

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

PHẠM VĂN QUYẾT

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ BIẾN THỂ GEN *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* VÀ *TEX14*
Ở NGƯỜI BỆNH VÔ TINH VÀ THIỂU TINH NẶNG
CHƯA RÕ NGUYÊN NHÂN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

PHẠM VĂN QUYẾT

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ BIẾN THỂ GEN *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* VÀ *TEX14*
Ở NGƯỜI BỆNH VÔ TINH VÀ THIỂU TINH NẶNG
CHƯA RÕ NGUYÊN NHÂN**

Ngành: Khoa học y sinh (Mô phôi thai học)

Mã số: 9720101

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS, TS Nguyễn Thùy Dương
2. PGS, TS Trịnh Thế Sơn

HÀ NỘI – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Phạm Văn Quyết, nghiên cứu sinh Bộ môn Mô phôi, Học viện Quân y, trúng tuyển năm 2022, xin cam đoan:

1. Đây là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS, TS Nguyễn Thùy Dương và PGS, TS Trịnh Thế Sơn.

2. Các kết quả nêu trong luận án là trung thực và được công bố một phần trong các bài báo khoa học. Luận án chưa từng được công bố. Nếu có điều gì sai, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Nghiên cứu sinh

Phạm Văn Quyết

MỤC LỤC

Trang bìa phụ	
Lời cam đoan	
Lời cảm ơn	
Mục lục	
Danh mục chữ viết tắt trong luận án	
Danh mục các hình	
Danh mục các bảng	
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Hình thái tinh hoàn và quá trình sinh tinh	3
1.1.1. Tinh hoàn.....	3
1.1.2. Ống sinh tinh	4
1.1.3. Các giai đoạn của tế bào dòng tinh	4
1.1.4. Vai trò của nội tiết tố sinh sản đối với quá trình sinh tinh.....	7
1.2. Các nguyên nhân và yếu tố ảnh hưởng gây suy giảm sinh tinh	11
1.2.1. Các nguyên nhân do yếu tố di truyền.....	11
1.2.2. Các nguyên nhân không do yếu tố di truyền.....	14
1.2.3. Các yếu tố ảnh hưởng	15
1.2.4. Các loại suy giảm sinh tinh.....	17
1.3. Vô tinh, thiếu tinh nặng	17
1.3.1. Khái niệm	17
1.3.2. Phân loại	17
1.4. Chẩn đoán nguyên nhân di truyền trong suy giảm sinh tinh.....	19
1.4.1. Xét nghiệm cấp độ tế bào	19
1.4.2. Xét nghiệm cấp độ tế bào-phân tử	20
1.4.3. Xét nghiệm cấp độ phân tử.....	20

1.5. Vai trò của các gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> đối với quá trình sinh tinh	23
1.5.1. Gen <i>FSHB</i>	23
1.5.2. Gen <i>FSHR</i>	25
1.5.3. Gen <i>TEX11</i>	26
1.5.4. Gen <i>TEX14</i>	28
1.6. Một số nghiên cứu về mối liên quan giữa các biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng	30
1.6.1. Nghiên cứu trên thể giới.....	30
1.6.2. Nghiên cứu trong nước.....	34
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	35
2.1. Đối tượng nghiên cứu	35
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu.....	35
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu.....	35
2.2. Phương pháp nghiên cứu	36
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu	36
2.2.3. Cỡ mẫu	36
2.2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	38
2.2.5. Phiếu thăm khám, dụng cụ, phương tiện và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu	38
2.2.6. Quy trình nghiên cứu.....	41
2.2.7. Phương pháp thu thập số liệu	57
2.2.8. Xử lý số liệu.....	57
2.3. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu.....	58
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	59
3.1. Đặc điểm nhân khẩu học, tình dịch đồ, nội tiết tố sinh sản và kích thước tinh hoàn.....	59
3.1.1. Đặc điểm nhân khẩu học.....	59

3.1.2. Đặc điểm tinh dịch đồ	61
3.1.3. Đặc điểm nội tiết tố sinh sản	62
3.1.4. Đặc điểm kích thước tinh hoàn	63
3.2. Xác định các biến thể của gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i>	63
3.2.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số và PCR các đoạn gen chứa biến thể nghiên cứu	63
3.2.2. Phân tích biến thể gen của các đối tượng nghiên cứu	66
3.3. Khảo sát mối liên quan giữa biến thể của các gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng	74
3.3.1. Đánh giá đặc điểm di truyền của nhóm bệnh và nhóm chứng trong mối tương quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng.....	74
3.3.2. Mô hình hồi quy logistic đa biến giữa các biến thể gen, các đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng	81
3.3.3. Đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm di truyền với các chỉ số tinh dịch đồ, nội tiết tố sinh sản và thể tích tinh hoàn ở nhóm bệnh	83
Chương 4. BÀN LUẬN	98
4.1. Các biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> và mối liên quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng	98
4.1.1. Biến thể gen <i>FSHB</i>	98
4.1.2. Biến thể gen <i>FSHR</i>	105
4.1.3. Biến thể gen <i>TEX11</i>	110
4.1.4. Biến thể gen <i>TEX14</i>	112
4.2. Liên quan của các biến thể <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với đặc điểm tinh dịch đồ, nội tiết tố sinh sản, kích thước tinh hoàn của nhóm bệnh....	114
4.2.1. Biến thể gen <i>FSHB</i>	114
4.2.2. Biến thể gen <i>FSHR</i>	119
4.2.3. Biến thể gen <i>TEX11</i>	123
4.2.4. Biến thể gen <i>TEX14</i>	124

KẾT LUẬN	126
KIẾN NGHỊ	128
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
1	AZF	Azoospermia factor (yếu tố gây vô tinh)
2	BMI	Body mass index (chỉ số khối cơ thể)
3	CNV	Copy number variant (biến thể số bản sao)
4	DHT	Dihydrotestosteron
5	DNA	Deoxyribonucleotide
6	dNTP	Deoxynucleoside triphosphate
7	FSH	Follicle Stimulating Hormone (Nội tiết tố kích thích nang trứng)
8	GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone (Nội tiết tố giải phóng Gonadotropin)
9	GnH	Gonadotropin Hormone
10	GTMT	Giãn tĩnh mạch tinh
11	HTSS	Hỗ trợ sinh sản
12	ICSI	Intra-Cytoplasmic Sperm Injection (tiêm tinh trùng vào bào tương)
13	IVF	In Vitro Fertilization (thụ tinh trong ống nghiệm)
14	LH	Luteinizing Hormone (Nội tiết tố hoàng thể hóa)
15	MA	Mature Arrest (ngừng trưởng thành)
16	NOA	Non Obstructive Azoospermia (vô tinh không do tắc)
17	NST	Nhiễm sắc thể
18	OA	Obstructive Azoospermia (vô tinh do tắc)
19	PCR	Polymerase Chain Reaction (phản ứng chuỗi khếch đại)
20	RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (đa hình độ dài đoạn cắt giới hạn)
21	SSC	Spermatogonial stem cell (tinh nguyên bào gốc)
22	SC	Synaptonemal complex (phức hợp tiếp hợp)
23	SCO	Sertoli Cell Only (chỉ có tế bào Sertoli)
24	SNP	Single nucleotide polymorphism (đa hình đơn nucleotid)
25	TEX	Testis Express (biểu hiện ở tinh hoàn)
26	TĐĐ	Tinh dịch đồ
27	WES	Whole exome sequencing (giải trình tự toàn bộ exom)
28	WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)

DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Cấu tạo tinh hoàn	03
1.2.	Sơ đồ quá trình sinh tinh tại tinh hoàn	04
1.3.	Hình ảnh ống sinh tinh nhuộm hóa mô miễn dịch	05
1.4.	Hình ảnh nhuộm miễn dịch huỳnh quang nhiễm sắc thể kỳ đầu giảm phân 1	06
1.5.	Vai trò của FSH, testosterone với quá trình sinh tinh	08
1.6.	Sơ đồ điều hòa nội tiết trong quá trình sinh tinh	10
1.7.	Sơ đồ truyền tín hiệu của FSH trong quá trình sinh tinh	24
1.8.	Biểu đồ so sánh mức độ biểu hiện của gen <i>TEX11</i>	26
1.9.	Cấu trúc của phức hợp tiếp hợp (SC)	27
1.10	Biểu đồ so sánh mức độ biểu hiện của gen <i>TEX14</i>	28
1.11.	Sơ đồ hình thành cầu nối gian bào	29
2.1.	Sơ đồ các bước tiến hành nghiên cứu	43
2.2.	Các bước tách chiết DNA tổng số	50
3.1.	Hình ảnh điện di DNA tổng số	64
3.2.1.	Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa <i>FSHB</i> rs10835638	64

Hình	Tên hình	Trang
3.2.2.	Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa <i>FSHR</i> rs6166	65
3.2.3.	Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa <i>TEX11</i> rs4844247	65
3.2.4.	Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa <i>TEX14</i> rs79813370	65
3.3.	Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs10835638 gen <i>FSHB</i>	67
3.4.	Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs10835638 gen <i>FSHB</i>	68
3.5.	Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs6166 gen <i>FSHR</i>	69
3.6.	Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs6166 gen <i>FSHR</i>	70
3.7.	Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs4844247 gen <i>TEX11</i>	71
3.8.	Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs4844247 gen <i>TEX11</i>	72
3.9.	Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs79813370 gen <i>TEX14</i>	73
3.10.	Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs79813370 gen <i>TEX14</i>	74
3.11.	Mối liên quan giữa biến thể rs6166 gen <i>FSHR</i> với các chỉ số tình dục ở nhóm thiếu tinh nặng	85
3.12.	Mối liên quan giữa biến thể rs6166 gen <i>FSHR</i> với nồng độ testosterone ở nhóm thiếu tinh nặng	90

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
2.1.	Tiêu chuẩn tinh dịch đồ theo WHO 2021	44
2.2.	Thông tin chi tiết đoạn môi trong phản ứng PCR	52
2.3.	Thành phần hỗn hợp PCR các đoạn gen	52
2.4.	Thông tin về enzyme cắt và nhiệt độ ủ trong phản ứng RFLP	54
2.5.	Thông tin xác định kiểu gen sau phân cắt trong phản ứng RFLP	54
3.1.	Đặc điểm độ tuổi và thói quen của các đối tượng nghiên cứu	59
3.2.	Đặc điểm hình thể của các đối tượng nghiên cứu	60
3.3.	Thời gian vô sinh và tiền sử điều trị bằng các phương pháp hỗ trợ sinh sản của nhóm bệnh	60
3.4.	Đặc điểm TDD của nhóm chứng và nhóm thiếu tinh nặng	61
3.5.	Đặc điểm nội tiết tố sinh sản giữa nhóm bệnh và nhóm chứng	62
3.6.	Đặc điểm thể tích tinh hoàn giữa nhóm bệnh và nhóm chứng	63
3.7.	Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs10835638 gen <i>FSHB</i>	66
3.8.	Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs6166 gen <i>FSHR</i>	68
3.9.	Tần số alen của biến thể rs4844247 gen <i>TEX11</i>	70
3.10.	Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs79813370 gen <i>TEX14</i>	72
3.11.1.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng	75
3.11.2.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với tình trạng vô sinh do thiếu tinh nặng	76
3.11.3.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với tình trạng vô tinh	77

Bảng	Tên bảng	Trang
3.12.1.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng	78
3.12.2.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với tình trạng vô sinh do thiếu tinh nạng	79
3.12.3.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với tình trạng vô tinh	80
3.13.	Phân tích hồi quy logistic đa biến liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> và một số đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh nam	81
3.14.	Phân tích hồi quy logistic đa biến liên quan giữa các biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> và một số đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh do thiếu tinh nạng	82
3.15.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nạng	83
3.16.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHR</i> với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nạng	84
3.17.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nạng	86
3.18.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX14</i> với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nạng	87
3.19.1.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh	88
3.19.2.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm thiếu tinh nạng	89
3.19.3.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm vô tinh	91
3.20.1.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh	92
3.20.2.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm thiếu tinh nạng	93

Bảng	Tên bảng	Trang
3.20.3.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm vô tinh	94
3.21.1.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với kích thước tinh hoàn ở nhóm bệnh	95
3.21.2.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với kích thước tinh hoàn ở nhóm thiếu tinh nặng	96
3.21.3.	Mối liên quan giữa biến thể gen <i>FSHB</i> , <i>FSHR</i> , <i>TEX11</i> , <i>TEX14</i> với kích thước tinh hoàn ở nhóm vô tinh	97

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, tỷ lệ vô sinh nam đang có xu hướng gia tăng tại nhiều vùng lãnh thổ, trong đó có Việt Nam với tỷ lệ tính theo độ tuổi tăng gần 0,5% từ năm 1990 đến năm 2017 [1]. Đây thực sự là một vấn đề ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cuộc sống của mỗi gia đình và là một gánh nặng đối với ngành y tế. Đáng chú ý là những công bố cảnh báo về tình trạng suy giảm số lượng tinh trùng của nam giới ngày càng rõ ràng [2]. Ngoài những nguyên nhân thường gặp được biết đến như tắc nghẽn đường dẫn tinh, suy sinh dục, nhiễm trùng, miễn dịch, giãn tĩnh mạch tinh, hay bất thường cơ quan sinh dục hoặc bất thường di truyền [3], [4], thì còn khoảng 20% trường hợp nam giới vô sinh có suy giảm các chỉ số tinh dịch đồ chưa xác định được chính xác nguyên nhân [5], gây nhiều khó khăn trong điều trị, đặc biệt là nhóm vô tinh và thiếu tinh năng.

FSH (Follicular Stimulating Hormon) đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc kích thích quá trình sinh tinh và cải thiện khả năng sinh sản của nam giới bị suy sinh dục do giảm gonadotropin. Trong khi đó, hiệu quả của phương pháp này ở những bệnh nhân vô sinh vô căn có sự khác biệt khá lớn, từ có đáp ứng đến không đáp ứng hoàn toàn [6], [7]. Hiện tại vẫn thiếu các dấu hiệu lâm sàng, cận lâm sàng đáng tin cậy để bắt đầu điều trị. Tuy nhiên, có một số nghiên cứu trên thế giới về liên quan của biến thể của gen *FSHB*, *FSHR* với tình trạng vô tinh, thiếu tinh, đã chỉ ra ảnh hưởng của các biến thể đó đối với hiệu quả điều trị bằng FSH [8], [9], còn các nghiên cứu trong nước, đang giới hạn ở một số báo cáo liên quan đến tình trạng vô sinh nữ [10], [11].

Cùng với đó, họ gen *TEX* (Testis Express) bao gồm các gen có mức độ biểu hiện cao và đặc hiệu tại mô tinh hoàn, với các gen tiêu biểu như *TEX11*, *TEX12*, *TEX14* và *TEX15* [12], [13], tuy nhiên chỉ có 3 gen được nhiều nghiên cứu trên thế giới công bố và xếp loại vào nhóm có mức độ liên quan cao với tình trạng vô sinh nam gồm *TEX11*, *TEX14* và *TEX15* [14]. Trong đó, gen *TEX11* nằm trên nhiễm sắc thể X (Xq13.1), nên các biến thể xuất hiện dễ được

biểu hiện thành kiểu hình hơn so với gen *TEX15*, mặc dù cả 2 gen này đều có vai trò quan trọng trong quá trình tiếp hợp nhiễm sắc thể của phân bào giảm nhiễm. Còn gen *TEX14* nằm trên nhiễm sắc thể thường (17q22) có vai trò khác so với gen *TEX11* và *TEX15*, đó là hình thành cấu trúc cầu nối gian bào, đặc trưng của tế bào dòng tinh [15]. Do đó, để khảo sát liên quan tới vô sinh nam, thì *TEX11* và *TEX14* là những đại diện đáng được quan tâm. Mặc dù *TEX14* đã bắt đầu được nghiên cứu và chỉ ra có liên quan với vô sinh nam tại Việt Nam, tuy nhiên với hiểu biết của chúng tôi, thì chỉ có một báo cáo đã được công bố và ở các đối tượng vô sinh nam nói chung [16].

Những tiến bộ trong các nghiên cứu toàn bộ hệ gen, trong đó có mảng đa hình đơn nucleotide (SNP) đã được sử dụng để tìm ra các gen liên quan tới tình trạng vô sinh ở nam giới [17]. Với khoảng 15-30% nguyên nhân có liên quan đến yếu tố di truyền, gồm nhiều biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng khác nhau, trong đó có suy giảm về số lượng tinh trùng [18]. Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của các gen tiềm năng có thể giúp hiểu rõ hơn về nguyên nhân của nam giới vô sinh ở các vùng lãnh thổ khác nhau.

Các gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* đều là các yếu tố di truyền có nhiều tiềm năng liên quan đến vô sinh nam. Tuy nhiên tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu cụ thể nào về 4 gen này trong mối quan hệ với tình trạng vô tinh, thiếu tinh năng. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài **“Nghiên cứu một số biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* ở người bệnh vô tinh và thiếu tinh năng chưa rõ nguyên nhân”** với các mục tiêu như sau:

1. *Xác định một số biến thể *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* ở người bệnh vô tinh và thiếu tinh năng chưa rõ nguyên nhân.*

2. *Đánh giá mối liên quan giữa một số biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở người bệnh vô tinh và thiếu tinh năng chưa rõ nguyên nhân.*

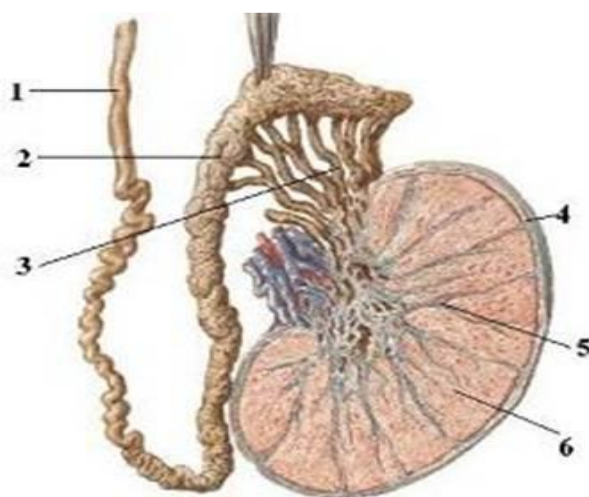
Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Hình thái tinh hoàn và quá trình sinh tinh

1.1.1. Tinh hoàn

Tinh hoàn tạo ra tinh trùng và tiết vào máu nội tiết tố sinh sản, có hình trứng với thể tích từ 12ml đến 30ml ở người trưởng thành. Mỗi tinh hoàn có khoảng 150 đến 200 tiểu thùy, mỗi tiểu thùy có khoảng 3 đến 4 ống sinh tinh có chức năng sản xuất ra tinh trùng. Xen giữa các ống sinh tinh là các tế bào Leydig có chức năng bài tiết ra testosterone. Từ các ống sinh tinh sẽ đổ vào các ống thẳng, tiếp đến là lưới tinh (lưới Haller) nằm trong trung thất của tinh hoàn. Lưới tinh đổ vào 12- 20 ống ra, đi vào đoạn đầu mào tinh tạo thành các ống mào tinh. Các ống mào tinh hợp dần với nhau để tạo thành một ống dẫn tinh duy nhất nằm trong thừng tinh. Tình trạng viêm nhiễm tại chỗ dễ dẫn tới tắc đường dẫn tinh. Thể tích tinh hoàn giảm dưới 12ml có thể liên quan đến suy giảm chức năng sinh tinh và sản xuất nội tiết tố [19], [20].



