

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

BỘ Y TẾ



VŨ THỊ HUYỀN

**ĐÁNH GIÁ SỰ BIẾN ĐỔI CỦA
MỘT SỐ GEN MÃ HÓA ENZYM CHUYỂN HÓA
XENOBIOTICS Ở NAM GIỚI VÔ SINH**

Chuyên ngành : Y Sinh học - Di truyền

Mã số : 62720111

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. PGS.TS. Trần Đức Phần**
- 2. TS. Nguyễn Thị Trang**

Phản biện 1: PGS.TS. Phan Thị Hoan

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Văn Khoa

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Nam Thắng

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Trường
học tại Trường Đại học Y Hà Nội

Vào giờ..... ngày tháng năm 20....

Có thể tìm hiểu luận án tại

- Thư viện Quốc gia
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Lý do chọn đề tài:

Vô sinh là tình trạng bệnh lý có xu hướng ngày càng tăng. Có nhiều nguyên nhân gây vô sinh ở nam giới. Để có hiệu quả cao trong điều trị, việc xác định nguyên nhân vô sinh là rất quan trọng.

Xenobiotics là các chất không có nguồn gốc từ sinh vật, trong đó có nhiều chất có hại. Khi chuyển hóa xenobiotics bị rối loạn gây tăng gốc tự do, từ đó có thể dẫn tới vô sinh.

Ở người, các gen *CYP1A1*, *NAT2* và *GSTP1* là những gen quy định tổng hợp các enzym chống oxy hóa. Khi bị biến đổi các gen này sẽ dẫn đến rối loạn chức năng của enzym giải độc dẫn đến các bệnh mãn tính, gây ung thư, vô sinh ở nam giới. Ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào đánh giá sự tác động của 3 gen này ở bệnh nhân vô sinh nam, vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm hai mục tiêu:

1. *Xác định các biến đổi nucleotid của các gen CYP1A1, NAT2, GSTP1 ở nam giới vô sinh nguyên phát.*
2. *Phân tích mối liên quan giữa các biến đổi nucleotid thường gặp của các gen CYP1A1, NAT2, GSTP1 với vô sinh nam.*

2. Những đóng góp của luận án:

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam, sử dụng kỹ thuật ARMS-PCR để xác định đa hình của các gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1* có liên quan đến vô sinh nam.

Với nghiên cứu này, lần đầu tiên chúng tôi đã phát hiện các tổ hợp đa hình của 3 gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1* gây tăng vô sinh nam ở Việt Nam với độ tái lập 100%, xác định được kiểu tương tác của các tổ hợp đa hình của 3 gen này khi gây vô sinh nam.

Sử dụng test oxysperm đã phát hiện nam giới vô sinh có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics, có nguy cơ tăng mức độ stress oxy hóa hơn những người bình thường 29,87 lần.

3. Cấu trúc của luận án:

Luận án gồm 122 trang, có 27 bảng, 21 hình và 1 biểu đồ, 193 tài liệu tham khảo trong đó có 178 tài liệu tiếng Anh, 15 tiếng Việt. Cấu trúc luận án gồm Đặt vấn đề 2 trang, Tổng quan 39 trang, Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu 20 trang, Kết quả 26 trang, Bàn luận 32 trang, Kết luận và Kiến nghị 3 trang.

Chương 1: TỔNG QUAN

1.1. Tình hình vô sinh và vô sinh nam

Theo WHO, vô sinh gặp ở 12%-15% cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản, tương đương 50-80 triệu người trên thế giới. Hiện nay vẫn còn nhiều trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân (KRNN).

Ngày nay, vấn đề môi trường, hóa chất độc hại, stress cũng đã làm tỷ lệ vô sinh ngày càng cao và trở thành vấn đề cần quan tâm.

1.2. Các nguyên nhân vô sinh nam

1.2.1. Nguyên nhân di truyền

1.2.1.1. Nguyên nhân di truyền ở mức độ tế bào

Các bất thường về số lượng hay cấu trúc nhiễm sắc thể (NST). Các bất thường này làm giảm quá trình sinh tinh dẫn đến hậu quả suy giảm chức năng sinh sản của nam giới.

1.2.1.2. Nguyên nhân di truyền ở mức độ phân tử

Cùng với sự phát triển của kỹ thuật sinh học phân tử các nguyên nhân vô sinh nam ở mức phân tử cũng được phát hiện nhiều. Trong đó có mất đoạn AZF trên NST Y, phân mảnh ADN tinh trùng, đa hình các gen như CFTR, AR, Hội chứng Kallmann, đa hình gen liên quan đến chuyển hóa folate, chuyển hóa xenobiotics...

1.2.2. Nguyên nhân sinh hóa

Fructose, kẽm, phosphatase, acid citric được chứng minh vai trò quan trọng trong sự di động, hình thái và mật độ tinh trùng.

1.2.3. Nguyên nhân do nội tiết

GnRH, GH, Testosterone, Inhibin tham gia vào quá trình sinh tinh cũng như sự biệt hóa và phát triển của tinh trùng.

1.2.4. Bệnh lý ảnh hưởng khả năng sinh sản ở nam giới

Các bệnh lý ảnh hưởng đến số và chất lượng tinh trùng thường gặp là: Giãn tĩnh mạch tinh, viêm tinh hoàn, ung thư tinh hoàn, các bệnh toàn thân, bệnh nhiễm trùng...

1.2.5. Độ tuổi sinh sản

Các nghiên cứu đã chứng minh tuổi càng cao thì số lượng tinh trùng càng giảm gây thiếu tinh.

1.2.6. Môi trường

Các yếu tố môi trường gây vô sinh nam được nhắc đến nhiều là kim loại nặng, khói thuốc lá, ethylen dibromid, chromium, ethylene dibromide, thuốc trừ sâu, dioxin... Các tác nhân này ức chế sự trưởng thành của tinh trùng làm giảm mật độ và di động của tinh trùng.

1.3. Xenobiotics và quá trình chuyển hóa xenobiotics trong cơ thể

Xenobiotics là những chất hóa học không do sinh vật tạo ra, khi vào cơ thể nếu không được chuyển hóa và thải trừ sẽ gây tăng gốc tự do (free radical), gây oxy hóa phân tử trong đó có ADN từ đó gây đa hình/đột biến và gây bệnh trong đó có thể gây vô sinh ở nam giới.

1.4. Các gen mã hóa enzym chuyển hóa xenobiotics chủ yếu

1.4.1 Gen CYP1A1

Trong hệ thống Cytochrome P₄₅₀, CYP1A1 là enzym chính chuyển hóa các hydrocacbon có nhân thơm, các amin dị vòng. Nếu quá trình chuyển hóa này không tốt dẫn đến tăng gốc tự do gây biến đổi ADN dẫn đến vô sinh ở nam giới.

