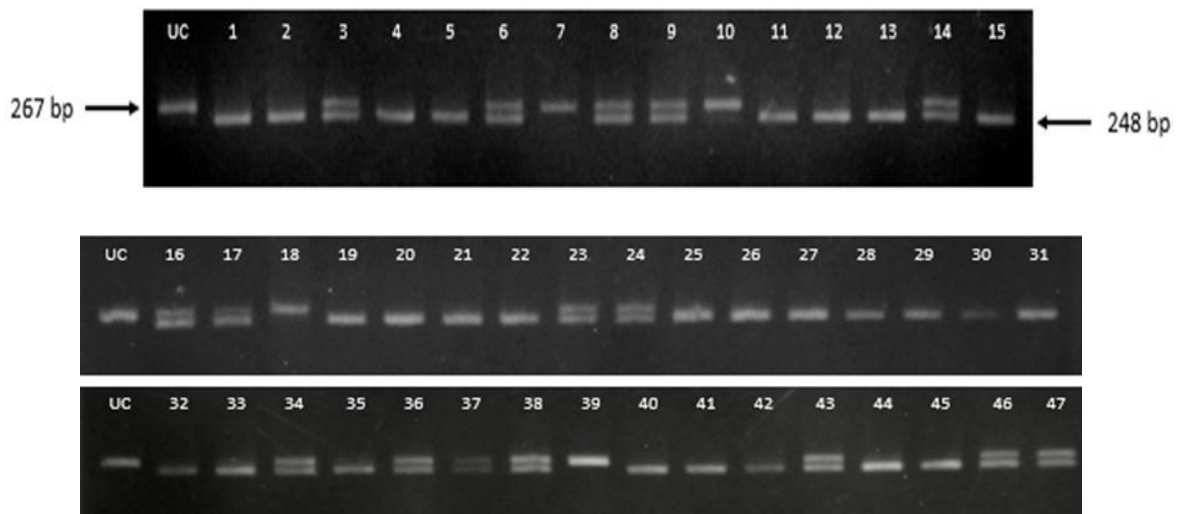
**Hình 3.2. Sản phẩm PCR khuếch đại vùng DNA chứa đa hình *CFAP70* rs4294502**

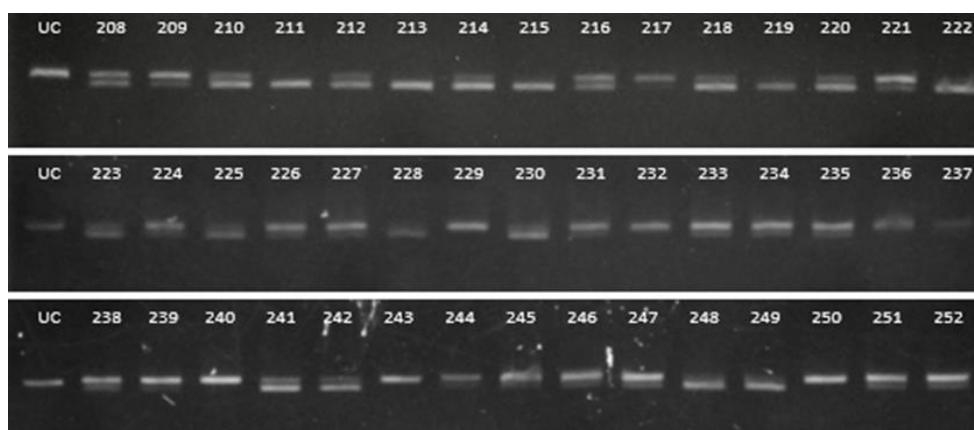
*M: Marker 1 kb, N: Đối chứng âm;*

*1 – 39: Sản phẩm PCR của mẫu vô sinh nam ký hiệu VSN012 – VSN030;*

*201 – 246: Sản phẩm PCR của mẫu đối chứng ký hiệu VSC001 – VSC057.*

Sản phẩm PCR khuếch đại đoạn gen chứa đa hình *CFAP70* rs4294502 được xử lý với enzyme *Psp1406I* ở nhiệt độ 37°C trong 5 giờ. Sau đó, sản phẩm này được điện di kiểm tra trên gel agarose 3,5%. Dựa vào sự khác biệt về số lượng và kích thước của các băng DNA (theo tính toán lý thuyết) sau khi được xử lý với enzyme *Psp1406I*, kiểu gen của các mẫu nghiên cứu có thể được xác định. Mẫu có kiểu gen CC sẽ thu được 1 băng DNA (267 bp), mẫu có kiểu gen TT điện di thu được 2 băng (248 bp và 19 bp) và mẫu có kiểu gen TC cho 3 băng DNA (267, 248 và 19 bp). Tuy nhiên, do kích thước quá nhỏ, băng DNA 19 bp sẽ không nhìn thấy trên bản gel điện di. Kết quả xác định kiểu gen và tần số allele của đa hình *CFAP70* rs4294502 ở 92 mẫu đại diện được thống kê và ghi nhận trong hình 3.3. Trong đó, có 19 mẫu có 1 băng DNA duy nhất có kích thước 267 bp tương ứng với kiểu gen CC (giếng 7, 10, 18, 39, 217, 224, 226, 227, 229, 231, 232, 236, 237, 240, 243, 244, 245, 246, 250); 36 mẫu có 2 băng DNA có kích thước lần lượt là 267 bp và 248 bp tương ứng với kiểu gen TC (giếng 3, 6, 8, 9, 14, 16, 17, 23, 24, 34, 36, 37, 38, 43, 46, 47, 208, 209, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 221, 223, 233, 234, 235, 238, 239, 241, 242, 247, 251, 252) và 37 mẫu có 1 băng DNA duy nhất có kích thước là 248 bp tương ứng với kiểu gen TT (giếng 1, 2, 4, 5, 11, 12, 13, 15, 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 40, 41, 42, 44, 45, 211, 213, 215, 219, 222, 225, 228, 230, 248, 249). Kết quả xác định kiểu đa hình *CFAP70* rs4294502 được trình bày đầy đủ trong Phụ lục 4.





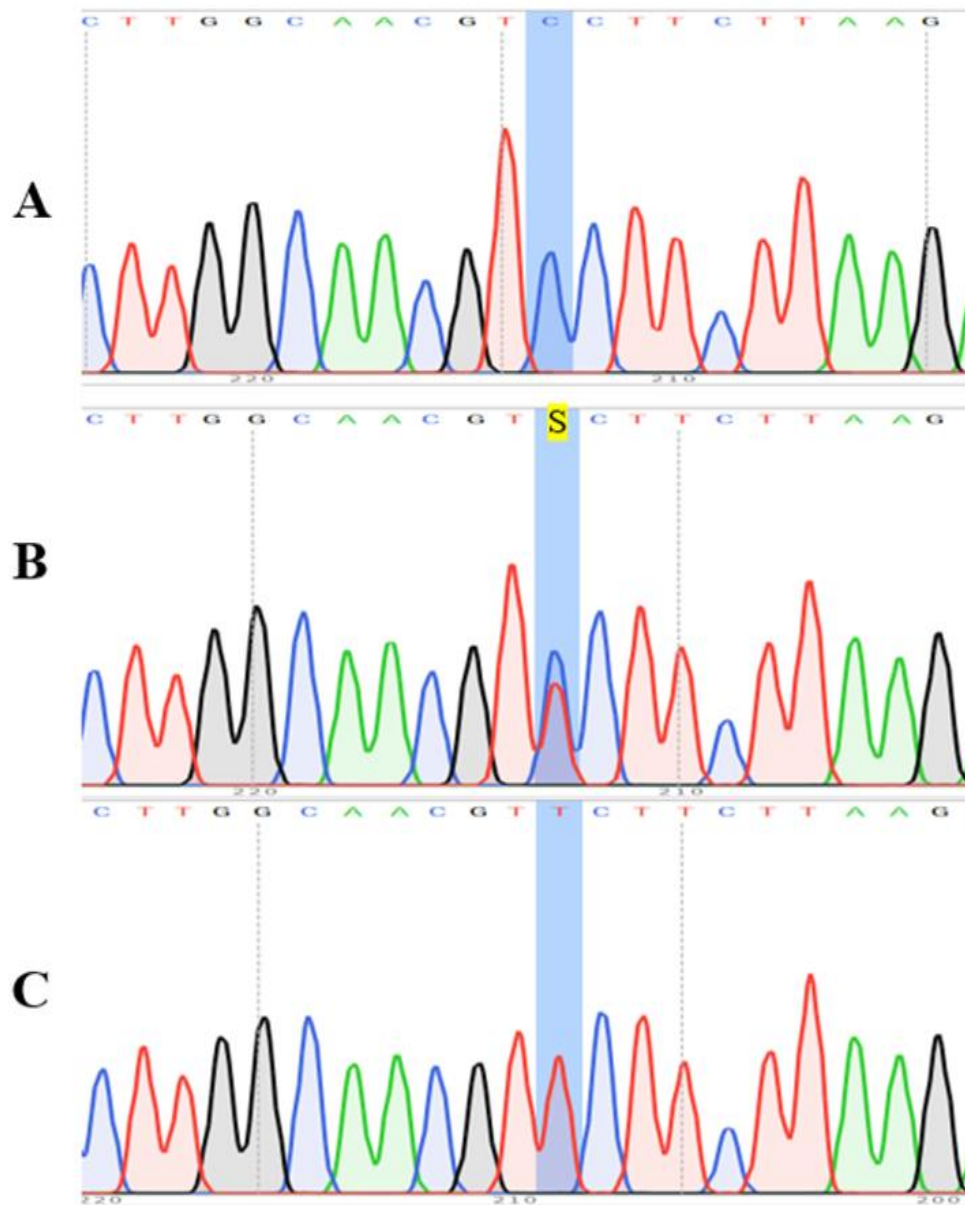
**Hình 3.3. Điện di sản phẩm PCR sau khi được xử lý với enzyme *Psp1406I***

*UC: Sản phẩm PCR không xử lý bằng enzyme *Psp1406I*;*

*1 – 47: Sản phẩm cắt bằng enzyme *Psp1406I* mẫu vô sinh nam ký hiệu VSN012 – VSN064;*

*208 – 252: Sản phẩm cắt bằng enzyme *Psp1406I* của mẫu đối chứng ký hiệu VSC009 – VSC064.*

Để đánh giá kết quả xác định kiểu gen của đa hình *CFAP70* rs4294502 bằng phương pháp RFLP – PCR, chúng tôi đã chọn ngẫu nhiên 20 mẫu trên cả hai nhóm bệnh vô sinh nam và đối chứng để kiểm tra lại bằng phương pháp Sanger. Các trình tự nucleotide được so sánh với trình tự gen *CFAP70* công bố trên GenBank với mã số NC\_000010.11 bằng phần mềm SnapGene Viewer. Kết quả giải trình tự thu được cả ba kiểu gen CC, CT và TT (Hình 3.4) và có sự phù hợp 100% của các kiểu gen nhận được từ phương pháp PCR – RFLP (Hình 3.5).

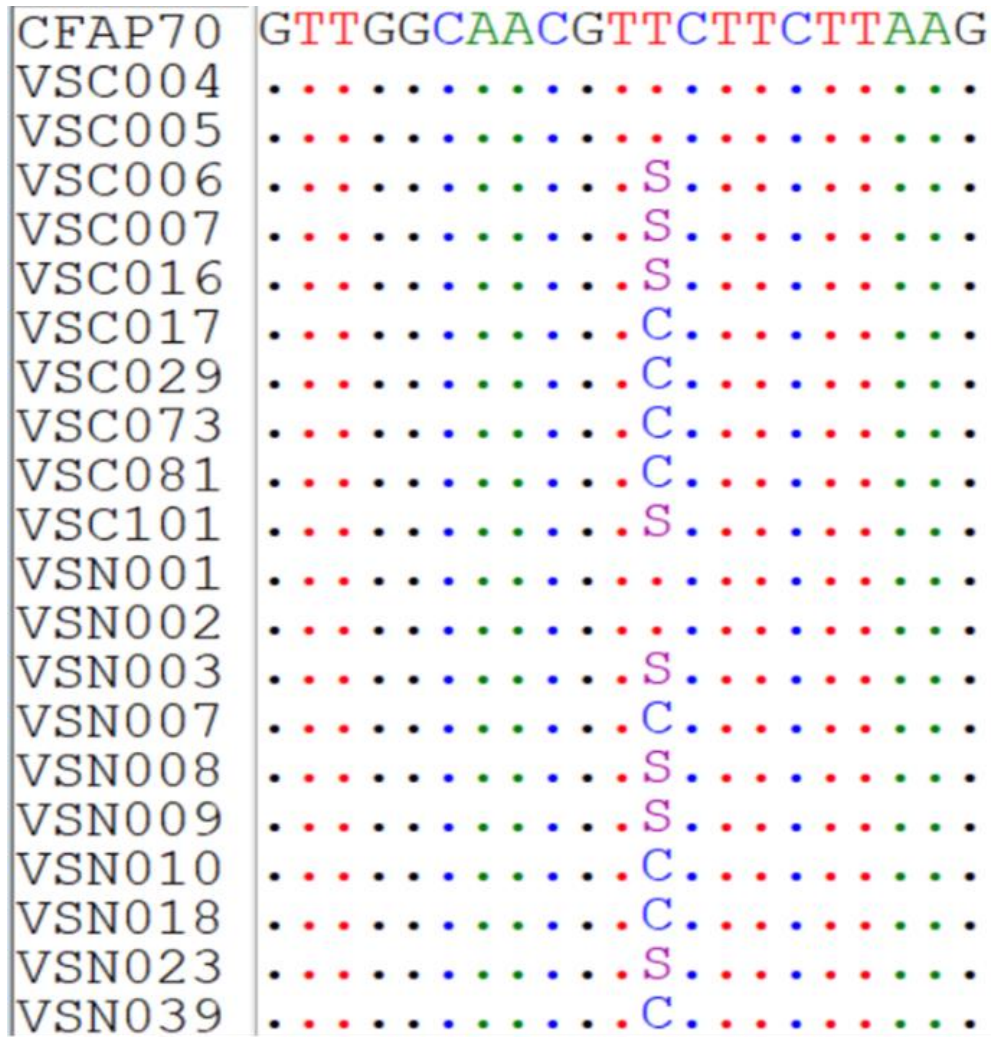


**Hình 3.4. Kết quả giải trình tự đoạn gen chứa đa hình CFAP70 rs4294502 bằng phương pháp Sanger**

*A: Kiểu gen dạng đồng hợp CC của mẫu vô sinh nam;*

*B: Kiểu gen dạng dị hợp CT của mẫu đối chứng;*

*C: Kiểu gen dạng đồng hợp TT của mẫu đối chứng.*



**Hình 3.5. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của 20 mẫu được giải trình tự bằng phương pháp Sanger với trình tự của gen *CFAP70* với mã số NC\_000010.11 (S: T/C).**

Kết quả xác định kiểu gen và tần số allele của đa hình *CFAP70* rs4294502 được thống kê và tóm tắt ở Bảng 3.3. Phân tích thống kê cho thấy sự phân bố kiểu gen của đa hình *CFAP70* rs4294502 tuân theo định luật Hardy – Weinberg (HWE) ở trên nhóm bệnh nhân vô sinh nam, nhóm đối chứng khoẻ mạnh và trên toàn bộ đối tượng nghiên cứu ( $p > 0,05$ ). Kiểu gen TT là kiểu gen phổ biến nhất trong quần thể với tỉ lệ xuất hiện ở nhóm bệnh là 53,5% và ở nhóm đối chứng là 53,7%. Kiểu gen TT, TC và CC trong quần thể có tỉ lệ lần lượt là 53,6%; 37,5% và 8,9% (Bảng 3.3). Tần số allele C trong nhóm bệnh, nhóm đối chứng và toàn bộ quần thể nghiên cứu tương ứng là 0,287; 0,266 và 0,277. Ngoài ra, kết quả phân tích cho thấy không có sự khác biệt giữa tần số allele của đa hình *CFAP70* rs4294502 giữa nhóm bệnh, nhóm đối chứng và trên toàn bộ nhóm đối tượng nghiên cứu.

**Bảng 3.3. Bảng thống kê kiểu gen và tần số allele của đa hình  
*CFAP70* rs4294502**

	Kiểu gen			Tần số allele		HWE (Giá trị p)
	TT	TC	CC	T	C	
<b>Nhóm bệnh (n=200)</b>	107 (53,5%)	71 (35,5%)	22 (11 %)	0,713	0,287	0,06
<b>Nhóm đối chứng (n=203)</b>	109 (53,7%)	80 (39,4%)	14 (6,9 %)	0,734	0,266	1,0
<b>Tổng (n=403)</b>	216 (53,6%)	151 (37,5%)	36 (8,9 %)	0,723	0,277	0,213

Ghi chú: n: Số lượng cá thể; HWE: Cân bằng Hardy –Weinberg.

### 3.3.2. Phân tích sự liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4294502 với bệnh vô sinh nam

Để phân tích mối liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4294502 với vô sinh ở nam giới, kiểm định Chi – square đã được thực hiện trên cả ba mô hình trội, lặn và cộng gộp. Giá trị *p* quan sát được ở cả 3 mô hình được thể hiện Bảng 3.4.