Hình 1.1. Cấu tạo tinh hoàn

* Nguồn: Giải phẫu học ngực-bụng (2006) [19]

1. Ống dẫn tinh 2. Thân mào tinh 3. Ống ra 4. Màng trắng
5. Vách gian tiểu thùy tinh hoàn 6. Tiểu thùy tinh hoàn

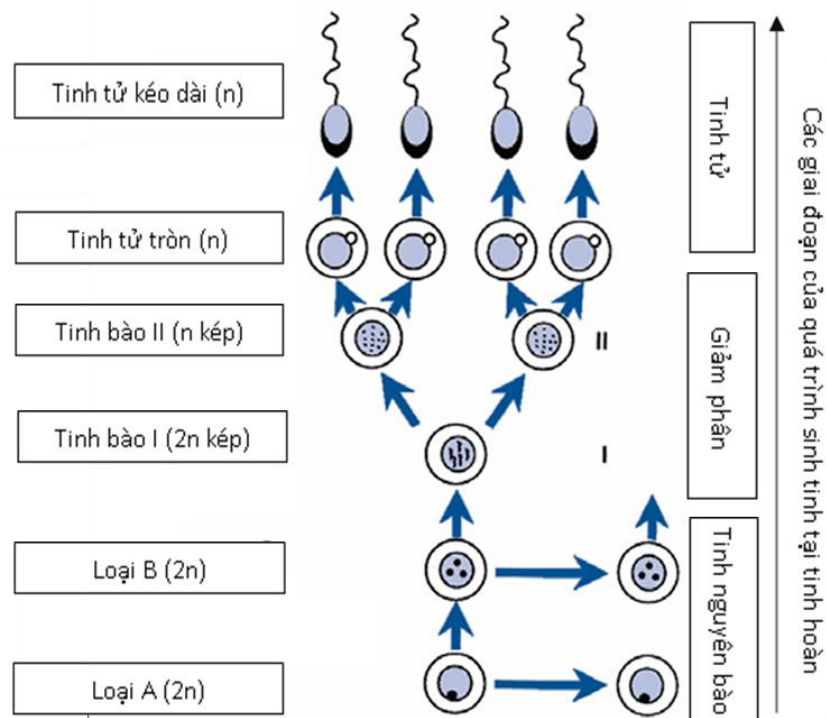
1.1.2. Ống sinh tinh

Ống sinh tinh là cấu trúc giải phẫu quan trọng, bao gồm các thành phần: màng đáy và biểu mô sinh tinh.

Biểu mô sinh tinh là một lớp tế bào biểu mô nhiều tầng có 5-8 lớp tế bào, bao gồm 2 loại tế bào: tế bào Sertoli và tế bào dòng tinh. Các tế bào dòng tinh luôn phân chia, tinh nguyên bào ở sát màng đáy và các tế bào dòng tinh trưởng thành hơn nằm gần lòng ống. Tế bào Sertoli nằm giữa các tế bào dòng tinh và trải dài từ màng đáy vào đến lòng ống sinh tinh, các tế bào Sertoli không còn khả năng phân chia khi đã trưởng thành. Suy giảm khả năng sinh tinh có liên quan đến sự thiếu hụt các tế bào Sertoli trưởng thành [3], [21].

1.1.3. Các giai đoạn của tế bào dòng tinh

Quá trình sinh tinh diễn ra ở trong lòng ống sinh tinh của tinh hoàn thông qua quá trình nguyên phân để gia tăng số lượng và giảm phân để tạo bộ nhiễm sắc thể đơn bội.



Hình 1.2. Sơ đồ quá trình sinh tinh tại tinh hoàn

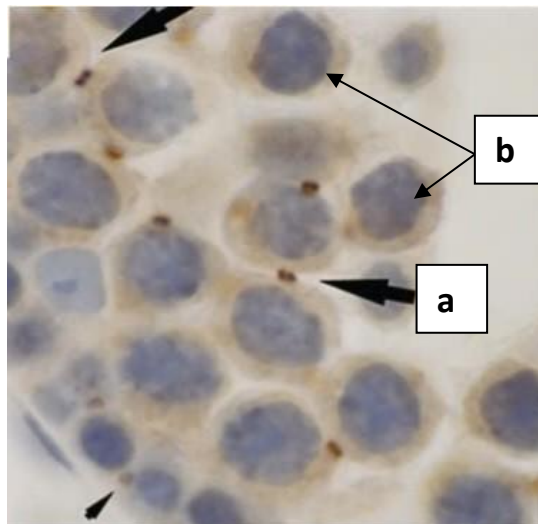
* Nguồn: theo Bergmann M. (2006) [21]

1.1.3.1. Giai đoạn tinh nguyên bào

Ở người, phân loại theo hình dạng có 3 loại tinh nguyên bào:

- Loại A đậm màu: Đóng vai trò dự trữ, loại này sẽ gián phân tạo thành tinh nguyên bào loại A nhạt màu khi có sự thiếu hụt.
- Loại A nhạt màu: Gián phân liên tục để tạo tinh nguyên bào loại B (tinh nguyên bào vảy).
- Loại B: Biệt hóa để tạo thành tinh bào I.

Tinh nguyên bào A đậm màu và nhạt màu là các tế bào dòng tinh ít biệt hóa nhất, một số ít ở dạng đơn lẻ trên màng đáy của ống sinh tinh, không có cầu nối gian bào, còn gọi là tinh nguyên bào gốc (SSC). Khi tinh nguyên bào A đậm màu và nhạt màu phân chia để tạo ra tinh nguyên bào B chuẩn bị quá trình giảm phân, giai đoạn này các tế bào dòng tinh bắt đầu hình thành kết nối với nhau bằng cầu nối gian bào. Đây là quá trình các tinh nguyên bào phân chia tế bào chất không hoàn chỉnh. Cầu nối gian bào giữa các tế bào dòng tinh được duy trì tới khi tinh tử biệt hóa thành tinh trùng và tách khỏi thành ống sinh tinh để đi vào lòng ống [4], [15], [22].



Hình 1.3. Hình ảnh ống sinh tinh nhuộm hóa mô miễn dịch

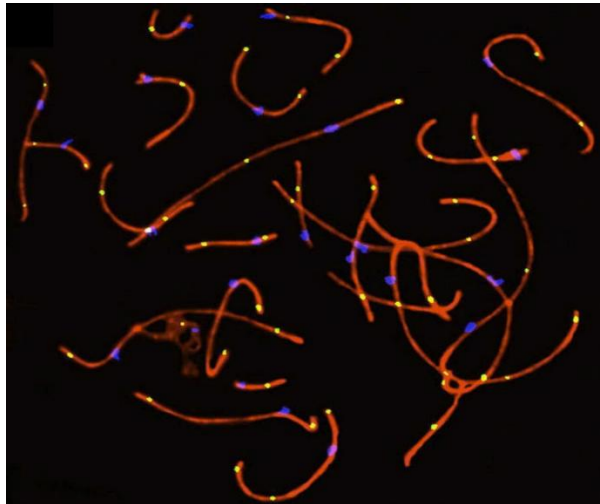
a: Cầu nối gian bào

b: Các tế bào dòng tinh

* Nguồn: Greenbaum M. P. và CS (2011) [15].

1.1.3.2. Giai đoạn giảm phân

Tinh bào I ($2n$) giảm phân lần thứ nhất, tạo ra 02 tinh bào II với bộ nhiễm sắc thể là $1n$ kép. Tinh bào II giảm phân lần thứ 2 tạo ra 02 tinh tử với bộ nhiễm sắc thể $1n$ đơn. Các tinh bào giảm phân bằng cách tiếp hợp nhiễm sắc thể, tái tổ hợp chất liệu di truyền và phân bào giảm nhiễm. Trong đó, phức hợp tiếp hợp (Synaptonemal Complex- SC) có các tiêu điểm tái tổ hợp (Recombination Foci-NF) xuất hiện trên nhiễm sắc thể có vai trò chủ đạo điều phối các hoạt động. Khi SC hoặc riêng NF bị lỗi ở các mức độ khác nhau, quá trình sản xuất tinh trùng sẽ bị suy yếu, có thể dẫn tới ngừng sinh tinh hoặc giảm số lượng tinh trùng hoặc các bất thường về chất lượng tinh trùng [23].



Hình 1.4. Hình ảnh nhuộm miễn dịch huỳnh quang hiển vi nhiễm sắc thể kỳ đầu giảm phân 1

Màu đỏ: Phức hợp tiếp hợp (SC); Màu xanh lam: Tâm động;

Màu vàng: Tiêu điểm tái tổ hợp (RF)

* Nguồn: *Tempest H. G. (2011) [23]*.

Giảm phân đảm bảo cho sự chuyển tiếp từ 1 tế bào lưỡng bội ($2n$) thành 4 tế bào đơn bội ($1n$). Các tế bào trong giai đoạn này cũng không phân cắt hoàn toàn để tạo thành các tế bào riêng biệt, mà vẫn có sự liên hệ với nhau qua cầu nối gian bào. Các nghiên cứu đã chứng minh cầu nối gian bào đóng vai trò thiết yếu để hoàn thành quá trình giảm phân [15], [21], [24].

1.1.3.3. Giai đoạn tinh tử

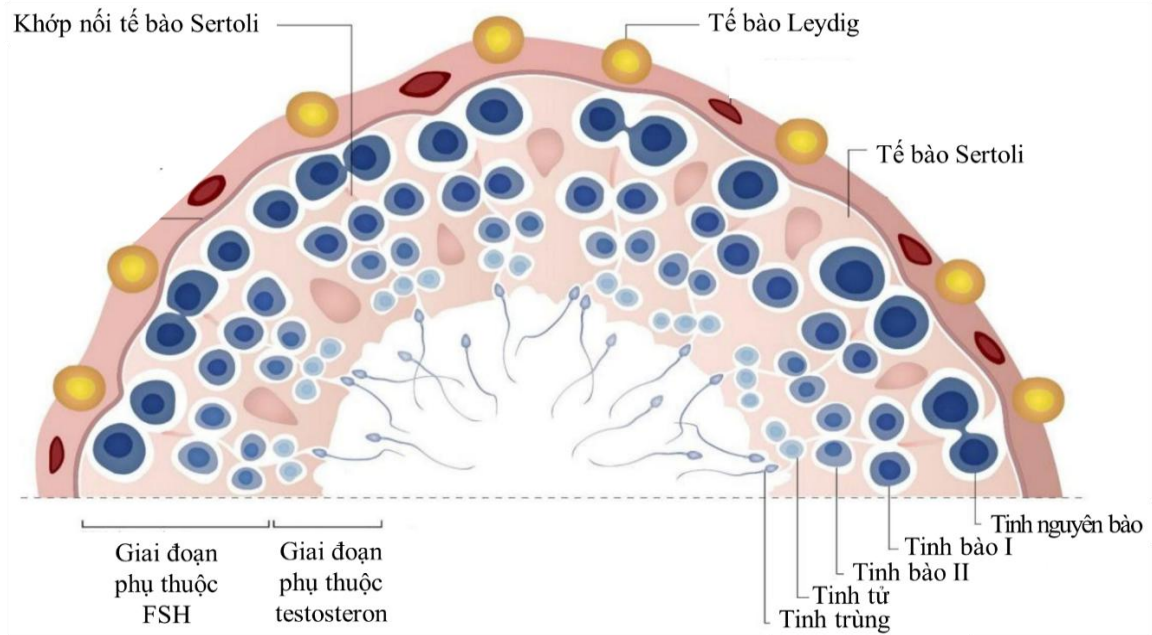
Sự biệt hóa tinh tử thành tinh trùng sau khi quá trình giảm phân hoàn tất, gồm bất hoạt bộ gen, nén gọn nhiễm sắc thể, đuôi tinh trùng hình thành bởi trung thể biến thành sợi trục chạy dọc suốt thân và đuôi tinh trùng, loại bỏ bớt bào tương, biệt hóa cấu trúc cực đầu để nhận diện noãn khi thụ tinh. Kết quả, tinh trùng được hình thành, tách khỏi thành ống sinh tinh với hình dạng và cấu trúc đặc thù ở mức độ biệt hóa cao gồm đầu, cổ và đuôi [4].

1.1.4. Vai trò của nội tiết tố sinh sản đối với quá trình sinh tinh

1.1.4.1. Hormone FSH (Follicle Stimulating Hormone)

Hormone FSH được sản xuất tại thùy trước tuyến yên, theo chu kỳ sinh học ngày đêm. Một số nghiên cứu gần đây về các đối tượng vô sinh nam đã chỉ ra rằng, nồng độ FSH trên mức 4,5UI/L hoặc 4,8 IU/L đã có liên quan đến suy giảm sinh tinh [25]. Cùng với đó, trong đánh giá mối quan hệ giữa nồng độ FSH với tình trạng vô tinh, theo cập nhật mới nhất năm 2024 của Hiệp hội tiết niệu Hoa Kỳ thì nồng độ FSH trên 7,6 IU/L là dấu hiệu quan trọng để đánh giá khả năng vô tinh không do tắc [26]. Vô sinh nam thường liên quan đến suy sinh dục, tuy nhiên, nồng độ FSH trong giới hạn bình thường không phải là yếu tố tiên lượng chính xác quá trình sinh tinh, kể cả trường hợp vô tinh không do tắc cũng có thể có nồng độ FSH bình thường [27].

Tại tinh hoàn FSH gắn vào các thụ thể trên bề mặt tế bào Sertoli, kích hoạt tế bào Sertoli. Đồng thời, FSH hoàn thiện về chức năng cho tế bào Sertoli để hỗ trợ các tế bào dòng tinh trong quá trình sản xuất tinh trùng và hình thành khớp nối giữa các tế bào Sertoli để tạo hàng rào máu tinh hoàn. Chính hàng rào máu tinh hoàn sẽ bảo vệ các tế bào dòng tinh xuất hiện sau dậy thì tránh khỏi các phản ứng miễn dịch của cơ thể. Đặc biệt, FSH là yếu tố chính để xác định số lượng tế bào Sertoli trưởng thành và quá trình chết sinh lý của tế bào dòng tinh, là cơ sở cho số lượng tế bào dòng tinh tham gia vào chu trình tế bào để tạo tinh trùng [28].



Hình 1.5. Vai trò của FSH, testosterone với quá trình sinh tinh

* Nguồn: Santi D. và CS (2020) [28].

Trên bề mặt tế bào Sertoli còn có các thụ thể tiếp nhận testosterone, cả FSH và testosterone đều cần thiết cho quá trình sản sinh tinh trùng. Trong đó, testosterone chỉ có thể duy trì hoạt động sinh tinh, còn FSH có vai trò khởi phát và duy trì quá trình sinh tinh, đặc biệt trong giai đoạn từ tinh nguyên bào đến khi hình thành tinh bào II [28].

Nồng độ FSH cao thì tinh hoàn sẽ mất đi đáp ứng kịp thời với các kích thích của hormone sinh dục và quá trình sản xuất tinh trùng bị tổn thương. Nếu nồng độ FSH thấp thì người bệnh có thể đã bị suy vùng hạ đồi, tuyến yên. FSH có mối quan hệ chặt chẽ với các nội tiết tố khác trong quá trình điều hòa sinh tinh. Khi có sự bất thường của phôi tử hoặc thụ cảm của FSH có thể sẽ làm rối loạn quá trình sinh tinh, dẫn tới giảm số lượng tinh trùng bao gồm thiếu tinh (*oligospermia*) hoặc không có tinh trùng (*azoospermia*) [8], [29].

1.1.4.2. Hormone LH (Luteinizing Hormone)

LH được sản xuất tại thùy trước tuyến yên. Ở nam giới, LH kích thích tế bào Leydig sản xuất testosterone, nồng độ LH quá thấp với giá trị dưới 1,5 IU/L khi trưởng thành, không đủ kích thích sản sinh testosterone, dẫn tới suy giảm

sinh tinh. Trong khi đó, nồng độ LH cao thường do tinh hoàn bị tổn thương và giảm khả năng sản xuất testosterone, cũng gây ra tình trạng tương tự [4], [30].

1.1.4.3. Hormone testosterone

Testosterone lưu hành trong máu chủ yếu dưới dạng liên kết với protein, khoảng 40% gắn chặt với globulin (SHBG) và 58% gắn lỏng lẻo với albumin, chỉ có khoảng 2% testosterone tự do có tác dụng sinh học. Testosterone kích thích sản sinh tinh trùng thông qua trung gian tế bào Sertoli và có vai trò trọng yếu trong quá trình biệt hóa từ tinh tử tròn tới tinh trùng [28].

Trong mô đích, một phần testosterone được chuyển hóa thành dihydrotestosterone (DHT) bởi enzyme 5-alpha-reductase và estradiol bởi enzym aromatase. Nồng độ testosterone ở nam giới trưởng thành trong khoảng 450-600 ng/dL, khi dưới 300 ng/dL được coi là thấp [4], [31].

1.1.4.4. Hormone prolactin

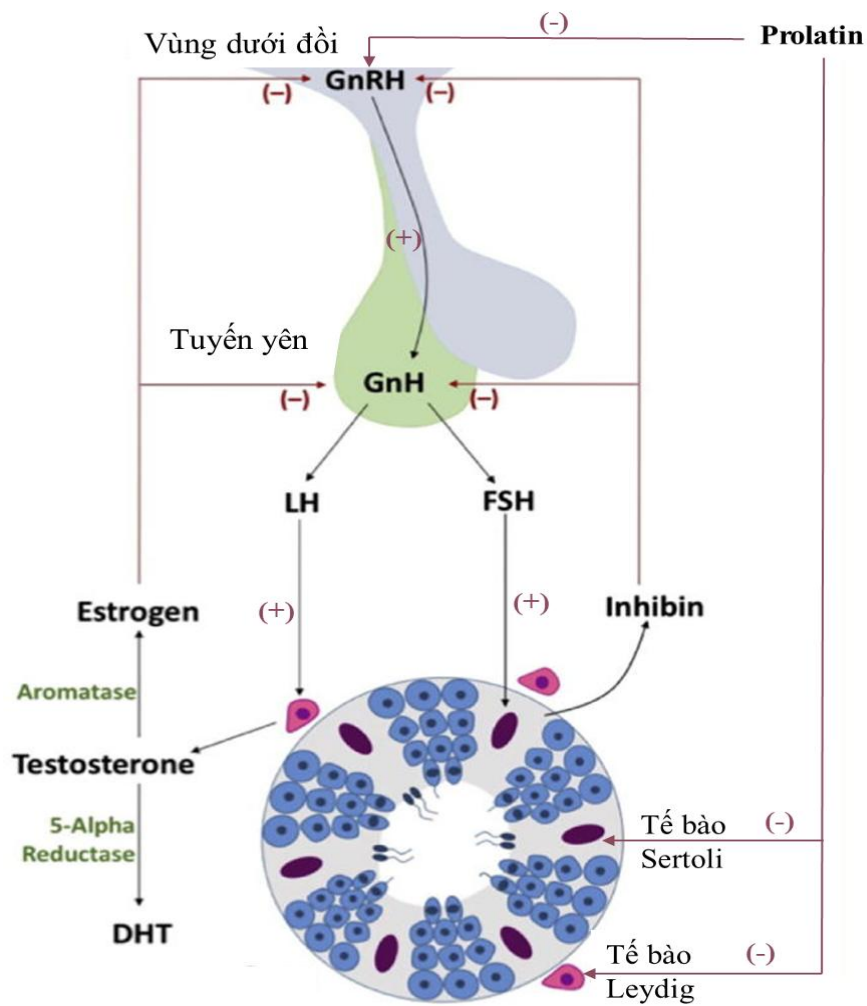
Hormone này được sản xuất tại thùy trước tuyến yên, có giá trị bình thường trong máu ở nam giới trưởng thành dưới mức 316,5 μ IU/ml, khi nồng độ tăng cao gây ức chế vùng dưới đồi, làm giảm LH và testosterone, dẫn tới suy giảm sinh tinh. Ngoài ra, nồng độ prolactin cao còn có thể ức chế trực tiếp lên tế bào Sertoli và Leydig qua thụ cảm thể của nó trên các tế bào này [32].

1.1.4.5. Hormone estradiol

Ở nam giới, estradiol được sản xuất tại tinh hoàn, tuyến thượng thận và một phần tại mô mỡ, có vai trò hỗ trợ quá trình sinh tinh. Nồng độ estradiol tăng cao dẫn tới ức chế quá trình sản sinh testosterone và gây rối loạn quá trình sinh tinh [33].

1.1.4.6. Mối liên quan giữa các nội tiết tố trong quá trình sinh tinh

Vùng dưới đồi tiết ra GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) dạng xung để kích thích tuyến yên tổng hợp và bài tiết các GnH (Gonadotropin Hormone) gồm FSH và LH. FSH tác động lên tế bào Sertoli, còn LH tác động lên tế bào Leydig.



Hình 1.6. Sơ đồ điều hòa nội tiết trong quá trình sinh tinh

* Nguồn: Dabbous Z., & Atkin S. L. (2018) [32]

Hormone testosteron, DHT và estradiol gây phản hồi ngược âm tính lên trục dưới đồi - tuyến yên để điều chỉnh lượng FSH, LH sinh ra. Inhibin và activin đều do tế bào Sertoli tiết ra, trong khi inhibin có tác dụng phản hồi âm tính lượng GnRH và FSH, còn activine lại kích thích sản xuất 2 hormone đó. Riêng prolactin ảnh hưởng kiểm soát đồng thời cả hoạt động chế tiết GnRH và hoạt động của các tế bào Sertoli, Leydig tại tinh hoàn [32], [33].

