

**ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ĐA HÌNH RS1048943
TRÊN GEN *CYP11A1* VÀ ĐỨT GÃY DNA TINH TRÙNG**

Trần Văn Khoa¹, Triệu Tiên Sang^{1}, Nguyễn Văn Phong¹
Nguyễn Đức Sơn², Tạ Thị Bình², Vũ Ngọc Huyền³*

Tóm tắt

Mục tiêu: Tối ưu kỹ thuật Tetra-ARMS PCR xác định SNP rs1048943; Khảo sát tần số alen, kiểu gen tại điểm đa hình đơn rs1048943; Phân tích mối liên quan giữa điểm đa hình đơn rs1048943 trên gen *CYP11A1* và đứt gãy DNA tinh trùng trên đối tượng người Việt Nam. **Phương pháp nghiên cứu:** Mẫu tinh trùng của 103 nam giới có tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng trung bình và cao ($DFI > 15\%$) và 125 nam giới có tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng thấp ($DFI \leq 15\%$) được tách chiết DNA. Tiến hành xác định đa hình rs1048943 trên các mẫu bằng kỹ thuật Tetra-ARMS PCR, sau đó phân tích và thống kê dữ liệu. **Kết quả:** Kỹ thuật Tetra-ARMS PCR được tối ưu và ứng dụng thành công để xác định kiểu gen của điểm đa hình rs1048943. Phân bố kiểu gen của đa hình rs1048943 trên các nhóm tuân theo Định luật Hardy-Weinberg (HWE) ($p > 0,05$), tuy nhiên không có mối liên quan giữa đa hình rs1048943 gen *CYP11A1* với nguy cơ đứt gãy DNA tinh trùng ở người Việt Nam. **Kết luận:** Kỹ thuật Tetra-ARMS PCR được tối ưu và ứng dụng thành công để xác định kiểu gen của điểm đa hình rs1048943. Không có mối liên quan giữa đa hình rs1048943 gen *CYP11A1* với nguy cơ đứt gãy DNA tinh trùng ở người Việt Nam.

Từ khóa: SDF; OS; SNP rs1048943; *CYP11A1*; Tetra-ARMS PCR.

**ASSESSMENT OF THE EFFECT OF VARIANTS RS1048943 ON *CYP11A1* GENE
AND ITS INTERACTIONS AFFECT SPERM DNA FRAGMENTATION**

Abstract

Objectives: To optimize Tetra-ARMS PCR technique to determine SNP rs1048943; to determine the allele and genotype frequencies at the SNP rs1048943;

¹Bộ môn Sinh học và Di truyền Y học, Học viện Quân y

²Viện Sức khỏe nghề nghiệp và Môi trường

³Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Tác giả liên hệ: Triệu Tiên Sang (trieusang83@yahoo.com.vn)

Ngày nhận bài: 19/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 15/01/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i2.602>

to analyze the relationship between SNP rs1048943 on the *CYP11A1* gene and sperm DNA fragmentation in Vietnamese subjects. **Methods:** DNA was extracted from sperm samples of 125 men with low sperm DNA breaks (DFI < 15%) and 103 men with average and high sperm DNA breaks (DFI > 15%). Determine rs1048943 polymorphism was determined on the samples using the Tetra-ARMS PCR technique, then data was collected and analyzed. **Results:** Tetra-ARMS PCR technique has been designed and optimized to identify SNP rs1048943 on the *CYP11A1* gene. The results indicated that SNP rs1048943 followed Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). However, no association was established between polymorphism and sperm DNA fragmentation in three models (additive, dominant, and recessive) ($p > 0.05$). **Conclusion:** The Tetra-ARMS PCR technique was optimized and applied successfully to determine the genotype of rs1048943 polymorphism. No association was established between polymorphism rs1048943 on the *CYP11A1* gene and sperm DNA fragmentation in three models (additive, dominant, and recessive).

