

Ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR phát hiện mất đoạn AZF ở bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng

Lương Thị Lan Anh*, Hoàng Thu Lan

Trường Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận bài 9/10/2018; ngày chuyển phản biện 12/10/2018; ngày nhận phản biện 15/11/2018; ngày chấp nhận đăng 19/11/2018

Tóm tắt:

Nghiên cứu này ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR phát hiện mất đoạn AZF ở 30 bệnh nhân nam vô sinh không có tinh trùng. 30 mẫu máu ngoại vi được chiết tách ADN, kỹ thuật Real-time PCR sử dụng 21 trình tự đích để phát hiện mất đoạn nhỏ thuộc vùng AZFabcd, bao gồm 6 cặp môi vùng AZFa (sY84, sY86, sY82, sY1064, sY1065, sY88), 6 cặp môi vùng AZFb/d (sY127, sY134, sY105, sY121, sY143, sY153), 7 cặp môi vùng AZFc (sY254, sY255, sY1191, sY1192, sY1196, sY1291, sY160) và 2 nội kiểm ZFY/X, SRY. Kết quả phân tích có đối chứng với kỹ thuật multiplex PCR phát hiện 8 vị trí cơ bản (sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY153, PB2) và điện di mao quản (xác định AZF mở rộng - 10 trình tự mở rộng): 4 cặp môi vùng AZFa (sY82, sY83, sY88, sY1065), 3 cặp môi vùng AZFb (sY105, sY121, sY1192), 3 cặp môi vùng AZFc (sY1191, sY1291, sY160) và 2 nội kiểm ZFY/X, SRY. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 40% (12/30) các trường hợp mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể (NST) Y ở các bệnh nhân nam không có tinh trùng. Mất đoạn vùng AZF cơ bản có 2/12 bệnh nhân (16,7%), mất đoạn vùng AZF mở rộng có 10/12 bệnh nhân (83,3%). Mất đoạn vùng cơ bản có kèm theo các vị trí mở rộng (sY1192, sY1191, sY1291, sY160). Tại các vị trí mở rộng, chủ yếu gặp các mất đoạn sY1291, sY1191 (AZFc) và sY1192 (AZFb).

Từ khóa: AZF, Real-time PCR.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Năm 1976, Tiepolo và Zuffardi nghiên cứu 1.170 nam giới vô sinh bằng việc phân tích băng NST đã phát hiện 6 người có mất đoạn ở vị trí Yq11 và tác giả đã đưa ra khái niệm về đoạn AZF trên NST Y có liên quan tới sản sinh tinh trùng [1]. Tuy nhiên, tại thời điểm đó chưa xác định được các locus của đoạn AZF và các nghiên cứu còn khá hạn chế. Năm 1992, Vollrath và cs lần đầu tiên dùng kỹ thuật PCR xác định được 132 vị trí trình tự đích (STSs) trên NST Y [2]. Năm 1996, Voght và cs đã sử dụng 76 trình tự môi (STSs) trên một số lượng lớn bệnh nhân nam vô sinh, kết quả nghiên cứu này cho thấy vùng AZF gồm 3 đoạn: AZFa, b, c [3]. Mất đoạn nhỏ xảy ra ở 3 vùng AZFabc thường dẫn đến những rối loạn trong quá trình sinh tinh nhưng ở các mức độ khác nhau [4]. Có gần 100 trình tự STS (Short Tandem Sequence) thuộc các vùng AZFabc. Theo các tác giả, ở những nam giới không có tinh trùng, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y cao hơn so với những người ít tinh trùng và tỷ lệ này khác nhau ở từng nghiên cứu, từng vùng. Tại các vùng AZFabc, các trình tự đang được nghiên cứu và thống kê nhiều nhất là sY84 và sY86 thuộc vùng AZFa; sY127 và sY134 thuộc vùng AZFb; sY254 và sY255 thuộc