CYP1A1 là gen nằm trên NST 15 (15q24.2-4) gồm 6.069 cặp base, có 7 exon và 6 intron. Protein CYP1A1 có 512 acid amin và có

trọng lượng phân tử 58165 Dalton đóng vai trò chính trong chuyển hóa giai đoạn I của các xenobiotics.

1.4.2. Gen *GSTP1*

Gen *GSTP1* nằm trên nhánh dài của NST số 11 gồm 3066 cặp base, tại vị trí 11q13.3. Enzym do gen này quy định xúc tác các phản ứng khử độc bằng cách liên hợp glutathion, trung hòa các chất độc hại, xenobiotics và các sản phẩm của stress oxy hóa. Các đa hình của gen *GSTP1* có thể làm chuyển hóa không diễn ra bình thường gây tăng gốc tự do và gây các bệnh mãn tính trong đó có vô sinh.

1.4.3. Gen *NAT2*

Nằm trên NST số 8, có 2 exon, 1 intron. Protein do *NAT2* mã hóa có 290 acid amin, khối lượng phân tử là 33.542 Dalton. Enzym này tham gia vào giai đoạn 2 chuyển hóa xenobiotics, hoạt động chủ yếu là acetyl hóa các xenobiotics tạo ra các sản phẩm dễ đào thải ra ngoài. Đa hình thường gặp của *NAT2* làm rối loạn quá trình giải độc của các enzym chuyển hóa xenobiotics từ đó dẫn đến vô sinh nam.

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu được xác định theo công thức:

$$n = \frac{4C}{(\ln OR)^2 pq}$$

Trong đó: $p = 0,29$ là tần số đa hình gen *CYP1A1* theo nghiên cứu của Sena Erdogan Aydes (đây là nghiên cứu có p nhỏ nhất, do vậy cỡ mẫu sẽ lớn). C : Là hằng số liên quan đến sai số loại I và loại II. Lấy giá trị $\alpha = 0,05$; $\beta = 0,2$ thì $C = 7,85$. Thay các giá trị vào được $n = 82,5$. Thực tế, chúng tôi đã nghiên cứu ở nhóm vô sinh là 170 và nhóm chứng là 170.

2.1.2. Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu

Nhóm vô sinh: Nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân, không có tinh trùng hoặc ít tinh trùng (<5 triệu/ml); Trong độ tuổi sinh sản; Đồng ý tham gia nghiên cứu.

Nhóm chứng: Nam giới trong độ tuổi sinh sản; Có ít nhất một con. Đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ

- Nam giới vô sinh đã được xác định nguyên nhân: Mất đoạn nhỏ trên NST Y, có bất thường NST, tắc nghẽn đường dẫn tinh, giãn tĩnh mạch tinh...

- Nam giới đang mắc các bệnh cấp tính, bị tâm thần...
- Nam giới bị các bệnh ảnh hưởng đến sức khỏe sinh sản.
- Những người không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang có đối chứng.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Thu thập thông tin về bản thân và các kết quả xét nghiệm liên quan

* Xét nghiệm tinh dịch

* Xét nghiệm di truyền học phân tử

Khuếch đại các gen cần nghiên cứu bằng kỹ thuật ARMS - PCR bằng bộ kit *CYP11A1*, *NAT2* và *GSTP1* của Lytech, Nga với 35 chu kỳ.

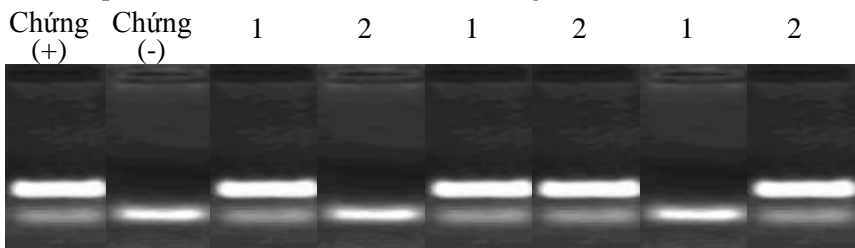
• Chu trình luân nhiệt:

Bảng 2.2. Chu trình luân nhiệt của phản ứng ARMS-PCR

Hoạt hóa Tag	Biến tính	Gắn môi	Kéo dài chuỗi	Kéo dài chuỗi cuối	Duy trì
1 chu kỳ	35 chu kỳ				1 chu kỳ
93°C 1 phút	93°C 10 giây	64°C 10giây	72°C 20 giây	72°C 10 phút	4 - 20°C ∞

2.2.3.4. Điện di

Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 3%.



Bệnh nhân 1 Bệnh nhân 2 Bệnh nhân 3

Hình 2.2. Kết quả điện di sản phẩm PCR

Chú thích: 1. Môi bình thường; 2. Môi đa hình

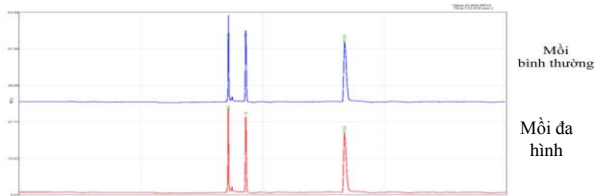
Bệnh nhân 1: bình thường (không có đa hình xảy ra)

Bệnh nhân 2: Dị hợp tử đa hình

Bệnh nhân 3: Đồng hợp tử đa hình.

Để kiểm chứng lại kết quả, chúng tôi điện di tự động, kết quả tương tự như điện di trên thạch agarose.

Ví dụ hình ảnh điện di tự động đa hình dị hợp tử sẽ như sau:



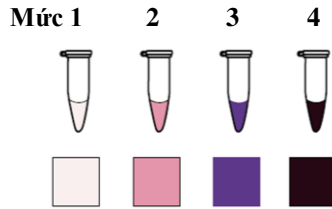
Hình 2.4. Điện di tự động QSEP100 sản phẩm PCR (dị hợp tử đa hình)

Xuất hiện một đỉnh màu xanh nằm giữa hai vạch giới hạn (màu xanh) ở môi bình thường và đỉnh màu đỏ nằm giữa hai vạch giới hạn ở môi đa hình => Bệnh nhân dị hợp tử đa hình.

*** Kiểm chứng kết quả của ARMS-PCR đã tiến hành trong nghiên cứu**

Để kiểm chứng kết quả ARMS-PCR, chúng tôi tiến hành giải trình tự gen 10 mẫu đã có kết quả của ARMS-PCR.