**Bảng 3.4. Đánh giá sự liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4294502 và bệnh vô sinh nam**

	Mô hình	Nhóm bệnh (n = 200)	Nhóm đối chứng (n=203)	OR	95% CI	Giá trị <i>p</i>
<b><i>CFAP70</i> rs4294502</b>	<b>Cộng gộp</b>					0,42
	TT	53,5%	53,7%	1,000		
	TC	35,5%	39,4%	0,904	0,595 – 1372	0,637
	CC	11%	6,9%	1,592	0,778 – 3,360	0,205
	<b>Trội</b>					
	TT+TC	89%	93,1%	1,000		
	CC	11%	6,9%	1,66	0,828 – 3,436	0,154
	<b>Lặn</b>					
	TT	53,5%	53,7%	1,000		
	TC+CC	46,5%	46,3%	0,992	0,67 – 1,469	0,969
	<b>Allele</b>					
	T	71,25%	73,4%	1,000		
	C	28,75%	26,6%	1,113	0,817 – 1,517	0,497

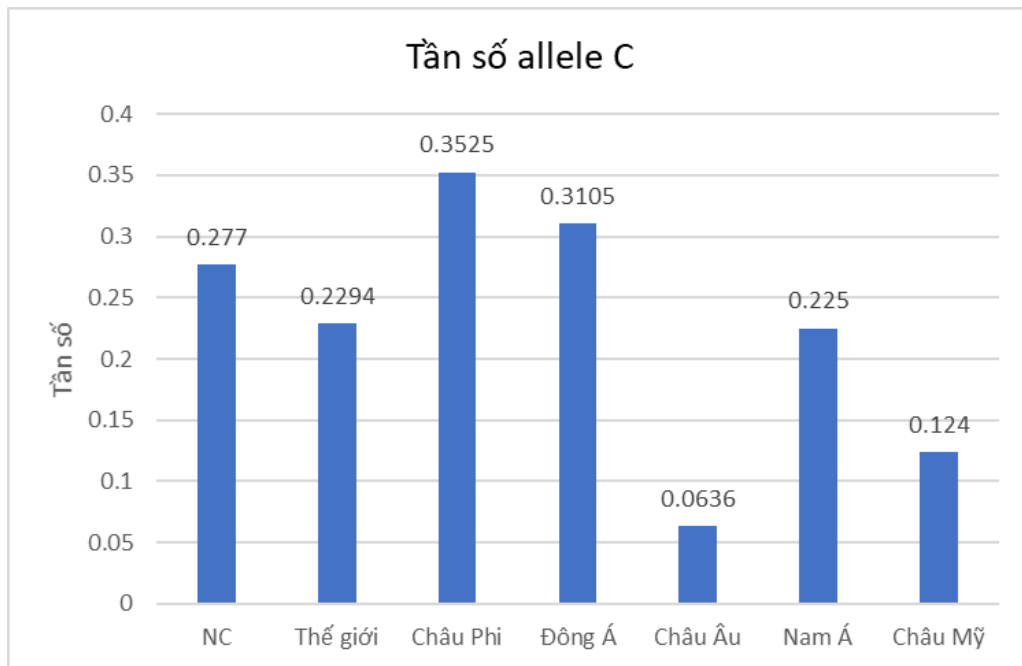
Ghi chú: n: Số lượng cá thể; OR: Tỷ lệ odds; 95% CI: Khoảng tin cậy 95%;  
Giá trị *p* được tính bằng kiểm định Chi – square.

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong cả ba mô hình là mô hình cộng gộp, mô hình trội, hay mô hình lặn có giá trị *p* ở ba mô hình này lần lượt là 0,42; 0,154; 0,969 cho thấy không có bất cứ mối liên quan nào giữa kiểu gen của đa hình này với bệnh vô sinh nam trong 403 cá thể nghiên cứu. Do đó, trong phạm vi nghiên cứu này, đa hình *CFAP70* rs4294502 xuất hiện ngẫu nhiên trong cả



quần thể vô sinh nam và quần thể người khỏe mạnh, sự xuất hiện của các SNP này không liên quan đến khả năng mắc bệnh hay làm giảm nguy cơ mắc vô sinh nam ở các nhóm quần thể nghiên cứu. Tương tự, cũng không tìm thấy sự khác biệt về tần số allele T và C giữa 2 nhóm bệnh và chứng.

Ngoài ra, chúng tôi cũng so sánh tần số allele C trong nghiên cứu này với 6 quần thể khác nhau được công bố trên Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia, Mỹ (National Center for Biotechnology – NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs429450>) (Hình 3.6). Mặc dù tần số của allele C trong quần thể nam giới Việt Nam được nghiên cứu cao hơn so với châu Mỹ và khu vực châu Âu, nhưng lại nhỏ hơn so với các nhóm dân tộc khác như châu Phi. Có thể thấy, tần số của allele C trong nghiên cứu này gần tương đồng với tần số của quần thể Đông Á, nơi có cùng khu vực địa lý với nước ta.



**Hình 3.6. Tần số allele C của đa hình *CFAP70* rs4294502 ở quần thể người Việt Nam trong nghiên cứu và các quần thể khác**

### 3.4. ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH *CFAP70* rs4471347 VÀ BỆNH VÔ SINH NAM

#### 3.4.1. Xác định thành phần kiểu gen đa hình *CFAP70* rs4471347

Vùng DNA chứa đa hình *CFAP70* rs4471347 được khuếch đại bằng phương pháp PCR. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1%. Kết quả điện di cho thấy đã khuếch đại thành công trình tự đặc hiệu cho tất cả các mẫu có kích thước phù hợp với tính toán lý thuyết. Một phần

kết quả được trình bày trong Hình 3.7, các kết quả còn lại sẽ được trình bày đầy đủ trong Phụ lục 5.



**Hình 3.7. Sản phẩm PCR khuếch đại vùng DNA chứa *CFAP70* rs4471347**

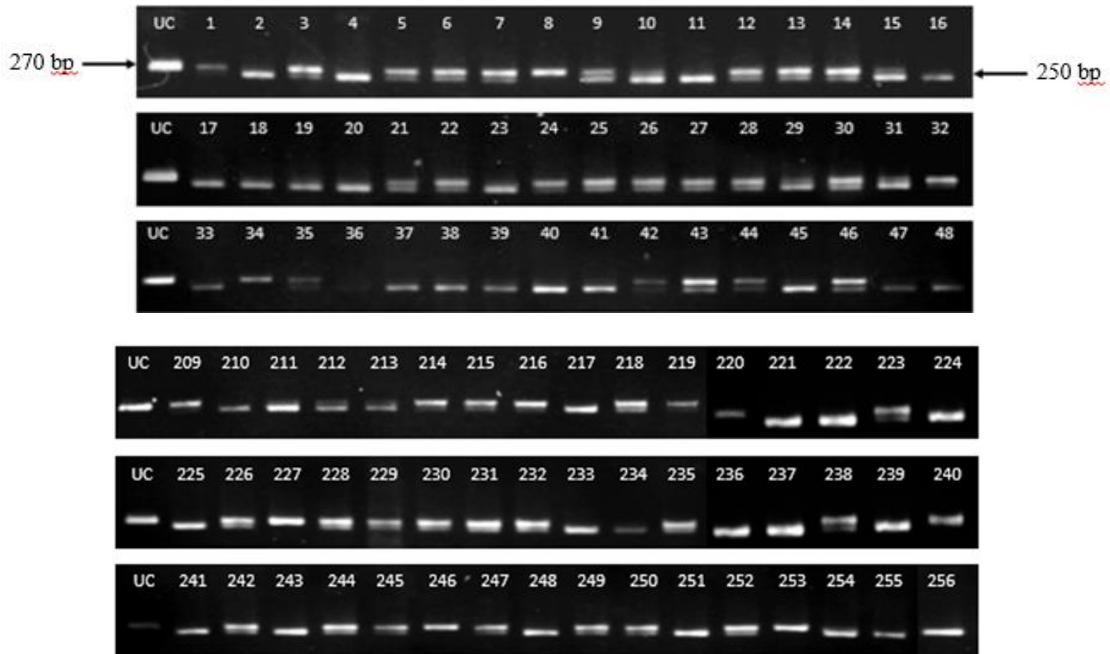
*M: Marker 1 kb;*

*1 – 47: Sản phẩm PCR của mẫu vô sinh nam ký hiệu VSN012 – VSN064;*

*209 – 255: Sản phẩm PCR của mẫu đối chứng ký hiệu VSC010 – VSC067.*

Sản phẩm PCR nhân đoạn gen chứa đa hình *CFAP70* rs4471347 của 403 mẫu nghiên cứu sau khi cắt bằng enzyme *BsuRI* ở nhiệt độ 37°C trong 5 giờ được điện di kiểm tra trên gel agarose 3,5%. Theo tính toán lý thuyết, kết quả điện di của sản phẩm PCR có kiểu gen GG sau khi xử lý với enzyme giới hạn sẽ thu được 1 băng DNA có kích thước 272 bp. Kết quả điện di của mẫu có kiểu gen CC xuất hiện 2 băng DNA có kích thước lần lượt là 251 bp và 21 bp. Mẫu có kiểu gen CG cho 3 băng DNA có kích thước là 272 bp, 251 bp và 21 bp. Tuy nhiên, băng DNA kích thước 22 bp sẽ không quan sát thấy trên bản gel điện di do kích thước quá nhỏ. Kết quả điện di sản phẩm cắt của 96 mẫu đại diện cho thấy có 14 mẫu có 1 băng DNA duy nhất có kích thước 272 bp tương ứng với kiểu gen GG (giếng 1, 8, 24, 32, 34, 209, 214, 215, 216, 219, 220, 227, 230, 231, 232, 235, 240, 242, 245, 246, 247, 249, 250, 253); có 31 mẫu có 2 băng DNA có kích thước 272 bp và 251 bp tương ứng với kiểu gen CG (giếng 3, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 30, 35, 42, 43, 44, 46, 218, 223, 226, 228, 229, 238, 244, 252) và 37 mẫu có 1 băng DNA có kích thước lần 251 bp tương ứng với kiểu gen CC (giếng 2, 4, 11, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 29, 31, 33, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 45, 47, 48, 210, 211, 212, 213, 217, 221,

222, 224, 225, 233, 234, 236, 237, 239, 241, 243, 248, 251, 254, 255, 256) (Hình 3.8). Kết quả điện di xác định kiểu gen của đa hình *CFAP70* rs4471347 được trình bày đầy đủ trong Phụ lục 6.



**Hình 3.8.** Điện di sản phẩm PCR sau khi được xử lý với enzyme *Bsu*RI

*UC*: Sản phẩm PCR không xử lý bằng enzyme *Bsu*RI;

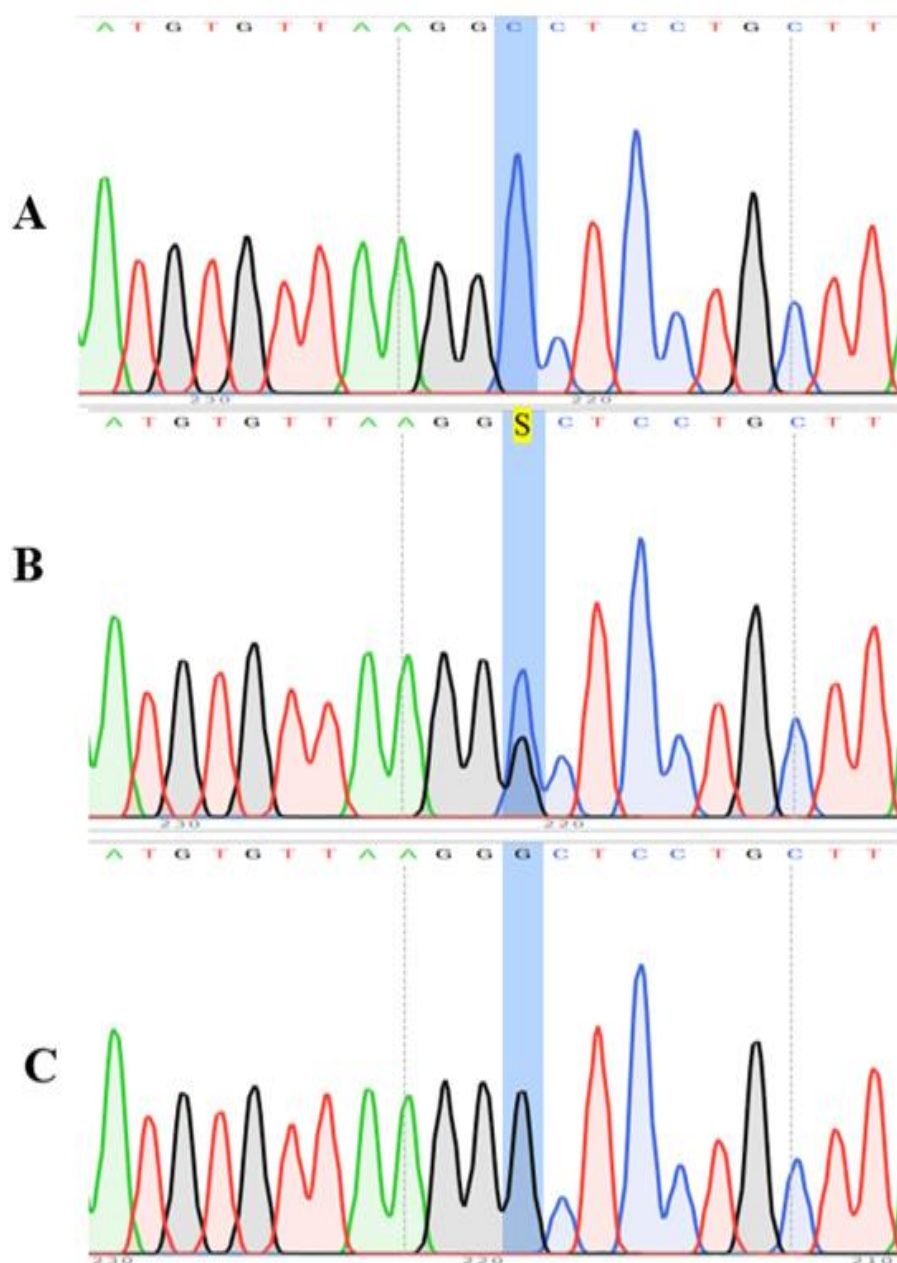
1 – 48: Sản phẩm cắt bằng RE *Bsu*RI mẫu vô sinh nam ký hiệu

VSN001 – VSN065;

209 – 256: Sản phẩm cắt bằng RE *Bsu*RI mẫu đối chứng ký hiệu

VSC010 – VSC069.

Độ chính xác và tin cậy của phương pháp PCR – RFLP được đánh giá bằng cách xác định trình tự 20 mẫu trong nghiên cứu đa hình *CFAP70* rs4471347 bằng phương pháp giải trình tự Sanger. Các trình tự nucleotide được so sánh với trình tự gen *CFAP70* công bố trên GenBank với mã số NC\_000010.11 bằng phần mềm SnapGene Viewer. Kết quả giải trình tự thu được cả ba kiểu gen CC, CG và GG (Hình 3.9) và có sự phù hợp 100% của các kiểu gen nhận được từ phương pháp PCR – RFLP (Hình 3.10).



**Hình 3.9. Kết quả giải trình tự đoạn gen chứa đa hình CFAP70 rs4471347 bằng phương pháp Sanger**

*A: Kiểu gen dạng đồng hợp CC của mẫu đối chứng;*

*B: Kiểu gen dạng dị hợp CG của mẫu đối chứng;*

*C: Kiểu gen dạng đồng hợp GG của mẫu vô sinh nam.*

CFAP70	A	T	G	T	G	T	T	A	A	G	G	C	C	T	C	C	T	G	C	T	T
VSC001	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
VSC002	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
VSC009	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSC014	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSC015	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSC016	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSC083	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSC086	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSC116	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSC157	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSN001	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSN002	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
VSN004	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
VSN005	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSN006	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSN007	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSN008	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSN013	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	S
VSN034	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
VSN072	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G

**Hình 3.10. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của 20 mẫu được giải trình tự bằng phương pháp Sanger với trình tự của gen *CFAP70* mã số NC\_000010.11 (S: G/C).**

Kết quả xác định kiểu gen và tần số allele của đa hình *CFAP70* rs4471347 ở 403 mẫu được thống kê và ghi nhận bên dưới (Bảng 3.5). Tỷ lệ kiểu gen (CC/CG/GG) quan sát được trên nhóm bệnh (48,5%/ 40,5%/ 11%) không sai lệch nhiều so với nhóm chứng (54,2%/ 39,8%/ 6%) và tỷ lệ này cũng không thay đổi nhiều trên toàn bộ nhóm đối tượng nghiên cứu (51%/ 40%/ 9%). Khi so sánh tần số allele G trong nhóm bệnh (0,312), nhóm đối chứng (0,259) và toàn bộ quần thể nghiên cứu (0,285) chúng tôi không nhận thấy sự khác biệt đáng kể nào. Phân tích thống kê cho thấy, sự phân bố kiểu gen của đa hình *CFAP70* rs4471347 (C > G) tuân theo định luật cân bằng Hardy – Weinberg trên cả nhóm bệnh, nhóm chứng và trên toàn bộ nhóm đối tượng nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.5. Bảng thống kê kiểu gen và tần số allele của đa hình *CFAP70* rs1471347**

	Kiểu gen			Tần số allele		HWE (Giá trị p)
	CC	CG	GG	C	G	
<b>Nhóm bệnh (n=200)</b>	97 (48,5%)	81 (40,5 %)	22 (11 %)	0,688	0,312	0,413
<b>Nhóm đối chứng (n=203)</b>	110 (54,2 %)	81 (39,8 %)	12 (6 %)	0,741	0,259	0,714
<b>Tổng (n=403)</b>	207 (51 %)	162 (40%)	34 (9%)	0,715	0,285	0,807