vùng AZFc. Các trình tự này đại diện chính cho các vùng AZFabc, khi mất đoạn tại các trình tự trên sẽ được coi là mất đoạn hoàn toàn các vùng AZFabc, ảnh hưởng đến chức năng sản xuất tinh trùng [4]. Tuy nhiên, ngoài các trình tự chính thuộc các vùng AZFabc, các trình tự mở rộng chưa được thống kê nhiều. Năm 2013, Viện Nghiên cứu chất lượng di truyền học phân tử châu Âu (EMQN) đã khuyến cáo phân tích thêm các trình tự mở rộng ngoài các trình tự cơ bản thuộc vùng AZFabc, như mở rộng AZFa: sY82, sY83, sY85, sY87, sY88, sY1065; mở rộng AZFb: sY105, sY121, sY143, sY1192, sY1224, sY153; mở rộng AZFc: sY149, sY157, sY158, sY160, sY1035, sY1191, sY1291... Trong đó, các trình tự mở rộng được lưu ý nhiều tại các vùng AZFa là sY83, sY88, sY1065; vùng AZFb là sY105, sY121, sY1192; AZFc là sY1191, sY1291. Hiện nay đã có một số bộ kit thương mại được ứng dụng để phát hiện các mất đoạn AZF mở rộng, tuy nhiên phần lớn các bộ kit chưa được phổ biến rộng rãi tại Việt Nam như “Y Chromosome AZF Analysis System” (17 trình tự) của hãng Promega, “Y Microdeletion Real-time PCR kit” (15 trình tự) của hãng SNP Biotechnology, “Devyser AZF v2” phát hiện mất đoạn vùng AZFabc cơ bản và “Devyser AZF Extension” của hãng Devyser phát hiện mất đoạn vùng AZFabc mở rộng. Bộ kit

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

Application of Real-time PCR technique to detect AZF microdeletions in infertile men without sperm

Thi Lan Anh Luong*, Thu Lan Hoang

Hanoi Medical University

Received 9 October 2018; accepted 19 November 2018

Abstract:

Application of Real-time PCR technique to detect AZF microdeletions in 30 infertile men without sperm. Method: 30 peripheral blood samples were extracted with DNA, Real-time PCR technique using 21 target sequences to detect microdeletions of AZFabcd, including 6 primer pairs of AZFa (sY84, sY86, sY82, sY1064, sY1065, sY88), 6 primer pairs of AZFb/d (sY127, sY134, sY105, sY121, sY143, sY153), 7 primer pairs of AZFc (sY254, sY255, sY1191, sY1192, sY1196, sY1291, sY160), and two internal STSs ZFY/X, SRY. The results of the control analysis by the multiplex PCR technique revealed 8 basic STSs (sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY153, PB2), and the capillary electrophoresis with AZF expansion (10 extended STSs) exhibited 4 primer pairs of AZFa (sY82, sY83, sY88, sY1065), 3 primer pairs of AZFb (sY105, sY121, sY1192), 3 primer pairs of AZFc (sY1191, sY1291, sY160), and two internal STSs ZFY/X and SRY. These techniques were used for diagnosis. Results and conclusions: there were 40% (12/30) of patients with microdeletions in the AZF, basic microdeletions and extension microdeletions were 16.7% and 83.3%, respectively. In extension locations, the major microdeletions were sY1291, sY1191 (AZFc) and sY1192 (AZ Fb).

Keywords: AZF, Real-time PCR.

Classification number: 3.2

“Devyser AZF v2” và “Devyser AZF Extension” đang được sử dụng tại Việt Nam. Tại Phòng Di truyền phân tử, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội đã xây dựng và hoàn thiện quy trình Real-time PCR phát hiện mất đoạn vùng AZF cơ bản và mở rộng. Quy trình kỹ thuật này đã được so sánh với kỹ thuật multiplex PCR đang được sử dụng và kit “Devyser AZF v2” cũng như kit “Devyser AZF Extension” của hãng Devyser. Kết quả cho thấy có độ tương hợp hoàn toàn với các phương pháp đang được sử dụng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y bằng kỹ thuật Real-time PCR ở nam giới không có tinh trùng.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu

30 bệnh nhân nam giới bị vô sinh I (trong vòng 12 tháng không dùng các biện pháp tránh thai nhưng không có con), xét nghiệm tinh dịch đồ không có tinh trùng (xét nghiệm 2 lần, cách nhau ít nhất 1 tuần và xa nhất dưới 3 tháng, kiêng giao hợp trước khi làm xét nghiệm 3-5 ngày). Mỗi bệnh nhân được lấy 2 ml máu lympho ngoại vi, chống đông EDTA.

Quy trình nghiên cứu

i) Xét nghiệm tinh dịch đồ, phát hiện vô sinh không có tinh trùng, chọn đối tượng nghiên cứu.

ii) Chiết tách ADN từ máu ngoại vi.

iii) Ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR phát hiện mất đoạn nhỏ trên NST Y tại vùng AZF cơ bản và mở rộng:

- Kỹ thuật sử dụng: Real-time PCR với bộ mồi thiết kế cho xét nghiệm phát hiện 21 trình tự, chia thành 6 bộ phản ứng multiplex PCR. Bộ mồi bao gồm 6 cặp mồi vùng AZFa (sY84, sY86, sY82, sY1064, sY1065, sY88), 6 cặp mồi vùng AZFb/d (sY127, sY134, sY105, sY121, sY143, sY153), 7 cặp mồi vùng AZFc (sY254, sY255, sY1191, sY1192, sY1196, sY1291, sY160) và 2 nội kiểm ZFY/X, SRY.

- Thực hiện phản ứng Real-time PCR trên máy ABI 7500 Real-time PCR System, với cùng 1 chu trình luân nhiệt cho 2 phản ứng multiplex PCR: 95°C/2 phút; [95°C/15 giây; 60°C/60 giây; 72°C/60 giây] x 40; 4°C.

- Trong mỗi phản ứng PCR, có sử dụng ADN của người nam giới bình thường làm chứng dương, ADN của người nữ giới bình thường là chứng âm và một chứng âm là nước cất để kiểm tra nhiễm chéo.

- Phiên giải kết quả Real-time PCR.

Kết quả được phân tích thông qua đường biểu diễn huỳnh quang (sản phẩm PCR) và chu kỳ ngưỡng (Ct). Nếu đường biểu diễn cắt chu kỳ ngưỡng dưới 38 (Ct<38): không

mất đoạn gen vùng AZF; lớn hơn hoặc bằng ($C_t \geq 38$) hoặc dưới ngưỡng phát hiện: mất đoạn gen vùng AZF.

iv) Đối chiếu kết quả xét nghiệm bằng kỹ thuật Real-time PCR với kỹ thuật điện di agarose (xác định mất đoạn AZF cơ bản - 8 trình tự của vùng AZFabc: sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY153, PB2) và điện di mao quản (xác định AZF mở rộng - 10 trình tự mở rộng): 4 cặp mỗi vùng AZFa (sY82, sY83, sY88, sY1065), 3 cặp mỗi vùng AZFb (sY105, sY121, sY1192), 3 cặp mỗi vùng AZFc (sY1191, sY1291, sY160) và 2 nội kiểm ZFY/X, SRY.

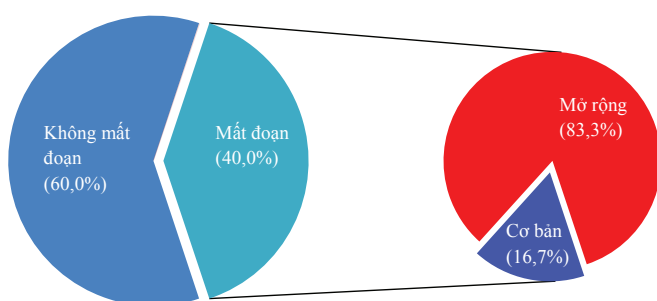
Đạo đức của nghiên cứu

Có cam kết, thỏa thuận với bệnh nhân; đối tượng nghiên cứu được thông báo rõ về mục đích nghiên cứu; giữ kín bí mật khi cung cấp thông tin và được phản hồi kết quả nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu

Tỷ lệ nam giới vô sinh không có tinh trùng bị mất đoạn AZF

Thống kê 30 bệnh nhân nam không có tinh trùng thuộc nhóm đối tượng nghiên cứu, có 12/30 (40,0%) trường hợp bị mất đoạn AZF bao gồm cả vùng cơ bản và mở rộng, 18/30 (60,0%) không phát hiện mất đoạn AZF. Trong số 12 bệnh nhân mất đoạn AZF trên tổng số 30 đối tượng nghiên cứu, chỉ có 2/12 (16,7%) trường hợp mất đoạn AZFb và c hoàn toàn, có 10/12 (83,3%) trường hợp chỉ mất đoạn vùng mở rộng của hoặc AZFb hoặc AZFc (biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ nam giới vô sinh bị mất đoạn AZF.

So sánh kết quả Real-time PCR với kết quả multiplex PCR và điện di mao quản sản phẩm PCR trên máy giải trình tự sequencing

Kết quả so sánh phát hiện đột biến mất đoạn gen vùng AZF ở 30 bệnh nhân bằng kỹ thuật Real-time PCR với kết quả multiplex PCR và kỹ thuật QF-PCR sử dụng bộ kit Devyser được thể hiện ở bảng 1.

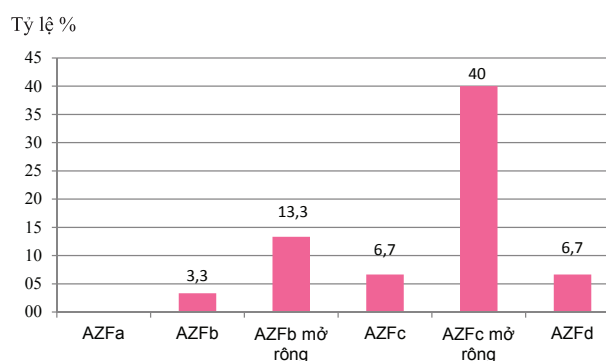
Bảng 1. Sự phù hợp giữa kết quả Real-time PCR với kết quả multiplex PCR và kết quả kỹ thuật QF-PCR sử dụng bộ kit Devyser.

Mẫu	Kết quả mất đoạn AZF	Kết quả multiplex PCR	Kết quả QF-PCR	Kết quả Real-time PCR
18 mẫu	Không đột biến mất đoạn	✓	✓	✓
1844	sY254, sY255, sY153, sY1291	✓	✓	✓
1850	sY127, sY134, sY1192, sY1191, sY1291, sY160, sY153	✓	✓	✓
6 mẫu	sY1291	-	✓	✓
3 mẫu	sY1192, sY1191	-	✓	✓
1886	sY1291, sY1191	-	✓	✓

Ghi chú: ✓: sự phù hợp giữa các phương pháp; -: mất đoạn vùng AZF mở rộng (sY1191 và sY1291) chỉ thực hiện so sánh với kỹ thuật QF-PCR, không thực hiện trên kỹ thuật multiplex PCR nên không so sánh sự phù hợp.

Kết quả phân tích mất đoạn AZF bằng kỹ thuật Real-time PCR được đối chiếu với kỹ thuật điện di agarose (xác định mất đoạn AZF cơ bản - 8 trình tự của vùng AZFabc: sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY153, PB2) và điện di mao quản (xác định AZF mở rộng - 10 trình tự mở rộng) cho thấy, 4 cặp mỗi vùng AZFa (sY82, sY83, sY88, sY1065), 3 cặp mỗi vùng AZFb (sY105, sY121, sY1192), 3 cặp mỗi vùng AZFc (sY1191, sY1291, sY160) và 2 nội kiểm ZFY/X, SRY có tỷ lệ phù hợp là 100%.