* Kỹ thuật đánh giá mức độ stress oxy hóa trong tinh dịch của bệnh nhân vô sinh nam có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics sử dụng bộ kit Oxisperm. Có 4 mức độ bắt màu như hình dưới:



Hình 2.6. Kết quả đo mức độ oxy hóa tinh dịch

- + Màu hồng nhạt: mức độ stress oxy hóa thấp
- + Màu hồng tím: mức độ stress oxy hóa trung bình thấp
- + Màu xanh tím: mức độ stress oxy hóa trung bình
- + Màu đen: mức độ stress oxy hóa cao

* Các bước nghiên cứu gồm:

- Lập bệnh án di truyền theo mẫu của nghiên cứu.
- Xét nghiệm tinh dịch đồ.
- Xác định tần số alen, kiểu gen của đa hình các gen *CYP1A1*,

NAT2, *GSTP1* bằng kỹ thuật ARMS-PCR.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo chương trình SPSS 16.0.

- Độ lệch tương đối giữa dị hợp tử lý thuyết (H_e) và dị hợp tử thực nghiệm (H_o) được tính theo công thức: $D = (H_o - H_e)/H_e$.

- Xác định tương tác giữa các gen bằng 2 phương pháp:

- Phương pháp truyền thống để xác định tương tác giữa 2 gen và phương pháp dùng phần mềm MDR (Ritchie, 2005) để xác định tương tác của nhiều gen.

- Phương pháp MDR có thể xác định được tổ hợp 2, 3, 4, 5... alen tương tác. Giá trị p trong xây dựng mô hình tương tác gen với n-locus được đánh giá bằng kiểm định Monte-Carlo (1000 tổ hợp).

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. So sánh kết quả của ARMS-PCR với giải trình tự gen

Kết quả 10 mẫu xác định đa hình 2455A>G của gen *CYP1A1*, 481C>T và 590G>A của gen *NAT2*, 313G>A và 341C>T của gen *GSTP1* bằng phương pháp ARMS - PCR là trùng hợp với kết quả giải trình tự.

3.2. Đặc điểm về tuổi của nhóm vô sinh và nhóm đối chứng

Bảng 3.1. Tuổi của nhóm vô sinh (n=170) và nhóm chứng (n=170)

Nhóm tuổi	Nhóm vô sinh		Nhóm chứng		p
	SL	%	SL	%	
18 - 24	11	6,5	9	5,3	p>0,05
25 - 34	126	74,1	120	70,6	
35 - 44	28	16,5	36	21,2	
45 - 50	5	2,9	5	2,9	
X ± SD	31,43± 5,548		31,94±5,074		p=0,381

Nhận xét: Độ tuổi trung bình nhóm vô sinh là 31,43 ± 5,548, nhóm chứng là 31,94 ± 5,074. Tuổi trung bình giữa 2 nhóm không có sự khác biệt.

3.3. Biến đổi nucleotid của các gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1*

Bảng 3.2. Phân bố kiểu gen và giá trị dị hợp tử của các đa hình gen chuyển hóa xenobiotics ở nhóm chứng

Gen	Đa hình	Kiểu gen	Phân bố kiểu gen		Mức độ dị hợp tử		χ^2 (p)
			n=170	%	H ₀	H _e	
<i>CYP1A1</i>	2455A>G	AA	134	78,8	0,212	0,189	2,38 (p>0,05)
		AG	36	21,2			
		GG	0	0			
<i>NAT2</i>	481C>T	CC	136	80	0,211	0,189	2,38 (p>0,05)
		CT	34	20			
		TT	0	0			
<i>NAT2</i>	590G>A	GG	126	74,1	0,259	0,225	3,76 (p>0,05)
		GA	44	25,9			
		AA	0	0			
<i>GSTP1</i>	313G>A	GG	145	85,3	0,147	0,136	1,07 (p>0,05)
		GA	25	14,7			
		AA	0	0			

<i>GSTP1</i>	341C>T	CC	156	91,8	0,082	0,079	0,31 ($p>0,5$)
		CT	14	8,2			
		TT	0	0			

H_0 là mức độ dị hợp tử thực nghiệm, H_e là mức độ dị hợp tử lý thuyết.
 Nhận xét: sự phân bố kiểu gen của 5 đa hình ở các gen nghiên cứu trong nhóm chứng đều tuân theo định luật Hardy-Weinberg.

Bảng 3.3. Phân bố kiểu gen và giá trị dị hợp tử của các đa hình gen chuyển hóa xenobiotics ở nhóm vô sinh

Gen	Đa hình	Kiểu gen	Phân bố kiểu gen		Mức độ dị hợp tử		χ^2 (p)
			n=170	%	H_0	H_e	
<i>CYP1A1</i>	2455A>G	AA	78	45,9	0,524	0,403	15,3 ($p<0,05$)
		AG	89	52,4			
		GG	3	1,7			
<i>NAT2</i>	481C>T	CC	84	49,4	0,506	0,378	19,5 ($p<0,05$)
		CT	86	50,6			
		TT	0	0			
<i>NAT2</i>	590G>A	GG	71	41,8	0,535	0,431	9,88 ($p<0,05$)
		GA	91	53,5			
		AA	8	4,7			
<i>GSTP1</i>	313G>A	GG	90	52,9	0,359	0,413	2,19 ($p>0,05$)
		GA	61	35,9			
		AA	19	11,2			
<i>GSTP1</i>	341C>T	CC	105	61,8	0,382	0,309	9,05 ($p<0,05$)
		CT	65	38,2			
		TT	0	0			

H_0 là mức độ dị hợp tử thực nghiệm, H_e là mức độ dị hợp tử lý thuyết
 Nhận xét: trừ đa hình 313G>A của gen *GSTP1*, sự phân bố của các kiểu gen còn lại không tuân theo định luật Hardy-Weinberg. Phân bố kiểu gen của đa hình 313G>A của gen *GSTP1* tương ứng với phân bố Hardy - Weinberg (với $p>0,05$).

3.3.1. Kết quả nghiên cứu đa hình gen *CYP1A1 2455A>G*

Bảng 3.4. Kết quả phân tích kiểu gen của đa hình *CYP1A1 2455A>G*
(nhóm vô sinh n=170, nhóm chứng n=170)

<i>CYP1A1</i> (2455A>G)	Nhóm vô sinh (%)	Nhóm chứng (%)	χ^2 (p)	OR	95%CI
AA	45,9	78,8	p<0,001	0,23	0,14-0,37
AG	52,4	21,2		4,09	2,54-6,58
AG+GG	54,1	21,2		4,39	2,73-7,07
Alen A	72,1	89,4	p<0,001	0,31	0,2-0,46
Alen G	27,9	10,6		3,27	2,15-4,98

Nhận xét: Nhóm vô sinh: Tỷ lệ mang gen AA, AG, GG lần lượt là 45,9%, 52,4 % và 1,8%, tỷ lệ alen A là 72,1%, tỷ lệ alen G là 7,9%. Nhóm chứng: AA, AG, GG lần lượt là 78,8%, 21,2% và 0%, tỷ lệ alen A là 89,4%, tỷ lệ alen G là 10,6%. Kiểu gen dị hợp AG làm tăng khả năng vô sinh lên 4,09 lần so với kiểu gen khác. Kiểu gen dị hợp AG và kiểu gen đồng hợp GG cao hơn nhóm chứng. Tần số alen G chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, người có alen G, khả năng vô sinh tăng lên 3,27 lần.