Ghi chú: n: Số lượng cá thể; HWE: Cân bằng Hardy – Weinberg

### 3.4.2. Đánh giá mối liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh nam

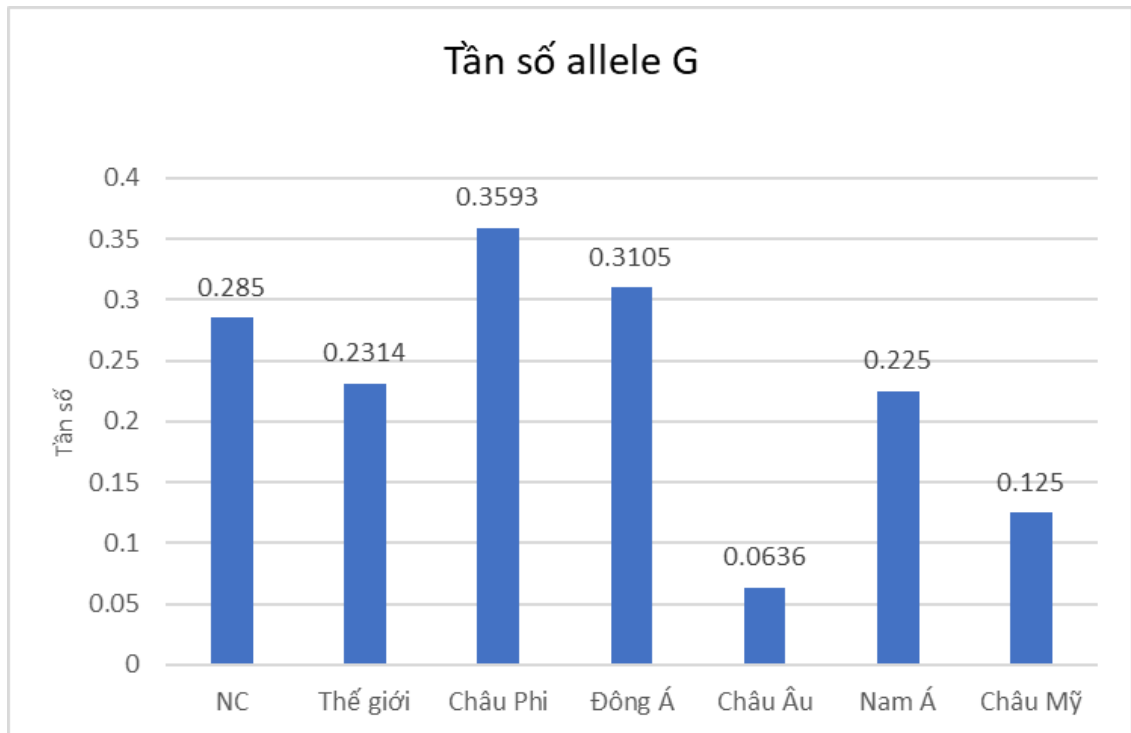
Để đánh giá mối liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh ở nam giới, kiểm định Chi – square đã được thực hiện trên cả ba mô hình là trội, lặn và cộng gộp. Giá trị  $p$  quan sát được ở cả 3 mô hình được thể hiện trong Bảng 3.6. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở cả ba mô hình là mô hình cộng gộp, mô hình trội, hay mô hình lặn có giá trị  $p$  value ở ba mô hình này lần lượt là 0,903; 0,069; 0,256 đều lớn hơn 0,05. Do đó, không có bất cứ mối liên quan nào giữa kiểu gen của đa hình *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh nam trong 403 cá thể nghiên cứu. Có thể kết luận rằng, trong phạm vi nghiên cứu này, đa hình này xuất hiện ngẫu nhiên trong cả quần thể vô sinh nam và quần thể người khỏe mạnh, sự xuất hiện của các SNP này không liên quan đến khả năng mắc bệnh hay có giảm nguy cơ mắc vô sinh nam ở các nhóm quần thể nghiên cứu. Tương tự, cũng không tìm thấy sự khác biệt về tần số allele C và G giữa hai nhóm bệnh và nhóm đối chứng.

**Bảng 3.6. Đánh giá liên quan giữa đa hình *CFAP70* rs4471347 và bệnh vô sinh nam**

	Mô hình	Nhóm bệnh (n = 200)	Nhóm đối chứng (n=203)	OR	95% CI	Giá trị <i>p</i>
<b><i>CFAP70</i> rs4471347</b>	<b>Cộng gộp</b>					0,903
	CC	48,5%	54,2%	1,000		
	CG	40,5%	39,9%	1,134	0,75 – 1,713	0,551
	GG	11%	5,9%	2,062	0,979 – 4,539	0,057
	<b>Trội</b>					
	CC+CG	89%	94,1%	1,000		
	GG	11%	5,9%	1,952	0,949 – 4,211	0,069
	<b>Lặn</b>					
	CC	48,5%	54,2%	1,000		
	CG+GG	51,5%	45,8%	0,797	0,538 – 1,179	0,256
	<b>Allele</b>					
	C	68,75%	74,14%	1,000		
	G	31,25%	25,86%	1,302	0,959 – 1,772	0,091

Ghi chú: n: Số lượng cá thể; OR: Tỷ lệ odds; 95% CI: Khoảng tin cậy 95%; Giá trị *p* được tính bằng kiểm định Chi – square.

Ngoài ra, chúng tôi cũng so sánh tần số allele G của đa hình *CFAP70* rs4471347 trong nghiên cứu này với 6 quần thể khác nhau được công bố trên Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia, Mỹ (National Center for Biotechnology – NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4471347>) (Hình 3.11). Có thể thấy, tần số của allele G trong quần thể nam giới Việt Nam được nghiên cứu gần với tần số này ở quần thể người Đông Á, lớn hơn so với các nhóm dân tộc khác như khu vực châu Mỹ, châu Âu. Như vậy, tần số của allele G trong nghiên cứu này tương đồng với tần số của quần thể Đông Á, nơi có cùng khu vực địa lý với nước ta.



**Hình 3.11. Tần số allele G của đa hình *CFAP70* rs4471347 ở quần thể người Việt Nam trong nghiên cứu và các quần thể khác**

### **3.5. ĐÁNH GIÁ SỰ LIÊN QUAN CÁC HAPLOTYPE TRÊN GEN *CFAP70* VÀ BỆNH VÔ SINH NAM**

Các đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 được kiểm tra mối liên kết di truyền (linkage disequilibrium) trên cổng thông tin dữ liệu <https://ldlink.nih.gov/> cho thấy sự liên kết di truyền cao giữa các đa hình trên quần thể người Kinh ở Việt Nam với giá trị  $D' = 1$ . Từ đó, mối liên quan haplotype kiểu gen giữa các đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh nam được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm SHEsis (Bảng 3.7). Đây là một phần mềm hiệu quả để tính tần số haplotype trong quần thể và sự khác biệt về tần số haplotype giữa hai nhóm bệnh và nhóm đối chứng đã được sử dụng để phân tích trong nhiều nghiên cứu bệnh – chứng khác. Kết quả từ phần mềm này cho thấy, tần số của các haplotype của hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 cho thấy không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh và nhóm đối chứng với giá trị  $p$  lớn hơn mức ý nghĩa 0,05 ( $p = 0,046$ , OR = 2,547, 95% CI = 0,982 – 6,602). Kết quả này cho thấy, các haplotype không có khả năng làm tăng nguy cơ vô sinh nam ở quần thể nghiên cứu.



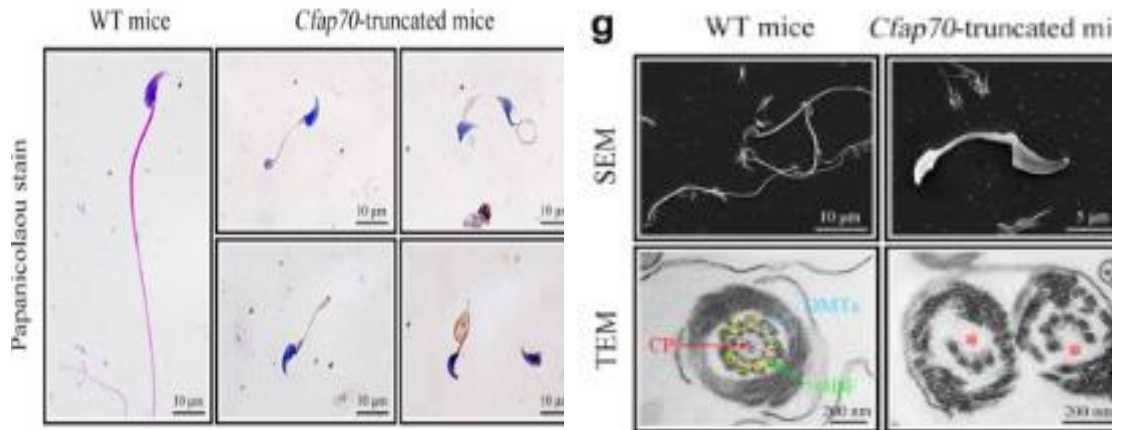
**Bảng 3.7. Đánh giá liên quan haplotype các đa hình trên gen *CFAP70* và vô sinh nam**

Haplotype	Tần số		Giá trị <i>p</i>	OR	95% CI
	Nhóm bệnh %	Nhóm đối chứng %			
Haplotype rs4294502 và rs4471347					
CC	2,9%	4,6%	0,199	0,616	0,292 – 1,298
CT	65,9%	69,5%	0,266	0,846	0,629 – 1,136
GT	5,4%	3,9%	0,306	1,413	0,727 – 2,748
GC	25,9%	22,0%	0,197	1,238	0,895 – 1,712
<i>(UA: unattainable, các cặp haplotype có tần số thấp hơn ngưỡng tần số là 3% sẽ không được phân tích)</i>					

### 3.6. BÀN LUẬN

Khả năng di chuyển của tinh trùng là yếu tố quan trọng quyết định việc thụ tinh thành công. Điều này cho thấy tầm quan trọng đáng kể của nghiên cứu về quá trình phát triển của tinh trùng. Các nghiên cứu này giúp hiểu rõ hơn về lý do và cơ chế gây suy nhược tinh trùng, bao gồm việc giảm khả năng di chuyển của chúng và các bất thường về hình thái tinh trùng. MMAF (MIM: 617576), một phân nhóm của astheno-teratozoospermia (OAT), có đặc điểm là đuôi ngắn, cuộn, không có và/hoặc không đều [55]. Một nghiên cứu trước đây đã xác định hai cá thể MMAF không liên quan với nhau có số lượng tinh trùng rất thấp mang hai biến thể đồng hợp tử (c.178 T > A/p.F60I và c.1723-1G > T) trong gen *CFAP70* bằng phương pháp giải trình tự thông lượng cao, kết quả chỉ ra rằng *CFAP70* có thể là một gen mới liên quan đến MMAF [67]. Tuy nhiên, vai trò của gen *CFAP70* trong quá trình phát triển tinh trùng và cơ chế gây bệnh của hai biến thể trên không được thực hiện. Vì vậy, các biến thể trên *CFAP70* chưa thể được kết luận là nguyên nhân gây vô sinh nam do thiếu mô hình động vật thử nghiệm và chỉ một số bệnh nhân được xác định có biến thể gây bệnh vô sinh nam trên gen *CFAP70*. Năm 2023, một nghiên cứu của Hui-Juan Jin và

cộng sự đã cung cấp bằng chứng trên mô hình động vật để chứng minh gen *CFAP70* thực sự là một gen liên quan đến OAT (thiếu nhược quái tinh). Nghiên cứu thực hiện trên mô hình chuột đực bị knockout gen *CFAP70* và kết quả cho thấy chuột đực bị bất hoạt gen *CFAP70* mất khả năng sinh sản với kiểu hình OAT. Ngoài ra, phân tích hình ảnh bằng kính hiển vi điện tử TEM cho thấy sự phá vỡ cấu trúc sợi trục ở lông mao của chuột [89].



**Hình 3.12. Hình thái tinh trùng ở chuột WT và chuột bị knockout gen *CFAP70* được quan sát bằng phương pháp nhuộm Papanicolaou (bên trái); Hình ảnh SEM và TEM đại diện của tinh trùng từ những con chuột bị knockout gen *CFAP70* và những con chuột WT (bên phải) [89].**

Thêm vào đó, nghiên cứu của Hui-Juan Jin và cộng sự còn mô tả thêm một biến thể trên gen *CFAP70* (c.C2962 > T/p.R988X) làm cho protein *CFAP70* bị cắt ngắn (thiếu 5 – 8 lần lặp tetratricopeptide – TPR) ở một bệnh nhân OAT người Trung Quốc. Điều quan trọng là những con chuột bị knockout gen *CFAP70* (cũng thiếu TPR 5 – 8) cũng có kiểu hình OAT của bệnh nhân này, từ đó, có thể xác nhận khả năng gây bệnh của biến thể c.C2962 > T/p.R988X này trên gen *CFAP70* và tầm quan trọng của trình tự lặp lại TPR đối với sự biểu hiện chức năng của gen *CFAP70* [89]. Do đó, các nghiên cứu thêm về các biến thể trên gen *CFAP70* trong một nhóm lớn nam giới vô sinh sẽ rất hữu ích để giúp hiểu thêm vai trò cũng như ảnh hưởng của các biến thể trên gen *CFAP70* đối với bệnh vô sinh nam.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện đánh giá mối liên quan giữa hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh nam. Đa hình *CFAP70* rs4294502 là một biến đổi sai nghĩa làm thay đổi nucleotide T thành C, dẫn tới sự thay thế của một amino axit thơm (Asparagin) bởi một

amino axit phân cực (Tyrosine), do đó có khả năng ảnh hưởng tới chức năng của protein. Trong khi đó, đa hình rs4471347 là đa hình nằm ở vùng intron nên chỉ gây nên sự thay thế nucleotide C thành G. Mặc dù không trực tiếp ảnh hưởng đến cấu trúc của protein nhưng các biến đổi trong vùng intron có thể ảnh hưởng tới quá trình cắt nối RNA, tạo ra các phân tử protein có chiều dài khác nhau và có thể ảnh hưởng tới chức năng của chúng [90]. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa hai đa hình này với bệnh vô sinh nam tại quần thể Việt Nam. Có thể thấy, vô sinh nam là một hội chứng vô cùng phức tạp, bị tác động bởi nhiều yếu tố, mà trong đó vẫn còn nhiều trường hợp chưa phát hiện được nguyên nhân gây bệnh cần tiếp tục được nghiên cứu. Chính vì vậy, nghiên cứu này của chúng tôi sẽ cung cấp thêm thông tin di truyền về tương tác giữa gen *CFAP70* với vô sinh nam ở quần thể người Việt Nam, góp phần tìm hiểu cơ chế gây bệnh vô sinh trong tương lai.

## **CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

### **4.1. KẾT LUẬN**

Qua nghiên cứu về sự liên quan giữa hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 với vô sinh nam, đã thu được một số kết luận như sau:

1. Thu thập và đánh giá sự khác biệt thông tin lâm sàng của hai nhóm bệnh (200 bệnh nhân mắc bệnh vô sinh nam) và nhóm đối chứng (203 nam giới khỏe mạnh có ít nhất 1 con theo cách tự nhiên).

2. Thu thập mẫu máu của 403 mẫu nghiên cứu và tách chiết được 403 DNA tổng số từ mẫu máu với nồng độ cao và mật độ quang OD đo ở tỷ lệ A260/A280 khoảng 1,7 – 2,0.

3. Phân bố kiểu gen/tần số allele của hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 đều tuân theo định luật Hardy-Weinberg, với tần số allele là:

- Đa hình *CFAP70* rs4294502 có tần số allele T và C trong quần thể lần lượt là 0,723 và 0,277. Kiểu gen TT, TC và CC trong quần thể có tỷ lệ lần lượt là 0,536; 0,375 và 0,089.

- Đa hình *CFAP70* rs4471347 có tần số allele C và G trong quần thể lần lượt là 0,715 và 0,285. Kiểu gen CC, CG và GG trong quần thể có tỷ lệ lần lượt là 0,51; 0,4 và 0,09.

4. Kết quả phân tích mối liên quan giữa hai đa hình *CFAP70* rs4294502 và *CFAP70* rs4471347 với bệnh vô sinh nam trên 403 đối tượng cho thấy không có mối liên quan nào giữa các đa hình này với vô sinh nam.

### **4.2. KIẾN NGHỊ**

– Kết quả nghiên cứu luận văn này sẽ làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về mối liên quan giữa đa hình gen và vô sinh nam.