Keywords: SDF; OS; SNP rs1048943; *CYP11A1*; Tetra-ARMS PCR.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đứt gãy DNA tinh trùng là tình trạng đứt gãy các mạch đơn hoặc mạch đôi của sợi DNA tinh trùng, dẫn đến phá vỡ cấu trúc DNA. Tổn thương đứt gãy DNA tinh trùng có thể do rất nhiều nguyên nhân gây ra như quá trình tự chết theo chương trình của tinh trùng (apoptosis), đóng gói chất nhiễm sắc DNA trong quá trình sinh tinh và do các phản ứng oxy hóa. Khi tinh trùng bị đứt gãy DNA ở những vị trí chứa gen liên quan đến khả năng sinh sản hay sự phát triển, làm tổ của phôi thì cơ hội có thai rất thấp [1]. Chỉ số đánh giá mức độ đứt gãy DNA tinh trùng (DNA fragmentation index - DFI) càng

cao có nghĩa là đứt gãy càng lớn và khả năng có thai càng giảm. Khoảng 15% nam giới vô sinh có kết quả phân tích thông số tinh trùng bình thường, trong đó 8% có bất thường DNA tinh trùng cao [2]. Điều này cho thấy chất lượng DNA tinh trùng có ảnh hưởng lên chức năng sinh sản. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng sự toàn vẹn DNA tinh trùng có ý nghĩa quyết định khả năng thụ thai, làm tổ và sự hình thành của thai [3]. Nam giới có tỷ lệ tinh trùng bị đứt gãy DNA cao có ảnh hưởng xấu đến chất lượng phôi, khả năng làm tổ và kết quả thai sau khi thực hiện các phương pháp hỗ trợ sinh sản [4, 5].

Năm 1993, Halliwell B nghiên cứu vai trò của các stress oxy hóa (oxidative stress - OS) và cho rằng OS là sự mất cân bằng giữa các gốc tự do và chất chống oxy hóa trong cơ thể, gây ra bởi tình trạng chất oxy hóa có nồng độ quá cao hoặc chất chống oxy hóa có nồng độ quá thấp. Trong điều kiện sinh lý bình thường, tinh trùng sẽ sản xuất một lượng nhỏ ROS (reactive oxygen species) cần thiết đủ để duy trì khả năng thụ tinh. Sự dư thừa ROS gây ảnh hưởng đến chức năng của tinh trùng và dẫn đến vô sinh, thể hiện ở chỉ số DFI cao [6]. Các thí nghiệm *in-vitro* cũng đã chứng minh sự cân bằng giữa ROS và chất chống oxy hóa cần thiết cho khả năng hoạt động và thụ tinh của tinh trùng [7]. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng nồng độ ROS trong các mẫu tinh trùng vô sinh cao hơn đáng kể so với mức độ từ các mẫu có khả năng sinh sản [8]. Sự cân bằng giữa sản xuất ROS và cơ chế chống oxy hóa bị xáo trộn, OS xuất hiện và dẫn đến tổn thương DNA, ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh, mất tính toàn vẹn và chức năng của tinh trùng.

Hệ thống chống oxy hóa có thể trung hòa hiệu quả ROS trong cơ thể, được điều hành bởi một số enzyme, trong đó *CYP1A1* - enzyme chính hoạt hóa các chất và là chìa khóa để kích hoạt trao đổi chất giữa các hydrocacbon

nhân thơm, các amin dị vòng. Enzym *CYP1A1* là enzym quan trọng trong họ Cytochrome P450 (CYP) mã hoá bởi gen *CYP1A1* (Cytochrome P450, họ 1, phân họ A, polypeptid 1) nằm trên nhánh dài nhiễm sắc thể số 15, ở vị trí 24.1. Các đa hình trên gen *CYP1A1* có thể góp phần vào sự xuất hiện của stress oxy hóa nội sinh vì đây là các enzyme giải độc tương tác với nhiều loại nhiều chất độc môi trường và chất gây ung thư có thể hình thành ROS. Trong số các biến thể đã được nghiên cứu của gen *CYP1A1*, ảnh hưởng của đa hình rs1048943 đến các thông số tinh dịch và khả năng sinh sản đã được nghiên cứu rộng rãi, song ít có nghiên cứu nào tiến hành đánh giá vai trò của đa hình rs1048943 và đứt gãy DNA tinh trùng. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Tối ưu kỹ thuật Tetra-ARMS PCR xác định SNP rs1048943 trên bệnh nhân đứt gãy DNA tinh trùng, khảo sát tần số alen, kiểu gen tại điểm đa hình đơn rs1048943 và phân tích mối liên quan giữa điểm đa hình đơn rs1048943 trên gen CYP1A1 và đứt gãy DNA tinh trùng trên đối tượng người Việt Nam.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu tinh trùng được thu thập từ Viện Mô phôi lâm sàng quân đội và

Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y, đã được tiến hành xác định chỉ số DFI, sử dụng bộ kit Halosperm (Halotech). Đối tượng nghiên cứu được phân thành hai nhóm: Nhóm bệnh với nam giới có tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng trung bình và cao (DFI > 15%); Nhóm chứng với nam giới có tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng thấp (DFI ≤ 15%). Chúng tôi sử dụng công thức ước tính cỡ mẫu cho nghiên cứu như sau:

$$n = Z_{(1-\alpha/2)}^2 \cdot \frac{p \cdot (1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

n: Cỡ mẫu nghiên cứu.

α : Mức ý nghĩa thống kê, với $\alpha = 0,05$ tương ứng độ tin cậy 95% .

$Z(1-\alpha/2)$: Sai lầm loại 1 ở mức $1-\alpha/2$, với $\alpha = 0,05$, $Z(1-\alpha/2) = 1,96$.

p: Tỷ lệ alen A tại vị trí đa hình rs1048943 (chọn $P_1 = 0,7764$ cho nhóm chứng theo dữ liệu thống kê trên quần thể châu Á của NCBI [9] và $P_2 = 0,91$ cho nhóm bệnh theo kết quả của Fadel A Sharif trên nhóm đối tượng nam giới có bất thường về chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng [10]).

d: Độ chính xác mong muốn (chọn $d = 0,1$).

Thay số ta có $n_1 = 67$ và $n_2 = 32$. Như vậy, cần ít nhất 67 đối tượng cho nhóm chứng và 32 đối tượng cho nhóm

bệnh. Thực tế, chúng tôi lựa chọn được 125 nam giới cho nhóm chứng và 103 nam giới cho nhóm bệnh.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Kỹ thuật tách chiết và bảo quản DNA từ mẫu tinh dịch:*

Mẫu tinh dịch thu được từ các đối tượng sau khi làm xét nghiệm Halosperm được bảo quản trong các ống eppendorf 1,5mL trước khi tiến hành tách chiết DNA bằng bộ kit TopPURE® Serum Viral Extraction kit của ABT. Việc tách chiết tiến hành theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất. Dung dịch NL Buffer và proteinase K sử dụng để phá vỡ nhân tế bào và phân hủy protein, DNA được tách chiết theo phương pháp cột silicat. Nồng độ và độ tinh sạch DNA sẽ được kiểm tra bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang trên máy đo SpectraMax QuickDrop, đảm bảo lượng DNA tổng số trong khoảng 10 - 20 pg, độ tinh sạch A260/280 từ 1,8 - 2,0. Sau đó mẫu sẽ được bảo quản ở -20°C trước khi tiến hành PCR và giải trình tự gen.

* *Phản ứng Tetra-ARMS PCR:*

Phương pháp Tetra-ARMS PCR sử dụng hai cặp primer: Một cặp ngoài (Fo-Ro) khuếch đại đoạn trình tự có chứa SNP cần xác định và đồng thời được coi như chứng nội cho phản ứng Tetra-ARMS PCR (356bp); một cặp nội bên trong (Fi-Ri) được thiết kế

ngược chiều nhau và gắn đặc hiệu với hai alen cần xác định, từng mỗi bên trong và kết hợp một trong hai mỗi bên ngoài sẽ khuếch đại đoạn trình tự đặc

hiệu cho alen A (225bp) và alen G (174bp). Trình tự mỗi phát hiện đa hình rs1048943 gen *CYP1A1* được nhóm nghiên cứu thiết kế như sau:

CA1.2455 Fo	5'-GCGCAGCTGCATTTGGAAGTG-3'
CA1.2455 Ro	5'-TTTGGGGCTGGAGCTCCACTC-3'
CA1.2455 Fi	5'-AGACCTCCCAGCGGGCCAT-3'
CA1.2455 Ri	5'-AAGCGGAAGTGTATCGGTGAGAACG-3'

Sau khi tiến hành phản ứng Tetra-ARMS PCR, sản phẩm khuếch đại được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 3%.