Hệ thống hoạt động các nội tiết tố liên quan với nhau phức tạp và khi mất cân bằng nội tiết tố, như quá nhiều inhibin, suy giảm tuyến yên, hoặc có sự bất thường của thụ cảm nội tiết tố ở bất cứ cơ quan nào sẽ có thể làm sự sinh tinh thất bại, làm suy giảm số lượng tinh trùng.

1.2. Các nguyên nhân và yếu tố ảnh hưởng gây suy giảm sinh tinh

1.2.1. Các nguyên nhân do yếu tố di truyền

Tình trạng suy giảm sinh tinh, trong đó có vô tinh và thiếu tinh nặng đã xác định được nhiều căn nguyên do yếu tố di truyền. Với sự phát triển của di truyền học, ngày càng có nhiều nguyên nhân được chỉ ra. Hiện nay, có một số bất thường điển hình ở cả cấp độ tế bào và phân tử như sau:

1.2.1.1. Bất thường ở mức độ tế bào

* Bất thường về số lượng nhiễm sắc thể

- Hội chứng Klinefelter: Tần xuất gặp hội chứng này khoảng 15% ở nhóm bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng. Đây là nguyên nhân phổ biến nhất gây vô tinh không do tắc. Bệnh nhân có kiểu gen 47,XXY hoặc dạng khảm 47,XXY/46,XY và thường có nồng độ FSH, LH tăng cao, testosterone thấp, rối loạn cương dương [34].

- Hội chứng XYY: Hội chứng Jacobs là một bất thường di truyền hiếm gặp trong đó nam giới nhận thêm một nhiễm sắc thể Y từ cha mình. Gặp khoảng 1/1000 trẻ nam sơ sinh, bệnh nhân có vóc dáng cao thường liên quan đến hành vi ngỗ ngược và phạm tội. Một số trường hợp 47,XYY bị vô sinh do thiếu tinh hoặc vô tinh, những người có khả năng sinh sản thường sinh ra những đứa con có kiểu nhân bình thường [35].

- Hội chứng 45,X: Là một bất thường rất hiếm gặp. Bệnh nhân có bộ NST 45,X nhưng một đoạn NST Y (SRY) dính vào một trong số các NST. Biểu hiện tình trạng vô sinh do không có tinh trùng. Trường hợp thể khảm 45,X/46XY có thể biểu hiện tình trạng vô tinh hoặc thiếu tinh nặng [36].

* Bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể

- Mất đoạn AZF trên NST Y: Là hiện tượng mất đoạn ở phần xa nhánh dài NST Y gây thiếu tinh, vô tinh và bất thường chất lượng tinh trùng. Việc mất hoàn toàn vùng AZFa ức chế quá trình phân chia và trưởng thành của tế bào mầm trong ống sinh tinh. Với vi mất đoạn AZFb biểu hiện tình trạng ngừng

sinh tinh trước giảm phân, chỉ có tinh nguyên bào và tinh bào I. Mất đoạn nhỏ AZFc có tình trạng gián đoạn sinh tinh ít nghiêm trọng hơn, là thiếu tinh mức độ nặng và khiếm khuyết về hình thái hoặc trưởng thành của tinh trùng. Trường hợp mất đoạn vùng AZFd được cho là có thể có số lượng tinh trùng giảm nhẹ hoặc thậm chí bình thường, nhưng hình thái tinh trùng bất thường [34].

- Rối loạn XX: Rối loạn phát triển tình dục ở tinh hoàn 46,XX là một tình trạng hiếm gặp, trước đây được gọi là Hội chứng Chapelle. Phần lớn nam giới 46,XX mang một phần nhiễm sắc thể Y, mang gen SRY (vùng xác định giới tính của Y). Khoảng 90% nam giới 46,XX có mang SRY, 10% còn lại SRY âm tính. Biểu hiện thể trạng bé nhỏ, thiếu năng thần kinh, hai tinh hoàn bé mật độ chắc, dương vật bình thường hoặc nhỏ. Nồng độ FSH, LH cao nhưng Testosteron lại thấp và vô tinh [37].

- Hội chứng Prader - Willi: Đa số bệnh nhân mắc hội chứng Prader-Willi có vóc dáng thấp do thiếu hụt hormone tăng trưởng. Ngoài ra, họ còn phải đối mặt với tình trạng rối loạn chức năng vùng dưới đồi, bao gồm suy sinh dục, suy giáp. Dẫn đến thiếu hụt GnRH dẫn đến suy giảm FSH, LH, giảm trương lực cơ, béo phì. Hội chứng Prader-Willi là kết quả của đột biến mất đoạn trên nhiễm sắc thể 15q11.2-q13 [38].

- Chuyển đoạn Robertson: Sự sắp xếp lại NST do hợp nhất cánh tay dài của hai NST, thường liên quan đến NST 13, 14, 15, 21 và 22. Mặc dù những người mang đột biến chuyển đoạn này có thể có kiểu hình bình thường, nhưng thường gặp tình trạng vô tinh và thiếu tinh [34], [39].

1.2.1.2. Bất thường ở mức độ phân tử

* Gen nằm trên nhiễm sắc thể thường

- Suy giảm FSH đơn độc: Những quan sát đầu tiên về tình trạng thiếu hụt FSH đơn độc ở nam giới được mô tả vào năm 1998. Những bệnh nhân có đột biến bất hoạt gen *FSHB*, biểu hiện tình trạng vô tinh trùng, teo tinh hoàn, nhưng có mức LH, testosteron và nam hóa bình thường. Hầu như các trường hợp

không có đột biến gen *FSHB*, có kiểu hình nhẹ hơn, với tình trạng thiếu tinh ở các mức độ khác nhau, thậm chí có trường hợp thể tích tinh hoàn bình thường. Do thiếu FSH mà tinh trùng trong tinh dịch đồ rất ít hoặc không có. Điều trị hMG cho bệnh nhân sẽ cải thiện được quá trình sinh tinh [40], [41].

- Hội chứng Noonan: Cho đến nay, gần 20 gen đã được tìm thấy có liên quan đến hội chứng này, phổ biến là đột biến gen *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *KRAS*, *LZTR1*. Biểu hiện gồm nhiều bệnh lý như bất thường sọ mặt, cong vẹo cột sống, khuyết tật tim, chậm phát triển nhận thức... dậy thì muộn, BMI thấp, testosterone bình thường, InhibinB thấp do giảm số lượng tế bào Sertoli và tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng [42].

- Hội chứng Laurence Moon, Bandet Biedl: là 2 hội chứng có nhiều biểu hiện giống nhau bao gồm suy sinh dục, viêm võng mạc sắc tố, béo phì và chậm phát triển trí tuệ. Trong đó Laurence Moon hay gặp liệt cứng 2 chi dưới do đột biến gen *PNPLA6*, còn Bandet Biedl thường gặp thừa ngón, có khoảng 16 đột biến gen *BBS1-BBS16* liên quan. Thiếu hụt hormon tuyến yên gây ra tình trạng suy giảm sinh tinh và vô sinh [43], [44].

- Suy giảm enzyme 5 α -Reductase: Đây là hậu quả của đột biến gen 5 α -Reductase tại vị trí NST số 2.23 của nam giới (46,XY), gây ra tình trạng suy giảm DHT dẫn tới kiểu hình bộ phận sinh dục gần giống nữ với tinh hoàn ẩn. Khi dậy thì, testosterone tăng lên, tinh hoàn di chuyển xuống bìu, dương vật dài ra. Tuy nhiên tình trạng sinh tinh bị suy yếu với mật độ tinh trùng thấp [45].

* Gen nằm trên nhiễm sắc thể X

- Hội chứng Kalmann: Là tình trạng suy sinh dục bẩm sinh do giảm gonadotropin (HH) biểu hiện bằng chứng giảm hoặc mất khứu giác và sự thiếu hụt hormone GnRH dẫn đến giảm nồng độ FSH và LH trong máu. Hậu quả là quá trình sinh tinh bị suy giảm. Đột biến của gen bao gồm *KAL-1*, *FGFR1*. Trước một bệnh nhân không phát triển dậy thì cần phải nghĩ đến hội chứng Kalmann [34].

- Biến thể gen thụ thể Androgen: Gen thụ thể androgen (AR) nằm trên NST Xq11-12 là nguyên nhân thường gặp nhất gây ra rối loạn 46, XY về phát triển giới tính và liên quan đến nhiều kiểu hình khác nhau, từ hội chứng không nhạy cảm với androgen hoàn toàn và có kiểu hình nữ hoàn toàn, đến mức độ không nhạy cảm 1 phần với kiểu hình ít nam hóa hơn hoặc nam giới chỉ thiếu tinh hoặc vô tinh. Với hơn 1000 đột biến gen AR đã được báo cáo, cùng với đó còn có tình trạng đa hình về bộ 3 nucleotid CAG trên exon 1, sự lặp lại CAG càng nhiều thì mức độ suy giảm sinh tinh càng rõ [34], [46].

1.2.2. Các nguyên nhân không do yếu tố di truyền

**** Các rối loạn về nội tiết tố***

- Tăng prolactin máu: Đây là một tình trạng bệnh lý phổ biến hiện diện ở khoảng 1% dân số nói chung trên toàn thế giới và 11% nam giới vô sinh do suy giảm sinh tinh. Nó có thể là kết quả của các tình trạng sinh lý hoặc bệnh lý. Căng thẳng là nguyên nhân quan trọng gây ra tăng prolactin máu sinh lý. U tế bào tiết prolactin là nguyên nhân phổ biến nhất gây tăng prolactin máu và chiếm khoảng 40% các trường hợp u tuyến yên [32].

- Glucocorticoid máu cao: Thường liên quan đến căng thẳng, bệnh Cushing hoặc điều trị hormone ngoại sinh. Tình trạng đó làm ra tăng gốc oxy hóa tự do ở tinh hoàn và giảm phản ứng của tinh hoàn với gonadotropin và thúc đẩy quá trình chết tự nhiên của tế bào Leydig và tế bào mầm. Đồng thời Glucocorticoid tăng cao cũng có thể kiểm soát số lượng tế bào Leydig, làm giảm nồng độ testosterone dẫn tới tình trạng thiếu tinh hoặc vô tinh [47].

**** Các bệnh lý của tinh hoàn***

- Tinh hoàn lạc chỗ, tinh hoàn ẩn: Là tình trạng tinh hoàn 1 bên hoặc cả 2 bên không nằm trong bìu, thường nằm dọc theo đường di chuyển của tinh hoàn xuống bìu, có thể ở ổ bụng, trong ống bẹn. Do chênh lệch về nhiệt độ, gây

ra ức chế quá trình sinh tinh ở các mức độ khác nhau tùy theo số lượng và vị trí tinh hoàn lạc chỗ hoặc ẩn [4].

- Không có tinh hoàn bẩm sinh, chấn thương tinh hoàn: Nếu hai bên đều không có thì vô tinh, không có tinh hoàn một bên thì tinh hoàn bên kia sẽ phát triển bù trừ do vậy vẫn phát triển các đặc tính sinh dục phụ, nhưng thường gặp tình trạng thiếu tinh. Chấn thương tinh hoàn cũng tùy mức độ và số lượng bị tổn thương có thể dẫn tới vô tinh hoặc suy giảm sinh tinh [4].

- Viêm tinh hoàn do vi khuẩn hoặc virus: Bệnh quai bị biến chứng có thể hồi phục, hồi phục 1 phần hoặc không hồi phục gây viêm teo tinh hoàn hai bên, đặc biệt là mắc bệnh trong độ tuổi dậy thì, kết quả bệnh nhân có thể bị suy giảm sinh tinh hoặc vô tinh. Lao, Giang mai, Lậu, Chlamydia nếu không được điều trị đúng cũng có thể gây viêm tinh hoàn, ảnh hưởng tới sinh tinh [48].

- Giãn tĩnh mạch tinh: Cơ chế gây tổn thương tinh hoàn vẫn chưa rõ, có thể do nhiều yếu tố gây ra trong đó giả thuyết do tăng nhiệt độ được chấp nhận nhiều nhất. Ngoài ra còn một số giả thuyết khác như: trào ngược các chất chuyển hóa từ tuyến thượng thận - thận vào tĩnh mạch tinh, ứ đọng máu tĩnh mạch, tăng prostaglandine hoặc catecholamine trong tĩnh mạch tinh [4].

1.2.3. Các yếu tố ảnh hưởng

Thuốc, xạ trị liệu, nhiệt độ cao, ngộ độc, nhiễm trùng, ô nhiễm môi trường, chế độ ăn uống, các bệnh toàn thân như xơ gan, suy thận... đều ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp tới khả năng sinh tinh tại tinh hoàn.

- Chế độ ăn uống: Thiếu dinh dưỡng hoặc thiếu một số chất như một số acid béo, acid amin (đặc biệt là Arginin) và kẽm; thức ăn nhanh (chứa nhiều gốc hóa học có tính estrogenic yếu, tích tụ lâu ngày), tất cả có thể ức chế sinh tinh. Ngoài ra, béo phì cũng làm tăng nguy cơ suy giảm sinh tinh [49].

- Nhiệt độ cao: Ở người, nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì quá trình sinh tinh bình thường ở tinh hoàn. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sự suy giảm về chất lượng tinh dịch đồ ở nhóm bệnh nhân làm việc trong môi

trường nóng thuộc những ngành nghề như: đầu bếp, thợ hàn, thợ luyện kim, thợ lò... Những tài xế lái xe đường dài, có thể do tư thế ngồi lâu và điều kiện làm việc trong không gian hạn hẹp dẫn đến mất chức năng điều hòa nhiệt độ của bìu, gây tăng nhiệt độ, ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh [50].

- Hóa chất và thuốc: Có nhiều loại hóa chất mà con người thường xuyên tiếp xúc như thuốc trừ sâu, dược phẩm, phụ gia hóa chất công nghiệp... hoặc nhiễm độc một số kim loại nặng như Chì, Cadmium và Thủy ngân có thể gây giảm sinh tinh và gây vô sinh. Hút thuốc nhiều và uống rượu cũng có thể ảnh hưởng trực tiếp làm giảm sinh tinh [51], [52], [53].

- Bức xạ: Bức xạ ion hóa gặp trong chẩn đoán y khoa, xạ trị hoặc thậm chí thông qua các tai nạn hạt nhân được biết đến rộng rãi là có tác động tiêu cực đến quá trình sinh tinh thông qua việc gây ra stress oxy hóa và tổn thương ADN dẫn đến cái chết của tinh trùng và tinh nguyên bào [54].

- Độ tuổi: Ở khoảng 40 tuổi nồng độ testosterone tự do trong máu giảm dần, trong khi nồng độ SHBG – globulin gắn chặt testosterone tăng dần, tỷ lệ androgen/estrogen giảm và có thể tăng LH, FSH trong máu. Có 90 % ống sinh tinh chứa tinh trùng ở độ tuổi 20-30, tuy nhiên sự sinh tinh giảm đáng kể ở độ tuổi 40-50, chỉ còn 50% số lượng ống sinh tinh chứa tinh trùng [55], [56].

- Chất lượng giấc ngủ: Giấc ngủ là hiện tượng sinh học quan trọng liên quan đến những thay đổi về thần kinh nội tiết và miễn dịch. Thiếu ngủ và căng thẳng về mặt tâm lý tác động tiêu cực đến cả tình dục và khả năng sinh sản. Thiếu ngủ nói chung, ngủ nhiều, thường xuyên thức khuya và thời điểm của giấc ngủ ở những người làm việc theo ca luân phiên đã được báo cáo là làm giảm chất lượng tinh dịch [57].

- Stress và gốc tự do: Một lượng tối thiểu ROS là cần thiết cho phản ứng acrosome và quá trình thụ tinh, tuy nhiên, sản xuất quá nhiều ROS thường gây tổn thương tinh trùng và có thể gây ra tình trạng thiếu tinh [58].

1.2.4. Các loại suy giảm sinh tinh

1.2.4.1. Suy giảm về số lượng tinh trùng

Vô tinh (Azoospermia): với đặc điểm là không tìm thấy tinh trùng trong mẫu tinh dịch. Tuy nhiên, trong một số trường hợp thực hiện ly tâm, lấy cặn để soi tìm tinh trùng, nếu tìm thấy tinh trùng thì được gọi là Cryptozoospermia-có rất ít tinh trùng trong mẫu tinh dịch hay “vô tinh ảo”.

Thiếu tinh (Oligospermia): là trường hợp có số lượng, mật độ tinh trùng giảm so với tiêu chuẩn, có thể chia thành các mức độ nhẹ, vừa, nặng.

1.2.4.2. Suy giảm về chất lượng tinh trùng

Giảm di chuyển (Asthenozoospermia): tinh trùng di chuyển chậm hoặc bất động, có thể mật độ và số lượng vẫn trong giới hạn bình thường.

Hình thái bất thường (Teratozoospermia): cấu trúc và hình dạng của tinh trùng bất thường nhiều. Có thể bất thường về đầu, cổ, đuôi hoặc phối hợp.

Suy giảm về chức năng: Có mật độ, hình thái và độ di động bình thường (Normozoospermia) nhưng vô sinh (unexplained male infertility-vô sinh chưa rõ căn nguyên) có thể liên quan đến những bất thường về vật chất di truyền hoặc thể cực đầu accrosom...

1.3. Vô tinh, thiếu tinh nặng

1.3.1. Khái niệm

Vô tinh, thiếu tinh nặng là biểu hiện xấu nhất của tình trạng suy giảm số lượng tinh trùng. Trong đó vô tinh là các trường hợp mẫu tinh dịch không có tinh trùng hoặc có rất ít tinh trùng sau khi ly tâm (Cryptozoospermia), còn thiếu tinh nặng là các trường hợp có mật độ tinh trùng nhỏ hơn 5 triệu/ml tinh dịch.

1.3.2. Phân loại

1.3.2.1. Theo vị trí giải phẫu của bất thường so với tinh hoàn

- Trước tinh hoàn: bao gồm các bất thường nội tiết ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự sinh tinh (suy tinh hoàn thứ phát) như suy sinh dục do giảm gonadotropin, tăng prolactin máu và kháng androgen.

- Tại tinh hoàn: Suy tinh hoàn nguyên phát do yếu tố nội tại phát sinh tại tinh hoàn dẫn đến vô tinh, thiếu tinh nặng. Được đặc trưng bởi một số rối loạn như tổn thương tinh hoàn do giãn tĩnh mạch tinh, tinh hoàn ỏ, viêm tinh hoàn do quai bị, tác dụng gây độc cho tuyến sinh dục của thuốc, bất thường di truyền dẫn tới thay đổi về cấu tạo, chức năng của các tế bào thuộc tinh hoàn.

- Sau tinh hoàn: Thường là các rối loạn phóng tinh hoặc tình trạng tắc nghẽn ống dẫn tinh do các bệnh lý viêm nhiễm tại chỗ hoặc không có ống dẫn tinh bẩm sinh. Đáng chú ý về di truyền có liên quan đến đột biến gen *CFTR* trên NST số 7 gây ra tình trạng xơ nang (CF-Cystic fibrosis) tăng độ nhớt tinh dịch và/hoặc không có ống dẫn tinh dẫn tới thiếu tinh và vô tinh, thường đi kèm với viêm xoang, hen suyễn không điển hình, viêm phế quản [59].

1.3.2.2. Theo đặc điểm lâm sàng

- Vô tinh do tắc (Obstructive Azoospermia - OA): sinh tinh bình thường, thể tích tinh hoàn và FSH thường nằm trong giới hạn bình thường. Tắc đường dẫn tinh do đột biến gen không có ống dẫn tinh hoặc hậu quả sau các bệnh lý nhiễm trùng tại chỗ [48].

- Vô tinh không do tắc (Non Obstructive Azoospermia - NOA): được chia thành vô tinh không do tắc trung tâm (FSH thấp, testosterone thấp hoặc bình thường và có tình trạng suy tinh hoàn) và vô tinh không do tắc tại tinh hoàn (FSH tăng đáng kể, suy tinh hoàn). Có khoảng 10%–15% trong số tất cả nam giới vô sinh là không có tinh trùng trong tinh dịch và tinh hoàn, khi đã sử dụng các phương pháp HTSS hiện có [60], [61].