– Tiếp tục nghiên cứu các đa hình khác của các gen tiềm năng có liên quan đến bệnh vô sinh nam để có làm cơ sở cho quá trình chẩn đoán sàng lọc vô sinh ở nam giới.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ**

1. Thuy Duong Nguyen, Thi Khanh Ly Nguyen, Thi Thu Ha Duong. (2022). Association of CFAP65 rs56411706 with male infertility in 393 Vietnamese individuals. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 64(2), 65-68. [https://doi.org/10.31276/VJSTE.64\(2\).65-68](https://doi.org/10.31276/VJSTE.64(2).65-68)

## DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization (WHO), 2023, Infertility Prevalence Estimates, 1990–2021, *Global report*.
2. Ombelet W., 2020, WHO fact sheet on infertility gives hope to millions of infertile couples worldwide, *Facts Views Vis Obgyn*, 12(4): p. 249-251.
3. Krausz C., 2011, Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis, *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 25(2): p. 271-85.
4. Cox C.M., et al., 2022, Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis, *Hum Reprod Open*, 2022(4): p. hoac051.
5. Mascarenhas M.N., et al., 2012, National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys, *PLoS Med*, 9(12): pp. e1001356.
6. Agarwal A., et al., 2015, A unique view on male infertility around the globe, *Reprod Biol Endocrinol*, 13: p. 37.
7. Vũ Nhật Khang, H.M.T., 2017, Nội tiết sinh sản và vô sinh nam, *Tạp Chí Phụ sản*.
8. Barratt C.L.R., et al., 2017, The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance-challenges and future research opportunities, *Hum Reprod Update*, 23(6): p. 660-680.
9. Guzick D.S., et al., 2001, Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men, *N Engl J Med*, 345(19): p. 1388-93.
10. Schlegel P.N., et al., 2021, Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I, *Fertil Steril*, 115(1): p. 54-61.
11. Boitrelle F., et al., 2021, The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis, *Life (Basel)*, 11(12).
12. Trang.Đ.T.H., 2022, Cập nhật kết quả áp dụng hướng dẫn xét nghiệm và xử lý tinh dịch đồ người theo WHO 2021, *Báo cáo hội nghị Hội Nội tiết sinh sản và Vô sinh TPHCM - HOSREM 2022*.
13. Mehta A., and Sigman M., 2015, Management of the dry ejaculate: a systematic review of aspermia and retrograde ejaculation, *Fertil Steril*, 104(5): p. 1074-81.

14. Sharma M., and Leslie S.W., Azoospermia, in StatPearls. 2023: Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Stephen Leslie declares no relevant financial relationships with ineligible companies.
15. Moon M.H., et al., 2006, Scrotal US for evaluation of infertile men with azoospermia, *Radiology*, 239(1): p. 168-73.
16. Jarvi K., et al., 2010, CUA Guideline: The workup of azoospermic males, *Can Urol Assoc J*, 4(3): p. 163-7.
17. Wosnitzer M., Goldstein M., and Hardy M.P., 2014, Review of Azoospermia, *Spermatogenesis*, 4: p. e28218.
18. Choy J.T., Amory J.K., 2020, Nonsurgical Management of Oligozoospermia, *J Clin Endocrinol Metab*, 105(12):e4194–207. doi: 10.1210/clinem/dgaa390.
19. Padubidri V.G., and Daftary S.N., 2014, Shaw's Textbook of Gynecology E-book, *Elsevier health sciences*.
20. Hou Y., He Y., Wang J., Zhou Y., Ma B., Li X., Shi L., Zhang Q., 2023, Comprehensive metabolomics profiling of seminal plasma in asthenozoospermia caused by different etiologies, *Clin Chim Acta*, 548:117530.
21. Dias T.R., Alves M.G., Silva B.M., Oliveira P.F., 2014, Sperm glucose transport and metabolism in diabetic individuals, *Mol Cell Endocrinol*, 396(1-2):37-45.
22. Fattahi M, Maghsudlu M, Hasan Sheikhha M. Is sperm telomere length altered in teratozoospermia specimens? A case-control study. *Int J Reprod Biomed*. 2023. 21(3):229-236.
23. Edition F. Examination and processing of human semen, Geneva: World Health Organization Press, 2010.
24. Agarwal A., Tvrda E., Sharma R., 2014, Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility, *Reprod Biol Endocrinol*, 12:45.
25. Fattahi M., Maghsudlu M., Hasan Sheikhha M., 2023, Is sperm telomere length altered in teratozoospermia specimens? A case-control study, *Int J Reprod Biomed*, 21(3):229-236.
26. Imamovic Kumalic S., Pinter B., 2014, Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic

oligoasthenoteratozoospermia, *Biomed Res Int*, 2014:426951.

27. Teitelbaum D.T., 1999, The toxicology of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP): a brief review, *Int J Occup Environ Health*, 5(2):122-6.

28. Whorton D., Milby T.H., Krauss R.M., Stubbs H.A., Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J Occup Med*. 1979. 21(3):161-6.

29. Mnif W., Hassine A.I., Bouaziz A., Bartegi A., Thomas O., Roig B., 2011, Effect of endocrine disruptor pesticides: a review, *Int J Environ Res Public Health*, 8(6):2265-303.

30. Min K.B., Min J.Y., 2017, Exposure to environmental noise and risk for male infertility: A population-based cohort study, *Environ Pollut*, 226:118-124.

31. Zhang H.T., Zhang Z., Cao J., Tang W.H., Zhang H.L., Hong K., Lin H.C., Wu H., Chen Q., Jiang H., 2019, Ambient ozone pollution is associated with decreased semen quality: longitudinal analysis of 8945 semen samples from 2015 to 2018 and during pollution-control period in Beijing, China, *Asian J Androl*, 21(5):501-507.

32. Nassan F.L., Jensen T.K., Priskorn L., Halldorsson T.I., Chavarro J.E., Jørgensen N., 2020, Association of Dietary Patterns With Testicular Function in Young Danish Men, *JAMA Netw Open*, 3(2):e1921610.

33. Kovac J.R., Khanna A., Lipshultz L.I., 2015, The effects of cigarette smoking on male fertility. *Postgrad Med*, 127(3):338-41.

34. Eini F., Kutenaei M.A., Zareei F., et al., 2021, Effect of bacterial infection on sperm quality and DNA fragmentation in subfertile men with Leukocytospermia, *BMC Molecular Cell Biology*, 22,(1), pp. 1-10.

35. Leslie S.W., Soon-Sutton T.L., Khan M.A.B., 2023, Male Infertility, *StatPearls* [Internet].

36. Ardestani Zadeh A., Arab D., 2021, COVID-19 and male reproductive system: pathogenic features and possible mechanisms, *J Mol Histol*, 52(5):869-878.

37. Yoshida A., Miura K., Shirai M., 1997, Cytogenetic survey of 1,007 infertile males, *Urol Int*, 58(3):166-76.

38. Dada R., Kumar R., Shamsi M.B., Tanwar M., Pathak D., Venkatesh



S., et al., 2008, Genetic screening in couples experiencing recurrent assisted procreation failure, *Ind J Biochem Biophys*, 45:116–20.

39. Dada R., Kumar R., Shamsi M.B., Kumar R., Kucheria K., Sharma R.K., et al., 2007, Higher frequency of Yq microdeletions in sperm DNA as compared to DNA isolated from blood, *Asian J Androl*, 9:720–2.

40. Shamsi M.B., Kumar K., Dada R., 2011, Genetic and epigenetic factors: Role in male infertility, *Indian J Urol*, 27(1):110-20.

41. Frühmesser A., Kotzot D., 2011, Chromosomal variants in klinefelter syndrome, *Sex Dev*, 5:109-123.

42. Hook E.B., Hamerton J.L., 1977, The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborn studies – differences between studies – results by sex and severity of phenotypic involvement In: Porter IH, Hook EB, eds. *Population Cytogenetics*. New York, NY: *National Academy Press*, 63-79.

43. Crawford D., Dearmun A., 2017, Klinefelter syndrome, *Nurs Child Young People*, 29:19.

44. Morris J.K., Alberman E., Scott C., Jacobs P., 2008, Is the prevalence of Klinefelter syndrome increasing?, *Eur J Hum Genet*, 16:163-170.

45. Nielsen J., Wohler M., 1991, Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Aarhus, Denmark, *Hum Genet*, 87:81-83.

46. Van Assche E., Bonduelle M., Tournaye H., et al., 1996, Cytogenetics of infertile men, *Hum Reprod*, 11:1-26; discussion 25-6.

47. Frydman N., Romana S., Le Lorc'h M., Vekemans M., Frydman R., Tachdjian G., 2001, Assisting reproduction of infertile men carrying a Robertsonian translocation, *Hum Reprod*, 16:2274-2277.

48. Therman E., Susman B., Denniston C., 1989, The nonrandom participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations, *Ann Hum Genet*, 53:49-65.

49. Tharapel A.T., Tharapel S.A., Bannerman R.M., 1985, Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review, *Br J Obstet Gynaecol*, 92:899-914.

50. Pylyp L.Y., Zukin V.D., Bilko N.M., 2013, Sự phân ly nhiễm sắc thể trong tinh trùng của người mang chuyển đoạn Robertsonian, *J Reprod*

*Genet*, 30 :1141-1145.

51. Tiepolo L., Zuffardi O., 1976, Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm, *Hum Genet*, 34:119–24.

52. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S., Henegariu O., Hirschmann P., Kiesewetter F., et al., 1996, Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11, *Hum Mol Genet*, 5:933–43.

53. Sharma N., Singh M., Acharya N., Singh S.K., Thapa B.R., Kaur G., et al., 2008, Implication of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in infertile family members of Indian CF patients, *Biochem Genet*, 46:847–56.

54. Huang T., et al., 2020, Absence of murine *CFAP61* causes male infertility due to multiple morphological abnormalities of the flagella, *Sci Bull (Beijing)*, 65(10): p. 854-864.

55. Ben Khelifa M., et al., 2014, Mutations in *DNAH1*, which encodes an inner arm heavy chain dynein, lead to male infertility from multiple morphological abnormalities of the sperm flagella, *Am J Hum Genet*, 94(1):95-104.

56. Liu C., Tu C., Wang L., et al., Deleterious variants in X-linked *CFAP47* induce asthenoteratozoospermia and primary male infertility, *Am J Hum Genet*, 108(2):309-323.

57. He X., Liu C., Yang X., et al., 2020, Bi-allelic Loss-of-function Variants in *CFAP58* Cause Flagellar Axoneme and Mitochondrial Sheath Defects and Asthenoteratozoospermia in Humans and Mice, *Am J Hum Genet*, 107(3):514-526.

58. Huang T., Yin Y., Liu C., Li M., Yu X., Wang X., Zhang H., Muhammad T., Gao F., Li W., Chen Z.J., 2020, Absence of murine *CFAP61* causes male infertility due to multiple morphological abnormalities of the flagella, *Science Bulletin*, 65(10):854-64.

59. Li W., Wu H., Li F., Tian S., Kherraf Z.E., Zhang J., Ni X., Lv M., Liu C., Tan Q., Shen Y., 2020, Biallelic mutations in *CFAP65* cause male infertility with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella in humans and mice, *Journal of medical genetics*, 57(2):89-95.

60. Dong F.N., Amiri-Yekta A., Martinez G., Saut A., Tek J., Stouvenel

L., Lorès P., Karaouzène T., Thierry-Mieg N., Satre V., Brouillet S., 2018, Absence of *CFAP69* causes male infertility due to multiple morphological abnormalities of the flagella in human and mouse, *The American Journal of Human Genetics*, 102(4):636-48.

61. Martinez G., Beurois J., Dacheux D., et al., 2020, Biallelic variants in *MAATS1* encoding *CFAP91*, a calmodulin-associated and spoke-associated complex protein, cause severe astheno-teratozoospermia and male infertility, *Journal of medical genetics*, 57(10):708-16.

62. Beckers A., Adis C., Schuster-Gossler K., et al., 2020, The *FOXJ1* target *Cfap206* is required for sperm motility, mucociliary clearance of the airways and brain development, *Development*, 147(21):dev188052.

63. Auguste Y., Delague V., Desvignes J.P., et al., 2018, Loss of calmodulin-and radial-spoke-associated complex protein *CFAP251* leads to immotile spermatozoa lacking mitochondria and infertility in men, *The American Journal of Human Genetics*, 103(3):413-20.

64. Tang S., et al., 2017, Biallelic Mutations in *CFAP43* and *CFAP44* Cause Male Infertility with Multiple Morphological Abnormalities of the Sperm Flagella, *Am J Hum Genet*, 100(6):854-864.

65. Coutton C., et al., 2018, Mutations in *CFAP43* and *CFAP44* cause male infertility and flagellum defects in *Trypanosoma* and human, *Nat Commun*, 9(1):686.

66. Consortium G.T., 2015, Human genomics. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: multitissue gene regulation in humans, *Science*, 348(6235): p. 648-60.

67. Shamoto N., et al., 2018, *CFAP70* Is a Novel Axoneme-Binding Protein That Localizes at the Base of the Outer Dynein Arm and Regulates Ciliary Motility, *Cells*, 7(9).

68. Beurois J., et al., 2019, *CFAP70* mutations lead to male infertility due to severe astheno-teratozoospermia. A case report, *Hum Reprod*, 34(10): p. 2071-2079.

69. Carlsen, Elisabeth, et al., 1992, Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years, *British medical journal*, 305.6854: 609-613.

70. Xavier M.J., Salas-Huetos A., Oud M.S., Aston K.I., Veltman J.A., 2021, Disease gene discovery in male infertility: past, present and future, *Hum*

*Genet*, 140(1):7-19.

71. Tiepolo L., Zuffardi, Orsetta, 1976, Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm, *Human genetics*, 34: 119-124.

72. Jacobs P.A., Frackiewicz A., Law P., Hilditch C.J., Morton N.E., 1975, The effect of structural aberrations of the chromosomes on reproductive fitness in man. II. Results, *Clin Genet*, 8(3):169-78.

73. Brown, Terry R., et al., 1988, Deletion of the steroid-binding domain of the human androgen receptor gene in one family with complete androgen insensitivity syndrome: evidence for further genetic heterogeneity in this syndrome, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85.21: 8151-8155.

74. Dumur, Viviane, et al., 1990, Abnormal distribution of cystic fibrosis delta F508 allele in azoospermic men with congenital aplasia of epididymis and vas deferens, *The lancet*, 336.8713: 512.

75. Miyamoto, Toshinobu, et al., 2003, Azoospermia in patients heterozygous for a mutation in *SYCP3*, *The Lancet*, 362.9397: 1714-1719.

76. Bệnh viện Phụ sản Trung ương, 2009, Nghiên cứu thực trạng vô sinh ở Việt Nam theo các vùng sinh thái.

77. Trang N.T., et al., 2018, Association of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase polymorphisms with idiopathic male infertility in Vietnam male subjects, *Chem Biol Interact*, 286: p. 11-16.

78. Bach H.A., et al., 2023, Genetic variations of antioxidant genes and their association with male infertility in Vietnamese men, *J Clin Lab Anal*, p. e24829.

79. Thuy Duong N., et al., 2022, Association of *TEX15* rs142485241 with male infertility in 429 Vietnamese individuals, *Academia Journal Of Biology*, 44(2): p. 73–78.

80. Huu Dinh T., et al., 2021, Association of *AhRR* rs2292596 with male infertility in 422 Vietnamese individuals, *Vietnam J. Biotechnol*, 18: p. 317-624.

81. Huu Dinh T., et al., 2021, Association of *FSIP2* rs4666689 and *PON2* rs7493 with male infertility in Vietnamese population, *Academia Journal of Biology*, 43(3): p. 77-85.

82. Thuy Duong N., et al, 2021, Khảo sát mối liên quan của đa hình *DNAH1* rs12163565 với bệnh vô sinh nam ở người Việt Nam, *Vietnam Journal of Science and Technology*, 64(6): p. 19 - 23.
83. Schlegel P.N., et al., 2021, Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline Part I, *J Urol*, 205(1): pp. 36-43.
84. R Core Team, 2021, R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Available from: <https://www.R-project.org/>.
85. Graffelman J., 2015, Exploring Diallelic Genetic Markers: The HardyWeinberg Package, *Journal of Statistical Software*, 64: pp. 1-23.
86. Aragon T.J., 2020, epitools: Epidemiology Tools, *R package version 0.5-101*, Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=epitools>
87. Clarke G.M., et al., 2011, Basic statistical analysis in genetic casecontrol studies, *Nat Protoc*, 6(2): pp. 121-33.
88. Shi Y.Y., and He L., 2005, SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci, *Cell Res*, 15(2): pp. 97-8.
89. Jin H.J., Wang J.L., Geng X.Y., Wang C.Y., Wang B.B., Chen S.R., 2023, CFAP70 is a solid and valuable target for the genetic diagnosis of oligo-astheno-teratozoospermia in infertile men, *EbioMedicine*, 93:104675.
90. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Evans K., Hayden M., Heywood S., Hussain M., Phillips A.D., Cooper D.N., 2017, The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies, *Hum Genet*, 136(6):665-677.