3.3.2. Kết quả nghiên cứu đa hình gen *NAT2*

Bảng 3.6. Kết quả phân tích kiểu gen của đa hình gen *NAT2*
481C>T (nhóm vô sinh n=170, nhóm chứng n=170)

<i>NAT2</i> (481C>T)	Nhóm vô sinh (%)	Nhóm chứng (%)	χ^2 (p)	OR	95%CI
CC	49,4	80	p<0,001	0,24	0,15-0,40
CT	50,6	20		4,10	2,53-6,63
CT+TT	50,6	20		4,10	2,53-6,63
Alen C	74,7	90	p<0,001	0,33	0,21-0,50
Alen T	25,3	10		3,05	1,98-4,69

Nhận xét: Nhóm vô sinh: tỷ lệ kiểu gen CC, CT, lần lượt là 49,4%, 50,6%, tỷ lệ alen C là 74,7%, tỷ lệ alen T là 25,3%. Nhóm chứng: tỷ lệ kiểu gen CC, CT, TT lần lượt là 80%, 20%, tỷ lệ alen C là 90%, tỷ lệ alen T là 10,0%. Tần số kiểu gen CT chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, kiểu gen này khả năng vô sinh tăng lên 4,1 lần so với nhóm chứng. Tổng hợp kiểu gen CT và TT cho thấy khả năng vô sinh tăng lên 4,1 lần. Tần số alen T chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, người mang alen T khả năng vô sinh tăng 3,05 lần.

Bảng 3.8. Kết quả phân tích kiểu gen, alen của đa hình gen NAT2 590 G>A (nhóm vô sinh n=170, nhóm chứng n=170)

NAT2 590G>A	Nhóm vô sinh (%)	Nhóm chứng (%)	χ^2 (p)	OR	95%CI
GG	41,8	74,1	p<0,001	0,25	0,16-0,40
GA	53,5	25,9		3,30	2,09-5,21
GA+AA	58,2	25,9		3,99	2,52-6,32
Alen G	68,5	87,1	p<0,001	0,32	0,22-0,48
Alen A	31,5	12,9		3,09	2,09-4,57

Nhận xét: Nhóm vô sinh: Tỷ lệ mang gen GG, GA, AA lần lượt là 41,8%, 53,5% và 4,7% có kiểu AA, tỷ lệ alen G là 68,5%, tỷ lệ alen A là 31,5%. Nhóm chứng: Tỷ lệ mang gen GG, GA, AA lần lượt là 74,1 25,9%, 0%, tỷ lệ alen G là 87,1%, tỷ lệ alen A là 12,9%. Tần số kiểu gen dị hợp GA chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, ở người có kiểu gen GA, khả năng bị vô sinh tăng 3,3 lần. Tổng hợp kiểu gen GA và AA, khả năng vô sinh tăng lên 3,99 lần. Tần số alen A chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, người mang alen A khả năng vô sinh tăng lên 3,09 lần.

3.3.3. Kết quả nghiên cứu đa hình gen GSTP1

Bảng 3.10. Kết quả phân tích kiểu gen, alen của đa hình gen GSTP1 313G>A (nhóm vô sinh n=170, nhóm chứng n=170)

<i>GSTP1</i> 313G>A	Nhóm vô sinh (%)	Nhóm chứng (%)	χ^2 (p)	OR	95% CI
Kiểu gen GG	52,9	85,3	46,94 p<0,001	0,19	0,12-0,33
Kiểu gen GA	35,9	14,7		3,25	1,92-5,50
Kiểu gen GA+AA	47,1	14,7		5,16	3,06-8,68
Alen G	70,9	92,6	54,01	0,19	0,12-0,31
Alen A	29,1	7,4	p<0,001	5,18	3,24-8,28

Nhận xét: Nhóm vô sinh: Tỷ lệ mang gen GG, GA, AA lần lượt là 52,9%, 35,9% và 11,2% có kiểu gen AA, tỷ lệ alen G là 70,9%, tỷ lệ alen A là 29,1%. Nhóm chứng: Tỷ lệ kiểu gen GG, GA, AA lần lượt là 85,3%, 14,7% và 0%, tỷ lệ alen G là 92,6%, tỷ lệ alen A là 7,4%. Tần số kiểu gen dị hợp GA chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, người có kiểu gen GA có khả năng vô sinh tăng 3,25 lần. Tổng hợp kiểu gen dị hợp GA và kiểu gen đồng hợp AA cho thấy khả năng vô sinh tăng 5,16 lần. Tần số alen A chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, người có alen A khả năng vô sinh tăng 5,18 lần.

Bảng 3.12. Kết quả phân tích kiểu gen, alen của đa hình gen GSTP1 341C>T (nhóm vô sinh n=170, nhóm chứng n=170)

<i>GSTP1</i> 341C>T	Nhóm vô sinh (%)	Nhóm chứng (%)	χ^2 (p)	OR	95% CI
Kiểu gen CC	61,8	91,8	42,89	0,14	0,08-0,27
Kiểu gen CT	38,2	8,2	p<0,001	6,90	3,68-12,93
Kiểu gen CT+TT	38,2	8,2		6,90	3,68-12,93
Alen C	80,9	95,9	37,25	0,18	0,10-0,33
Alen T	19,1	4,1	p<0,001	5,50	3,02-10,02

Nhận xét: Nhóm vô sinh: tỷ lệ kiểu gen CC, CT lần lượt là 61,8%, 38,2%; tỷ lệ alen C là 80,9%, tỷ lệ alen T là 19,1%. Nhóm chứng: tỷ lệ kiểu gen CC, CT lần lượt là 91,8%, 8,2%. Tần số kiểu gen dị hợp CT chủ yếu gặp ở nhóm vô sinh, ở người có kiểu gen dị hợp CT, khả năng vô sinh tăng 6,9 lần, tỷ lệ alen C là 95,9%, tỷ lệ alen T là 4,1%. Người có alen T khả năng vô sinh tăng 5,5 lần.