- Thiếu tinh nặng: Một số nguyên nhân di truyền về nhiễm sắc thể đờ và vi mất đoạn AZF trên nhiễm sắc thể Y, hoặc đột biến gen *CFTR*. Tuy nhiên, phần lớn trường hợp thiếu tinh nặng là chưa rõ nguyên nhân [59], [62].

1.3.2.3. Theo nguyên nhân

- Vô tinh, thiếu tinh nặng bẩm sinh: Là khi đã xác định được nguyên nhân do di truyền hoặc rối loạn trong quá trình hình thành phôi, thai. Các trường

hợp này luôn cần đến sự hỗ trợ của y học để cải thiện tình trạng. Tuy nhiên, nhiều trường hợp không có biện pháp để cải thiện.

- Vô tinh, thiếu tinh nặng mắc phải: Các bệnh lý, yếu tố môi trường, lối sống ảnh hưởng đến toàn thân, hoặc tại chỗ tinh hoàn. Hậu quả làm rối loạn quá trình phát triển và biệt hóa của tế bào dòng tinh, có thể gây tổn thương không hồi phục, hồi phục 1 phần hoặc hồi phục hoàn toàn. Có thể phải điều trị bằng nội khoa, ngoại khoa hoặc điều chỉnh, cách ly yếu tố ảnh hưởng.

- Vô tinh, thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân: Là các trường hợp vô tinh, thiếu tinh nặng mà thông qua thăm khám lâm sàng và kết quả của các xét nghiệm kinh điển, vẫn không phát hiện được nguyên nhân, yếu tố ảnh hưởng khả dĩ có thể giải thích được tình trạng của người bệnh.

1.4. Chẩn đoán nguyên nhân di truyền trong suy giảm sinh tinh

Nguyên nhân do di truyền liên quan đến vô sinh nam nói chung và suy giảm sinh tinh nói riêng, trải dài từ những bất thường về NST cho tới các biến thể đơn nucleotid [63]. Có khoảng 0,5% các nucleotid là khác nhau giữa các cá thể, là cơ sở của các biến thể di truyền, tạo nên sự đa dạng về kiểu hình của con người. Các biến thể di truyền được phân loại theo hai tiêu chí cơ bản là thành phần di truyền (trình tự hoặc cấu trúc) và tần suất của chúng trong quần thể, tần xuất ít nhất 1% được gọi là đa hình, ngược lại thì là đột biến [64].

Để có sự hiểu biết toàn diện về quá trình sinh tinh thì cần phải xác định và nghiên cứu đặc điểm chức năng của hàng nghìn gen liên quan đến quá trình biệt hóa tế bào tinh trùng và các nội tiết tố sinh sản [34].

1.4.1. Xét nghiệm cấp độ tế bào

Các tế bào lympho máu ngoại vi khi tiếp xúc với chất gây phân bào có khả năng chuyển dạng thành tế bào non và phân chia. Sau đó, người ta làm ngừng phân bào ở kỳ giữa, giai đoạn có hình dạng NST điển hình, để làm tiêu bản quan sát NST. Phân tích NST tế bào máu ngoại vi cho phép chẩn đoán các hội chứng di truyền do bất thường NST, xác định NST giới tính của cá thể [65].

Kỹ thuật áp dụng với kích thước tổng DNA được phân tích tương đương 5 triệu nucleotid (5Mb) trở lên [66].

Quy trình kỹ thuật bao gồm nuôi cấy tế bào từ máu ngoại vi; Thu hoạch tế bào; Nhuộm tiêu bản và phân tích tiêu bản nhiễm sắc thể.

Trong chẩn đoán vô sinh nam, nhiễm sắc thể đồ được ứng dụng để phát hiện các bất thường NST gây suy giảm sinh tinh như hội chứng Klinefelter, hội chứng 45,X, hội chứng Noonan, Jacobs, các chuyển đoạn Robertson, ... [65].

1.4.2. Xét nghiệm cấp độ tế bào-phân tử

Xét nghiệm phân tích các rối loạn di truyền có kích thước nhỏ hơn 5 triệu nucleotid (5Mb), với kích thước này thì xét nghiệm cấp độ tế bào khó phân tích được, bao gồm chèn đoạn, mất đoạn nhỏ (Indels), nhân đoạn (dupplicaton) hoặc biến thể số bản sao (CNV-copy number variant).

Kỹ thuật được sử dụng là sự phối hợp giữa kỹ thuật xét nghiệm di truyền cấp độ tế bào và cấp độ phân tử. bao gồm microarray (aCGH), lai tại chỗ huỳnh quang (FISH), lai DNA được đánh dấu biotin với các hạt bead có sẵn đoạn dò (BoBs, BACs-on-Beads) ... [66].

Xét nghiệm cấp độ tế bào-phân tử đã được ứng dụng nhiều trong chẩn đoán vô sinh nam, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra mối liên quan giữa một số CNV, Indels trên cả nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính với tình trạng vô tinh, thiếu tinh, tuy nhiên chỉ có duy nhất một CNV đã được đưa vào quá trình chẩn đoán nam giới bị suy giảm sinh tinh là các vi mất đoạn vùng AZF trên nhiễm sắc thể Y [67], [68]. Ngoài ra, một CNV đã được chứng minh có liên quan chắc chắn đến vô sinh nam là mất đoạn gen *TEX11* gây ngừng giảm phân, dẫn tới tình trạng vô tinh [14].

1.4.3. Xét nghiệm cấp độ phân tử

Bao gồm xét nghiệm về những biến đổi của gen và protein, trong đó xét nghiệm biến thể gen bao gồm các kỹ thuật như PCR, RFLP, MLPA, lai phân tử, giải trình tự gen (NGS-next generation sequencing, sequencing) ... [66].

1.4.3.1. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Phản ứng PCR dựa trên khả năng tổng hợp chuỗi DNA mới từ sợi DNA gốc của enzym DNA polymerase. Phản ứng sử dụng 2 đoạn môi oligonucleotide gắn đặc hiệu với chuỗi bổ trợ và kéo dài chuỗi theo trình tự DNA đích cần khuếch đại nhờ enzyme Taq DNA polymerase.

PCR là một quá trình nhắc lại của 3 phản ứng liên tục gồm Biến tính DNA sợi kép thành DNA sợi đơn, gắn môi đặc hiệu vào chuỗi DNA sợi đơn, kéo dài chuỗi nhờ hoạt tính enzyme. Ba bước này hợp thành một chu kỳ và sản phẩm mới vừa được tổng hợp lại có thể trở thành khuôn mẫu nên số lượng bản sao DNA đích gần như tăng gấp đôi sau mỗi chu kỳ.

Trong chẩn đoán vô sinh nam, phản ứng PCR được ứng dụng để phát hiện các bất thường ở mức độ phân tử như mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể giới tính Y, đa hình gen mã hóa enzyme chống oxy hóa....

Một số loại PCR được ứng dụng trong chẩn đoán vô sinh nam gồm có Real-time PCR, ARMS PCR (Amplification Refractory Mutation System - PCR), PCR đa môi (Multiplex PCR).

1.4.3.2. Giải trình tự Sanger

Nguyên lý kỹ thuật: Trước hết chèn các đoạn DNA cần phải xác định trình tự vào một vector là phage hay plasmid tại một vị trí mà trình tự chuỗi của vị trí này đã được xác định rõ.

Dùng các đoạn môi bổ sung một cách đặc hiệu với trình tự của vector tại vị trí chèn đoạn DNA. Thêm vào ống phản ứng men DNA polymerase và 4 loại nucleotide tự do (gọi là dNTP-deoxynucleotide triphosphate) và một lượng rất giới hạn các nucleotide tận (terminator, là ddNTP-dideoxynucleotide triphosphate, có 4 loại ddNTP tương ứng với 4 base A, T, C và G). Phản ứng được thực hiện trong 4 ống, mỗi ống cho một loại ddNTP khác nhau. Bắt đầu từ đoạn môi, enzym DNA polymerase sẽ kéo các dNTP vào để tổng hợp mạch

đơn bổ sung với mạch DNA chèn trên vector, sự tổng hợp mạch đơn sẽ bị dừng lại tại vị trí mà ddNTP được kéo vào thay vì dNTP. Nhờ vậy trong ống phản ứng có các mạch đơn DNA có các chiều dài khác nhau tương ứng với các vị trí trình tự các nucleotide trên đoạn DNA gốc [69].

Ưu điểm của giải trình tự Sanger là độ chính xác cao, có thể coi giải trình tự Sanger là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi mất nhiều thời gian và giá thành xét nghiệm cao.

1.4.3.3. Kỹ thuật RFLP

Kỹ thuật đa hình độ dài đoạn cắt giới hạn (RFLP) để xác định biến thể DNA bằng cách đối chiếu đoạn DNA đánh dấu với DNA sau khi cắt hạn chế bằng enzyme cắt giới hạn. Kết quả sau khi enzyme cắt sẽ tạo ra hình ảnh điện di các phân đoạn DNA khác nhau. Các hình ảnh phân đoạn DNA khác nhau này được tạo nên do sự thay thế, thêm vào hay bớt đi của các nucleotide hoặc do đa hình nucleotide đơn.

Kỹ thuật RFLP được tiến hành theo các bước gồm cắt DNA bằng một hoặc vài enzyme cắt giới hạn, các phân đoạn DNA sau đó được phân tách trên gel agarose. Việc xác định các phân đoạn DNA được tiến hành bằng cách đối chiếu các phân đoạn DNA này với đoạn dò ban đầu để có thể phát hiện bằng phản ứng huỳnh quang hoặc phim chụp phóng xạ [70].

Kỹ thuật RFLP cũng cho phép phân tích đồng thời nhiều mẫu, chi phí thấp hơn. Tuy nhiên kỹ thuật này không được dùng rộng rãi vì một số hạn chế như: cần nhiều DNA chất lượng cao, cần thông tin về trình tự để tạo đoạn dò, không thuận tiện cho việc tự động hóa, mức độ đa hình và số lượng locus trên lần phân tích thấp, đòi hỏi nhiều thời gian.

1.4.3.4. Một số kỹ thuật khác

Một số kỹ thuật ứng dụng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) như giải trình tự hệ gen mã hóa (WES-Whole Exome Sequencing) để phân tích riêng toàn bộ phân mã hóa là các exon, hoặc giải trình tự toàn bộ hệ gen (WGS-

Whole Genome Sequencing) gồm cả exon và intron [66]. Các phương pháp này thường áp dụng cho phân tích nhiều gen cùng lúc hoặc cần rà soát tổng thể để xác định gen cần phân tích liên quan, tuy nhiên, chi phí cho xét nghiệm rất cao.

1.5. Vai trò của các gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* đối với quá trình sinh tinh

1.5.1. Gen *FSHB*

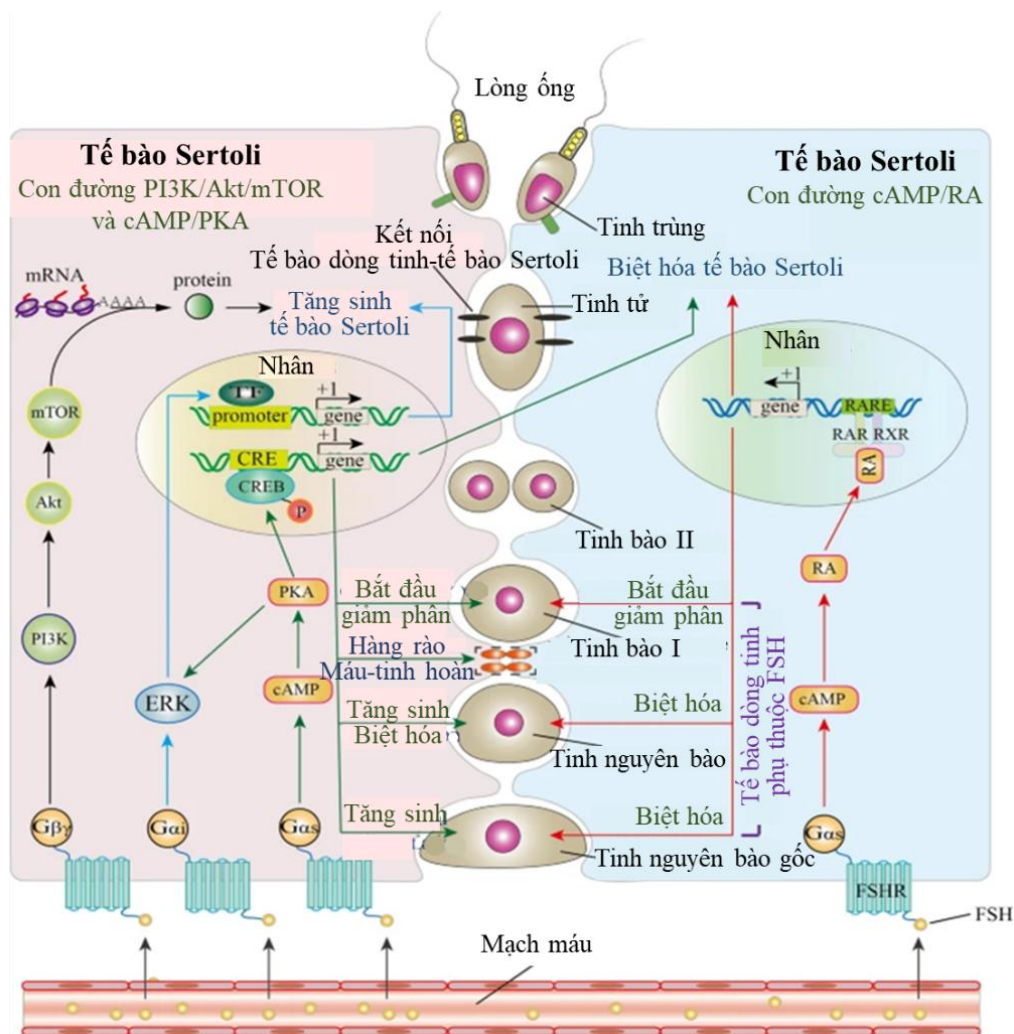
Gen *FSHB* mã hóa tiểu đơn vị beta của FSH, nằm tại nhiễm sắc thể số 11p13 (MIM 136530), gồm 3 exon và 2 intron. Tiểu đơn vị FSH beta của người gồm 129 axit amin (một peptide tín hiệu có 18 axit amin và theo sau là một peptide trưởng thành có 111 axit amin). Thành phần cấu tạo của FSH bao gồm 2 tiểu đơn vị là chuỗi protein anpha và beta, trong đó chuỗi anpha có cấu trúc tương tự các hormone khác do tuyến yên tiết ra như TSH, LH, chuỗi beta được mã hóa bởi một gen riêng biệt. Mặc dù cả hai tiểu đơn vị FSH đều góp phần trong liên kết với thụ thể FSH (*FSHR*), nhưng tiểu đơn vị beta quyết định tính đặc hiệu liên kết và đặc tính sinh học của FSH đối với tế bào đích [28], [71], [72].

Sau khi FSH liên kết với thụ thể của nó và kích hoạt con đường truyền tín hiệu FSH, sẽ thiết lập số lượng tế bào Sertoli bình thường và thúc đẩy quá trình biệt hóa của chúng. Các tế bào Sertoli là các tế bào soma chính có trong các ống sinh tinh và được coi là các cơ quan điều hòa chính của quá trình sinh tinh. Mỗi tế bào Sertoli trưởng thành sẽ tạo phức hợp kết dính tế bào Sertoli-tế bào dòng tinh để hỗ trợ cho một số lượng tế bào dòng tinh nhất định. Do đó, số lượng tế bào Sertoli trưởng thành cuối cùng là một yếu tố quan trọng quyết định khả năng sản xuất tinh trùng của mỗi cá thể [29], [73].

Việc duy trì nhóm tinh nguyên bào, biệt hóa tinh nguyên bào và quá trình chúng đi vào giảm phân được điều hòa chủ đạo bởi FSH và kèm theo các yếu tố cận tiết, tự tiết của tế bào Sertoli như Activin, Inhibin B và Follistatin.

Ngoài ra, truyền tín hiệu FSH điều chỉnh sự sống còn của tế dòng tinh và hạn chế quá trình chết theo chương trình (apoptosis) của chúng [28], [74].

Cho đến nay, có ít nhất năm con đường truyền tín hiệu FSH đã được xác định trong tế bào Sertoli: con đường adenosine monophosphate vòng (cAMP)/protein kinase A (PKA), con đường kinase được điều hòa ngoại bào (ERK)/protein kinase hoạt hóa mitogen (MAPK), con đường phosphoinositide 3-kinase (PI3K), con đường canxi và con đường phospholipase A2 [73], [74].



Hình 1.7. Sơ đồ truyền tín hiệu của FSH trong quá trình sinh tinh

* Nguồn: Theo Wang J. M. và CS (2022)[74]

Giống như tất cả các gen, gen *FSHB* cũng có các dạng đa hình và đột biến, chúng có tác động khác nhau đến chức năng sinh sản của nam giới, từ khó nhận biết đến vô sinh hoàn toàn. Các biến thể của gen *FSHB* có thể có biểu hiện

rất đa dạng từ vô tinh đến thiếu tinh ở các mức độ khác nhau. Đối với nam giới mang đột biến mất chức năng ở gen mã hóa tiểu đơn vị FSH beta có biểu hiện tình trạng vô tinh không do tắc (NOA) [28], [29], [71].

1.5.2. Gen *FSHR*

Gen *FSHR* của người nằm trên nhiễm sắc thể 2p21-p16 quy định kiểu hình FSHR là thụ thể liên kết với protein G. Gen *FSHR* chứa 10 exon và 9 intron, protein FSHR có 695 axit amin, bao gồm chuỗi peptide tín hiệu gồm 17 axit amin và thụ thể trưởng thành bao gồm 678 axit amin [71].

FSH và thụ thể của nó đóng vai trò thiết yếu trong quá trình sinh tinh. Thụ cảm thể của FSH là FSHR nằm ở màng của tế bào Sertoli. FSHR gồm có 3 phần chính là phần liên kết đặc hiệu với FSH, phần bản lề, phần hoạt hóa FSH và truyền tín hiệu (có 3 miền: một miền đầu amin ngoại bào dài, một miền xuyên màng 7 vòng và một miền nội bào có đuôi carboxyl ngắn). Thông qua việc kết hợp với FSH để kích hoạt và duy trì chu trình tế bào dòng tinh, phát huy đặc điểm chức năng sinh học của FSH thông trung gian là tế bào Sertoli. Những biến thể dẫn tới rối loạn chức năng của FSHR trong mối quan hệ với FSH, có thể xảy ra ở bất kỳ điểm acid amin nào trên chuỗi protein tạo nên các cấu phần trong cấu trúc của FSHR [71], [75].

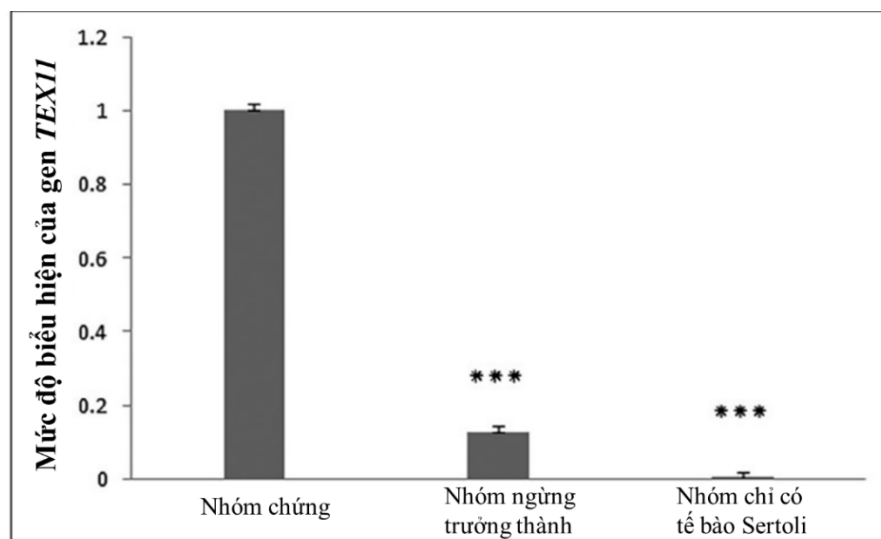
Những biến thể của *FSHR* do đột biến, đa hình đều có thể gây ra rối loạn về chức năng sinh sản. Cả biến thể hoạt hóa và bất hoạt đều được mô tả trong nhiều nghiên cứu. Biến thể hoạt hóa mang lại cho FSHR khả năng đáp ứng cao hơn với FSH, khiến nó luôn hoạt động ngay cả khi không có sự liên kết với FSH. Biến thể bất hoạt làm thay đổi chức năng của thụ cảm thể, thường chỉ làm giảm chức năng ở các mức độ khác nhau, từ đó làm thay đổi quá trình bắt cặp và hình thành phức hợp thụ thể-phôi tử hoặc quá trình hoạt hóa, truyền tín hiệu FSH. Kết quả của sự thay đổi này dẫn tới tình trạng lâm sàng cũng chỉ từ thiếu

tinh nhẹ đến thiếu tinh nặng và chưa thấy nghiên cứu nào đề cập liên quan đến vô tinh [71], [76], [77], [78].