## PHỤ LỤC

## Phụ lục 1: Danh sách thông tin các đối tượng tham gia nghiên cứu

STT	Mã mẫu nghiên cứu	Tên các đối tượng nghiên cứu	Tuổi	Giới tính	Vô sinh (Có/Không)	DNA		Kiểu gen	
						Nồng độ (ng/ $\mu$ L)	OD (A260/280)	rs4294502	rs4481347
1	VSN012	Trần Xuân N.	1995	Nam	Có	12,3	1,80	TC	CG
2	VSN013	Vũ Văn H.	1993	Nam	Có	11,3	1,87	TT	CC
3	VSN014	Vũ Đức K.	1991	Nam	Có	14,9	1,80	TT	CC
4	VSN015	Bùi Văn D.	1985	Nam	Có	6,2	1,88	TC	CG
5	VSN016	Trần Đình V.	1988	Nam	Có	6,4	1,70	TT	CC
6	VSN018	Lương Văn T.	1991	Nam	Có	10,2	1,80	TC	CG
7	VSN019	Dương Hà N.	1986	Nam	Có	10,4	1,79	TT	CC
8	VSN020	Vũ Văn T.	1989	Nam	Có	14,3	1,83	TC	CG
9	VSN021	Nguyễn Hữu T.	1992	Nam	Có	8,6	1,79	TC	GG
10	VSN022	Vũ Hoàng T.	1983	Nam	Có	14,4	1,78	TT	CG
11	VSN023	Nguyễn Ngọc T.	1991	Nam	Có	8,1	1,82	TC	CG
12	VSN025	Đỗ Văn P.	1991	Nam	Có	10,0	1,78	TT	CC
13	VSN026	Đào Ngọc S.	1993	Nam	Có	20,5	1,80	TT	CC
14	VSN027	Nguyễn Doãn S.	1997	Nam	Có	13,4	1,79	TT	CC
15	VSN029	Phạm Quốc D.	1993	Nam	Có	8,8	1,78	TT	CC
16	VSN030	Nguyễn Hoàng Thái H.	1990	Nam	Có	13,7	1,88	TC	CG
17	VSN031	Tôn Đức L.	1997	Nam	Có	12,8	1,73	TT	CG
18	VSN032	Đông Văn C.	1994	Nam	Có	8,1	2,00	TC	CG
19	VSN034	Nguyễn Ngọc T.	1988	Nam	Có	13,1	1,77	TC	CG
20	VSN035	Lâm Đức M.	1992	Nam	Có	12,3	1,77	TT	CC
21	VSN036	Nguyễn Văn T.	1987	Nam	Có	6,5	1,79	TC	CG
22	VSN037	Tổng Văn P.	1986	Nam	Có	10,1	1,80	TT	CC
23	VSN038	Lê Hồng Q.	1991	Nam	Có	9,8	1,78	TT	CG

24	VSN039	Dương Văn L.	1990	Nam	Có	10,8	1,80	TC	CG
25	VSN040	Phạm Ngọc H.	1995	Nam	Có	7,9	1,71	TT	CC
26	VSN041	Dương Công P.	1986	Nam	Có	4,2	1,75	TT	CC
27	VSN043	Nguyễn Khắc H.	1994	Nam	Có	19,2	1,78	TT	CC
28	VSN045	Lê Ngọc A.	1993	Nam	Có	13,0	1,74	TC	GG
29	VSN046	Nguyễn Hữu Q.	1989	Nam	Có	11,3	1,70	CC	GG
30	VSN047	Đoàn Đại H.	2000	Nam	Có	13,7	1,78	TC	CG
31	VSN048	Từ Thái B.	1990	Nam	Có	12,7	1,89	CC	GG
32	VSN049	Nguyễn Đình S.	1982	Nam	Có	10,4	1,79	TC	CG
33	VSN050	Phạm Văn H.	1980	Nam	Có	9,7	1,74	TT	CC
34	VSN051	Lê Việt T.	1984	Nam	Có	7,8	1,78	TC	CG
35	VSN052	Nguyễn Chí T.	1992	Nam	Có	7,6	1,72	TT	CC
36	VSN053	Phạm Tiến L.	1992	Nam	Có	14,7	1,73	TC	CG
37	VSN054	Nguyễn Văn H.	1997	Nam	Có	14,0	1,74	TT	CC
38	VSN055	Phạm Hồng H.	1978	Nam	Có	13,5	1,74	TC	CG
39	VSN056	Nguyễn Xuân C.	1976	Nam	Có	12,7	1,76	TC	CG
40	VSN057	Nguyễn Văn V.	1984	Nam	Có	10,0	1,73	CC	GG
41	VSN058	Vũ Đức Q.	1991	Nam	Có	13,4	1,81	TT	CC
42	VSN059	Nguyễn Văn T.	1987	Nam	Có	16,5	1,78	TC	CG
43	VSN060	Lê Bá T.	1987	Nam	Có	13,2	1,79	TC	CG
44	VSN061	Nguyễn Văn L.	1993	Nam	Có	19,9	1,77	TT	CC
45	VSN062	Phạm Xuân V.	1987	Nam	Có	21,9	1,77	TT	CC
46	VSN063	Phạm Văn H.	1989	Nam	Có	19,5	1,81	TC	CG
47	VSN064	Nguyễn Văn C.	1987	Nam	Có	20,6	1,78	TC	CG
48	VSN065	Lê Văn T.	1986	Nam	Có	13,3	1,71	TC	CG
49	VSN066	Đặng Ngọc L.	1995	Nam	Có	17,2	1,80	TT	CG
50	VSN067	Nguyễn Văn T.	1987	Nam	Có	17,2	1,76	TC	CG
51	VSN068	Hồ Sỹ K.	1990	Nam	Có	16,6	1,88	TT	CC

52	VSN069	Nguyễn Quốc Đ.	1991	Nam	Có	18,7	1,82	TT	CG
53	VSN070	Cao Văn T.	1990	Nam	Có	16,9	2,00	CC	GG
54	VSN071	Trần Văn H.	1989	Nam	Có	24,2	1,81	TC	CG
55	VSN072	Nguyễn Đức H.	1994	Nam	Có	19,2	1,75	TC	CG
56	VSN073	Nguyễn Văn V.	1990	Nam	Có	11,0	1,75	TC	CG
57	VSN074	Lê Minh Đ.	1974	Nam	Có	18,0	1,79	TT	CC
58	VSN075	Nguyễn Văn T.	1988	Nam	Có	24,1	1,81	TT	CC
59	VSN076	Lò Văn T.	1987	Nam	Có	27,8	1,79	TC	CG
60	VSN077	Nguyễn Tiến Đ.	1999	Nam	Có	29,1	1,82	TC	CG
61	VSN078	Đoàn Văn Q.	1993	Nam	Có	17,0	1,73	TC	CG
62	VSN079	Đinh Văn H.	1991	Nam	Có	3,6	1,78	TC	CG
63	VSN080	Nguyễn Văn T.	1990	Nam	Có	3,1	1,84	TT	CC
64	VSN081	Đào Văn T.	1994	Nam	Có	2,3	1,8	TC	CG
65	VSN084	Nguyễn Hồng Q.	1993	Nam	Có	21,7	1,75	TT	CC
66	VSN085	Nguyễn Văn T.	1989	Nam	Có	12,5	1,71	TT	CC
67	VSN086	Nguyễn Minh H.	1997	Nam	Có	16,6	1,73	TC	CG
68	VSN087	Trần Quang A.	1989	Nam	Có	22,6	1,73	TT	CC
69	VSN088	Nguyễn Trọng N.	1992	Nam	Có	14,8	1,70	TC	CG
70	VSN089	Nguyễn Đình Q.	1990	Nam	Có	19,9	1,78	TT	CC
71	VSN090	Nguyễn Văn N.	1991	Nam	Có	16,4	1,79	TC	CG
72	VSN091	Nguyễn Xuân D.	1989	Nam	Có	12,0	1,80	TT	CC
73	VSN092	Nguyễn Lê Tuấn A.	1992	Nam	Có	16,5	1,78	TC	CC
74	VSN093	Nguyễn Văn T.	1980	Nam	Có	14,2	1,88	TC	CG
75	VSN094	Vũ Văn V.	1995	Nam	Có	10,4	1,76	TT	CG
76	VSN095	Huỳnh Văn T.	1992	Nam	Có	14,9	1,72	TC	CG
77	VSN096	Vũ Trường S.	1987	Nam	Có	9,3	1,72	TC	CG
78	VSN097	Nguyễn Quốc H.	1985	Nam	Có	10,3	1,82	TT	CC



79	VSN098	Nguyễn Tự T.	1988	Nam	Có	9,0	1,71	TT	CC
80	VSN099	Ngô Văn L.	1981	Nam	Có	7,0	1,75	CC	GG
81	VSN100	Ngô Văn H.	1992	Nam	Có	8,0	1,80	TC	CG
82	VSN101	Bùi Xuân H.	1986	Nam	Có	5,6	1,86	TT	CG
83	VSN105	Dương Thế T.	1982	Nam	Có	5,6	1,76	CC	CG
84	VSN107	Nguyễn Văn Q.	1987	Nam	Có	41,6	1,72	TC	CG
85	VSN108	Trịnh Trọng L.	1991	Nam	Có	10,7	1,73	TT	GG
86	VSN109	Nguyễn Văn V.	1990	Nam	Có	7,9	1,70	TC	CG
87	VSN110	Phạm Tuấn N.	1987	Nam	Có	26,2	1,99	TT	CC
88	VSN111	Trịnh Văn T.	1986	Nam	Có	16,6	1,78	TT	CC
89	VSN112	Trịnh Bá H.	1993	Nam	Có	18,2	1,74	TT	CC
90	VSN116	Nguyễn Tuyên P.	1990	Nam	Có	23,2	1,70	TT	CC
91	VSN118	Đông Phúc C.	1990	Nam	Có	20,1	1,73	TT	CC
92	VSN119	Nguyễn Việt H.	1987	Nam	Có	25,6	1,79	TT	CC
93	VSN120	Chu Văn T.	1993	Nam	Có	47,1	1,77	TT	CC
94	VSN122	Đỗ Văn T.	1990	Nam	Có	16,8	1,76	TT	CC
95	VSN124	Trần Văn Q.	1994	Nam	Có	50,7	1,74	TC	CG
96	VSN125	Nguyễn Văn V.	1990	Nam	Có	15,6	1,76	CC	CG
97	VSN126	Bùi Văn G.	1986	Nam	Có	25,0	1,81	TT	CC
98	VSN127	Đỗ Tuấn D.	1988	Nam	Có	10,3	1,70	TC	CG
99	VSN128	Đinh Đăng Đ.	1991	Nam	Có	11,0	1,79	TT	CC
100	VSN131	Lưu Văn N.	1986	Nam	Có	7,0	1,65	TT	CG
101	VSN134	Nguyễn Văn Q.	1990	Nam	Có	13,4	1,48	TT	CC
102	VSN135	Cao Xuân Q.	1993	Nam	Có	9,5	1,61	TT	CC
103	VSN137	Đinh Văn H.	1989	Nam	Có	11,3	1,68	TC	CG
104	VSN138	Vũ Khắc T.	1979	Nam	Có	23,4	1,71	TT	CC
105	VSN139	Nguyễn Văn D.	1989	Nam	Có	16,8	1,75	TC	CG
106	VSN140	Nguyễn Trung C.	1985	Nam	Có	13,8	1,66	TC	CG

107	VSN141	Trần Văn T.	1985	Nam	Có	17,1	1,74	TT	CC
108	VSN142	Nguyễn Ngọc D.	1990	Nam	Có	23,7	1,88	TT	CC
109	VSN143	Vũ Anh T.	1987	Nam	Có	10,9	1,78	TT	CG
110	VSN145	Dương Văn H.	1992	Nam	Có	15,0	1,76	TT	CG
111	VSN147	Vũ Đình L.	1989	Nam	Có	8,4	1,75	TT	CC
112	VSN148	Trần Quang A.	1983	Nam	Có	11,5	1,78	TT	CC
113	VSN163	Phạm Đình T.	1990	Nam	Có	12,0	1,99	TC	CG
114	VSN164	Bùi Đức T.	1990	Nam	Có	11,0	1,78	CC	GG
115	VSN165	Chu Minh D.	1984	Nam	Có	13,5	1,86	TC	CG
116	VSN167	Đào Văn P.	1991	Nam	Có	14,6	1,70	TT	CC
117	VSN169	Nguyễn Văn N.	1982	Nam	Có	13,2	1,78	CC	CG
118	VSN170	Trần Văn H.	1990	Nam	Có	11,1	1,85	TT	CC
119	VSN171	Nguyễn Văn N.	1993	Nam	Có	13,3	1,78	TC	CC
120	VSN173	Vũ Đăng H.	1978	Nam	Có	18,0	1,79	TT	CC
121	VSN175	Nguyễn Đình D.	1984	Nam	Có	14,8	1,80	CC	GG
122	VSN176	Võ Văn T.	1989	Nam	Có	7,2	1,86	TT	CC
123	VSN177	Cao Văn T.	1980	Nam	Có	20,4	1,74	TT	CC
124	VSN178	Nguyễn Văn C.	1988	Nam	Có	11,5	1,68	TT	CG
125	VSN179	Lê Huy Q.	1987	Nam	Có	25,6	1,80	TC	CG
126	VSN180	Lê Văn H.	1991	Nam	Có	9,4	1,80	TT	CC
127	VSN181	Hoàng Văn N.	1984	Nam	Có	26,4	1,85	TT	CC
128	VSN182	Trần Xuân D.	1985	Nam	Có	19,5	1,80	TC	CG
129	VSN183	Bùi Duy T.	1981	Nam	Có	21,1	2,00	TT	CC
130	VSN184	Đào Văn M.	1994	Nam	Có	16,2	1,82	TT	CC
131	VSN185	Đào Đình P.	1993	Nam	Có	29,2	1,79	TC	CC
132	VSN186	Dương Xuân N.	1990	Nam	Có	13,9	1,78	TT	CC
133	VSN187	Lê Văn L.	1983	Nam	Có	7,9	1,40	TT	CC
134	VSN188	Đoàn Văn T.	1989	Nam	Có	13,4	1,78	TC	CG

135	VSN189	Nguyễn Văn Đ.	1977	Nam	Có	14,1	1,75	TT	CC
136	VSN190	Lê Anh T.	1992	Nam	Có	17,1	1,76	TC	CG
137	VSN191	Bùi Văn L.	1974	Nam	Có	5,5	1,76	TC	GG
138	VSN192	Bùi Ngọc T.	1992	Nam	Có	31,9	1,83	TC	CG
139	VSN193	Vũ Thaành L.	1990	Nam	Có	12,7	1,79	TT	CC
140	VSN194	Hà Văn T.	1988	Nam	Có	19,4	1,80	CC	GG
141	VSN195	Lê Anh V.	1990	Nam	Có	19,7	1,83	TC	CG
142	VSN196	Nông Trường T.	1987	Nam	Có	40,4	1,84	CC	CC
143	VSN197	Nguyễn Sỹ H.	1993	Nam	Có	28,3	1,92	TC	CG
144	VSN198	Vũ Văn S.	1996	Nam	Có	28,4	1,87	TT	CC
145	VSN199	Nguyễn Minh T.	1982	Nam	Có	36,8	1,74	TT	CC
146	VSN200	Nguyễn Quang T.	1992	Nam	Có	41,5	1,85	TT	CC
147	VSN201	Hoàng Bá S.	1999	Nam	Có	31,9	1,88	TC	CG
148	VSN202	Nguyễn Trọng D.	1987	Nam	Có	17,0	1,82	TT	CC
149	VSN203	Đình Trung D.	1987	Nam	Có	34,2	1,84	TT	CC
150	VSN204	Nguyễn Văn T.	1992	Nam	Có	29,3	1,83	TT	CC
151	VSN205	Nguyễn Đình T.	1984	Nam	Có	21,8	1,84	CC	GG
152	VSN206	Nguyễn Văn K.	1990	Nam	Có	24,1	1,82	TC	CG
153	VSN207	Trần Văn Đ.	1991	Nam	Có	29,9	1,92	CC	GG
154	VSN208	Nguyễn Anh A.	1981	Nam	Có	33,9	1,84	CC	GG
155	VSN209	Vũ Tuấn A.	1989	Nam	Có	23,0	1,80	TT	CC
156	VSN210	Đỗ Quang Đ.	1989	Nam	Có	16,6	1,74	TT	CC
157	VSN211	Bùi Thế H.	1984	Nam	Có	17,3	1,71	TT	CG
158	VSN212	Nguyễn Văn H.	1993	Nam	Có	29,2	1,79	CC	GG
159	VSN213	Nguyễn Đức A.	1991	Nam	Có	17,5	1,86	TT	CC
160	VSN215	Nguyễn Hữu T.	1989	Nam	Có	13,1	1,88	TT	CC
161	VSN216	Nguyễn Ngọc H.	1992	Nam	Có	11,1	1,83	TT	CC
162	VSN217	Phạm Thanh T.	1995	Nam	Có	21,0	1,73	TC	CG

163	VSN218	Nguyễn Văn T.	1989	Nam	Có	9,5	1,88	TT	CG
164	VSN219	Trương Minh Đ.	1985	Nam	Có	15,6	1,79	TT	CC
165	VSN221	Lã Ngọc T.	1989	Nam	Có	9,1	1,86	TT	CC
166	VSN222	Đoàn Văn P.	1977	Nam	Có	6,9	1,88	CC	CC
167	VSN223	Phạm Tuấn P.	2015	Nam	Có	11,4	1,96	TT	CC
168	VSN224	Nguyễn Quang P.	1987	Nam	Có	12,3	1,85	TT	CC
169	VSN225	Nguyễn Xuân H.	1989	Nam	Có	14,7	1,80	TT	CC
170	VSN226	Phùng Đức T.	1988	Nam	Có	9,8	1,86	TT	CC
171	VSN227	Lê Văn H.	1993	Nam	Có	26,7	1,78	TT	CC
172	VSN228	Nguyễn Sơn T.	1996	Nam	Có	17,2	1,82	TC	CG
173	VSN229	Hoàng Văn L.	1990	Nam	Có	10,3	1,88	TC	CG
174	VSN230	Hà Văn N.	1996	Nam	Có	21,3	1,84	TC	CC
175	VSN231	Hạ Hải K.	1993	Nam	Có	18,8	1,80	TT	CC
176	VSN232	Nguyễn Đức T.	1995	Nam	Có	19,2	1,82	TT	CG
177	VSN233	Nguyễn Xuân T.	1994	Nam	Có	18,9	1,77	TT	CC
178	VSN234	Nguyễn Văn T.	1992	Nam	Có	15,0	1,82	TC	CG
179	VSN235	Lê Văn Q.	1993	Nam	Có	13,3	1,80	TC	CG
180	VSN237	Nguyễn Văn Đ.	1994	Nam	Có	20,9	1,77	TT	CC
181	VSN238	Nguyễn Văn H.	2000	Nam	Có	14,9	1,80	TT	CC
182	VSN239	Nguyễn Văn S.	1992	Nam	Có	17,0	1,82	TT	CC
183	VSN240	Hoàng Sào N.	1963	Nam	Có	6,6	1,86	TT	CC
184	VSN241	Nguyễn Hồng Q.	1977	Nam	Có	11,3	1,81	CC	GG
185	VSN242	Sái Văn H.	1997	Nam	Có	14,0	1,90	TT	CC
186	VSN243	Triệu Đức K.	1985	Nam	Có	14,3	1,77	TT	CC
187	VSN244	Nguyễn Thế T.	1989	Nam	Có	17,6	1,77	TT	CC
188	VSN245	Bùi Đắc V.	1995	Nam	Có	17,4	1,80	TT	CC
189	VSN246	Nguyễn Văn T.	1987	Nam	Có	11,8	1,72	TT	CC
190	VSN247	Phan Trọng D.	1986	Nam	Có	10,9	1,73	TT	CG