Tỷ lệ mất đoạn theo vùng AZFabc



Biểu đồ 2. Phân bố mất đoạn vùng AZF.

Không phát hiện các trường hợp mất đoạn AZFa, có 1/30 (3,3%) bệnh nhân mất đoạn vùng AZFb cơ bản (sY127, sY134), 2/30 (6,7%) bệnh nhân mất đoạn vùng AZFc cơ bản (sY254, sY255), 4/30 (13,3%) bệnh nhân mất đoạn vùng AZFb mở rộng (sY1192), 12/30 (40,0%) bệnh nhân mất đoạn vùng AZFc mở rộng (sY160, sY1191, sY1291), 2/30 (6,7%) bệnh nhân mất đoạn vùng AZFd (sY153 và PB2) (biểu đồ 2).

Phân bố mất đoạn AZF cơ bản và mở rộng

Tần suất vị trí mất đoạn AZFabcd: kết quả bảng 2 cho thấy, có 1 vị trí mở rộng của vùng AZFb (sY1192) và 3 vị trí mở rộng của AZFc (sY1191, sY1291, sY160) được khảo sát có mất đoạn. Trong đó, vị trí bị mất đoạn nhiều nhất là vùng mở rộng của AZFc: sY1291 (37,5%) và sY1191 (20,7%), tiếp theo là vị trí sY1192 của vùng mở rộng AZFb (16,6%), mất đoạn sY160 của AZFc chỉ xuất hiện ở 1 bệnh nhân (4,2%).

Bảng 2. Tần suất vị trí mất đoạn AZFabcd.

Vùng	Vị trí sY	Số lượng	Tỷ lệ (%)
AZFfa	0	0	0
AZFb	127, 134	1	4,2
	1192	4	16,6
AZFc	254, 255	2	8,4
	1191	5	20,7
	1291	9	37,5
	160	1	4,2
AZFd	153, BPY2	2	8,4
Tổng số	9	24	100

Phân bố kiểu phối hợp các vị trí mất đoạn của vùng AZF: trong số 12 bệnh nhân nam giới vô sinh bị mất đoạn vùng AZF, có tới 6 bệnh nhân (50%) chỉ có mất đoạn tại vị trí sY1291 thuộc vùng mở rộng AZFc; 3 bệnh nhân mất đoạn đồng thời 2 vị trí sY1192 (AZFb) và sY1191 (AZFc); 1 trường hợp mất đoạn AZFbc hoàn toàn, kèm theo các vị trí mở rộng của AZFb - sY1192 và 3 vị trí mở rộng của AZFc - 1191, 1291 và sY160; 1 trường hợp mất đoạn AZFd kèm theo vị trí mở rộng của AZFc (sY1291); 1 trường hợp mất đoạn đồng thời 2 vị trí mở rộng của AZFc (sY 1191, sY1291) (bảng 3).

Bảng 3. Phân bố kiểu phối hợp vị trí mất đoạn AZF.

Vùng	Vị trí sY phối hợp	Số lượng bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
AZFb	127, 134, 1192	1	8,3
AZFc	1191, 1291, 160		
AZFd	153, BPY2		
AZFc	254, 255, 1291	1	8,3
AZFd	153, BPY2		
AZFb, AZFc	1192, 1191	3	25
AZFc	1191, 1291	1	8,3
AZFc	1291	6	50
Tổng số		12	100