1.5.3. Gen *TEX11*

Gen *TEX11* (Testis Express) nằm trên vai dài của nhiễm sắc thể giới tính X gồm 31 exon mã hóa cho chuỗi protein chứa 4 vùng chức năng, trong đó có vùng đặc hiệu cho giảm phân Spo22 [12], [79].

Gen *TEX11* là một loại gen đặc hiệu tại tinh hoàn và ưu tiên biểu hiện ở các tế bào dòng tinh, cụ thể gen *TEX11* đóng vai trò thiết yếu trong giai đoạn sớm của quá trình sinh tinh, mức độ biểu hiện thấp của *TEX11* gây ra tình trạng ngừng trưởng thành của tế bào dòng tinh [12], [13]. Đồng thời, các nghiên cứu cũng đã chỉ ra cụ thể gen *TEX11* có vai trò quan trọng trong quá trình tiếp hợp và tái tổ hợp của phân bào giảm nhiễm tạo giao tử ở người [14].

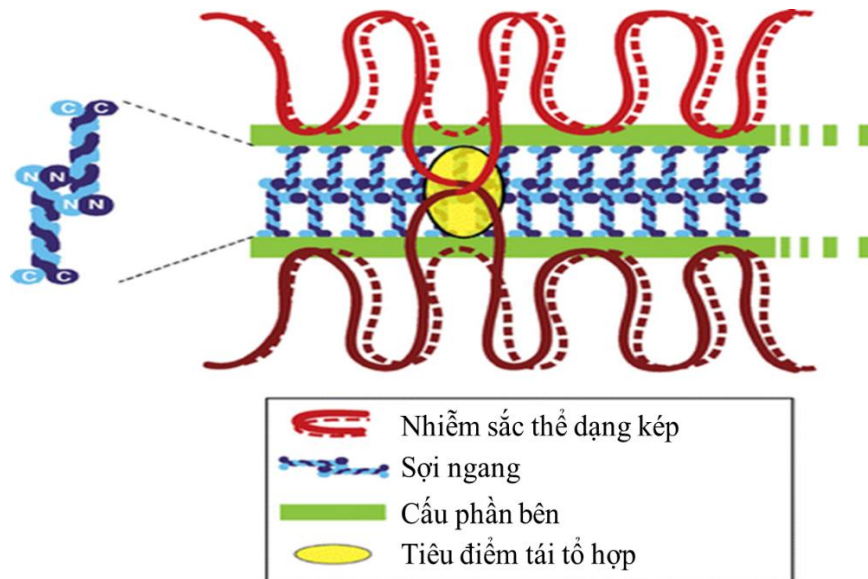


Hình 1.8. Biểu đồ so sánh mức độ biểu hiện của gen *TEX11*

* Nguồn: theo Boroujeni P. B. và CS (2018) [13]

Protein TEX11 là thành phần thiết yếu của phức hợp tiếp hợp (Synaptonemal Complex - SC). Phức hợp này hoạt động như một cầu nối protein-DNA, một dạng liên kết giữa protein và DNA được biểu hiện đặc hiệu trong giảm phân. Phức hợp tiếp hợp chạy dọc theo chiều dài của nhiễm sắc thể để ghép cặp các nhiễm sắc thể tương đồng, diễn ra trong kỳ đầu của lần giảm

phân I, đây là hoạt động rất cần thiết cho quá trình đơn bội hóa bộ gen để tạo ra các dạng tế bào dòng tinh tiếp theo [80], [81].



Hình 1.9. Cấu trúc của phức hợp tiếp hợp (SC)

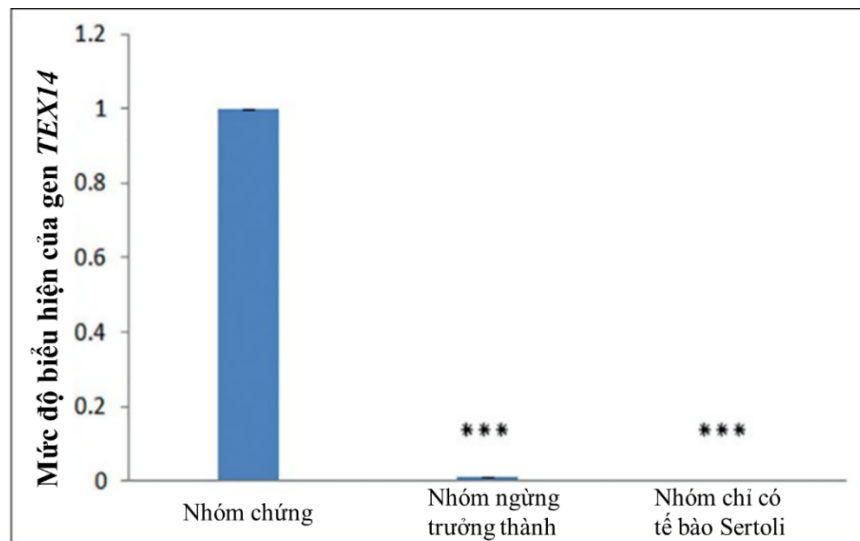
* Nguồn: theo Boer E.D. (2006) [81]

SC gồm 3 vùng chính là: 2 vùng bên (axial/lateral element) và 01 vùng trung tâm (central element), vùng trung tâm gồm có các sợi ngang (transverse filament) kết nối với vùng bên và cấu phần trung tâm. Trong cấu phần trung tâm có các tiêu điểm tái tổ hợp, chúng khởi đầu cho sự tiếp hợp giữa các cặp nhiễm sắc thể tương đồng với nhau và dường như là một thành phần mới cần thiết cho quá trình tái tổ hợp [23], [80]. *TEX11* đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành các tiêu điểm tái tổ hợp. Khi thiếu protein này, quá trình tiếp hợp nhiễm sắc thể sẽ dừng lại và quá trình trao đổi chéo bị giảm [13], [80].

Các khiếm khuyết trong quá trình hình thành SC hoặc trong chức năng của bộ máy tái tổ hợp có thể dẫn đến ngừng giảm phân và vô sinh ở người [80]. Các biến thể của *TEX11* luôn là các bản sao đơn lẻ, nên có thể chiếm một tỷ lệ đáng kể gây rối loạn sinh tinh, mất chức năng của gen *TEX11* đã được chứng minh là nguyên nhân gây ra sự ngừng giảm phân nhưng vai trò của nhiều biến thể gây phiên mã sai nghĩa vẫn chưa rõ ràng [79], [82].

1.5.4. Gen *TEX14*

Gen *TEX14* nằm trên NST 17q22, gồm 33 exon, cũng là gen ưu tiên biểu hiện ở các tế bào dòng tinh, không biểu hiện ở tế bào sinh dưỡng (soma), với biểu hiện ở hầu hết các tế bào dòng tinh, từ tinh nguyên bào, tinh bào và tinh tử tròn. Trong trường hợp ngừng trưởng thành của tế bào dòng tinh, biểu hiện của *TEX14* là rất thấp [12], [13].



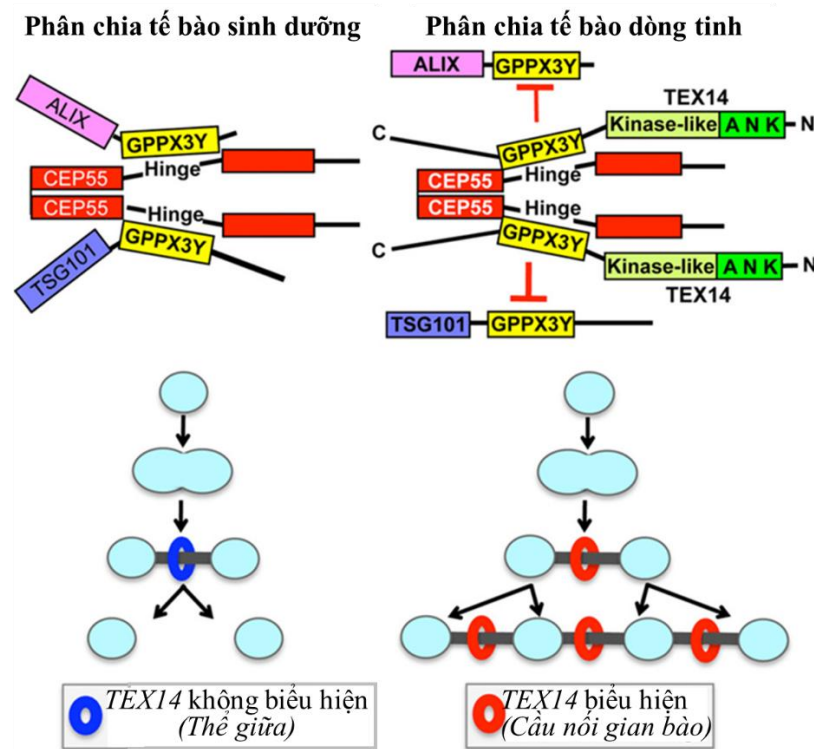
Hình 1.10. Biểu đồ so sánh mức độ biểu hiện của gen *TEX14*

* Nguồn: theo Boroujeni P. B. và cs (2018) [13]

Gen *TEX14* là cần thiết để hình thành các cầu nối gian bào (intercellular bridges) tế bào sinh tinh từ thể giữa (mid body). Trong nhiều nghiên cứu về quá trình sinh tinh, các vai trò được đề xuất cho cầu nối gian bào bao gồm truyền tín hiệu giữa các tế bào mầm thiết yếu cho sự phân chia tế bào đồng bộ gồm cả nguyên phân và giảm phân; đồng bộ hóa các tế bào dòng tinh và bù trừ lượng nhiễm sắc thể trong các tế bào đơn bội. Ngoài ra còn có các giả thuyết khác về vai trò của cầu nối gian bào như: các cầu nối giữa các tế bào tạo ra "sự tương đồng giao tử" và do đó sẽ tạo ra một quần thể tinh trùng đồng đều hơn, nhìn chung sẽ có chất lượng cao hơn (Guo và Zheng 2004), hoặc các cầu nối giữa các tế bào cho phép loại bỏ các tế bào có xuất hiện "gen tự thúc đẩy" (LeGrand 2001). Tuy nhiên, quan điểm được nhiều nhà nghiên cứu ủng hộ là cầu nối gian

bào đóng vai trò tạo sự đồng bộ cho hoạt động của cả nguyên phân và giảm phân của các tế bào dòng tinh [15].

Phức hợp phân tách tế bào nội sinh (Endosomal Sorting Complex Required for Transport - ESCRT) là một tập hợp các phức hợp protein cần thiết cho hình thành thể giữa và hiện tượng phân cắt ở giai đoạn cuối của quá trình phân chia tế bào chất để hoàn thiện quá trình phân bào ở các tế bào sinh dưỡng. ESCRT bao gồm bốn phức hợp protein đa tiểu đơn vị (ESCRT-0, -I, -II, -III), trong đó ESCRT-III có vai trò cuối cùng làm trung gian cho sự phân chia. Thành phần chính của ESCRT-III gồm các phức hợp protein CFP55, ALIX, TSG101 [15], [83].



Hình 1.11. Sơ đồ hình thành cầu nối gian bào

* Nguồn: Theo Iwamori T. và cs (2010) [83] .

Trong quá trình phân chia và biệt hóa của tế bào dòng tinh, Protein TEX14 được liên kết với các protein trong thành phần của thể giữa và đóng vai trò quan trọng trong việc vô hiệu hóa sự phân cắt tế bào mầm và hình thành cầu nối gian bào ổn định. Protein CEP55 của thể giữa (mid-body) trở thành một

thành phần ổn định của cầu nối giữa các tế bào được bảo tồn trong quá trình tiến hóa, trong khi đó protein TEX14 liên kết với protein CEP55 thông qua GPPX3Y để ngăn chặn protein ALIX và TSG101 khỏi tương tác và định vị ở thể giữa. Do đó, *TEX14* ngăn chặn sự hoàn thành của quá trình phân chia tế bào bằng cách thay đổi liên kết tạo phức hợp của CEP55 từ một phức hợp để phân cắt thành một thành phần không thể thiếu của cầu nối giữa các tế bào [83]. Các rối loạn dẫn tới giảm chức năng của gen *TEX14* ảnh hưởng tới việc hình thành cầu nối gian bào có thể dẫn đến tình trạng sinh tinh bị suy giảm trong các trường hợp vô sinh nam [13].

1.6. Một số nghiên cứu về mối liên quan giữa các biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với tình trạng vô tinh, thiếu tinh năng

1.6.1. Nghiên cứu trên thể giới

1.6.1.1. Biến thể gen *FSHB*, *FSHR*

Trong nghiên cứu của Mantovani và cộng sự năm 2003, lần đầu tiên phát hiện SNPs với alen G được thay thế bằng alen T nằm trong vùng khởi động của gen *FSHB* ở vị trí -211 bằng phương pháp PCR-RFLP, quần thể nghiên cứu người Ý bao gồm 50 đối chứng là nam giới khỏe mạnh và 01 bệnh nhân nam mắc chứng azoospermia và thiếu hụt FSH, tuy nhiên chưa xác định được alen T có liên quan đến tình trạng bệnh [84]. Tuy nhiên, vào năm 2008, Grigorova khảo sát trên 554 bệnh nhân nam khỏe mạnh người Estonia, cũng bằng phương pháp xét nghiệm PCR-RFLP đã chỉ ra sự suy giảm nồng độ FSH do biến thể trên [85].

Các nghiên cứu tiếp đó đã chỉ ra một số đa hình gen có liên quan đến cặp hormon và thụ cảm thể của FSH như: *FSHB* -211G > T và *FSHR* G-29A, *FSHR* 919A > G, *FSHR* 2039A > G có liên quan đến tình trạng vô sinh nam, tuy nhiên mức độ ảnh hưởng của các biến thể *FSHR* có sự thay đổi tùy theo sự kết hợp giữa các SNPs. Trong nghiên cứu của Qiuyue và cộng sự năm 2017 về ảnh hưởng của các biến thể liên quan đến gen *FSHB* và *FSHR*, ở quần thể người

Trung Quốc với 340 bệnh nhân nam sinh sản bình thường và 255 bệnh nhân vô sinh nam (trong đó có 166 bệnh nhân vô tinh hoặc thiếu tinh nặng và 89 trường hợp thiếu tinh). Các trường hợp có nguyên nhân đã biết vô sinh bao gồm các yếu tố nhiễm sắc thể bất thường, mất đoạn AZF, yếu tố lâm sàng (tinh hoàn ỏ), azoospermia tắc nghẽn và nhiễm trùng đã bị loại khỏi nghiên cứu này. Phân tích kiểu gen của *FSHB* rs10835638 (-211G>T), *FSHR* rs1394205, *FSHR* rs6165, *FSHR* rs6166 bằng phương pháp PCR-RFLP. Kết quả alen T của biến thể rs10835638 không liên quan đến suy giảm mật độ tinh trùng và các biến thể *FSHR* rs1394205, *FSHR* rs6165, *FSHR* rs6166 không thấy có liên quan đến tình trạng vô sinh nam [86].

Trong một nghiên cứu của Ferlin A. và cộng sự năm 2011 tiến hành trên 762 nam giới người Ý, bao gồm vô tinh, thiếu tinh và tinh dịch đồ bình thường bằng phương pháp PCR-RFLP đã cho thấy mối liên quan giữa kiểu gen *FSHB* -211TT liên quan tới nồng độ FSH huyết thanh thấp và suy giảm số lượng tinh trùng, đồng thời kiểu gen *FSHB*-211 TT được phát hiện trong 25% các trường hợp vô tinh và thiếu tinh nặng, trong khi đó thì không có trường hợp nào mang kiểu gen đó ở các bệnh nhân có tinh dịch đồ bình thường [87].

Có thể nhận thấy sự đa hình gen tiểu đơn vị β của hormon FSH có ảnh hưởng xấu tới các chỉ số sinh sản ở nam giới. Tuy nhiên, để hormon FSH thể hiện được tác dụng lên quá trình sinh tinh, còn phụ thuộc vào thụ cảm thể trên bề mặt của tế bào Sertoli. Các gen chi phối thụ cảm thể của hormon FSH nằm trên nhiễm sắc thể số 2p21. Trong khảo sát của Tüttelmann F. năm 2012, với quần thể gồm 1.213 nam giới người Đức vô sinh nguyên phát hoặc thứ phát, sử dụng phương pháp xét nghiệm TaqMan assay khảo sát biến thể *FSHB* rs10835638 và *FSHR* rs6166. Kết quả alen T của biến thể *FSHB* rs10835638 có liên quan đến suy giảm FSH và số lượng tinh trùng, trong khi đó biến thể *FSHR* rs6166 không có liên quan đến sự thay đổi đó [88].

Trong nghiên cứu của Pengo năm 2006, khi phân tích kiểu gen của biến thể *FSHR* rs6165, *FSHR* rs6166 bằng phương pháp PCR-RFLP đối với quần thể người Ý gồm 215 bệnh nhân vô sinh (vô tinh, thiếu tinh) và 351 đối chứng (ngẫu nhiên, đã con tự nhiên, tinh dịch đồ bình thường). Kết quả *FSHR* rs6165, *FSHR* rs6166 không liên quan đến nồng độ FSH và sự suy giảm mật độ tinh trùng [89].

1.6.1.2. Biến thể gen *TEX11*, *TEX14*

Trong nghiên cứu của Zhang X. (2015) khảo sát biến thể của gen *TEX11* rs6525433 và *TEX11* rs4844247 bằng phương pháp PCR-RFLP đối với 316 bệnh nhân vô sinh (vô tinh, thiếu tinh) và 298 nam giới đối chứng khỏe mạnh. Kết quả cho thấy có sự liên quan *TEX11* rs6525433 với tình trạng vô tinh, thiếu tinh ($p=0,023$), nhưng *TEX11* rs4844247 thì không thấy mối liên quan đáng kể nào [90]. Một biến thể khác nữa của gen *TEX11* là rs143246552 trong công bố gần đây nhất năm 2022 của Behvarz, M. thì cho thấy không có mối liên quan với tình trạng suy giảm sinh tinh khi tiến hành phân tích trên 100 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh chưa rõ nguyên nhân và 100 đối chứng khỏe mạnh người Iran, cũng bằng phương pháp PCR-RFLP [91].

TEX11 (trên Xq13.1) hiện là gen được báo cáo thường xuyên nhất là có liên quan đến tình trạng vô tinh không do tắc (NOA) [14]. Yatsenko và cộng sự (2015) sử dụng phương pháp Sanger, đã xác định được một mất đoạn liên quan đến ba exon *TEX11* gồm các exon 9-11 (607del237bp) dẫn tới mất 79 axit amin trong miền đặc hiệu giảm phân SPO22. Sự mất đoạn này, giống hệt nhau ở 2 bệnh nhân bị vô tinh với tình trạng ngừng giảm phân. Việc sàng lọc đột biến tiếp theo của nghiên cứu đã tìm thấy năm đột biến *TEX11* mới: ba đột biến ghép nối và hai đột biến sai nghĩa. Những đột biến này, xảy ra ở 7 trong số 289 nam giới bị vô tinh trùng (2,4%), không có ở 384 nam giới nhóm chứng có mật độ tinh trùng bình thường ($p=0,003$) [92].

Trong nghiên cứu của Yang và cộng sự (2015) trên 246 bệnh nhân vô tinh không do tắc và 175 nam giới có khả năng sinh sản bình thường, bằng

phương pháp Sanger đã phát hiện 18 biến thể gen *TEX11* chỉ được xác định ở những bệnh nhân bị vô tinh. Các biến thể bao gồm đột biến sai nghĩa exon, đột biến im lặng exon, đột biến dịch khung exon và đột biến intron. Các nhà nghiên cứu kết luận rằng các biến thể *TEX11* được phát hiện với tần suất cao hơn đáng kể ở những nam giới bị suy giảm khả năng sinh tinh so với nhóm đối chứng (lần lượt là 7,3% so với 1,7%; $p = 0,007$) [93].