191	VSN248	Lê Xuân T.	1997	Nam	Có	10,8	1,73	TC	GG
192	VSN249	Nguyễn Đức T.	1975	Nam	Có	9,2	1,76	TC	CG
193	VSN250	Nguyễn Tú A.	1995	Nam	Có	10,8	1,74	TT	CC
194	MIN02	Dương Thế P.	1986	Nam	Có	92,9	1,87	CC	GG
195	MIN03	Nguyễn Duy N.	1983	Nam	Có	46,7	1,82	TT	CC
196	MIN04	Nguyễn Thế T.	1994	Nam	Có	42,8	1,84	CC	GG
197	MIN05	Nguyễn Kim T.	1986	Nam	Có	49,2	1,85	CC	GG
198	MIN06	Nguyễn Tuấn V.	1990	Nam	Có	44,2	1,81	TC	CG
199	MIN07	Nguyễn Sinh T.	1987	Nam	Có	32	1,78	TC	CG
200	MIN89	Đặng Nam H.	1990	Nam	Có	73,5	1,85	CC	GG
201	VSC001	Lê Thành L.	1989	Nam	Không	8,14	1,86	TT	CC
202	VSC002	Ngô Sỹ G.	1992	Nam	Không	23,8	1,73	TT	CC
203	VSC003	Bùi Mạnh H.	1980	Nam	Không	18,9	1,80	TT	CG
204	VSC005	Nguyễn Đức T.	1962	Nam	Không	24,5	1,83	TT	CC
205	VSC006	Nguyễn Minh T.	1950	Nam	Không	15,6	1,98	TC	CG
206	VSC007	Phạm Thế L.	1989	Nam	Không	28,4	1,76	TT	CC
207	VSC008	Đào Mạnh Đ.	1979	Nam	Không	24,7	1,77	TT	CC
208	VSC009	Phạm Văn T.	1995	Nam	Không	22,0	1,80	TT	CC
209	VSC010	Nguyễn Mười Xuân A.	1987	Nam	Không	18,6	1,84	TT	CC
210	VSC011	Nguyễn Thế T.	1986	Nam	Không	20,6	1,79	CC	GG
211	VSC012	Ngô Văn L.	1994	Nam	Không	19,4	1,74	TT	CC
212	VSC013	Nguyễn Thanh T.	1989	Nam	Không	21,0	1,76	TT	CC
213	VSC014	Nguyễn Hữu V.	1995	Nam	Không	28,5	1,73	TC	CG
214	VSC015	Diêm Công T.	1981	Nam	Không	13,1	1,71	TT	CC
215	VSC016	Nguyễn Thành T.	1987	Nam	Không	13,2	1,82	CC	GG
216	VSC017	Nguyễn Bá N.	1994	Nam	Không	12,0	1,79	TC	CC
217	VSC018	Dương Hữu H.	1989	Nam	Không	11,7	1,83	TT	CC
218	VSC020	Nguyễn Văn C.	1985	Nam	Không	16,3	1,72	TT	CC

219	VSC021	Đỗ Duy T.	1972	Nam	Không	9,0	1,82	TT	CC
220	VSC024	Nguyễn Văn P.	1985	Nam	Không	8,8	1,91	TT	CC
221	VSC025	Tạ Văn T.	1981	Nam	Không	5,6	1,84	TT	CC
222	VSC026	Trần Thanh T.	1988	Nam	Không	10,7	1,77	TC	CG
223	VSC027	Trần Ngọc A.	1954	Nam	Không	13,7	1,73	TC	CC
224	VSC028	Nguyễn Xuân T.	1985	Nam	Không	19,2	1,70	TC	CG
225	VSC029	Phạm Văn Đ.	1970	Nam	Không	11,1	1,71	TC	CG
226	VSC030	Khuất Tất C.	1982	Nam	Không	16,5	1,77	TC	CG
227	VSC031	Phạm Văn N.	1990	Nam	Không	5,6	1,94	TT	CC
228	VSC032	Đặng Văn P.	1986	Nam	Không	14,9	1,78	TC	CG
229	VSC033	Nguyễn Văn C.	1992	Nam	Không	5,0	2,04	TT	CC
230	VSC034	Nguyễn Văn C.	1982	Nam	Không	5,0	1,79	TT	CG
231	VSC035	Nguyễn Văn L.	1991	Nam	Không	7,6	1,81	CC	CG
232	VSC036	Lê Văn M.	1988	Nam	Không	8,0	1,75	TC	CG
233	VSC037	Phạm Văn T.	1973	Nam	Không	3,8	1,88	TT	CC
234	VSC038	Vũ Trọng C.	1986	Nam	Không	5,4	1,79	TT	CC
235	VSC039	Phùng Thế C.	1989	Nam	Không	9,3	1,79	TT	CC
236	VSC040	Hoàng Hữu H.	1988	Nam	Không	14,3	1,73	TC	CG
237	VSC043	Cần Tiên T.	1993	Nam	Không	6,4	2,00	TC	GG
238	VSC044	Thiều Lê Q.	1987	Nam	Không	10,3	1,86	TC	CC
239	VSC045	Trần Văn T.	1991	Nam	Không	3,4	1,80	CC	CG
240	VSC046	Hoàng Mạnh L.	1986	Nam	Không	4,6	1,73	TT	CC
241	VSC047	Lò Văn H.	1986	Nam	Không	10,5	1,85	TC	CG
242	VSC048	Hồ Xuân H.	1979	Nam	Không	14,7	1,75	TT	CG
243	VSC049	Nguyễn Đức T.	1988	Nam	Không	13,3	1,71	TC	CG
244	VSC051	Hà Văn C.	1988	Nam	Không	9,2	1,99	TT	CC
245	VSC055	Nguyễn Mạnh T.	1991	Nam	Không	12,5	1,89	TC	CG
246	VSC057	Lê Xuân T.	1995	Nam	Không	7,7	1,91	TC	CG

247	VSC058	Trần Việt A.	1988	Nam	Không	8,0	1,73	TT	CC
248	VSC059	Vũ Xuân D.	1995	Nam	Không	7,0	1,96	TT	CC
249	VSC060	Đình Văn C.	1983	Nam	Không	5,5	1,79	TT	CG
250	VSC062	Phạm Công H.	1994	Nam	Không	12,8	1,90	TC	CC
251	VSC063	Nguyễn Trung H.	1992	Nam	Không	8,6	2,03	TT	CC
252	VSC064	Bùi Anh D.	1992	Nam	Không	10,9	1,85	TC	CG
253	VSC065	Trần Quốc T.	1983	Nam	Không	11,6	1,90	TC	CG
254	VSC066	Nguyễn Văn N.	1977	Nam	Không	2,0	1,53	TT	CC
255	VSC067	Đỗ Việt T.	1985	Nam	Không	2,4	1,92	TT	CC
256	VSC069	Nguyễn Anh D.	1991	Nam	Không	11,2	1,86	TT	CC
257	VSC070	Trần Tiến T.	1988	Nam	Không	2,6	1,88	CC	CG
258	VSC071	Đình Xuân T.	1984	Nam	Không	6,4	1,95	TT	CC
259	VSC072	Đặng Thanh T.	1990	Nam	Không	7,5	1,87	CC	GG
260	VSC073	Trần Đức L.	1992	Nam	Không	15,8	1,79	TT	CC
261	VSC076	Trần Minh H.	1987	Nam	Không	12,7	1,99	TC	CG
262	VSC077	Lê Việt H.	1995	Nam	Không	10,1	1,92	TC	CG
263	VSC080	Hoàng Văn T.	1993	Nam	Không	5,0	2,05	TT	CC
264	VSC083	Nguyễn Đình N.	1991	Nam	Không	7,6	1,88	TT	CC
265	VSC084	Vũ Văn T.	1992	Nam	Không	8,5	2,01	TT	CC
266	VSC085	Nguyễn Chí C.	1986	Nam	Không	12,5	1,94	TT	CC
267	VSC086	Bùi Quang T.	1986	Nam	Không	13,4	1,93	TC	CG
268	VSC088	Nguyễn Xuân T.	1985	Nam	Không	13,8	1,90	CC	CG
269	VSC089	Hồ Việt B.	1980	Nam	Không	21,2	1,87	TT	CG
270	VSC090	Nguyễn Đình Q.	1990	Nam	Không	24,7	1,87	TC	CC
271	VSC091	Hoàng Văn T.	1994	Nam	Không	5,3	1,73	TC	CG
272	VSC092	Nguyễn Thành C.	1992	Nam	Không	8,1	1,69	TT	CC
273	VSC093	Phạm Văn P.	1994	Nam	Không	19,5	1,74	TC	CG
274	VSC095	Lưu Văn D.	1972	Nam	Không	10,4	1,65	TT	CC

275	VSC098	Lê Văn T.	1991	Nam	Không	9,7	1,54	TT	CG
276	VSC099	Vũ Hồng C.	1983	Nam	Không	22,7	1,74	TT	CC
277	VSC100	Nguyễn Đức V.	1983	Nam	Không	12,5	1,64	TC	CG
278	VSC101	Lê Tuấn V.	1983	Nam	Không	17,3	1,56	TC	CG
279	VSC103	Vũ Văn T.	1995	Nam	Không	24,6	1,80	TT	CC
280	VSC104	Nguyễn Tuấn A.	1992	Nam	Không	13,0	1,81	TC	CG
281	VSC105	Hà Văn T.	1994	Nam	Không	18,5	1,83	TC	CC
282	VSC106	Vũ Văn H.	1984	Nam	Không	11,9	1,92	TC	CG
283	VSC107	Trần Văn T.	1990	Nam	Không	6,7	1,94	TT	CC
284	VSC108	Ngô Văn G.	1991	Nam	Không	13,9	1,85	TC	CC
285	VSC109	Nguyễn Văn C.	1980	Nam	Không	11,6	1,83	TT	CG
286	VSC110	Đào Văn H.	1987	Nam	Không	24,0	1,83	TT	CC
287	VSC111	Vũ Văn Q.	1995	Nam	Không	19,0	1,79	CC	GG
288	VSC112	Lăng Quang T.	1981	Nam	Không	12,6	1,79	TT	CC
289	VSC113	Trần Đức H.	1979	Nam	Không	19,1	1,70	TT	CC
290	VSC114	Nguyễn Văn T.	1977	Nam	Không	13,6	1,72	TT	CC
291	VSC115	Phạm Tuấn K.	1984	Nam	Không	17,5	1,77	TC	CG
292	VSC116	Bùi Quang H.	1989	Nam	Không	23,9	1,70	TC	CG
293	VSC118	Trần Văn T.	1993	Nam	Không	21,0	1,76	TT	CC
294	VSC119	Vũ Văn T.	1987	Nam	Không	21,6	1,70	TT	CC
295	VSC120	Lâm Văn H.	1992	Nam	Không	17,5	1,78	TC	CG
296	VSC121	Hoàng Thành V.	1981	Nam	Không	22,1	1,71	TT	CG
297	VSC122	vũ Việt C.	1993	Nam	Không	14,6	1,87	TT	CC
298	VSC123	Trần Hồng Q.	1995	Nam	Không	21,4	1,86	TC	CG
299	VSC124	Phạm Văn H.	1998	Nam	Không	19,7	1,74	TC	CC
300	VSC126	Đặng Ngọc T.	1985	Nam	Không	17,8	1,73	TC	CG
301	VSC127	Hoàng Xuân Q.	1991	Nam	Không	16,1	1,82	TC	CG
302	VSC129	Phạm Văn P.	1989	Nam	Không	19,0	1,70	TC	CG



303	VSC130	Nguyễn Tuấn M.	1991	Nam	Không	25,2	1,72	TC	CG
304	VSC131	Nguyễn Văn K.	1994	Nam	Không	16,7	1,73	TC	CC
305	VSC132	Nguyễn Như T.	1978	Nam	Không	14,3	1,74	TC	CC
306	VSC133	Lưu Ngọc K.	1993	Nam	Không	18,2	1,75	TC	CG
307	VSC134	Vũ Văn D.	1987	Nam	Không	23,4	1,73	CC	CG
308	VSC135	Phạm Văn S.	1981	Nam	Không	10,3	1,69	TC	CG
309	VSC136	Nguyễn Ngọc S.	1993	Nam	Không	13,2	1,73	TT	CC
310	VSC137	Nguyễn Công Đ.	1989	Nam	Không	6,9	1,83	TT	CC
311	VSC138	Lê Quang H.	1993	Nam	Không	10,4	1,70	TT	CC
312	VSC139	Nguyễn Hồng T.	1990	Nam	Không	6,6	1,70	TT	CC
313	VSC140	Đào Văn H.	1981	Nam	Không	13,0	1,89	TC	CC
314	VSC141	Trần Văn H.	1974	Nam	Không	14,2	1,79	TC	CG
315	VSC142	Đặng Đình Đ.	1992	Nam	Không	13,3	1,77	TT	CC
316	VSC143	Nguyễn Tiến Đ.	1986	Nam	Không	11,5	1,78	TT	CC
317	VSC144	Lương Thế H.	1981	Nam	Không	15,5	1,79	TC	CG
318	VSC145	Triệu Cao Q.	1983	Nam	Không	9,1	1,90	TT	CC
319	VSC146	Vy Văn H.	1993	Nam	Không	13,6	1,80	CC	GG
320	VSC147	Phạm Văn P.	1976	Nam	Không	34,1	1,81	TT	CC
321	VSC148	Trần Quốc H.	1983	Nam	Không	13,0	1,78	TT	CC
322	VSC149	Nguyễn Công Tuấn A.	1994	Nam	Không	10,8	1,73	TT	CC
323	VSC150	Phạm Xuân C.	1987	Nam	Không	15,3	1,75	TC	CG
324	VSC151	Trịnh Tuấn A.	1997	Nam	Không	23,1	1,79	TC	CG
325	VSC152	Lò Thế H.	1993	Nam	Không	30,8	1,83	TC	CG
326	VSC153	Lưu Quang B.	1995	Nam	Không	19,3	1,72	TT	CC
327	VSC154	Lê Văn L.	1988	Nam	Không	36,2	1,75	TC	CG
328	VSC155	Trần Thái K.	1992	Nam	Không	14,1	1,82	TC	CG
329	VSC156	Đặng Việt S.	1992	Nam	Không	22,7	1,83	CC	GG
330	VSC157	Đỗ Ngọc M.	1980	Nam	Không	18,5	1,76	TT	CC

331	VSC158	Đỗ Xuân H.	1975	Nam	Không	11,5	1,72	TC	CG
332	VSC159	Bùi Duy C.	1985	Nam	Không	5,4	1,77	TT	CC
333	VSC160	Phan Công T .	1958	Nam	Không	6,3	1,75	TC	CG
334	VSC161	Vũ H .	1980	Nam	Không	12,3	1,73	TC	CG
335	VSC162	Lê Văn B .	1986	Nam	Không	9,3	1,89	TC	CG
336	VSC163	Nguyễn Văn C .	1991	Nam	Không	13,9	1,70	TC	GG
337	VSC164	Phạm Văn Đ .	1978	Nam	Không	13,5	1,72	TC	CG
338	VSC165	Nguyễn Thành L .	1986	Nam	Không	8,3	1,83	TT	CC
339	VSC166	Nguyễn Vĩnh B .	1993	Nam	Không	11,7	1,84	TC	CG
340	VSC167	Phan Quốc P .	1974	Nam	Không	13,1	1,86	TT	CC
341	VSC168	Nguyễn Phùng D .	1986	Nam	Không	27,6	1,83	TC	CG
342	VSC169	Phạm Văn N .	1993	Nam	Không	15,9	1,76	TT	CG
343	VSC170	Đoàn Trung L .	1990	Nam	Không	34,0	1,79	TC	CC
344	VSC171	Long Minh H .	1985	Nam	Không	27,0	1,76	TC	CG
345	VSC172	Quách Ngọc H .	1989	Nam	Không	14,9	1,71	TT	CC
346	VSC173	Nguyễn Văn H .	1987	Nam	Không	14,4	1,81	TT	CC
347	VSC174	Trịnh Xuân T .	1992	Nam	Không	4,4	1,79	TC	GG
348	VSC175	Dương Ngô T .	1972	Nam	Không	8,4	1,86	TT	CC
349	VSC176	Nguyễn Văn H .	1982	Nam	Không	35,5	1,82	TT	CC
350	VSC177	Đậu Khắc T .	1989	Nam	Không	19,4	1,81	TT	CC
351	VSC178	Trần Minh T .	1992	Nam	Không	16,0	1,81	CC	GG
352	VSC179	Đào Văn T .	1986	Nam	Không	13,4	1,72	TT	CC
353	VSC182	Nguyễn Văn T .	1991	Nam	Không	16,3	1,82	TT	CC
354	VSC183	Lê Văn L .	1986	Nam	Không	33,5	1,82	TT	CC
355	VSC184	Trịnh Việt H .	1985	Nam	Không	17,9	1,77	TT	CC
356	VSC185	Nguyễn Trường D .	1992	Nam	Không	29,6	1,76	TT	CC
357	VSC186	Ngô Thế T .	1993	Nam	Không	19,1	1,77	TC	CG
358	VSC187	Trần Đình T .	1986	Nam	Không	20,2	1,80	TT	CC