3.4. Liên quan giữa đa hình gen *GSTPI*; *NAT2* và *CYP1A1* với vô sinh

Bảng 3.14. Kết quả phân tích kiểu gen kết hợp 2 đa hình *NAT2* và *GSTPI* (nhóm vô sinh $n=170$, nhóm chứng $n=170$)

Mối liên quan giữa <i>NAT2</i> và <i>GSTPI</i>	Nhóm vô sinh	Nhóm chứng	OR	95%CI
<i>NAT2(481C>T)</i> và <i>GSTPI(313G>A)</i>				
481CC và 313GG	41(24,1%)	116(68,2%)	0,15	0,09 - 0,24
481CC và (313GA hoặc 313AA)	43(25,3%)	20(11,8%)	2,54	1,42 - 4,54
313GG và (481 CT hoặc 481TT)	49(28,8%)	29(17,1%)	1,97	1,17 - 3,31
(481CT hoặc 481TT) và (313GA hoặc 313AA)	37(21,8%)	5(2,9%)	9,18	3,51 - 24,01
<i>NAT2(481C>T)</i> và <i>GSTPI(341C>T)</i>				
481CC và 341CC	42(24,7%)	128(75,3%)	0,11	0,07 - 0,18
481CC và (341CT hoặc 341TT)	42(24,7%)	8(4,7%)	6,64	3,01 - 14,65
341CC và (481 CT hoặc 481TT)	63(37,1%)	28(16,5%)	2,99	1,79 - 4,98
(481CT hoặc 481TT) và (341CT hoặc 341TT)	23(13,5%)	6(3,5%)	4,28	1,69 - 10,79
<i>NAT2(590G>A)</i> và <i>GSTPI(313G>A)</i>				
590GG và 313GG	33(19,4%)	108(63,5%)	0,14	0,08 - 0,23
590GG và (313GA hoặc 313AA)	38(22,4%)	18(10,6%)	2,43	1,32 - 4,46
313GG và (590GA hoặc 590AA)	57(33,5%)	37(21,8)	1,81	1,12 - 2,94
(590GA hoặc 590AA) và (313GA hoặc 313AA)	42(24,7%)	7(4,1%)	7,64	3,32 - 17,57
<i>NAT2(590G>A)</i> và <i>GSTPI(341C>T)</i>				
590GG và 341CC	41(24,1%)	117(68,8%)	0,14	0,09 - 0,23
590GG và (341CT hoặc 341TT)	64(37,6%)	39(22,9%)	2,03	1,26 - 3,26
341CC và (590GA hoặc 590AA)	30(17,6%)	9(5,3%)	3,83	1,76 - 8,35
(590GA hoặc 590AA) và (341CT hoặc 341TT)	35(20,6%)	5(2,9%)	8,56	3,26 - 22,44

Bảng 3.15. Kết quả phân tích kiểu gen kết hợp 2 đa hình *CYP1A1* và *NAT2* ở nhóm vô sinh ($n=170$) và nhóm chứng ($n=170$)

Mối liên quan giữa <i>NAT2</i> và <i>CYP1A1</i>	Nhóm vô sinh	Nhóm chứng	OR	95%CI
<i>NAT2 (481C>T)</i> và <i>CYP1A1 (2455A>G)</i>				
481CC và 2455AA	44 (25,9%)	111 (65,3%)	0,19	0,12 - 0,30
481CC và (2455AG hoặc 2455GG)	40 (23,5%)	25 (14,7%)	1,78	1,03 - 3,10
2455AA và (481 CT hoặc 481TT)	34 (20%)	23 (13,5%)	1,60	0,90 - 2,85
(481CT hoặc 481TT) và (2455AG hoặc 2455GG)	52 (30,6%)	11 (6,5%)	6,37	3,19 - 12,73
<i>NAT2 (590G>A)</i> và <i>CYP1A1 (2455A>G)</i>				
590GG và 2455AA	36 (21,2%)	106 (62,4%)	0,16	0,10 - 0,26
590GG và (2455AG hoặc 2455GG)	35 (20,6%)	20 (11,8%)	1,94	1,07 - 3,53
2455AA và (590GA hoặc 590AA)	42 (24,7%)	28 (16,5%)	1,66	0,98 - 2,84
(590GA hoặc 590AA) và (2455AG hoặc 2455GG)	57 (33,5%)	16 (9,4%)	4,86	2,65 - 8,89

Bảng 3.16. Kết quả phân tích kiểu gen kết hợp 2 đa hình *GSTP1* và *CYP1A1* ở nhóm vô sinh ($n=170$) và nhóm chứng ($n=170$)

Mối liên quan giữa <i>GSTP1</i> và <i>CYP1A1</i>	Nhóm vô sinh	Nhóm chứng	OR	95%CI
<i>GSTP1(313G>A)</i> và <i>CYP1A1 (2455A>G)</i>				
313GG và 2455AA	35(20,6%)	120(70,6%)	0,11	0,07 - 0,18
313GG và (2455AG hoặc 2455GG)	43(25,3%)	14(8,2%)	3,77	1,98 - 7,21
2455AA và (313GA hoặc 313AA)	55(32,4%)	25(14,7%)	2,77	1,63 - 4,72
(313GA hoặc 313AA) và (2455AG hoặc 2455GG)	37(21,8%)	11(6,5%)	4,02	1,97 - 8,19

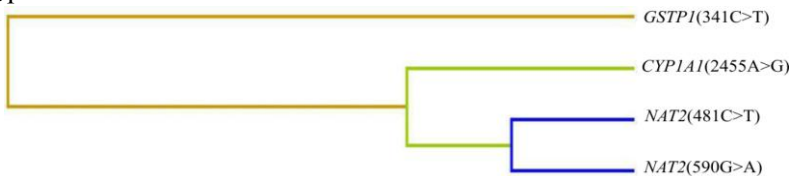
<i>GSTPI(341C>T)</i> và <i>CYP1A1(2455A>G)</i>				
341CC và 2455AA	40(23,5%)	123(72,4%)	0,12	0,07 - 0,19
341CC và (2455AG hoặc 2455GG)	65(38,2%)	33(19,4%)	2,57	1,57 - 4,20
2455AA và (341CT hoặc 341TT)	38(22,4%)	11(6,5%)	4,16	1,57 - 4,20
(341CT hoặc 341TT) và (2455AG hoặc 2455GG)	27(15,9%)	3(1,8%)	10,51	3,12- 35,37

Nhận xét: Khi đa hình xảy ra ở cả 2 gen thì nguy cơ vô sinh rất cao.

Bảng 3.17. Tổ hợp tương tác gen có giá trị nhất ở các locus của các đa hình gen hệ thống Xenobiotics ở bệnh nhân vô sinh nam

Các kiểu tương tác 2, 3, 4, 5 locus	Độ tái lập (%)	Lỗi dự đoán	
		Thực nghiệm(%)	Lý thuyết(%)
<i>GSTPI(341C>T)</i> và <i>CYP1A1(2455A>G)</i>	50	14,1	38,9
<i>GSTPI(341C>T)</i> và <i>CYP1A1(2455A>G)</i> và <i>NAT2(590G>A)</i> ;	100	30,8	46,4
<i>GSTPI(341C>T)</i> và <i>CYP1A1(2455A>G)</i> và <i>NAT2(590G>A)</i> và <i>NAT2(481C>T)</i>	100	22,3	52,5

Nhận xét: tổ hợp có giá trị nhất là *GSTPI(341C>T)* và *CYP1A1(2455A>G)* và *NAT2(590G>A)*; với độ tái lập 100%, và *CYP1A1(2455A>G)* và *NAT2(590G>A)* và *NAT2(481C>T)* với độ tái lập 100%.