Bằng cách sử dụng lai ghép bộ gen so sánh mảng độ phân giải cao (a-CGH) để sàng lọc nam giới mắc NOA, một tình trạng mất đoạn tái phát của ba exon *TEX11* ở hai bệnh nhân đã được xác định. Hơn nữa, bằng cách giải trình tự *TEX11* ở các nhóm nam giới vô tinh với số lượng lớn hơn, nhiều đột biến gây bệnh hơn đã được phát hiện. Nhìn chung, các đột biến ở *TEX11* đã được xác định ở hơn 1% nam giới vô tinh trùng và ở tới 15% bệnh nhân bị ngừng giảm phân. Krausz và các đồng nghiệp đã chứng minh rằng các khiếm khuyết trong gen *TEX11* của người cho thấy sự dừng lại hoàn toàn của kỳ trung gian, dẫn tới hiện tượng vô tinh (NOA) do ngừng trưởng thành (MA) [94].

Các nghiên cứu cũng chỉ ra một số biến thể của *TEX14* có liên quan đến hội chứng SCO (chỉ có tế bào Sertoli) và gây ra sự thất bại của quá trình sinh tinh. Năm 2010, trong đánh giá 172 đa hình ứng viên có liên quan đến tình trạng thiếu tinh hoặc vô tinh nam giới gốc Âu bằng phương pháp GWAS, Aston và cộng sự đã đưa ra đề xuất các SNP của *TEX14* có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh gồm: rs35551271, rs34960869, rs35081269, rs35195402, rs35927726, rs7220834, rs389389, tuy nhiên khi đánh giá thì không thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê trên quần thể gồm 284 bệnh nhân vô sinh (vô tinh, thiếu tinh) và 158 đối chứng [95].

Năm 2018, Fakhro và cộng sự nghiên cứu về các bệnh nhân NOA chưa rõ nguyên nhân trong mối liên hệ huyết thống hoặc riêng lẻ ở các nam giới người Irac. Nhóm quan hệ huyết thống: gồm các gia đình với có 2 anh em mắc NOA chưa rõ nguyên nhân và ít nhất có 1 nam giới có khả năng sinh sản bình

thường, tổng cộng có 8 gia đình với 37 nam giới được xét nghiệm. Nhóm cá nhân riêng lẻ: gồm 75 bệnh nhân NOA chưa rõ nguyên nhân và so sánh với 74 nam giới có tiền sử làm cha ít nhất 1 con. Bằng phương pháp giải trình tự toàn bộ exon (WES). Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra có hai anh em trong 1 gia đình có biến thể *TEX14* (p.Arg85Leu) đều được chẩn đoán mắc MA, trong khi hai cá nhân đơn lẻ (với các biến thể dịch khung đồng hợp tử và vị trí ghép nối, lần lượt là p.Ser1255fs và c.555-5 T>G) được chẩn đoán chỉ có tế bào Sertoli (SCO) [96].

Vahedi và Sheidai (2021) đã phân tích 200 nam giới người Iran, gồm 100 người vô tinh và 100 người có khả năng sinh sản bình thường bằng phương pháp xét nghiệm PCR-RFLP để chỉ ra mối liên quan giữa SNP *TEX14* rs535296987 với tình trạng vô tinh. Tuy nhiên, tác giả không tìm thấy mối liên quan đáng kể nào dựa trên phân tích kết quả RFLP giữa 2 nhóm [97].

1.6.2. Nghiên cứu trong nước

Năm 2024, trong công bố của Trần Hữu Định và cộng sự khi khảo sát 206 bệnh nhân vô sinh chưa rõ nguyên nhân (có nhiễm sắc thể đồ bình thường, không bị mất đoạn AZF, loại trừ các trường hợp tinh hoàn ẩn, giãn tĩnh mạch tinh, các bệnh lý viêm nhiễm, chấn thương tinh hoàn) và 195 đối chứng khỏe mạnh người Việt Nam, bằng phương pháp xét nghiệm PCR-RFLP đã cho kết quả chỉ ra biến thể *TEX14* rs79813370 có liên quan với tình trạng vô sinh [16].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu

2.1.1.1. Tiêu chuẩn chung

Là nam giới trưởng thành và đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.1.2. Tiêu chuẩn cho nhóm bệnh

- Được chẩn đoán là vô tinh hoặc thiếu tinh nặng (mật độ tinh trùng < 5 triệu/ml) không do tắc.

- Vô sinh, chưa có con sinh học bằng phương pháp tự nhiên.

- Có bộ nhiễm sắc thể của nam giới bình thường (46,XY), không bị bất thường nhiễm sắc thể (đột biến và đa hình) và không bị mất đoạn ở vùng AZF (azoospermia factor) trên nhiễm sắc thể Y.

2.1.1.3. Tiêu chuẩn cho nhóm đối chứng

- Có các chỉ số tinh dịch đồ bình thường theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới năm 2021, có ít nhất 1 con sinh học bằng phương pháp tự nhiên.

- Không có tiền sử điều trị bằng các phương pháp hỗ trợ sinh sản (HTSS).

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu

- Đang sử dụng các thuốc ảnh hưởng tới nội tiết tố sinh sản, các thuốc dạng uống, tiêm, truyền để điều trị bệnh.

- Các trường hợp có tinh hoàn lạc chỗ, giãn tĩnh mạch thừng tinh, đã từng bị quai bị, các chấn thương tinh hoàn, ung thư tinh hoàn.

- Vô tinh hoặc thiếu tinh nặng do các yếu tố gây tắc nghẽn trong lưu thông tinh dịch.

- Các trường hợp có rối loạn xuất tinh, xuất tinh ngược dòng, rối loạn cương, đang có các bệnh lý cấp tính tại vùng bẹn búi, sinh dục.

- Các đối tượng có các bệnh lý truyền nhiễm, bệnh lây truyền qua đường tình dục, HIV/AIDS, các bệnh lý di truyền.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, có đối chứng so sánh.

2.2.2. Các chỉ tiêu nghiên cứu

- * Đặc điểm nhân khẩu học, lâm sàng, cận lâm sàng
 - Tuổi: Phân chia theo độ tuổi dưới 40 và từ 40 trở lên (căn cứ theo khả năng sinh tinh và thay đổi nội tiết tố sinh sản).
 - Chiều cao, cân nặng, BMI: Phân chia nhóm chỉ số BMI theo phân loại dành cho người trưởng thành châu Á
 - Tình trạng vô sinh, thời gian vô sinh, tiền sử điều trị bằng các phương pháp HTSS, số con sinh học, phương pháp có con.
 - Thói quen hút thuốc, uống rượu: Khảo sát định tính, có hoặc không sử dụng thuốc lá, thuốc lá, rượu bia.
 - Các chỉ số tinh dịch đồ: Thể tích, pH tinh dịch; mật độ, tổng số, khả năng di động, tỷ lệ sống, hình thái tinh trùng.
 - Các chỉ số nội tiết tố: FSH, LH, testosterone, prolactin, estradiol.
 - Kích thước tinh hoàn: Thể tích bên phải, thể tích bên trái, tổng thể tích hai bên.
- * Đặc điểm di truyền của các biến thể gen *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370.
 - Các kiểu gen và alen của các biến thể.
 - Tần số các kiểu gen và alen của các biến thể

2.2.3. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu cần thiết cho nghiên cứu được tính toán dựa trên cơ sở tần số xuất hiện các biến thể gen ở các nghiên cứu trước đây

Công thức tính cỡ mẫu: Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng công thức tính cỡ mẫu chưa biết trước quy mô tổng thể về đối tượng nghiên cứu của tác giả Yamane Taro xây dựng năm 1967.

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

Trong đó:

n : là cỡ mẫu cần thiết tối thiểu để cho nghiên cứu.

$Z_{1-\alpha/2}$ = hệ số tin cậy với $\alpha = 0,05$; tương ứng giá trị là 1,96.

$1-\varepsilon$: là mức độ chính xác mong muốn của kết quả nghiên cứu, ε thông thường 0,01 - 0,1.

p : tỷ lệ phát hiện có ít nhất 01 biến thể gen.

Cở sở để lựa chọn p trong nghiên cứu này dựa trên một số nghiên cứu tương tự trước đây như sau:

- Theo các kết quả nghiên cứu của Wu Q. (2017) tiến hành trên 166 bệnh nhân vô tinh và thiếu tinh nặng [86]

- + Biến thể của *FSHR* rs6166, đã xác định tỷ lệ các biến thể gen AA:AG:GG tương ứng là 0,476:0,416: 0,108; do đó tỷ lệ biến thể alen A là 0,684.

- + Biến thể của *FSHB* rs10835638, đã xác định có tỷ lệ các biến thể gen GG: GT: TT tương ứng là 0,928:0,066:0,006; do đó tỷ lệ biến thể alen T là 0,078.

- Trong nghiên cứu của Zhang (2015) về *TEX11* rs4844247, đã xác định tỷ lệ các biến thể alen C:T tương là 0,807:0,193 trong nhóm 316 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh [90].

- Trong nghiên cứu công bố của Trần Hữu Định và cộng sự về mối liên quan giữa đa hình gen *TEX14* rs79813370 với vô sinh nam tại Việt Nam, có lựa chọn cỡ mẫu ngẫu nhiên gồm 206 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, có tỷ lệ alen T là 0,1044 [16].

Do vậy, để bao phủ số lượng biến thể của cả 4 gen, đảm bảo được giá trị của nghiên cứu, chúng tôi đã lựa chọn giá trị p thấp nhất, $p = 0,078$ (tỷ lệ alen T của biến thể gen *FSHB* rs10835638 trong nghiên cứu của Wu Q. năm 2017).

Lựa chọn ε ở mức là 0,05. Thay thế vào công thức tính cỡ mẫu được $n = 111$. Như vậy cỡ mẫu tối thiểu của mỗi nhóm nghiên cứu là 111 đối tượng.

Trong phạm vi đề tài thực hiện, số lượng các đối tượng đã được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu gồm 210 cho nhóm bệnh (170 bệnh nhân thiếu tinh năng, 40 bệnh nhân vô tinh) và 200 cho nhóm chứng.

2.2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu được tiến hành tại:

+ Thu thập mẫu nghiên cứu: Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội - Học viện Quân y; Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Hà Nội; Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Việt Bỉ.

+ Thực hiện phân tích kiểu gen của các mẫu nghiên cứu tại Viện Sinh học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).

- Thời gian thực hiện nghiên cứu: Được tiến hành sau khi có Quyết định giao đề tài nghiên cứu, từ tháng 01 năm 2023 đến tháng 5 năm 2025, bao gồm:

+ Thời gian thu thập thông tin nhân khẩu học, lâm sàng, cận lâm sàng và mẫu máu của các đối tượng tham gia nghiên cứu: Từ tháng 01 năm 2023 đến tháng 3 năm 2025.

+ Thời gian phân tích kiểu gen và mối liên quan với các đặc điểm của tình trạng vô tinh, thiếu tinh năng trên tất cả các mẫu nghiên cứu: Từ tháng 4 năm 2023 đến tháng 5 năm 2025.

2.2.5. Phiếu thăm khám, dụng cụ, phương tiện và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

2.2.5.1. Phiếu thăm khám

Mẫu phiếu thăm khám được xây dựng cho riêng nghiên cứu này và được sử dụng trong quá trình các bác sĩ của Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội thăm khám các trường hợp tham gia nghiên cứu (*Chi tiết mẫu phiếu thăm khám cho nhóm chứng tại Phụ lục 1, nhóm bệnh tại Phụ lục 2*).

Mẫu phiếu được sử dụng cho các đối tượng phù hợp với tiêu chuẩn lựa chọn và đồng ý tham gia nghiên cứu, đến thăm khám tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, nhưng chưa làm hồ sơ bệnh án điều trị tại Viện.

Mẫu phiếu thăm khám được thiết kế trước khi bắt đầu tiến hành thu thập mẫu, các nội dung trong phiếu được sự tư vấn và xem xét của các bác sĩ giàu kinh nghiệm tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội. Phiếu thăm khám bao gồm các thông tin chi tiết về nhân khẩu học, đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của các đối tượng, có sự xác nhận của bác sĩ thăm khám và lãnh đạo Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội.

Các thông tin cụ thể trong phiếu thăm khám và phiếu kết quả xét nghiệm cần thiết trong quá trình thu thập thông tin nghiên cứu bao gồm:

- Thông tin trong phiếu thăm khám bao gồm:

- + Lý do đến thăm khám.

- + Các dữ liệu về nhân khẩu học: tuổi, nghề nghiệp, dân tộc, chiều cao, cân nặng, thời gian vô sinh (đối với nhóm bệnh), số con sinh học, phương pháp có con, một số đặc điểm về lối sống (hút thuốc, uống rượu, tiếp xúc hóa chất...), các bệnh mắc phải, tiền sử sử dụng các thuốc ảnh hưởng đến sinh lý nam, các biện pháp HTSS, tiền sử gia đình có liên quan đến vô sinh nam.

- + Kết quả thăm khám toàn thân và tại chỗ bộ phận bẹn bìu, sinh dục; thông tin về một số kết quả xét nghiệm cần thiết.

- Phiếu kết quả xét nghiệm:

- + Phiếu kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ.

- + Phiếu kết quả xét nghiệm nội tiết tố sinh sản.

- + Phiếu kết quả xét nghiệm nhiễm sắc thể đồ và mất đoạn vùng AZF (đối với nhóm bệnh).

2.2.5.2. Dụng cụ, phương tiện

Trong nghiên cứu này của chúng tôi có sử dụng các dụng cụ, phương tiện cho xét nghiệm di truyền thuộc Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

* Các phương tiện sử dụng chính gồm:

- Tủ đông -20⁰ C (Sanaky, Trung Quốc), tủ mát có ngăn đông (Electrolux, Thụy Điển).

- Máy Spindown (Wealtec, Mỹ), máy vortex (Dragon, Trung Quốc), máy ly tâm (Eppendorf, Đức), máy ly tâm lạnh đa năng (5810R, Đức), máy PCR (Mastercycler ProS, Đức), máy cô quay chân không-SpeedVac (Eppendorf, Đức).

- Hệ thống điện di ngang Mupid (Nhật Bản), máy soi gel và chụp ảnh tự động Chemidoc EQ-Bio-Rad (Mỹ), máy đo quang phổ (UV-Vis BioSpectrometer Basic, Đức), máy đo huỳnh quang Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Mỹ), máy giải trình tự gen ABI PRISM 3500 (Applied Bio-systems, Carlsbad).

- Găng tay, giấy thấm đã được vô trùng tuyệt đối.

* Các dụng cụ thí nghiệm được sử dụng gồm

- Ống chứa máu EDTA K2/K3 (Việt Nam), hộp đựng mẫu xét nghiệm (Simport, Canada).

- Micropipette đơn kênh và đa kênh (Eppendorf, Đức), Stepper pipette (Eppendorf, Đức), Combitips dùng cho Stepper pipette (Eppendorf, Đức).

- Ống eppendorf đựng mẫu thể tích 1,5ml (Corning, Mỹ), ống ly tâm falcon thể tích 15ml-50ml (Biologix, Mỹ), ống PCR (Sorenson, Mỹ).

- Các loại đầu côn: Đầu côn 1000 μ L, đầu côn 200 μ L (Corning, Mỹ) và đầu côn 10 μ L (QSP, Mỹ).

- Đĩa chạy PCR (Biologix, Mỹ), đĩa giải trình tự (ABI, Mỹ).

2.2.5.3. Các hóa chất

Tách chiết DNA tổng số từ máu toàn phần: Bộ kit GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification (Thermo Fisher, Mỹ).

Kỹ thuật PCR: Cặp mồi đặc hiệu (Phù sa Genomics, Cần Thơ); dNTP-nucleotid dạng tự do (Thermo Fisher, Mỹ); DNA polymerase-Dream Taq DNA polymerase, dung dịch đệm (Thermo Fisher, Mỹ); nước cất 2 lần vô trùng.

Phản ứng RFLP: Dung dịch đệm, Enzym cắt (Thermo Fisher, Mỹ)

Điện di sản phẩm DNA tổng số, PCR-RFLP: Gel agarose (Invitrogen, Mỹ); chất nhuộm huỳnh quang ethidium bromide (Thermo Fisher, Mỹ); thang DNA chuẩn 100bp (marker 100bp).

Tinh sạch sản phẩm PCR: Bộ kit GeneJET PCR Purification (Thermo Fisher, Mỹ).

2.2.6. Quy trình nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện theo các bước với trình tự như sau:

- Xác định các đối tượng phù hợp với các tiêu chuẩn lựa chọn của nghiên cứu: thông qua bệnh án, hồ sơ lưu, hoặc thăm khám trực tiếp.

- Lấy xác nhận đồng ý tham gia nghiên cứu của các đối tượng phù hợp với tiêu chuẩn lựa chọn, sau khi đã cung cấp thông tin cần thiết về nghiên cứu cho đối tượng.

- Thu thập, thống kê các dữ liệu thông tin thông qua bệnh án, hồ sơ lưu, hoặc thăm khám trực tiếp (kèm theo các phiếu kết quả xét nghiệm cần thiết):

- + Đặc điểm nhân khẩu học: tuổi, nghề nghiệp, dân tộc, chiều cao, cân nặng, thời gian vô sinh (đối với nhóm bệnh), số con sinh học, phương pháp có con, một số đặc điểm về lối sống (hút thuốc, uống rượu, tiếp xúc hóa chất...),

các bệnh mắc phải toàn thân và tại chỗ vùng bẹn bìu, sinh dục; tiền sử gia đình có liên quan đến vô sinh nam.

+ Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng: Thử tích tinh hoàn, các chỉ số nội tiết tố sinh sản, các chỉ số tinh dịch đồ, các xét nghiệm di truyền để loại trừ nguyên nhân...

- Thu thập mẫu máu của đối tượng nghiên cứu tại các cơ sở khám chữa bệnh mà đối tượng được thăm khám.

- Tiến hành phân tích đặc điểm di truyền:

+ Tách chiết và xác định nồng độ DNA tổng số từ máu toàn phần.

+ Nhân đoạn gen chứa biến thể quan tâm bằng phương pháp Polymerase Chain Reaction - PCR.

+ Xác định kiểu gen (biến thể gen) tại vị trí SNP nghiên cứu bằng phương pháp sử dụng enzyme cắt giới hạn (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP).