Bàn luận

Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR để phát hiện các đột biến mất đoạn nhỏ tại vùng AZFabcd của nam giới bị vô sinh do không có tinh trùng. Kỹ thuật Real-time PCR được hoàn chỉnh và đưa vào ứng dụng với độ nhạy và đặc hiệu là 100%, đạt độ tin cậy khi so sánh có sự tương đồng kết quả với kỹ thuật xét nghiệm thường quy multiplex PCR, điện di agarose phát hiện mất đoạn nhỏ AZF cơ bản và QF-PCR, điện di mao quản sử dụng bộ kit Devyser phát hiện AZF mở rộng. Lần đầu tiên, chúng tôi thống kê tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y có sự khác biệt với các nghiên cứu trước đây của Lương Thị Lan Anh và cs, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y của nam giới vô tinh và thiểu tinh xấp xỉ 10% [5]. Trong thống kê này, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y cao và lên tới 40% trong số những bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng. Sở dĩ có hiện tượng này là vị trí trình tự tại các vùng AZF đã được mở rộng so với các nghiên cứu trước đây của tác giả [5, 6]. Các bệnh nhân trước đây chỉ được phát hiện mất đoạn nhỏ tại vùng AZF cơ bản (8 trình tự của vùng AZFabcd: sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY153, PB2), nghiên cứu này đã mở rộng thêm 13 vị trí của vùng AZFabcd (4 vị trí thuộc vùng AZFa - sY82, sY1064, sY1065, sY88; 3 vị trí thuộc vùng AZFb - sY105, sY121, sY143; 6 vị trí thuộc vùng AZFc - sY1191, sY1192, sY1196, sY1291, sY160, sY116). Nếu tính riêng mất đoạn AZF vùng cơ bản thì chỉ có 2/30 bệnh nhân (chiếm 6,7%), khi mở rộng các vị trí trình tự của các đoạn trên vùng AZF của NST Y, con số này lên tới 40%. Trong số 40% các trường hợp mất đoạn nhỏ trên NST Y, mất đoạn nhỏ vùng cơ bản AZF chỉ chiếm 16,7%, còn lại chỉ mất đoạn vùng AZF mở rộng chiếm phần lớn (83,3%). Trong báo cáo của hội đồng lâm sàng thuộc Hiệp hội sinh sản và bệnh viện sinh sản di truyền (Mỹ), khi phân tích mở rộng vị trí mất đoạn ở nam giới vô sinh, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y tăng 22-24%. Các vị trí mở rộng được phát hiện thấy là sY1191, sY1291, sY1189 [7, 8].

Theo khuyến cáo của Hội nam học châu Âu (2013) [4], đối với 1 bệnh nhân nam vô sinh không có tinh trùng, việc phân tích mất đoạn nhỏ trên NST Y cần được tiến hành tuần tự, trước hết phân tích vùng AZF cơ bản cho bệnh nhân, nếu không phát hiện mất đoạn AZFabc có thể dừng lại. Nếu như phát hiện 1 trong các vị trí của AZFa/b/c cần được tiến hành phân tích đơn mỗi (trong trường hợp phân tích bằng kỹ thuật multiplex PCR) hoặc thực hiện tiếp với các vị trí mở rộng (nếu sử dụng kỹ thuật QF-PCR, điện di mao quản). Theo lý thuyết các vị trí tại vùng cơ bản AZFabcd đã đại diện cho vùng, nếu mất đoạn tại các vị trí đó có thể khẳng định mất đoạn vùng. Trong trường hợp này, chúng tôi chỉ phát hiện được 2/30 bệnh nhân có mất đoạn AZFbcd cơ bản, có tới 10/30 bệnh nhân chỉ mất đoạn tại các vùng mở rộng của AZFb hoặc AZFc.

Vùng AZFc mở rộng được phát hiện nhiều nhất (chiếm tỷ lệ 40% các trường hợp), trong đó vị trí mở rộng được phát hiện mất đoạn nhiều nhất là sY1291 thuộc vùng AZFc, chỉ mất riêng đoạn sY1291 đã chiếm tới 50% số bệnh nhân bị mất đoạn (6/12) và tần suất chung (bao gồm đơn độc và phối hợp với các mất đoạn khác) là 37,5% (9/24) trong tổng số các đoạn bị mất. Tiếp đến là tần suất mất đoạn sY1191 (AZFc) 20,7% và 1192 (AZFb) 16,6%.