Biểu đồ 3.1. Các kiểu tổ hợp gen có giá trị tiên đoán cao nhất

- Quy ước:*
- Đường màu cam thể hiện tương tác cộng gộp
 - Đường màu xanh lá cây thể hiện tương tác hỗ trợ (mức độ cao)
 - Đường màu xanh nước biển thể hiện tương tác hỗ trợ (mức độ trung bình)

Mô hình cho thấy tổ hợp giữa các đa hình gen *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A); hoặc *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(481C>T) biểu hiện tương tác cộng gộp, trong đó *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A) hoặc *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(481C>T) là tương tác hỗ trợ.

3.5. Mối liên quan giữa mức độ stress oxy hóa trong tinh dịch ở bệnh nhân nam có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics

Bảng 3.18. Sự phân bố các mức độ OS

Mức OS	Nhóm bệnh (n = 71)		Nhóm chứng (n = 72)		χ^2 (p)	OR	(95% CI)
	n ₁	%	n ₂	%			
HOS	56	78,9	8	11,1	66,39 p<0,001	29,87	11,78-75,70
LOS	15	21,1	64	88,9		0,03	0,01 - 0,08

Nhận xét: Ở nhóm bệnh, tỷ lệ bệnh nhân có mức OS cao (HOS) là 78,9%, tỷ lệ mức OS thấp (LOS) là 21,1%. Ở nhóm chứng, tỷ lệ bệnh nhân có mức OS cao (HOS) chỉ chiếm 11,1%, trong khi đó tỷ lệ bệnh nhân có mức OS thấp là 88,9%.

Nhóm vô sinh có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics, có nguy cơ tăng mức độ stress oxy hóa hơn người bình thường 29,87 lần.

Bảng 3.19. Sự phân bố số lượng đa hình gen chuyển hóa xenobiotics giữa các mức OS ở nhóm bệnh

Số lượng đa hình	Nhóm HOS (n = 56)		Nhóm LOS (n = 15)		χ^2	p
	n ₁	%	n ₂	%		
≥ 2	49	87,5	11	73,3	1,81	0,4
1	7	12,5	4	26,7		

Nhận xét: Nhóm HOS có 87,5% có từ 2 đa hình gen chuyển hóa xenobiotics trở lên, chỉ có 12,5% bệnh nhân có tối đa 1 đa hình.

Mức độ oxy hóa trong tinh dịch tuy chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm có ≥ 2 đa hình và nhóm còn lại, nhưng nhìn chung nhóm có ≥ 2 đa hình có xu hướng mức oxy hóa cao hơn nhóm còn lại.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm về tuổi của đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình của nhóm vô sinh là $31,43 \pm 5,548$, nhóm chứng là $31,94 \pm 5,074$. Không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê về tuổi giữa hai nhóm nghiên cứu ($p=0,381$). Như vậy là 2 nhóm nghiên cứu tương đồng với nhau về điều kiện tuổi, đảm bảo kết quả về đa hình gen chuyển hóa xenobiotics, mức độ thiếu tinh không phải do tuổi.

4.2. Các biến đổi nucleotid của các gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1* với vô sinh

4.2.1. Phân bố kiểu gen và sự tương ứng với cân bằng Hardy-Weinberg ở nhóm vô sinh và nhóm chứng

Phân bố kiểu gen ở nhóm chứng tuân theo định luật Hary-Weinberg chứng tỏ nhóm chứng không có tác động của tác nhân gây đa hình. Ở nhóm vô sinh, trừ 313G>A gen *GSTP1*, tất cả các kiểu gen khác có sự phân bố khác với phân bố Hary-Weinberg chứng tỏ đã có tác động của đa hình gen gây thay đổi tần số vô sinh.

4.2.2. Sự phân bố kiểu gen và mối liên quan giữa đa hình gen *CYP1A1 2455A>G* với vô sinh nam

Các nghiên cứu của Luo H. (2014, Nejati M. (2016), Ramgir S.S. (2017) đã khẳng định đa hình gen *CYP1A1* có liên quan chặt chẽ với vô sinh nam. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: kiểu gen AG làm tăng khả năng vô sinh lên 4,09 lần so với nhóm chứng; Kiểu gen đồng hợp GG và dị hợp AG làm tăng khả năng vô sinh 4,39 lần. Alen G làm tăng khả năng bị vô sinh 3,27 lần.

4.2.3. Liên quan giữa đa hình gen *NAT2* 481C>T(rs1799929) và *NAT2* 590 G>A (rs1799930) với vô sinh nam

Về đa hình gen *NAT2* 590G>A (rs1799930), ở nhóm vô sinh kiểu gen dị hợp GA là 53,5% lớn hơn nhóm chứng là 25,9%. Alen A ở nhóm vô sinh 31,5%, nhóm chứng 12,9%. Kiểu gen dị hợp GA tăng khả năng vô sinh lên 3,3 lần; người có kiểu gen dị hợp GA và đồng hợp AA, khả năng bị vô sinh tăng 3,99 lần: Kết hợp GA+AA tăng 3,99 lần; mang alen A, khả năng bị vô sinh tăng 3,09 lần.

Ở gen *NAT2*, vị trí 481, kiểu gen biến đổi (CT) làm tăng khả năng vô sinh 4,1 lần. Alen biến đổi (T) ở nhóm vô sinh lớn hơn nhóm chứng. Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Đinh Đoàn Long (2010) và Yarosh (2014).

4.2.4. Liên quan giữa đa hình gen *GSTP1* 313G>A (rs1695) và *GSTP1* 341C>T(rs1138272) với vô sinh nam

Về đa hình gen *GSTP1* 313G>A (rs1695), kết quả cho thấy tỷ lệ kiểu gen đa hình ở nhóm vô sinh lớn hơn nhóm chứng; Kết hợp GA+AA khả năng vô sinh tăng 5,16 lần; kiểu gen dị hợp AG *GSTP1* tại vị trí 313 làm tăng nguy cơ vô sinh 3,25 lần, kiểu gen dị hợp và đồng hợp đa hình (GA và AA) làm tăng khả năng vô sinh 5,16 lần. Người mang alen đa hình (A) nguy cơ vô sinh tăng 5,18 lần.

Với đa hình gen *GSTP1* 341C>T(rs1138272): tỷ lệ kiểu gen đa hình ở nhóm vô sinh lớn hơn nhóm chứng. Kiểu gen dị hợp và đồng hợp đa hình (CT và TT) của gen *GSTP1* tại vị trí 341 làm tăng nguy cơ vô sinh lên 6,9 lần. Người mang alen đa hình (T) của gen *GSTP1* tại vị trí 341 nguy cơ vô sinh tăng 5,5 lần so với người mang alen bình thường (C).