** Giải trình tự Sanger:*

Đoạn trình tự chứa SNP mục tiêu sẽ được khuếch đại bằng phản ứng PCR đơn mỗi, sử dụng cặp mỗi vòng ngoài CA1.2455 Fo và CA1.2455 Ro. Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR: Biến tính 95°C trong 5 phút, lặp lại 40 chu kỳ (biến tính 95°C - 30 giây, gắn mỗi 59°C - 30 giây, kéo dài 72°C - 35 giây), và 72°C trong 10 phút. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 2% để kiểm tra.

Sản phẩm đã được khuếch đại trên sẽ được sử dụng để giải trình tự bằng bộ kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Thermo Fisher Scientific). Thành phần của mỗi phản ứng Sanger gồm 1µL BigDye, 2µL Buffer, 3.2 pM mỗi CA1.2455 Fo; 50ng sản phẩm

DNA đã tinh sạch và nước deion cho đủ tổng thể tích 10 µL với chu trình nhiệt như sau: 96°C - 1 phút; 25 chu kỳ (96°C - 10 giây, 50°C - 5 phút, 60°C - 4 phút). Sản phẩm được tinh sạch bằng phương pháp tủa EtOH/EDTA. DNA thu được tiến hành điện di mao quản trên máy SeqStudio. Trình tự nucleotide của mỗi đoạn gen được xác định bằng phần mềm Bioedit Sequence Alignment Editor.

** Xử lý số liệu:*

Số liệu được thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel, phân tích thống kê sử dụng phần mềm R phiên bản 4.3.2 để kiểm tra mối tương quan giữa rs1048943 trên gen *CYP1A1* và đứt gãy DNA tinh trùng. Các kiểm định 2 phía có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$. Tần số kiểu gen ở các nhóm được đánh giá cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) sử dụng kiểm định Chi bình phương.

CHÀO MỪNG 75 NĂM NGÀY TRUYỀN THỐNG HỌC VIỆN QUÂN Y

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Y đức của Bệnh viện Quân y 103 thông qua (số 307/KH-HĐĐĐ, ngày 26/10/2023). Việc lấy mẫu chỉ được thực hiện khi có sự đồng ý của đối tượng tham gia và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu. Chúng tôi cam kết không có bất kỳ xung đột lợi ích nào xảy ra khi thực hiện nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả chuẩn hóa phản ứng tetra-ARMS PCR xác định đa hình rs1048943

Phản ứng ARMS PCR với ưu điểm sử dụng cả bốn môi trong cùng một phản ứng giúp việc xác định kiểu gen

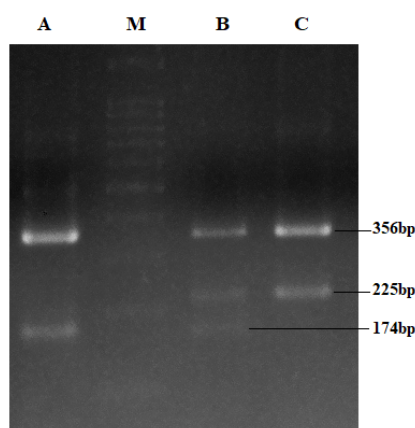
trở nên nhanh và chính xác, tuy nhiên có thể dẫn đến hiện tượng các môi cạnh tranh lẫn nhau. Do đó, việc xác định nhiệt độ gắn môi và tỷ lệ nồng độ các môi sao cho phù hợp là vô cùng quan trọng. Đầu tiên các tổ hợp cặp đơn môi của 4 môi sẽ tiến hành chạy gradient - PCR nhằm xác định nhiệt độ gắn môi tối ưu. Ở đây nhiệt độ bắt cặp tối ưu đã được chọn là 59°C. Tiến hành tối ưu nồng độ môi cho phản ứng tetra-ARMS PCR tại nhiệt độ 59°C. Sau khi khảo sát các tỷ lệ môi cho thấy, tỷ lệ nồng độ cặp môi Fi, Ri gấp đôi so với cặp môi Fo, Ro sẽ cho kết quả các băng đúng theo kích thước đã thiết kế ban đầu. Thành phần phản ứng và chu trình nhiệt phản ứng tetra-ARMS PCR được chuẩn hoá như bảng 2.

Bảng 1. Thành phần và chu trình nhiệt phản ứng tetra-ARMS PCR xác định đa hình rs1048943.