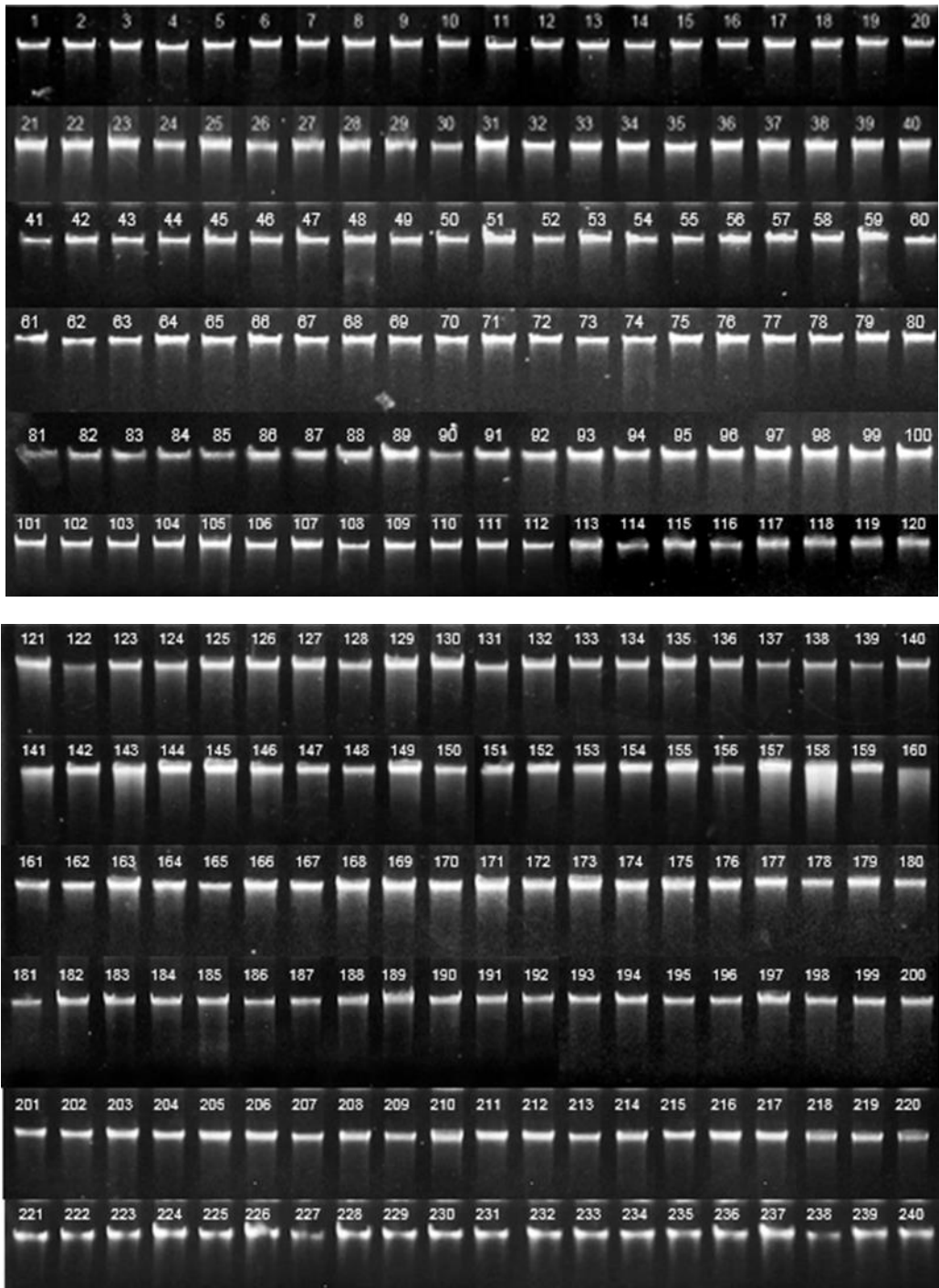
359	VSC188	Đình Đức D .	1990	Nam	Không	14,4	1,72	CC	GG
360	VSC190	Quảng Mạnh H .	1991	Nam	Không	22,7	1,76	TC	CG
361	VSC191	Thân Văn T .	1992	Nam	Không	13,8	1,76	TC	CG
362	VSC192	Lê Quang T .	1991	Nam	Không	12,3	1,79	TC	CG
363	VSC193	Đỗ Mạnh Q .	1994	Nam	Không	17,0	1,81	TT	CC
364	VSC195	Nguyễn Hải T .	1988	Nam	Không	26,4	1,82	TT	CC
365	VSC196	Bùi Văn C .	1992	Nam	Không	13,0	1,80	TC	CG
366	VSC197	Nguyễn Văn T .	1993	Nam	Không	33,1	1,83	TC	CC
367	VSC198	Đình Văn T .	1986	Nam	Không	33,3	1,83	TC	CG
368	VSC199	Trần Nam L .	1993	Nam	Không	13,9	1,76	TT	CC
369	VSC200	Vi Quang H .	1992	Nam	Không	19,7	1,80	TT	CC
370	RAGLN 02	Bo Bo U .	1992	Nam	Không	31,4	1,74	TT	CC
371	RAGLN 06	Mẫu X .	1988	Nam	Không	39,6	1,78	TC	CG
372	RAGLN 07	Bo Bo Ngọc T .	1990	Nam	Không	26,1	1,72	TT	CC
373	RAGLN 09	Bo Bo K .	1985	Nam	Không	35,5	1,93	TT	CC
374	RAGLN 10	Cao Văn N .	1983	Nam	Không	36,7	1,77	TC	CG
375	RAGLN 12	Cao Văn T .	1991	Nam	Không	43,5	1,77	TT	CG
376	RAGLN 14	Tro Hồng P .	1992	Nam	Không	42,6	1,82	TT	CC
377	RAGLN 18	Cao N .	1986	Nam	Không	37,9	1,71	TT	CC
378	RAGLN 19	Bo Bo D .	1992	Nam	Không	33,2	1,80	TT	CC
379	RAGLN 21	Cao Văn T .	1990	Nam	Không	52,4	1,85	TT	CC
380	RAGLN 23	Cao Văn H .	1975	Nam	Không	74,9	1,86	TT	CG
381	RAGLN 25	Cao Văn L .	1976	Nam	Không	106,5	1,85	TT	CG
382	RAGLN 26	Tro Xuân P .	1993	Nam	Không	98,5	1,88	TT	CC
383	RAGLN 27	Cao Thanh T .	1977	Nam	Không	61,1	1,89	TT	CC
384	RAGLN 29	Cao Văn B .	1985	Nam	Không	80,8	1,85	TT	CC

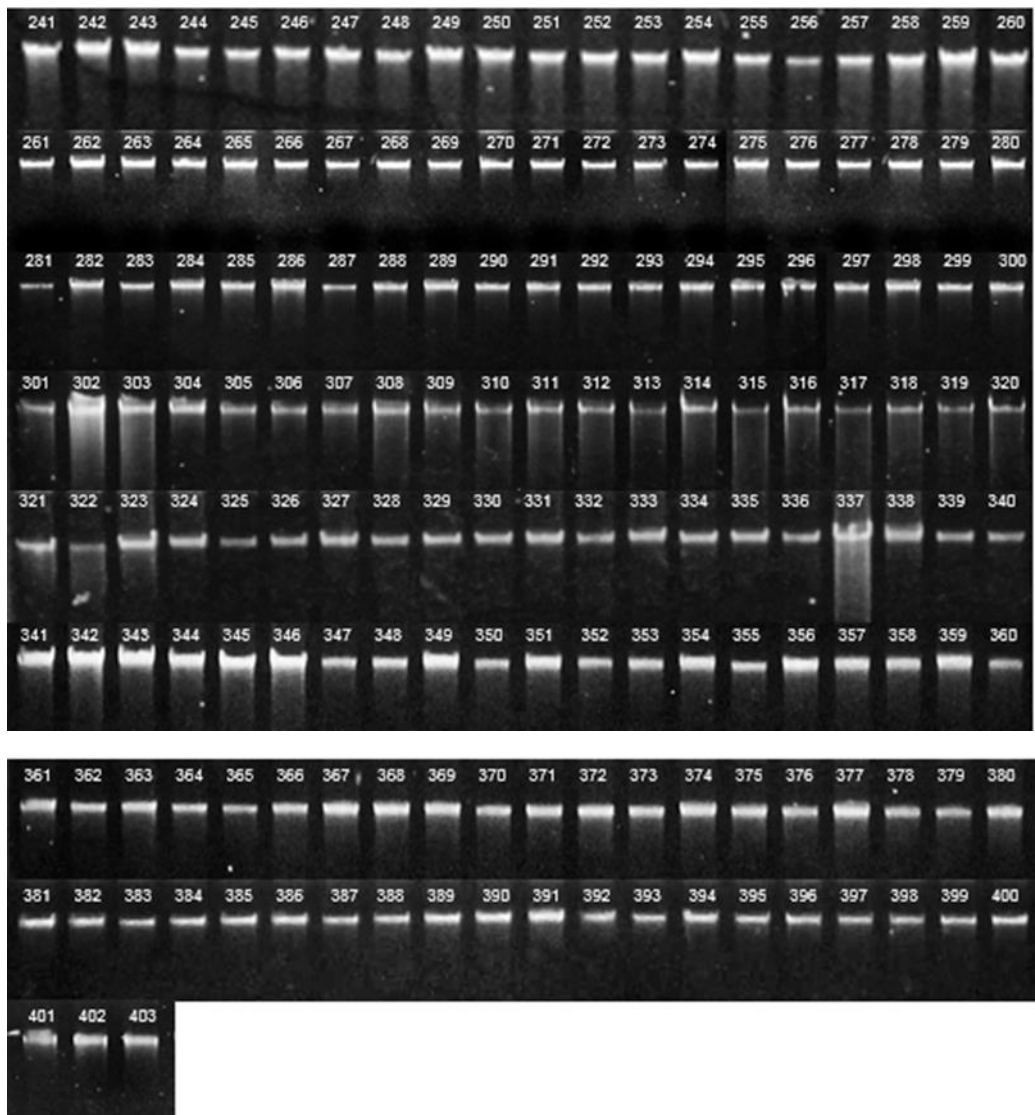
385	RAGLN 30	Cao H .	1992	Nam	Không	93,9	1.87	TC	CG
386	RAGLN 31	Cao H .	1993	Nam	Không	64,4	1.84	TT	CC
387	RAGLN 32	Cao V .	2002	Nam	Không	132,3	1.87	TT	CC
388	RAGLN 33	Cao K .	1988	Nam	Không	95,4	1.88	TT	CC
389	RAGLN 34	Cao Lâm N .	1994	Nam	Không	109,6	1.87	TT	CC
390	RAGLN 36	Mẫu T .	1988	Nam	Không	106,3	1.85	TT	CC
391	RAGLN 37	Cao Xuân Đ .	1976	Nam	Không	74,9	1.87	TT	CC
392	RAGLN 38	Mẫu D .	1974	Nam	Không	60,0	1.85	TC	CG
393	C4MIN1 04	Tạ Văn T .	1993	Nam	Không	51	1.86	CC	GG
394	C4MIN1 05	Vũ Văn C .	1998	Nam	Không	73,7	1.86	TC	CG
395	C4MIN1 06	Hoàng Văn B .	1984	Nam	Không	61,1	1.87	TT	CC
396	C4MIN1 07	Nguyễn Công Đ .	1990	Nam	Không	29,9	1.86	TT	CC
397	C4MIN1 10	Hoàng Đình Q .	2001	Nam	Không	101	1.87	TC	CG
398	C4MIN0 1	Nguyễn Trường G .	1980	Nam	Không	66,2	1.87	TT	CC
399	C4MIN0 2	Nguyễn Văn T .	1994	Nam	Không	73,9	1.87	TT	CC
400	C4MIN0 3	Trần Duy T .	1993	Nam	Không	49,6	1.83	TC	CG
401	C4MIN0 4	Nguyễn Huy H .	2001	Nam	Không	53,1	1.81	TC	CG
402	C4MIN0 6	Trần Văn T .	1988	Nam	Không	46,9	1.85	TC	CG
403	C4MIN0 7	Trần Anh C .	1982	Nam	Không	32	1.78	TT	CC

Trong đó. VSN012 – MIN89: mẫu của bệnh nhân vô sinh nam;

VSC001 – C4MIN07: mẫu của đối chứng

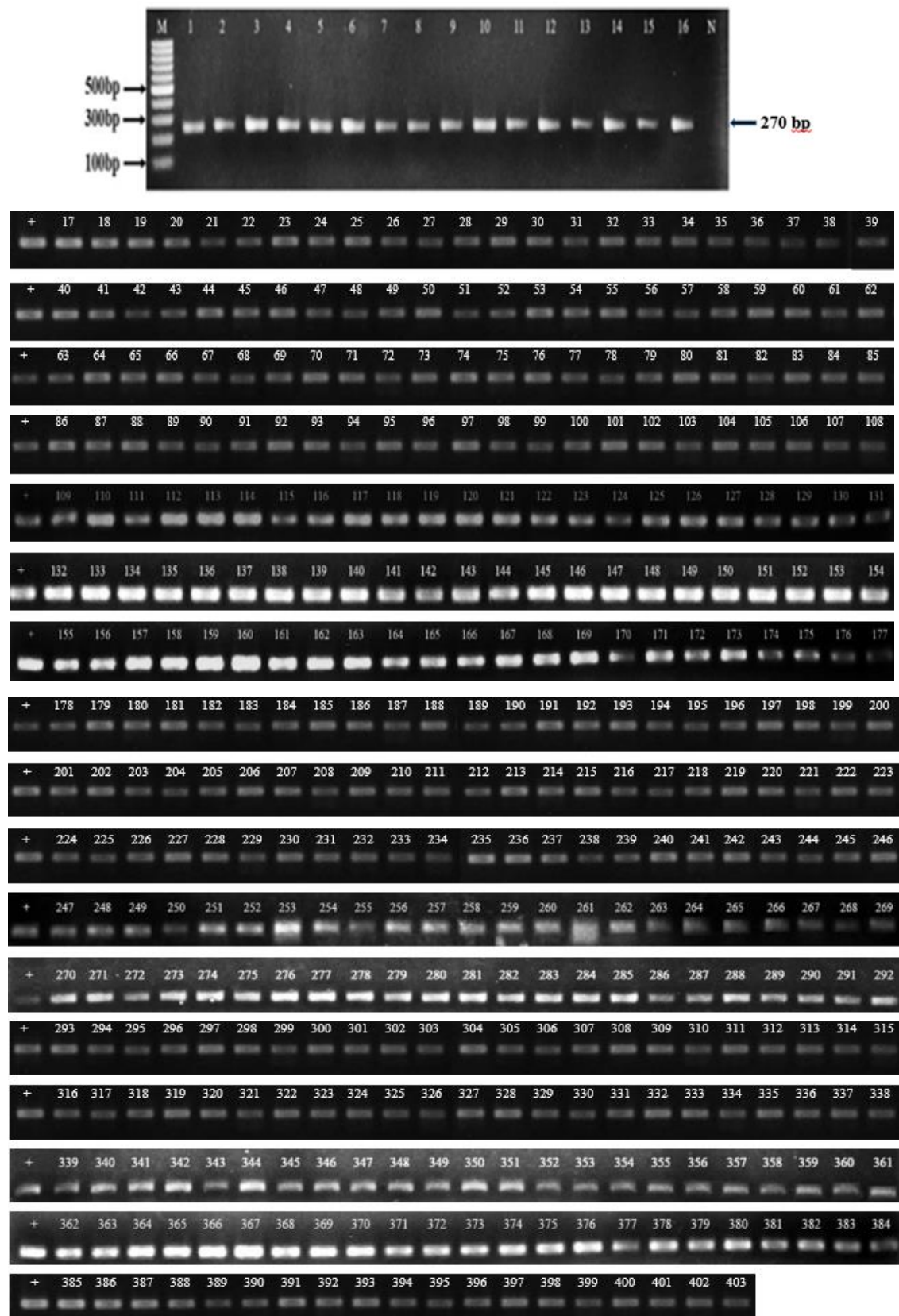
**Phụ lục 2. Kết quả điện di sản phẩm DNA tổng số tách chiết từ 403 mẫu máu nghiên cứu trên gel agarose 1%**





Trong đó từ 1 – 200: DNA của bệnh nhân vô sinh nam VSN001 – MIN89;  
 201 – 403: DNA của người nam bình thường VSC001 – C4MIN07 .