4.3. Tương quan giữa các biến đổi nucleotid thường gặp của các gen *CYP1A1*, *GSTP1* và *NAT2* với vô sinh nam

4.3.1. Tương quan giữa đa hình gen *CYP1A1*, *GSTP1* và *NAT2* với vô sinh nam

Theo nghiên cứu của chúng tôi, người có kiểu gen (590GA hoặc 590AA) và (2455AG hoặc 2455GG) thì nguy cơ vô sinh tăng 4,86 lần; cao hơn hẳn ở các kiểu gen chỉ mang một trong hai loại đa hình 590GG và (2455AG hoặc 2455GG) và 2455AA và (590GA hoặc 590AA).

Người mang cả 2 đa hình (481CT hoặc 481TT) và (2455AG hoặc 2455GG) nguy cơ vô sinh tăng 6,37 lần. Theo tìm hiểu, chúng tôi chưa thấy có tác giả nào nghiên cứu về liên quan kết hợp 2 đa hình *CYP1A1* 2455A>G và *NAT2* (590G>A); (481C>T) với vô sinh nam. Nghiên cứu của chúng tôi thấy tỷ lệ đa hình gen *CYP1A1*, *NAT2* càng nhiều, nguy cơ vô sinh càng cao.

Người có đồng thời 2 đa hình *CYP1A1*(2455A>G) và *GSTP1*(313G>A); *GSTP1*(341C>T), tỷ lệ vô sinh tăng lần lượt là 4,02 lần, với kiểu gen (313GA hoặc 313AA) và (2455AG hoặc 2455GG) và tăng 10,51 lần với kiểu gen (341CT hoặc 341TT) và (2455AG hoặc 2455GG).

Về tác động cộng gộp của các đa hình gen *NAT2* (590G>A); (481C>T) với *GSTP1* (313G>A); (341C>T) chúng tôi thấy: kiểu gen mang cả 2 đa hình (481CT hoặc 481TT) và (313GA hoặc 313AA) thì nguy cơ vô sinh tăng 9,18 lần.

Kiểu gen mang cả 2 đa hình (481CT hoặc 481TT) và (341CT hoặc 341TT) thì nguy cơ vô sinh tăng 4,28 lần. Kiểu gen có cả 2 đa hình (590GA hoặc 590AA) và (313GA hoặc 313AA) thì nguy cơ vô sinh tăng 7,64 lần. Kiểu gen có cả 2 đa hình (590GA hoặc 590AA) và

(341CT hoặc 341TT) thì nguy cơ vô sinh tăng 8,56 lần. Như vậy, có thể thấy sự tác động cộng gộp giữa hai đa hình gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1* làm tăng cao nguy cơ vô sinh ở nam giới. Tuy chỉ có một đa hình ở một trong các gen trên cũng có nguy cơ gây vô sinh ở nam giới.

Để đánh giá sự tương tác gen-gen với số lượng lớn locus, chúng tôi dùng phương pháp MDR. Tất cả các tương tác SNP được kiểm tra bằng cách sử dụng phép thử chéo 10 lần phân tích tổng thể từ 2, 3, 4 và 5 kiểu gen gồm cả kiểu gen có nguy cơ cao và kiểu gen có nguy cơ thấp. Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam phân tích tương tác tổ hợp gen. Từ tất cả khả năng tương tác gen, tổ hợp có giá trị nhất là kiểu tổ hợp *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A); với độ tái lập 100%, lỗi dự đoán 30,8% (theo Monte-Carlo, $p < 0,01$, lỗi dự đoán cho phép là $< 46,4\%$) và kiểu tổ hợp *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A) và *NAT2*(481C>T) với độ tái lập 100% và lỗi dự đoán là 22,3% (lỗi dự đoán cho phép $< 52,5\%$).

Bằng phần mềm MDR chúng tôi phân tích các tổ hợp gen và xây dựng bản đồ Dendrogram. Kết quả: tổ hợp các đa hình gen *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A); hoặc *GSTP1*(341C>T) và *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(481C>T) biểu hiện tương tác cộng gộp, trong đó *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(590G>A) hoặc *CYP1A1*(2455A>G) và *NAT2*(481C>T) là tương tác hỗ trợ. Do vậy những cá thể mang phối hợp những kiểu gen đa hình trên thì nguy cơ vô sinh nam tăng lên đáng kể.

Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra tổ hợp các đa hình gen *GSTP1*, *NAT2* và *CYP1A1* có thể làm nguy cơ vô sinh tăng cao. Điều này có thể do stress oxy hóa, do hoạt động quá mức của ROS dẫn đến biến đổi

ở các gen *GSTP* và *CYP1A1* và sự tổn thương không phục hồi ADN của tinh trùng do chuyển hóa bất thường khi biến đổi gen *NAT2*.

4.3.2. Liên quan giữa mức độ stress oxy hóa trong tinh dịch ở bệnh nhân nam có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics

OS có 4 mức từ 1 đến 4 và chia thành 2 nhóm HOS (gồm OS mức 3 và 4) và nhóm LOS (gồm OS mức 1 và 2). So sánh giữa 2 nhóm: Nhóm bệnh là những bệnh nhân có tinh trùng trong tinh dịch và có ít nhất 1 đa hình gen chuyển hóa xenobiotics; Nhóm chứng là những người không có bất kỳ đa hình gen nào. Chúng tôi thu được 71 người ở nhóm bệnh và 72 người nhóm chứng và thấy: Ở nhóm bệnh, tỷ lệ OS cao (HOS) là 78,9%, OS thấp (LOS) là 21,1%. Ngược lại, ở nhóm chứng, tỷ lệ OS cao (HOS) chỉ 11,1%, OS thấp là 88,9%. Điều này cho thấy những nam giới vô sinh có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics, có nguy cơ stress oxy hóa cao hơn người bình thường 29,87 lần. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Nghiên cứu của Valeria M.I và cộng sự (2015), Aida Pujol và cộng sự (2016), Goslvez và cộng sự (2017) đều cho thấy mức độ OS hoặc ROS cao ở nhóm có biến đổi gen chuyển hóa xenobiotics.

Nhóm HOS (mức OS cao) có 87,5% có từ 2 đa hình gen chuyển hóa xenobiotics trở lên, chỉ có 12,5% có 1 đa hình. Còn nhóm LOS chỉ có 11 bệnh nhân có từ 2 đa hình gen trở lên. Mặc dù sự sai khác giữa 2 nhóm chưa có ý nghĩa thống kê, nhưng bước đầu cho thấy khi đa hình gen chuyển hóa xenobiotics càng nhiều, càng có nguy cơ tăng mức độ stress oxy hóa, đó cũng là nguyên nhân chính dẫn tới tổn thương chất, số lượng tinh trùng. Có thể biến đổi gen chuyển hóa xenobiotics là nguyên nhân làm tăng gốc tự do dẫn tới stress oxy hóa, làm đứt gãy ADN của tinh trùng và dẫn đến vô sinh.