Thành phần	Thể tích	Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
GoTaq Green Mastermix 2X	6,25 µL	95°C	5 phút	1
Nước deion	0,75 µL			
CA1.2455 Fo	0,5 µL	95°C	30 giây	40
CA1.2455 Ro	0,5 µL	59°C	30 giây	
CA1.2455 Fi	1 µL			
CA1.2455 Ri	1 µL			
DNA template	2,5 µL	72°C	35 giây	1
Tổng	12,5 µL	72°C	10 phút	

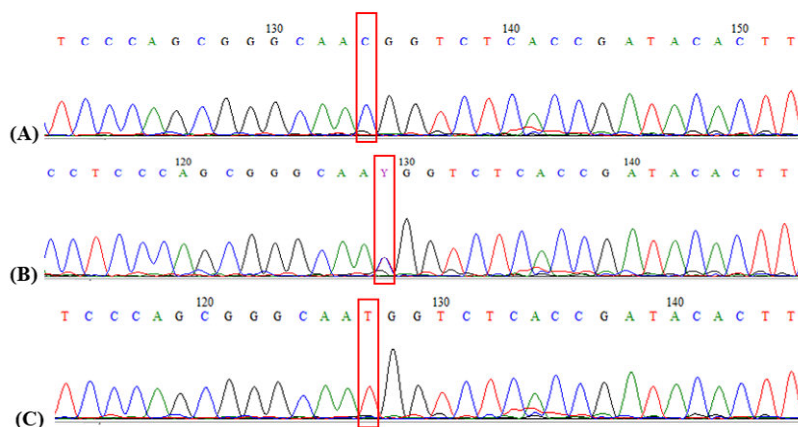
Sản phẩm được điện di trên gel agarose 3% để phân tích và xác định kiểu gen. Các mẫu xuất hiện hai băng 225bp và 356bp mang kiểu gen A/A, mẫu xuất hiện hai băng 174bp và 356bp mang kiểu gen G/G và mẫu xuất hiện cả ba băng 174bp, 225bp, 356bp mang kiểu gen A/G. Đối với tất cả các mẫu không lên băng ngoài (356bp), cần tiến hành lại phản ứng hoặc kiểm tra lại khâu tách chiết DNA cho đến khi xuất hiện băng.

Sau khi chuẩn hóa phản ứng tetra-ARMS PCR, để xác định kết quả của phương pháp có chính xác không, nhóm nghiên cứu đã tiến hành giải trình tự Sanger trên một số mẫu đại diện để so sánh kết quả.



Hình 1. Kết quả phản ứng tetra-ARMS PCR xác định đa hình rs1048943 một số mẫu đại diện.

(A): Mẫu G/G (B): Mẫu A/G (C): Mẫu A/A M: Thang 100bp



Hình 2. Kết quả giải trình tự Sanger sản phẩm khuếch đại vòng ngoài một số mẫu đại diện.

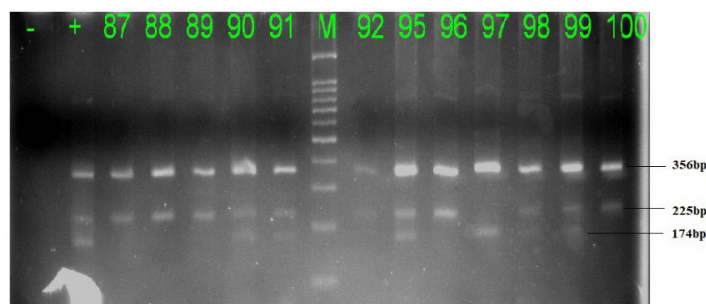
(A): Mẫu G/G (B): Mẫu A/G (C): Mẫu A/A

CHÀO MỪNG 75 NĂM NGÀY TRUYỀN THỐNG HỌC VIỆN QUÂN Y

Kết quả giải trình tự cho thấy có sự đồng nhất về kết quả giữa hai phương pháp tetra-ARMS PCR và giải trình tự Sanger trên tất cả các mẫu đại diện (Hình 1 và 2). Như vậy, phản ứng tetra-ARMS PCR xác định đa hình rs1048943 đã được nhóm nghiên cứu chuẩn hoá thành công. So giải trình tự Sanger, kỹ thuật Tetra-ARMS PCR phát hiện đa hình rs1048943 có ưu điểm là chi phí thấp hơn, thời gian nhanh hơn, không cần các trang thiết bị đắt tiền, không quá phức tạp những vẫn đảm bảo độ chính xác và có thể áp dụng trên cỡ mẫu lớn.