**Phụ lục 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR đa hình *CFAP70* rs4294502**

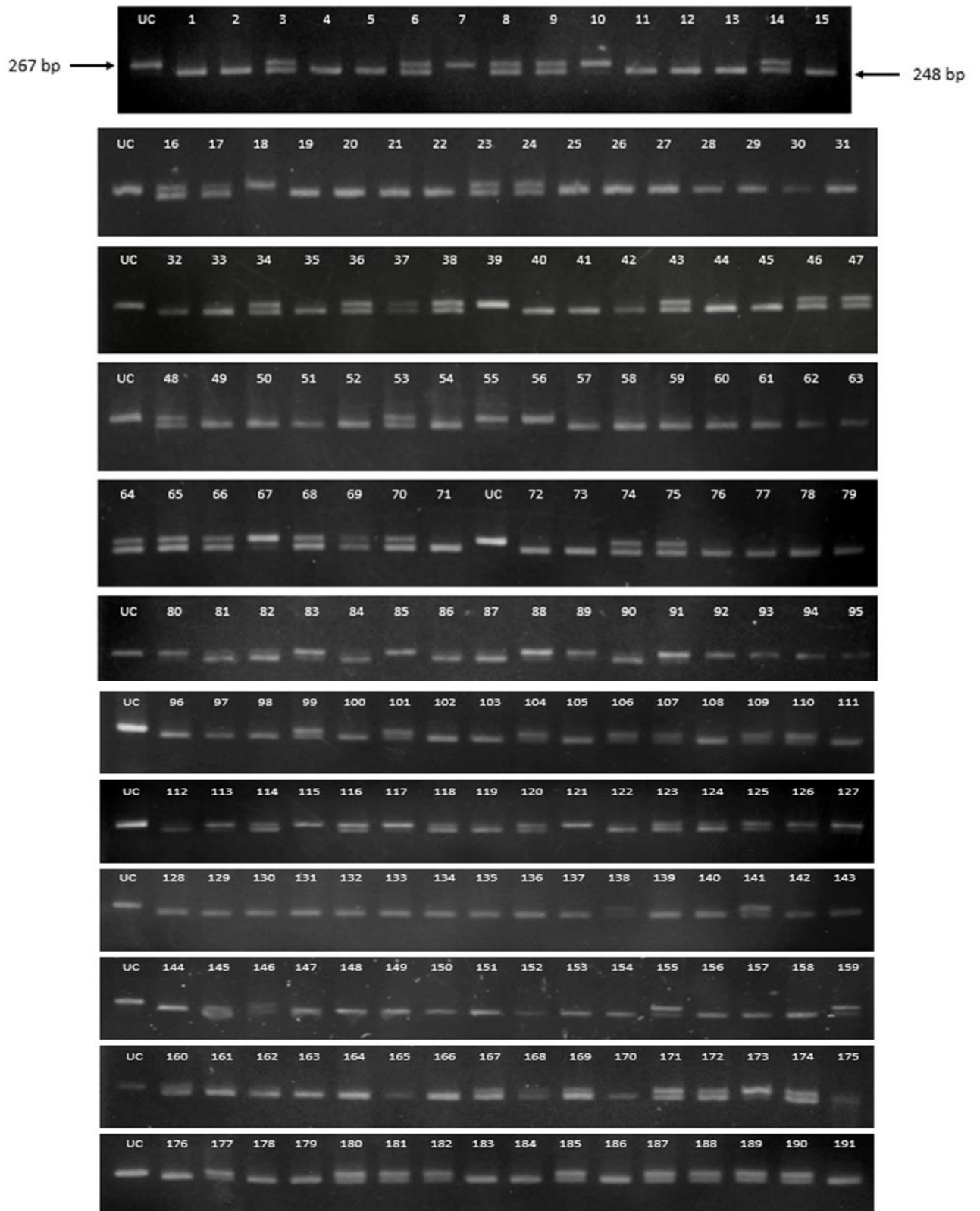


Trong đó từ 1 – 200: Sản phẩm PCR mẫu VSN001 – MIN89;

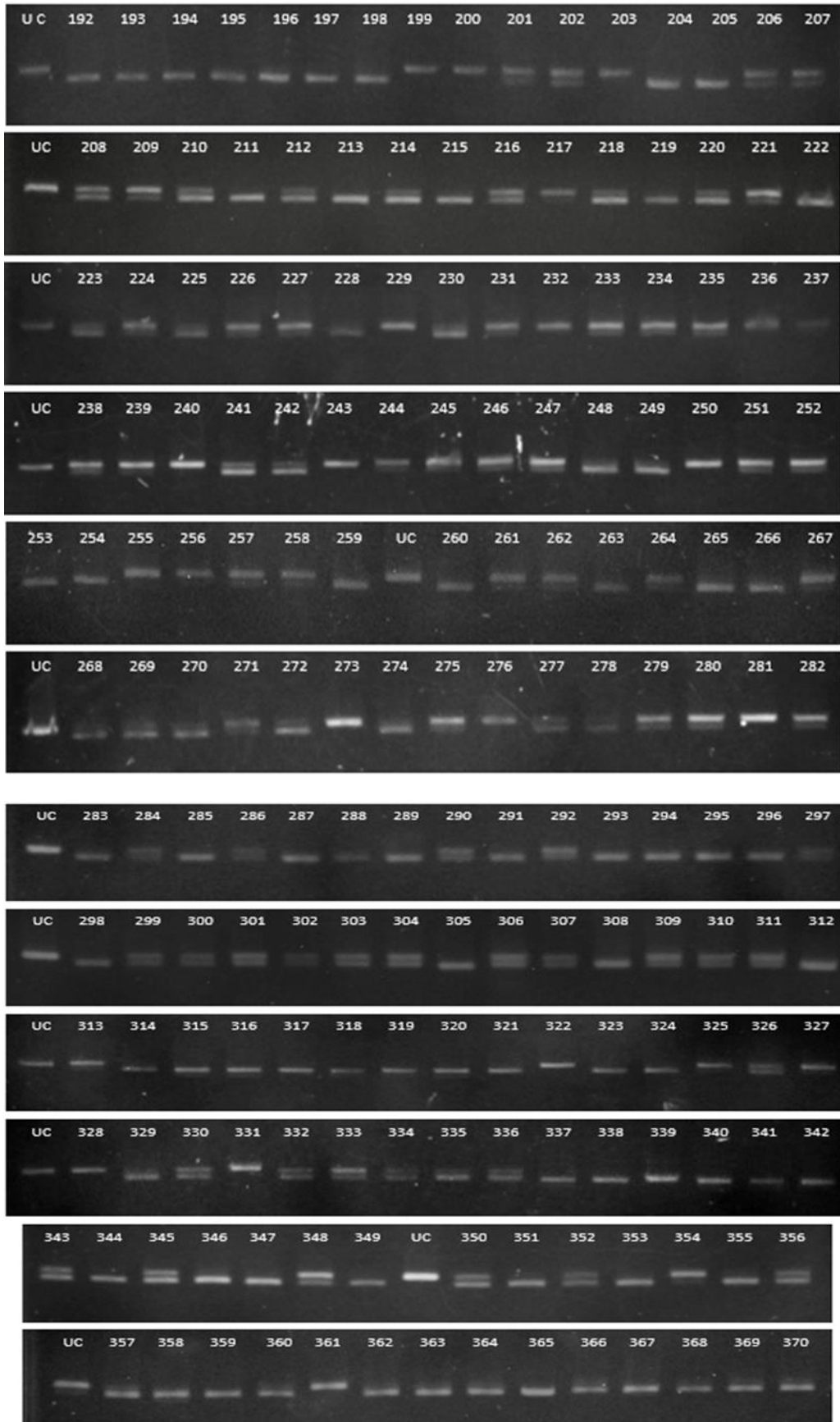
201 – 403: Sản phẩm PCR mẫu VSC001 – C4MIN07;

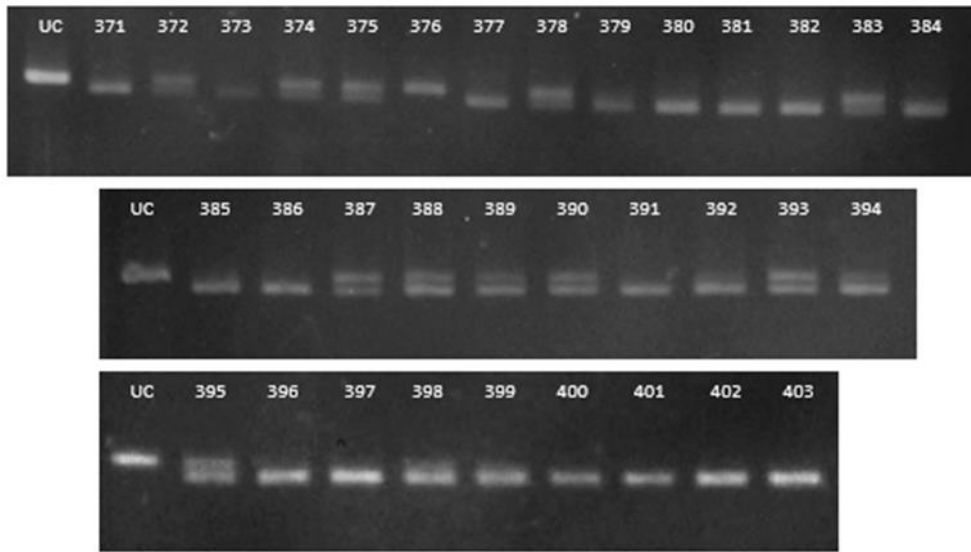
+: chứng dương.

**Phụ lục 4. Kết quả điện di sản phẩm cắt enzyme *Psp*1406I đa hình *CFAP70* rs4294502**









Trong đó từ 1 – 200: Sản phẩm cắt mẫu VSN001 – MIN89;

201 – 403: Sản phẩm cắt mẫu VSC001 – C4MIN07;

UC: Sản phẩm PCR không xử lý bằng enzyme *Psp1406I*.

**Phụ lục 5. Kết quả điện di sản phẩm PCR đa hình *CFAP70* rs4471347**



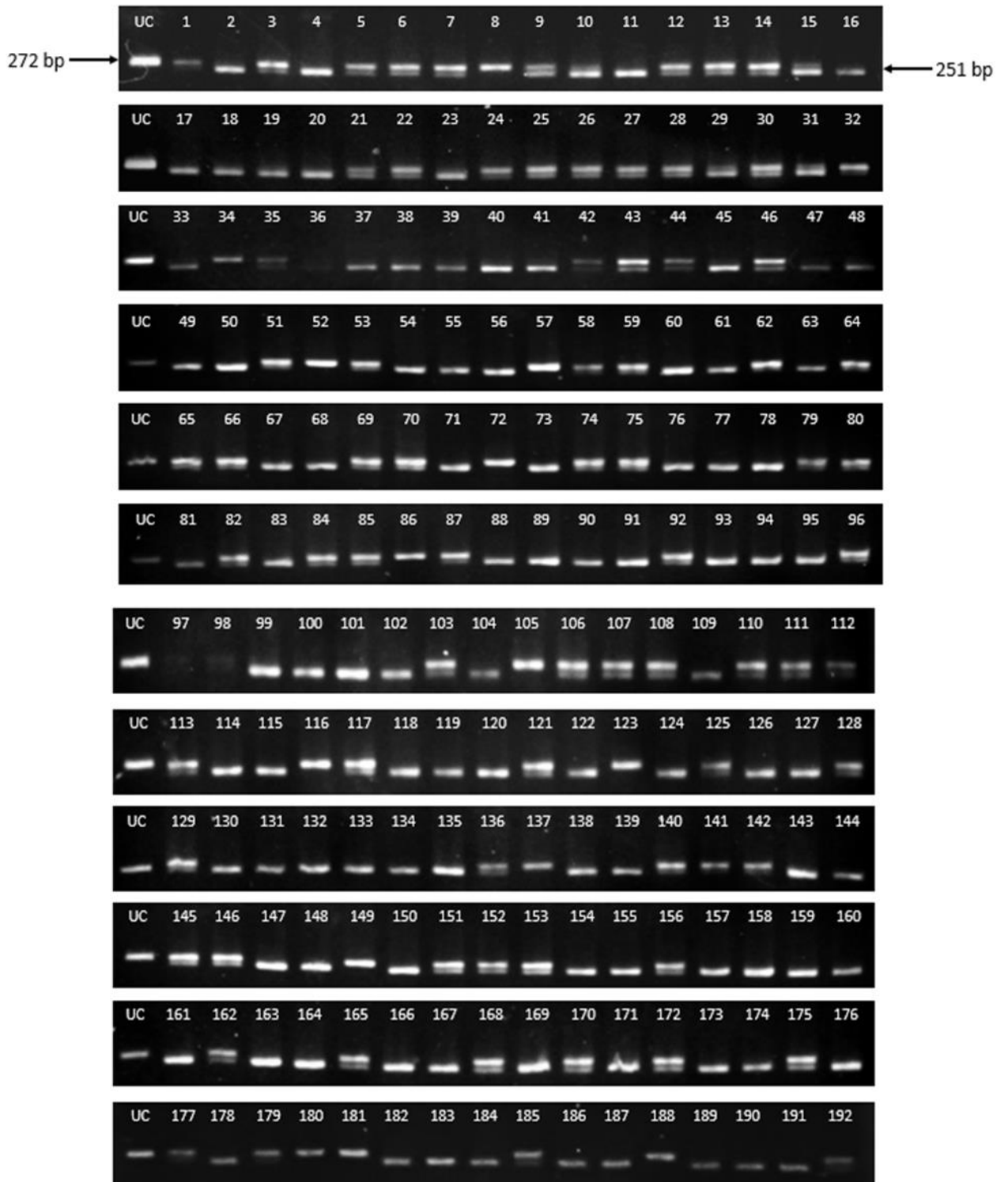


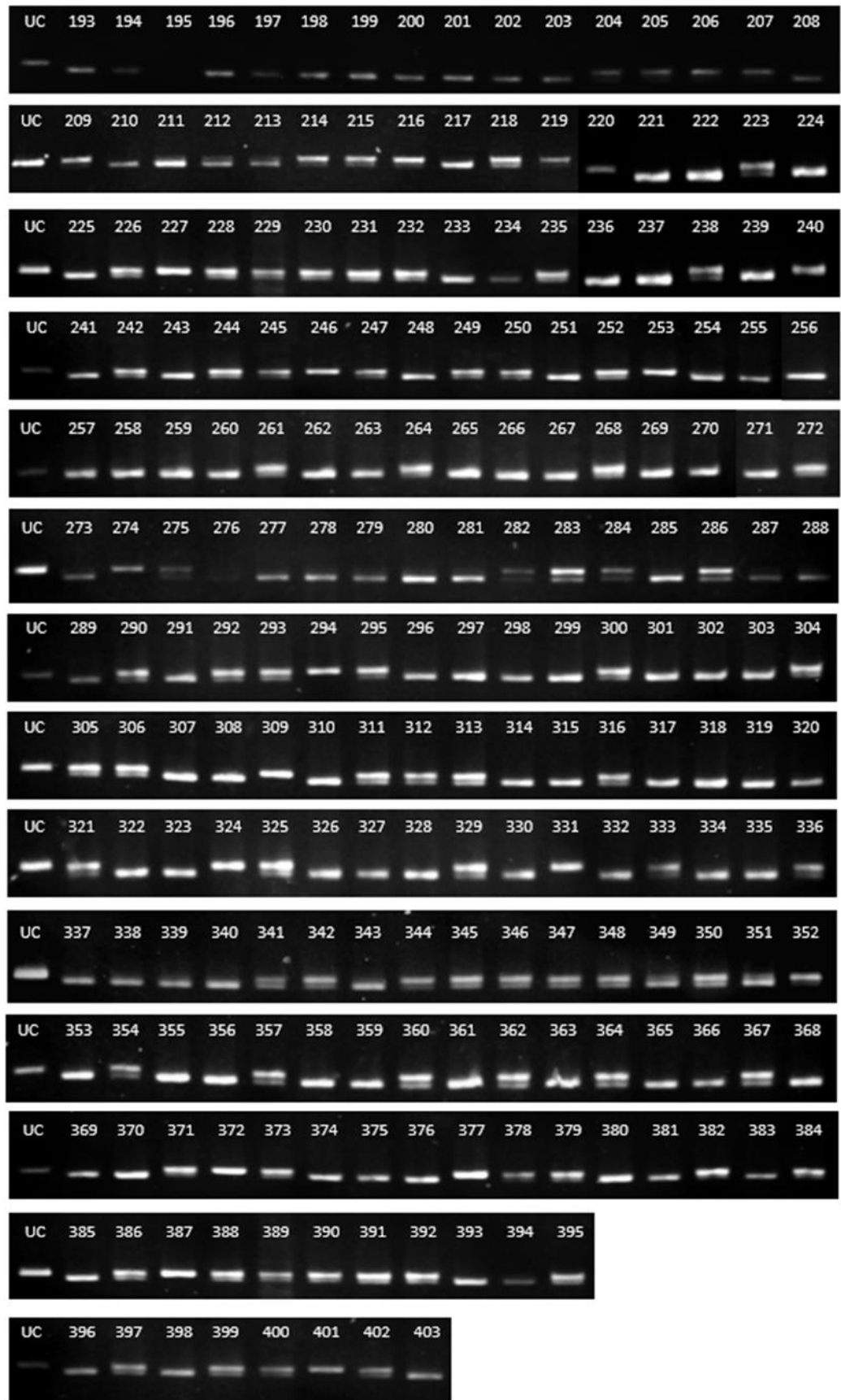
Trong đó từ 1 – 200: Sản phẩm PCR mẫu VSN001 – MIN89;

201 – 403: Sản phẩm PCR mẫu VSC001 – C4MIN07;

+: chứng dương .

**Phụ lục 6. Kết quả điện di sản phẩm cắt enzyme *Bsu*RI đa hình  
*CFAP70* rs4471347**





Trong đó từ 1 – 200: Sản phẩm cắt mẫu VSN012 – MIN089;  
 201 – 403: Sản phẩm cắt mẫu VSC001 – C4MIN07;  
 UC: sản phẩm PCR không xử lý bằng enzyme *BsuRI*.