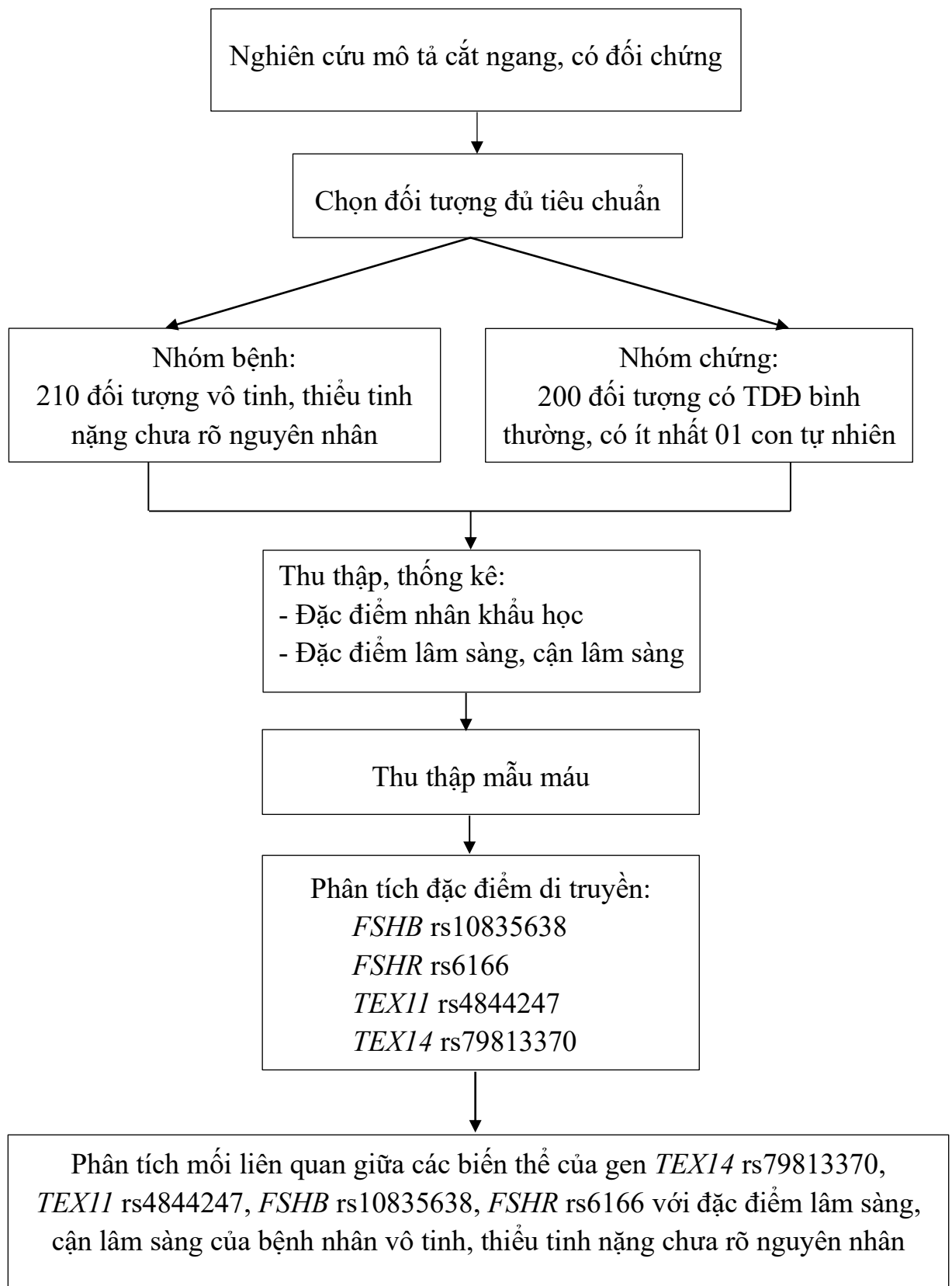
+ Thống kê tần số kiểu gen, tần số alen của các biến thể di truyền thuộc các gen nghiên cứu.

+ Tính toán, đánh giá cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) của các biến thể gen nghiên cứu.

+ Kiểm tra độ chính xác của phương pháp PCR-RFLP bằng phương pháp Sanger cho 5% mẫu ngẫu nhiên.

- Phân tích mối liên quan giữa các biến thể gen nghiên cứu với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân vô tinh, thiểu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân.

Chi tiết các bước thực hiện nghiên cứu được thể hiện tại Hình 2.1



Hình 2.1. Sơ đồ các bước tiến hành nghiên cứu

2.2.6.1. Tiêu chuẩn đánh giá chất lượng tinh dịch đồ

* Để xác định các đối tượng phù hợp, cần thông qua các thông tin của quá trình thăm khám, đặc biệt là kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ. Việc đánh giá kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ được dựa trên quy định của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2021.

Các chỉ số bình thường theo cập nhật mới của WHO 2021 như sau:

Bảng 2.1. Tiêu chuẩn tinh dịch đồ theo WHO 2021

STT	Đặc điểm	Tiêu chuẩn bình thường
1	Sự ly giải	Ly giải bình thường ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong khoảng 15-60 phút
2	Màu sắc	Bình thường có màu trắng đục hoặc trắng sữa
3	Thể tích tinh dịch	$\geq 1,4$ ml
4	Độ pH	$\geq 7,2$
5	Mật độ tinh trùng	$\geq 16 \times 10^6$ /ml
6	Tổng số tinh trùng	$\geq 39 \times 10^6$
7	Độ di động	$\geq 42\%$
8	Tiến tới	$\geq 30\%$
9	Tỷ lệ sống	$\geq 54\%$
10	Hình thái bình thường	$\geq 4\%$

- *Đánh giá mật độ tinh trùng:*

+ Mật độ tinh trùng $< 15 \times 10^6$ /ml: Thiếu tinh trùng - Oligospermia

• Thiếu tinh trùng mức độ nhẹ: $10 - <15 \times 10^6$ /ml, hoặc < 40 triệu tinh trùng mỗi lần xuất tinh là thiếu tinh nhẹ và có nguy cơ hiếm muộn cao.

• Thiếu tinh trùng mức độ vừa: $5 - <10 \times 10^6$ /ml có nguy cơ vô sinh.

• Thiếu tinh mức độ nặng: $<5 \times 10^6$ /ml có nguy cơ vô sinh rất cao.

• Vô tinh: Không tìm thấy tinh trùng trong tinh dịch, hoặc có rất ít tinh trùng sau khi ly tâm (Cryptozoospermia).

+ Mật độ tinh trùng > 250 triệu tinh trùng gọi là đa tinh trùng: Số lượng quá nhiều sẽ ảnh hưởng đến sự di chuyển của tinh trùng.

- *Đánh giá khả năng di động của tinh trùng*: Tinh trùng di động < 40% và tinh trùng di động tiến tới (gồm di động tiến tới nhanh-loại A và tiến tới chậm-loại B) < 30% là có suy nhược tinh trùng.

- *Đánh giá tỷ lệ sống của tinh trùng*: Tinh trùng sống < 50% là tình trạng tinh trùng chết nhiều.

- *Đánh giá hình thái tinh trùng*: Hình dạng bình thường < 4% gọi là dị dạng tinh trùng

* Kết quả tinh dịch đồ cho nhóm chứng

- Đánh giá chất lượng tinh dịch đồ bình thường theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2021 (Bảng 2.1).

* Kết quả tinh dịch đồ cho nhóm bệnh (vô tinh, thiếu tinh nặng)

- Đánh giá chất lượng tinh dịch đồ là vô tinh hoặc thiếu tinh nặng.

- Trong nghiên cứu này chỉ đề cập đến tình trạng thiếu năng tinh trùng liên quan đến mật độ tinh trùng, còn đặc điểm suy giảm về khả năng di động, tỷ lệ tinh trùng sống và hình thái bình thường của tinh trùng có thể có kèm theo hoặc không.

2.2.6.2. Quy trình thăm khám để lựa chọn đối tượng nghiên cứu

Đối tượng để lựa chọn là các trường hợp nam giới đến để kiểm tra chức năng sinh sản hoặc mong có thêm con đối với nhóm chứng, và mong con đối với nhóm bệnh tại các cơ sở khám chữa bệnh tham gia hợp tác nghiên cứu.

Các đối tượng được lựa chọn hồi cứu và tiến cứu, trong đó nhóm bệnh nhân thiếu tinh nặng và nhóm chứng được thu thập từ năm 2022. Tất cả đều được thăm khám, xét nghiệm và kết luận về sức khỏe sinh sản theo một quy trình chung (*chi phí do các đối tượng tự chi trả theo mục đích khám chữa bệnh*), bao gồm:

* Thăm khám tình trạng của các đối tượng:

- Lý do thăm khám. Khai thác về nghề nghiệp, dân tộc, chiều cao, cân nặng, nơi sinh sống, làm việc, thói quen ngủ nghỉ, hút thuốc, uống rượu, các bệnh sử, tiền sử (đặc biệt liên quan đến sức khỏe sinh sản).

- Khai thác về số con sinh học đã có, phương pháp có con.

- Quan sát, thăm khám vị trí vùng bẹn bìu phát hiện các bệnh lý loại trừ.

- Kiểm tra tinh hoàn: vị trí, kích thước tinh hoàn của bệnh nhân bằng thước đo Prader.

- Kiểm tra mào tinh: căng hay mềm, các bất thường khác (u, nang...).

Đặc biệt với các trường hợp vô tinh, thiếu tinh nặng cần khám sau khi xuất tinh.

- Kiểm tra thừng tinh: có sờ thấy ống dẫn tinh không, có giãn tĩnh mạch tinh hay không.

* Xét nghiệm các nội tiết tố sinh sản:

- Xét nghiệm nội tiết: FSH, LH, Testosteron, Prolactin, Estradiol.

- Sau khi có chỉ định xét nghiệm nội tiết tố sinh sản, đối tượng được lấy máu tĩnh mạch khoảng 2ml và cho vào ống nghiệm Serum, gửi đến các đơn vị thực hiện xét nghiệm trong vòng 2 giờ sau khi lấy máu. Kết quả sẽ có sau khoảng 3-5 giờ sau khi gửi máu.

* Xét nghiệm tinh dịch đồ:

- Điều kiện xét nghiệm

+ Thời gian kiêng giao hợp: Từ 2 ngày đến 7 ngày.

+ Thực hiện lấy tinh dịch và được phân tích tại các cơ sở phối hợp nghiên cứu - nơi đối tượng nghiên cứu đến khám chữa bệnh.

- Phân tích mẫu:

+ Phân tích số lượng và độ di động: Tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội được thực hiện bằng máy. Tại Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Hà Nội, Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Việt Bỉ được thực hiện bởi kỹ thuật viên sử dụng buồng đếm.

- + Phân tích hình thái: Nhuộm Papanicolaou
- + Phân tích tỉ lệ sống: Nhuộm Nigrosin
- Thu thập thông tin về kết quả phân tích tinh dịch đồ.
- + Đại thể: Sự hoá lỏng của tinh dịch; Độ nhớt; Thể tích và màu sắc; pH
- + Vi thể: Mật độ tinh trùng; Tổng số tinh trùng; Tính chất di động của tinh trùng; Tỷ lệ tinh trùng sống; Tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường.

* Xét nghiệm các bệnh lý lây truyền qua đường tình dục: Lậu, Giang mai, Viêm gan virus B.

* Siêu âm tinh hoàn: Kiểm tra kích thước, mào tinh, tĩnh mạch tinh và các đặc điểm bất thường (nếu có).

- Kích thước tinh hoàn đo trên siêu âm gồm có 3 chiều; chiều ngang, chiều dọc và chiều trước sau, đơn vị tính là centimet (cm). Sau đó áp dụng công thức tính kích thước tinh hoàn của Lambert, đơn vị tính thể tích tinh hoàn là mililit (ml).

$$V_{\text{tinh hoàn}} = \text{Chiều dài} \times \text{Chiều rộng} \times \text{Chiều trước sau} \times 0,71$$

- Ngoài ra còn kiểm tra các đặc điểm về mào tinh, tĩnh mạch tinh để loại trừ các bệnh lý gây ảnh hưởng đến kết quả tinh dịch đồ như giãn tĩnh mạch tinh, ứ dịch, tràn dịch màng tinh hoàn...

* Xét nghiệm nhiễm sắc thể đồ, cấu trúc vùng AZF trên nhiễm sắc thể Y

- Các trường hợp vô tinh, thiểu tinh nặng sẽ được chỉ định xét nghiệm di truyền cơ bản để tìm nguyên nhân di truyền phổ biến gồm các bất thường về nhiễm sắc thể đồ và mất đoạn vùng AZF.

- Xét nghiệm bất thường nhiễm sắc thể: lấy 2ml máu tĩnh mạch ngoại vi cho vào ống có Heparin; xét nghiệm rối loạn cùng AZF: lấy 2ml máu tĩnh mạch ngoại vi cho vào ống có EDTA K2/K3. Sau đó gửi đến đơn vị thực hiện xét nghiệm (theo hợp tác của mỗi cơ sở khám chữa bệnh trong nghiên cứu) trong vòng 6 giờ sau khi lấy máu. Kết quả có trong vòng 7-10 ngày.

* Kết luận tình trạng sức khỏe sinh sản (*Sau khi đã loại trừ các đối tượng không phù hợp theo tiêu chuẩn của nghiên cứu*).

- Đối chứng: các đối tượng có tinh dịch đồ bình thường theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2021 và chưa phát hiện bất thường về chức năng sinh sản.

- Bệnh nhân vô tinh chưa rõ nguyên nhân:

+ Kết quả microTESE không tìm thấy tinh trùng.

+ Tinh dịch không có tinh trùng hoặc có rất ít (mật độ $\leq 0,1 \times 10^6/\text{mL}$) sau khi ly tâm 3000 vòng/phút trong 15 phút, có nồng độ FSH $\geq 1,5$ IU/L, pH tinh dịch $\geq 7,2$ và thể tích tinh dịch $\geq 1,4$ ml, tinh dịch ly giải bình thường. Khám thấy ống dẫn tinh 2 bên, không phát hiện các bất thường ở mào tinh, mào tinh căng trước xuất tinh và mềm sau xuất tinh.

- Bệnh nhân thiếu tinh nạng chưa rõ nguyên nhân:

+ Mật độ tinh trùng sau ít nhất 2 lần xét nghiệm đều < 5 triệu/ml (mỗi lần cách nhau khoảng 3 tháng).

+ Nồng độ FSH có thể tăng hoặc bình thường ($\geq 1,5$ IU/L), pH tinh dịch $\geq 7,2$ và thể tích tinh dịch $\geq 1,4$ ml, tinh dịch ly giải bình thường. Khám thấy ống dẫn tinh 2 bên, không phát hiện các bất thường ở mào tinh, mào tinh căng trước xuất tinh và mềm sau xuất tinh.

2.2.6.3. Thu thập dữ liệu về đặc điểm nhân khẩu học, lâm sàng, cận lâm sàng

Sau khi đã xác định được đối tượng phù hợp với tiêu chuẩn lựa chọn cho nghiên cứu. Tiến hành thu thập các thông tin về đặc điểm nhân khẩu học, lâm sàng, cận lâm sàng.

Đối với các đối tượng có bệnh án lưu trữ tại các cơ sở khám chữa bệnh, sẽ trích thông tin dữ liệu từ bệnh án gốc. Đối với các đối tượng không có bệnh án, sẽ lấy thông tin dữ liệu từ phiếu thăm khám được xây dựng dành riêng cho nghiên cứu này, có xác thực của cơ sở khám chữa bệnh.

Từ bản gốc kết quả của các xét nghiệm, các chỉ số tinh dịch đồ được phân loại theo tiêu chuẩn của WHO-2021 (*với nhóm chứng có từ 2 phiếu kết quả trở lên, chọn phiếu kết quả có mật độ tinh trùng thấp hơn; với nhóm bệnh chọn phiếu kết quả có mật độ tinh trùng cao hơn*). Các chỉ số xét nghiệm nội tiết tố sinh sản được thu thập bắt buộc phải có đầy đủ thông tin của FSH, LH, testosterone và được phân tích ở các thiết bị có cùng ngưỡng giá trị tham chiếu.

2.2.6.4. Thu thập mẫu máu

Sau khi đã có xác nhận đồng ý tham gia nghiên cứu của các đối tượng, sẽ tiến hành thu thập mẫu máu để phân tích di truyền trong nghiên cứu (*các đối tượng được xét nghiệm miễn phí*).

Lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch ngoại vi của đối tượng nghiên cứu. Cho mẫu máu vào ống chứa loại EDTA K2/K3. Ghi tên, tuổi đối tượng trên ống máu và mã hóa mã nghiên cứu của đối tượng, mẫu máu được lưu trữ ở -20°C tại nơi lấy máu. Sau đó, mẫu máu được vận chuyển trong hộp giữ nhiệt có đá gel lạnh, từ cơ sở khám chữa bệnh đến Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, trong vòng 6 giờ kể từ khi thu mẫu. Tiếp đó mẫu máu được bảo quản trong tủ lưu -20°C cho đến khi sử dụng.

Những trường hợp đối tượng đã đồng ý tham gia nghiên cứu và đã được thu thập mẫu máu, tuy nhiên đang trong giai đoạn chờ kết quả xét nghiệm nhiễm sắc thể đồ và vùng AZF trên nhiễm sắc thể Y (có sau khoảng 7-10 ngày). Nếu kết quả xét nghiệm di truyền đó có bất thường, thì mẫu máu và mã nghiên cứu tương ứng của đối tượng sẽ được loại khỏi nghiên cứu.

2.2.6.5. Tách chiết và xác định nồng độ DNA tổng số

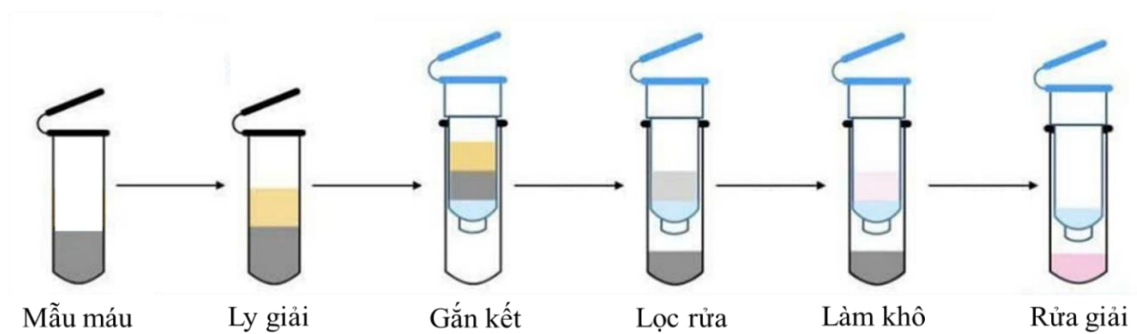
* Tách chiết DNA tổng số

Các mẫu máu của các đối tượng đủ điều kiện tiêu chuẩn lựa chọn sẽ được tiến hành tách chiết DNA tổng số theo quy trình của bộ kit "GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification" của hãng Thermo Fisher (Mỹ).

Nguyên lý: Từ mẫu máu toàn phần, tế bào máu (trong đó có các tế bào bạch cầu mang vật chất di truyền DNA). Tế bào được phá vỡ màng bằng các tác nhân hóa học (dung dịch ly giải tế bào). Khi màng tế bào bị phá vỡ giải phóng các thành phần trong tế bào chất (chủ yếu là protein). Các chất được thêm vào để biến tính hoặc phân giải protein, từ đó tách ra khỏi dung dịch dưới dạng tủa. Cuối cùng, DNA được hòa tan trong dung dịch đệm và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ thấp (khoảng 4°C đến -20°C).

Các bước tiến hành cụ thể như sau:

- Bước 1. Chuẩn bị mẫu máu toàn phần: Máu lưu trữ ở -20°C được lấy ra và để vào tủ ấm 37°C trong thời gian 30 phút để rã đông. Lấy 200 μ l máu đã rã đông cho vào trong ống eppendorf 1,5ml.



Hình 2.2. Các bước tách chiết DNA tổng số

- Bước 2. Ly giải các thành phần của tế bào máu

+ Lấy 20 μ l Proteinase K cho thêm vào ống đã có 200 μ l máu. Hỗn hợp được trộn đều bằng vortex và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 2 phút. Proteinase K có tác dụng tăng cường quá trình phá hủy các loại màng của tế bào.

+ Tiếp theo cho thêm 400 μ l dung dịch ly giải (Lysis Solution) vào hỗn hợp, trộn đều hoàn toàn bằng vortex hoặc pipet, để phân giải các thành phần protein trong cấu trúc của tế bào.

+ Ủ hỗn hợp đã trộn đều ở 56°C trong 10 phút, có sử dụng bể lắc để lắc đều các ống trong khi ủ, đến khi các tế bào máu tan hoàn toàn.

- Bước 3. Gắn kết DNA lên màng silica

+ Thêm 200 μ l cồn tuyệt đối (ethanol 100%) và trộn đều hỗn hợp bằng vortex hoặc pipet. Cồn tuyệt đối có tác dụng phối hợp với thành phần của dung dịch ly giải để DNA có thể gắn kết lên màng silica.

+ Chuyển hỗn hợp trên vào cột tách chiết có màng silica được cung cấp theo bộ kit. Ly tâm ở 6.000rpm trong vòng 01 phút. Loại bỏ ống thu có chứa dịch. Đặt cột vào một ống thu 2ml mới.

- Bước 4. Lọc rửa các thành phần phụ

+ Thêm 500 μ l dung dịch đệm rửa I (Wash Buffer I đã thêm ethanol) vào trong cột tách chiết, có tác dụng hòa tan các thành phần như sắc tố, polysaccharide, protein. Sau đó tiến hành ly tâm ở 8.000rpm trong vòng 01 phút. Loại bỏ dịch sau khi ly tâm, chuyển cột sang ống thu mới.

+ Tiếp theo, thêm 500 μ l dung dịch đệm rửa II (Wash Buffer II đã thêm ethanol), để hòa tan các thành phần muối. Ly tâm ở 18.000rpm trong vòng 03 phút. Loại bỏ dịch sau khi ly tâm, chuyển cột sang ống thu mới.