2. Kết quả phân tích mối liên quan giữa điểm đa hình đơn rs1048943 và đứt gãy DNA tinh trùng

Sau khi đã tối ưu phản ứng Tetra-ARMS PCR xác định SNP rs1048943, nhóm nghiên cứu áp dụng cho 228 mẫu bệnh và chứng:



Hình 3: Kết quả phản ứng tetra-ARMS PCR xác định đa hình rs1048943 một số mẫu nhóm bệnh.

- : Chứng âm + : Chứng dương 87-100: Mẫu bệnh từ 87-100 M: Thang 100bp

Kết quả điện di được phân tích và thống kê cụ thể trong bảng 3 và 4:

Bảng 3. Kết quả phân tích tần suất kiểu gen, kiểu alen.

<i>CYP1A1</i> (rs1048943)	Nhóm bệnh n = 103 n (%)	Nhóm chứng n = 125 n (%)
AA	49 (47)	68 (54)
AG	43 (42)	46 (37)
GG	11 (11)	11 (9)
<i>P</i> Hardy-Weinberg	0,73	0,43
χ^2	0,11	0,63
A	141 (68)	182 (73)
G	65 (32)	68 (27)

Điểm đa hình rs1048943 đều tuân theo cân bằng Hardy-Weinberg (P Hardy Weinberg $> 0,05$) ở nhóm bệnh và nhóm chứng. Kiểu gen A/A chiếm tỷ lệ cao nhất trong cả hai nhóm đối tượng (lần lượt là 47% và 54% trong nhóm bệnh và nhóm chứng). Kiểu gen G/G chiếm tỷ lệ thấp nhất trong cả hai nhóm đối tượng. Tần suất của alen A và G trong nhóm chứng của nghiên cứu này lần lượt là 73% và 27%, điều này cũng tương đồng với kết quả thống kê trên quần thể người châu Á (Tần suất alen A là 0,7764 và alen G là 0,2236) [9]. Nghiên cứu của tác giả Vũ Thị Huyền trên quần thể người Việt Nam khoẻ mạnh cũng cho kết quả alen A chiếm đa số (89,4%) và alen G chỉ chiếm 10,6% [11].

Bảng 4. Kết quả phân tích mối liên quan giữa đa hình rs1048943 với đứt gãy DNA tinh trùng.

Mô hình	Nhóm bệnh (n = 103) n (%)	Nhóm chứng (n = 125) n (%)	OR	95% CI	p
Mô hình trội					
AA	49 (47)	68 (54)	1,00		
AG+GG	54 (53)	57 (46)	1,31	(0,78 - 2,22)	0,305
Mô hình lặn					
AA+AG	92 (89)	114 (91)	1,00		
GG	11 (11)	11 (9)	1,24	(0,51 - 2,99)	0,632
Mô hình cộng gộp					
AA	49 (47)	68 (54)	1,00		
AG	43 (42)	46 (37)	1,30	(0,74 - 2,26)	0,357
GG	11 (11)	11 (9)	1,39	(0,56 - 3,46)	0,481
Alen					
A	141 (68)	182 (73)	1,00		
G	65 (32)	68 (27)	1,23	(0,82 - 1,85)	0,309

Giá trị p thu được ở cả 3 mô hình (trội, lặn và cộng gộp) đều lớn hơn 0,05; do đó, các phép kiểm định không có ý nghĩa thống kê. Kiểu gen cũng như kiểu alen của đa hình rs1048943 cho thấy không có sự liên quan đến nguy cơ đứt gãy DNA tinh trùng ở nhóm đối tượng nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu đa hình rs1048943 trên gen *CYP1A1* được Fadel A Sharif và CS thực hiện trên nhóm đối tượng nam giới đứt gãy DNA tinh trùng năm 2023 [10].