Hai trường hợp mất đoạn AZF cơ bản (AZFbcd, AZFcd), các đoạn bị mất cho thấy phù hợp là các vị trí đại diện cho vùng như sY127, sY134 (AZFb), sY254, sY255 (AZFc), sY153, PB2 (AZFd), đồng thời kèm theo mất đoạn tại các vị trí mở rộng. Trường hợp mất đoạn AZFbcd, vị trí mở rộng bị mất thêm là sY1192 (AZFb), sY1191, sY1291, sY160 (AZFc). Trường hợp mất đoạn vùng AZFcd, vị trí mở rộng bị mất thêm là sY1291 (AZFc).

Với số lượng 30 bệnh nhân, nghiên cứu bước đầu phát hiện những đặc điểm đáng ghi nhận khi phân tích mất đoạn nhỏ trên vùng AZF của NST Y. Chúng tôi sẽ tiếp tục ứng dụng kỹ thuật phân tích mở rộng này trên số lượng lớn bệnh nhân để đưa ra được bức tranh tổng quan về tình trạng mất đoạn AZF ở các bệnh nhân nam vô sinh nói chung và các bệnh nhân nam vô sinh không có tinh trùng, đặc biệt mối liên quan giữa các vị trí AZF mở rộng với vô sinh nam.

Kỹ thuật Real-time PCR cùng với những tiện ích của kỹ thuật này có thể đưa vào ứng dụng để phát hiện các trường hợp mất đoạn nhỏ trên NST Y cho các đối tượng bệnh nhân được chỉ định.

Kết luận

Ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR đã phát hiện được 40% (12/30) các trường hợp mất đoạn nhỏ trên NST Y ở các bệnh nhân nam không có tinh trùng. Nếu chỉ mất đoạn tại vùng AZF cơ bản có 2/12 bệnh nhân (16,7%), mất đoạn vùng AZF mở rộng có 10/12 bệnh nhân (83,3%).

Mất đoạn vùng cơ bản có kèm theo các vị trí mở rộng

(sY1192, sY1191, sY1291, sY160). Tại các vị trí mở rộng, chủ yếu gặp các mất đoạn sY1291, sY1191 (AZFc) và sY1192 (AZFb).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hoàn thành với sự giúp đỡ của các đồng nghiệp của Bộ môn Y sinh học - di truyền, Trung tâm Tư vấn di truyền, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Trường Đại học Y Hà Nội. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. Tiepolo, O. Zuffardi (1976), "Localization of factor controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm", *Hum. Genet.*, **34**(2), pp.119-124.
- [2] D. Vollrath, et al. (1992), "The human Y chromosome: A 43- interval map based on naturally occurring deletions", *Science*, **258**(5079), pp.52-59.
- [3] P.H. Voght (1996), "Human Y chromosome function in male germ cell development", *Advances in Developmental Biology*, **1**(4), pp.141-157.
- [4] C. Krausz, et al. (2013), "EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013", *Andrology*, **2**(1), pp.5-14.
- [5] Lương Thị Lan Anh và cs (2013), "Phát hiện mất đoạn AZFbcd trên NST Y ở những bệnh nhân vô tinh và thiếu tinh bằng kỹ thuật Multiplex PCR", *Tạp chí Y học Việt Nam*, **411**(1), tr.29-33.
- [6] Li hua LU, et al. (2013), "Investigation on Azoospermia Factor (AZF) Microdeletion and Sex-determining Region Y (SRY) of the Y Chromosome in Male Infertility", *Journal of Reproduction and Contraception*, **24**(2), pp.88-94.
- [7] Practice Committee, American Society for Reproductive Medicine (2018), "Evaluation of the azoospermic male: a committee opinion Azoospermia factor microdeletion in infertile men with idiopathic severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia", *Fertility and Sterility*, **109**(5), pp.777-782.
- [8] Reproductive & Genetic Hospital (2018), *Detection of Microdeletions in the Azoospermia Factor (AZF) Regions in Infertile Male Patients*, US National Library of Medicine.