KẾT LUẬN

1. Biến đổi nucleotid của các gen *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTP1*

- Đa hình *CYP1A1* 2455 A>G có tỷ lệ kiểu gen AG và GG ở nhóm vô sinh là 52,4% và 1,8%; cao hơn ở nhóm chứng.
- Đa hình *NAT2* loại 481C>T có tỷ lệ kiểu gen CT ở nhóm vô sinh là 50,6%, ở nhóm chứng là 20%; loại 590 G>A có tỷ lệ kiểu gen GA và AA ở nhóm vô sinh là 53,5% và 4,7%; ở nhóm chứng là 25,9% và 0%.
- Đa hình *GSTP1* loại 313G>A có tỷ lệ kiểu gen GA và AA ở nhóm vô sinh là 35,9% và 11,2%; ở nhóm chứng là 14,7% và 0%; loại 341C>T có tỷ lệ kiểu gen CT ở nhóm vô sinh là 38,2%; ở nhóm chứng là 8,2%.

2. Liên quan giữa đa hình gen *GSTP1*, *NAT2*, *CYP1A1* với vô sinh

- Đa hình *CYP1A1* 2455A>G, alen A bị thay bằng alen G làm tăng nguy cơ vô sinh nam so với alen A lên 3,27 lần.

- Đa hình *NAT2* 481C>T(rs1799929), alen C bị thay bằng alen T làm tăng nguy cơ vô sinh so với alen C lên 3,05 lần.

- Đa hình *NAT2* 590 G>A (rs1799930), alen G bị thay bằng alen A làm tăng nguy cơ vô sinh nam so với alen G 3,09 lần.

- Đa hình *GSTP1* 313G>A: alen G bị thay bằng alen A làm tăng nguy cơ vô sinh nam so với alen G 5,18 lần.

- Đa hình *GSTP1* 341C>T(rs1138272): alen C bị thay bằng alen T làm tăng nguy cơ vô sinh nam so với alen C 5,5 lần.

Khi kết hợp 2 đa hình:

- Khi kết hợp 2 đa hình *GSTP1* và *NAT2* nguy cơ vô sinh cao hơn khi chỉ có 1 loại đa hình.

- Khi kết hợp 2 đa hình *CYP1A1* và *NAT2* nguy cơ vô sinh cao hơn khi chỉ có 1 loại đa hình.

- Khi kết hợp 2 đa hình *GSTP1* và *CYP1A1* nguy cơ vô sinh cao hơn khi chỉ có 1 loại đa hình.

Khi kết hợp các đa hình của *NAT2*, *GSTP1* và *CYP1A1*:

Kiểu tổ hợp *GSTP1*(341C>T); *NAT2*(590G>A); *CYP1A1*(2455A>G) với độ tái lập 100% và lỗi dự đoán 30,8%. Kiểu tổ hợp *GSTP1*(341C>T); *NAT2*(590G>A); *CYP1A1*(2455A>G); *NAT2*(481C>T) với độ tái lập 100% và lỗi dự đoán là 22,3%.

Tổ hợp các đa hình *GSTP1*(341C>T); *NAT2*(590G>A); *CYP1A1*(2455A>G) hoặc *GSTP1*(341C>T); *CYP1A1*(2455A>G); *NAT2*(481C>T) biểu hiện tương tác cộng gộp; Tổ hợp *NAT2*(590G>A); *CYP1A1*(2455A>G) hoặc *CYP1A1*(2455A>G); *NAT2*(481C>T) là tương tác hỗ trợ.

- Về stress oxy hóa trong tinh dịch và đa hình gen chuyển hóa xenobiotics

Có mối liên quan giữa mức độ stress oxy hóa trong tinh dịch ở nam giới vô sinh có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics. Những nam giới vô sinh có đa hình gen chuyển hóa xenobiotics, có nguy cơ tăng mức độ stress oxy hóa hơn những người bình thường 29,87 lần.

KIẾN NGHỊ

1. Cần áp dụng rộng rãi xét nghiệm xác định đa hình gen chuyển hóa xenobiotics để xác định nguy cơ vô sinh cho các trường hợp nam vô sinh chưa rõ nguyên nhân, qua đó có biện pháp phòng, hạn chế tình trạng vô sinh.
2. Cần thực hiện thêm nghiên cứu về tương tác gen - môi trường liên quan tới các đa hình gen CYP1A1, NAT2 và GSTP và sự cảm nhiễm khói thuốc lá, lạm dụng rượu... gây vô sinh nam.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyễn Thị Trang, Vũ Thị Huyền (2018). Polymorphism of xenobiotic detoxification genes and male infertility. In: *Male infertility*. Intech Open, United Kingdom, pp.1-19.
2. Nguyễn Thị Trang, Vũ Thị Huyền, Nguyễn Thanh Tuấn, Trần Đức Phần (2018). Association of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase polymorphisms with idiopathic male infertility in Vietnam male subjects. *Chemico-Biological interactions*. 286(2018):11-16.
3. Vũ Thị Huyền, Nguyễn Thị Trang, Uông Ngọc Nguyên, Trần Đức Phần (2017). Khảo sát sự biến đổi gen NAT2 và GSTP1 mã hóa enzyme chuyển hóa xenobiotic ở nam giới vô sinh bằng phương pháp ARMS-PCR. *Y Dược học Quân Sự*. 42(9):297-302.
4. Vũ Thị Huyền, Nguyễn Thị Trang, Trần Đức Phần (2018). Mối liên quan giữa các đột biến gen NAT2 và GSTP1 với vô sinh nam nguyên phát và stress oxy hóa. *Y học Việt Nam*. Số 1 (tập 463): 70-73.
5. Vũ Thị Huyền, Trần Đức Phần, Nguyễn Thị Trang (2018). Mức độ stress oxy hóa và đứt gãy DNA của tinh trùng ở nam giới vô sinh. *Tạp chí Nghiên cứu Y Học*. Số 110 (1): 25-31.
6. Bùi Thị Nga, Vũ Thị Huyền, Nguyễn Thị Trang, Lương Thị Lan Anh, Trần Đức Phần (2018). Tính đa hình gen CYP1A1 và nguy cơ vô sinh nam. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 8(469):391-396.
7. Vũ Thị Huyền, Nguyễn Thị Trang, Trần Đức Phần (2018). Cải tiến quy trình kỹ thuật xác định mức độ stress oxy hóa trong tinh dịch ở bệnh nhân vô sinh nam có đứt gãy DNA tinh trùng. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 8(469):391-396.