CYP1A1 đã được chứng minh đóng vai trò quan trọng trong vô sinh ở nam giới. *CYP1A1* là enzym chuyển hoá giai đoạn I tại gan, tham gia vào quá trình chuyển hóa các xenobiotics, những hợp chất hóa học không do sinh vật tạo ra, ví dụ như polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH),... Các biến thể đa hình của gen *CYP1A1* sẽ ảnh hưởng đến khả năng chuyển hoá độc tính và tình trạng ứ đọng chất độc. Điều này có thể ảnh hưởng tới chuyển hóa trong và ngoài gan và chuyển hóa của các chất nền nội sinh (testosteron và các hormone khác...), gây ra vô sinh ở nam giới [12]. Ngoài ra, có những giả thuyết cho rằng thông qua tác động của thụ thể Aryl hydrocarbon (AHR), *CYP1A1* có thể hoạt hoá và

sản xuất ra quá nhiều ROS, gây ra mất cân bằng oxy hóa trong tế bào. Lượng lớn ROS sẽ làm tổn thương DNA của tinh trùng dẫn đến giảm khả năng thụ tinh và ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi [13]. Tuy vậy, ở nghiên cứu này đã chỉ ra không có sự ảnh hưởng của đa hình rs1048943 trên gen *CYP1A1* và đứt gãy DNA tinh trùng. Để có cái nhìn khoa học đầy đủ về vấn đề này, trong tương lai sẽ cần nhiều nghiên cứu hơn về mối tương quan giữa các biến thể của các gen chống oxy hóa và đứt gãy DNA tinh trùng.

KẾT LUẬN

Kỹ thuật Tetra-ARMS PCR được tối ưu và ứng dụng thành công để xác định kiểu gen của điểm đa hình rs1048943. Không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình rs1048943 gen *CYP1A1* với nguy cơ đứt gãy DNA tinh trùng ở người Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài nhánh: “Nghiên cứu đa hình và biểu hiện một số gen liên quan đến nhiễm độc hoá học môi trường”, thuộc đề tài cấp Nhà nước, mã số ĐTĐL.CN-39/21. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Viện Sức khoẻ nghề nghiệp và Môi trường, Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội và Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y đã tạo điều kiện hỗ trợ cho nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rex AS, Aagaard J, Fedder J. DNA fragmentation in spermatozoa: A historical review. *Andrology*. 2017; 5(4):622-630.
2. Pourmasumi S, Nazari A, Fagheirelahee N, et al. Cytochemical tests to investigate sperm DNA damage: Assessment and review. *Journal of Family Medicine and Primary Care*. 2019:1533-1539.
3. Benchaib M, Lornage J, Mazoyer C, et al. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted repro-ductive technology outcome. *Fertil Steril*. 2007; 87:93-100.
4. Zhang Z, Zhu L, Jiang H, et al. Sperm DNA fragmentation index and pregnancy outcome after IVF or ICSI: A meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2015; 32:17-26.
5. Denny Sakkas, Juan G. Alvarez. Sperm DNA fragmentation: Mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertility and Sterility*. 2010; 93(4):1027-1036.
6. Trần Thị Như Quỳnh, Cao Ngọc Thành. Một số yếu tố liên quan phân mảnh DNA tinh trùng. *Tạp chí Phụ sản*. 2019; 17(1):54-61.
7. Wright C, Milne S, Leeson H. Sperm DNA damage caused by oxidative stress: Modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. *Reproductive BioMedicine Online*. 2014; 28:684-703.
8. Yin Y, Zhu P, Luo T, et al. Association of single-nucleotide polymorphisms in antioxidant genes and their gene-gene interactions with risk of male infertility in a Chinese population. *Biomedical Reports*. 2020; 13(1):49-54.
9. dbSNP rs1048943. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1048943>.
10. Sharif FA, Ashour MJ, Abuwarda HN, et al. Antioxidant genes variants and their interactions affect sperm DNA fragmentation. 2023.
11. Vũ Thị Huyền. Đánh giá sự biến đổi của một số gen mã hóa enzym chuyển hóa xenobiotics ở nam giới vô sinh. *Luận văn Tiến sỹ*. 2019.
12. M Taspinar, SE Aydos, O Comez, et al. CYP1A1, GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukemia. *Swiss Medical Weekly*. 2008; 138(1-2):12-17.
13. Gharagozloo P, Aitken RJ. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction* 2011; 26:1628-1640.