- Bước 5. Làm khô cột tách chiết: Ly tâm cột ở tốc độ 18.000rpm trong vòng 01 phút để loại bỏ toàn bộ dung dịch còn sót lại, đặc biệt là cồn ethanol. Loại bỏ dịch sau khi ly tâm.

- Bước 6. Rửa giải DNA trên màng silica

+ Đặt cột vào ống eppendorf 1,5ml sạch để thu DNA. Thêm 200 μ l Elution Buffer vào giữa màng silica của cột để hòa tan DNA.

+ Ủ cột tách chiết ở nhiệt độ phòng trong vòng 02 phút, sau đó ly tâm cột ở tốc độ 8.000rpm trong vòng 01 phút. Bỏ cột tách chiết và thu được DNA tinh sạch chứa trong ống eppendorf.

* Xác định nồng độ và độ tinh sạch của DNA

- Tiến hành đo OD (optical density- mật độ quang học)

+ Nguyên lý: Dựa trên sự khác nhau về khả năng hấp thu ánh sáng tử ngoại của DNA và protein. DNA hấp thu ở bước sóng 260nm, còn protein ở bước sóng 280 nm.

+ Thực hiện đo OD dung dịch DNA bằng máy đo quang phổ UV-Vis Biospectrometer, Đức. Độ hấp thụ ở bước sóng 260 nm được sử dụng để tính toán nồng độ DNA (đơn vị tính là $\mu\text{g/ml}$).

+ Tỷ lệ OD 260/280 được sử dụng để đánh giá độ tinh khiết của dung dịch DNA. Tỷ lệ OD 260/280 khoảng 1.8-2.0 được coi là DNA tinh khiết.

- Tiến hành điện di: Để kiểm tra độ tinh sạch của DNA, sử dụng phương pháp điện di trên bản gel Agarose 1%. Đưa bản gel đã điện di vào dung dịch ethidium bromide để nhuộm huỳnh quang. Tiếp đó, đặt bản gel vào máy soi gel và chụp ảnh tự động Chemidoc EQ-Bio-Rad. Đánh giá so sánh với mức thang lý thuyết tương ứng cho kích thước DNA của người là 20.000bp.

Tất cả các mẫu DNA đạt chất lượng, sau đó được pha loãng về nồng độ $\sim 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$. Dung dịch DNA đã được tinh sạch sẽ được sử dụng ngay cho bước tiếp theo hoặc bảo quản, lưu trữ ở -20°C cho đến khi sử dụng.

2.2.6.6. Nhân đoạn gen chứa biến thể bằng phương pháp PCR

* Thiết kế môi

Thiết kế trình tự môi: Sử dụng phần mềm Primer 3 (v.0.4.0) để thiết kế trình tự các cặp môi đặc hiệu, dựa trên tham khảo trình tự gen tham chiếu tại cơ sở dữ liệu National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Kiểm tra các thông số của cặp môi: Sử dụng phần mềm IDT phần Oligoanalyzer Tool để kiểm tra. Các thông số quan trọng của mỗi cặp môi gồm: Tỷ lệ nucleotid A và T, G và C, nhiệt độ nóng chảy, khả năng tự bắt cặp, khả năng tạo cấu trúc mạch đôi giữa 2 môi, khả năng tạo cấu trúc kẹp tóc.

Kiểm tra tính đặc hiệu của mỗi cặp môi: Sử dụng phần mềm in silico PCR amplification để kiểm tra. Yêu cầu sản phẩm khuếch đại là duy nhất, không có các sản phẩm phụ được tạo ra do cặp môi được thiết kế.

Sau khi hoàn thành thiết kế, kiểm tra đạt yêu cầu về các thông số và tính đặc hiệu. Các cặp môi được tổng hợp nhân tạo bởi công ty cổ phần Phù Sa Genomics (Cần Thơ, Việt Nam). Thông tin chi tiết về các cặp môi tại Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Thông tin chi tiết đoạn mồi trong phản ứng PCR

Gen/SNP	Vị trí	Mồi (5'-3')	Kích thước amplicon (bp)	Nhiệt độ, T (°C)
<i>FSHB</i> / rs10835638	11p13	F: TCTCCTGAACAGAG TCAAAGC R: AGATGCCAAGACTC ACCTGT	396	57
<i>FSHR</i> / rs6166	2p21	F: GGGACAAGTATGTA AGTGGAACAA R: TTCTTTGCCATTTCT GCCTCC	296	57
<i>TEX11</i> / rs4844247	Xq13.1	F: CTTGGTGAAGTCCA GATCGAATT R: TGCACTTAGAACCC TATATAAAGG	233	51
<i>TEX14</i> / rs79813370	17q22	F: GCCCAGTGCATAGG GGTATTC R: AGGTGTTCCCTGTG TTTGAGT	372	60

Chú thích: **F** (Forward Primer): Mồi xuôi; **R** (Reverse Primer): Mồi ngược

* PCR đoạn gen chứa biến thể quan tâm

Thành phần trong hỗn hợp để tiến hành PCR các đoạn gen gồm: DNA tổng số để làm khuôn, enzyme Dream Taq DNA Polymerase, mồi, dung dịch các nucleotid dạng tự do-dNTPs, dung dịch Dream Taq Buffer (đi cùng với enzyme). Các thành phần được trộn đều trong ống eppendorf với tổng thể tích 10 μ L. Chi tiết các thành phần tại Bảng 2.3.

Bảng 2.3. Thành phần hỗn hợp PCR các đoạn gen

TT	Thành phần	Thể tích (μ L)	Nồng độ
1	DNA khuôn (DNA tổng số)	2	10 ng/ μ L
2	Enzym Dream Taq DNA Polymerase	0,05	5 IU/ μ L
3	Mồi xuôi (F)	0,2	10 pmol/ μ L
4	Mồi ngược (R)	0,2	10 pmol/ μ L
5	dNTPs	0,6	2,5mmol/ μ L
6	Dream Taq Buffer	1	
7	Nước tinh khiết	5,95	
Tổng thể tích		10	

Tiếp đó các ống đựng hỗn hợp sẽ được đưa vào máy chạy PCR Mastercycler, Đức. Với các chu trình nhiệt được cài đặt để tiến hành phản ứng như sau:

- Đối với gen *FSHB*, *FSHR*: Bắt đầu ở 95⁰ C trong vòng 2 phút, 30 chu kỳ (95⁰ C trong 30 giây, 57⁰ C trong 30 giây, 72⁰ C trong 20 giây), kéo dài ở 72⁰ C trong 2 phút và giữ ở 4⁰ C.

- Đối với gen *TEX11*: Bắt đầu ở 95⁰ C trong vòng 2 phút, 30 chu kỳ (95⁰ C trong 30 giây, 51⁰ C trong 30 giây, 72⁰ C trong 20 giây), kéo dài ở 72⁰ C trong 2 phút và giữ ở 4⁰ C.

- Đối với gen *TEX14*: Bắt đầu ở 95⁰ C trong vòng 2 phút, 30 chu kỳ (95⁰ C trong 30 giây, 60⁰ C trong 30 giây, 72⁰ C trong 20 giây), kéo dài ở 72⁰ C trong 2 phút và giữ ở 4⁰ C.

Sản phẩm sau PCR được điện di trên bản gel Agarose 1,2%. Đủ thời gian điện di, tiến hành đưa bản gel đã điện di vào dung dịch ethidium bromide để nhuộm huỳnh quang. Tiếp đó, đặt bản gel đã nhuộm huỳnh quang vào máy soi gel và chụp ảnh tự động Chemidoc EQ-Bio-Rad.

Hình ảnh được đánh giá để kiểm tra độ đặc hiệu của mỗi băng cách so sánh kích thước của đoạn DNA sau PCR (tương ứng tại vị trí băng sáng điện di) với kích thước mỗi thiết kế.

Sản phẩm sau PCR đạt yêu cầu sẽ được dùng ngay cho bước tiếp theo hoặc bảo quản, lưu trữ ở nhiệt độ -20⁰ C và sử dụng cho bước tiếp theo trong vòng 3 tháng.

2.2.6.7. Xác định các biến thể gen bằng phương pháp RFLP

Sản phẩm PCR của mỗi đoạn gen đạt yêu cầu sẽ được cho thêm enzyme cắt RFLP tương ứng và buffer đệm đi kèm với enzyme, nước khử Ion rồi đem đi ủ ở nhiệt độ phù hợp từ 37⁰ C đến 65⁰ C trong vòng 4 tiếng để phân cắt mạch DNA tại vị trí nucleotid biến thể cần nghiên cứu. Chi tiết về enzyme cắt và nhiệt độ ủ tại Bảng 2.4.

Bảng 2.4. Thông tin về enzyme cắt và nhiệt độ ủ trong phản ứng RFLP

Gen/SNP	Enzym cắt	Nhiệt độ, T (°C)
<i>FSHB</i> / rs10835638	<i>RsaI</i>	57
<i>FSHR</i> / rs6166	<i>BseNI</i>	57
<i>TEX11</i> / rs4844247	<i>EcoRI</i>	51
<i>TEX14</i> / rs79813370	<i>Eco130I</i>	60

Sau khi ủ trong vòng 4 tiếng để hoàn thành các phản ứng, tiến hành lấy các sản phẩm PCR-RFLP để điện di trên bản gel Agarose 3% đối với biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX14* rs79813370, và 3,5% đối với biến thể *TEX11* rs4844247.

Đưa bản gel đã điện di vào dung dịch ethidium bromide để nhuộm huỳnh quang. Tiếp đó, đặt bản gel đã nhuộm huỳnh quang vào máy soi gel và chụp ảnh tự động Chemidoc EQ-Bio-Rad. Thông qua số lượng các băng sáng điện di và kích thước tương ứng của các đoạn DNA tại vị trí các băng sáng điện di để xác định kiểu gen của mẫu nghiên cứu. Cụ thể thông tin để xác định kiểu gen tại Bảng 2.5.

Bảng 2.5. Thông tin xác định kiểu gen sau phân cắt trong phản ứng RFLP

Gen/SNP	Số lượng băng sáng điện di	Kích thước các đoạn DNA	Kiểu gen/alen
<i>FSHB</i> / rs10835638	2	138bp, 258bp	GG
	3	138bp, 258bp, 396bp	GT
	1	396bp	TT
<i>FSHR</i> / rs6166	1	267bp, 29bp	GG
	2	296bp, 267bp, 29bp	GA
	1	296bp	AA
<i>TEX11</i> / rs4844247	2	214bp, 19bp	C
	1	233bp	T
<i>TEX14</i> / rs79813370	2	251bp, 121bp	GG
	3	372bp, 251bp, 121bp	GT
	1	372bp	TT

2.2.6.8. Kiểm tra tính chính xác của phương pháp PCR-RFLP bằng Sanger

Để xác nhận kết quả xác định kiểu gen bằng phương pháp PCR-RFLP, 5% mẫu được chọn ngẫu nhiên để tinh chế bằng bộ kit tinh chế PCR (ThermoFisher, Mỹ).

- Bước 1. Thêm dung dịch đệm gắn kết (Binding Buffer) vào hỗn hợp sản phẩm PCR với tỉ lệ 1:1. Trộn đều vortex, nếu dung dịch màu vàng là đạt yêu cầu; nếu dung dịch màu cam hoặc tím, tiến hành thêm 10 μ L Natriacetat (pH = 5.2) và trộn đều bằng pipet, dung dịch sẽ chuyển sang màu vàng.

- Bước 2. Thêm dung dịch isopropanol vào hỗn hợp trên với tỉ lệ 1:2 và trộn đều vortex hoặc pipet.

- Bước 3. Chuyển dung dịch từ Bước 2 vào cột tinh chế GeneJET và ly tâm ở 13000rpm trong vòng 01 phút. Loại bỏ phần dung dịch tại ống thu, thay ống thu mới.

- Bước 4. Thêm 700 μ L dung dịch đệm rửa (Wash Buffer) đã pha loãng với ethanol vào cột tinh chế. Ly tâm ở 13000rpm trong vòng 01 phút. Loại bỏ phần dung dịch tại ống thu, thay ống thu mới.

- Bước 5. Ly tâm cột tinh chế thêm 01 phút để loại bỏ hoàn toàn dung dịch đệm rửa.

- Bước 6. Đặt cột tinh chế vào ống eppendorf 1,5ml sạch, thêm 50 μ L đệm rửa giải (Elution Buffer) và ủ ở nhiệt độ phòng 02 phút, sau đó ly tâm ở 13000rpm trong vòng 01 phút.

- Bước 7. Bỏ cột tinh chế và thu được DNA tinh sạch chứa trong ống eppendorf. Bảo quản ở -20⁰C cho đến khi sử dụng.

Tiếp theo, giải trình tự bằng máy phân tích di truyền ABI PRISM 3500 (Applied Bio-systems, Carlsbad). Sau đó, các trình tự thu được được so sánh với các trình tự tham chiếu của *TEX14* (NM_001201457.2), *TEX11* (NM_031276.3), *FSHB* (NM_000510.4), *FSHR* (NM_000145.4) đã công bố trên GenBank.

2.2.7. Phương pháp thu thập số liệu

- Số liệu về lâm sàng và cận lâm sàng: Thu thập số liệu tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y; Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Hà Nội; Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Việt Bỉ.

+ Đối với các đối tượng đã làm bệnh án hoặc có thông tin quá trình thăm khám lưu tại các cơ sở khám chữa bệnh: Tiến hành thu thập dữ liệu thông tin cần thiết trong bệnh án hoặc hồ sơ thăm khám lưu.

+ Đối với các đối tượng chỉ đến thăm khám, chưa làm bệnh án điều trị hoặc không lưu đầy đủ hồ sơ thăm khám tại cơ sở khám chữa bệnh: Tiến hành thu thập dữ liệu thông tin cần thiết trực tiếp, ngay tại thời điểm thăm khám bằng phiếu thăm khám đã được thiết kế dành riêng cho nghiên cứu này (kèm theo có phiếu kết quả các xét nghiệm cần thiết), có xác nhận của bác sĩ thăm khám và cơ sở khám chữa bệnh.

- Số liệu về xét nghiệm về di truyền: Thực hiện và lấy kết quả tại Viện Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

+ Số liệu về hình ảnh: Điện di DNA tổng số, điện di sản phẩm sau PCR-RFLP, giải trình tự Sanger.

+ Số liệu các thông số: Nồng độ DNA tổng số, kết quả đọc kiểu gen của các biến thể trong nghiên cứu từ hình ảnh điện di sau PCR-RFLP có xác nhận của Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.8. Xử lý số liệu

Số liệu trong nghiên cứu được nhập, quản lý bằng phần mềm Excel và xử lý bằng phần mềm SPSS 26.0. Dữ liệu được kiểm tra, làm sạch trước khi phân tích. Phân tích số liệu sử dụng các thuật toán thống kê:

- Thống kê mô tả:

+ Các biến định lượng được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (Mean $\pm$ SD) khi có phân phối chuẩn, hoặc trung vị (Median) và khoảng tứ phân vị (IQR: Q1-Q3) khi không phân phối chuẩn.

- + Các biến định tính được mô tả bằng tần suất và tỷ lệ phần trăm (%).
- Thống kê phân tích:
 - + Sử dụng kiểm định One-way ANOVA và kiểm định t độc lập (Independent Samples t-test) để so sánh các biến định lượng phân phối chuẩn giữa nhiều nhóm và giữa 2 nhóm.
 - + Sử dụng kiểm định Kruskal Wallis và Mann–Whitney U để so sánh các biến định lượng không phân phối chuẩn giữa nhiều nhóm và giữa 2 nhóm.
 - + Các biến định tính được so sánh bằng kiểm định Chi-square (χ^2) hoặc Fisher's Exact test khi có 20% số lượng ô với tần số ước tính nhỏ hơn 5.
 - + Mối liên quan giữa các kiểu gen, alen và nguy cơ vô sinh do vô tinh, thiếu tinh năng được đánh giá bằng tỷ số chênh (OR – Odds Ratio) và khoảng tin cậy 95% (95% CI).
 - + Mô hình hồi quy logistic đa biến được áp dụng trong phân tích mối tương quan... nhằm không chế các yếu tố nhiễu.
- Để kiểm định cân bằng Hardy–Weinberg (HWE) sử dụng phần mềm GENEPOP v.4.7.
- Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

2.3. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức của Học viện Quân y, Chứng nhận chấp thuận đề cương nghiên cứu số 13/2022/CNChT-HĐĐĐ ngày 30/12/2022 của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh.

Chúng tôi cam kết tiến hành nghiên cứu với tinh thần trung thực, số liệu nghiên cứu chưa từng được công bố dưới bất kỳ hình thức nào.

Nghiên cứu được tiến hành dựa trên sự tự nguyện của các đối tượng, xét nghiệm biến thể gen nghiên cứu là miễn phí, mọi thông tin được giữ bí mật hoàn toàn.

Các thông tin thu thập trên các đối tượng chỉ nhằm mục đích nghiên cứu và phục vụ tư vấn cho bệnh nhân, không nhằm mục đích nào khác.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm nhân khẩu học, tình dịch đề, nội tiết tố sinh sản và kích thước tinh hoàn

3.1.1. Đặc điểm nhân khẩu học

Tổng số 410 đối tượng gồm 210 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng và 200 đối chứng tham gia nghiên cứu, tất cả đều được khảo sát về một số đặc điểm nhân khẩu học gồm độ tuổi, hình thể (chiều cao, cân nặng, BMI), thói quen hút thuốc, uống rượu, tiền sử sử dụng các phương pháp HTSS. Riêng với nhóm bệnh có thu thập thêm thông tin về thời gian vô sinh.

Bảng 3.1. Đặc điểm độ tuổi và thói quen của các đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm chứng (n = 200)		Nhóm bệnh (n = 210)		Giá trị <i>p</i>
Tuổi					
Mean ± SD	34,56 ± 5,99		33,53 ± 5,3		0,066*
Min -Max	20 - 53		23 - 50		-
	n	%	n	%	
Nhóm tuổi					
< 40	161	80,5	180	85,7	0,158**
≥ 40	39	19,5	30	14,3	
Hút thuốc					
Có	61	30,5	57	27,1	0,453**
Không	139	69,5	153	72,9	
Uống rượu					
Có	172	86	163	77,6	0,028**
Không	28	14	47	22,4	

Chú thích: *: Independent Samples T-Test; **: Chi-square χ^2 .

Tuổi của các đối tượng tham gia nghiên cứu trong khoảng từ 20 đến 53. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi trung bình giữa nhóm bệnh vô tinh, thiếu tinh nặng (Mean ± SD: 33,53 ± 5,3) và nhóm đối chứng (Mean ± SD: 34,56 ± 5,99) với $p = 0,066$. Tuy nhiên, xét thấy yếu tố độ tuổi cũng có thể ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh ở nam giới, đồng thời giá trị p giữa 2 nhóm

đang ở gần mức có ý nghĩa thống kê, nên chúng tôi đã tiến hành khảo sát các đối tượng nghiên cứu theo độ tuổi. Kết quả, khi phân chia thành nhóm tuổi dưới 40 và từ 40 tuổi trở lên cũng không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh và nhóm chứng với $p = 0,158$.

Đánh giá về thói quen của các đối tượng, không thấy có sự khác biệt về tình trạng sử dụng thuốc lá giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ($p > 0,05$). Tuy nhiên, về thói quen sử dụng rượu có sự khác biệt giữa 2 nhóm, cụ thể là tỷ lệ có sử dụng rượu ở nhóm chứng cao hơn so với nhóm bệnh với $p = 0,028$.

Bảng 3.2. Đặc điểm hình thể của các đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm chứng (n=200) Mean ± SD		Nhóm bệnh (n=210) Mean ± SD		Giá trị <i>p</i>
Chiều cao (m)	1,69±0,05		1,69±0,04		0,995*
Cân nặng (kg)	67,45±7,25		66,45±6,23		0,133*
BMI (kg/m²)	23,62±2,22		23,28±2,00		0,102*
Nhóm BMI					
	n	%	n	%	
Thiếu cân (<18,5)	3	1,5	2	1	0,153**
Bình thường (18,5-22,9)	74	37	101	48,1	
Thừa cân (23-24,9)	72	36	64	30,5	
Béo phì (≥25)	51	25,5	43	20,5	

Chú thích: *: Independent Samples T-Test; **: Fisher's Exact.

Trong nghiên cứu này không thấy có sự khác biệt về các đặc điểm chiều cao, cân nặng, chỉ số BMI giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3.3. Đặc điểm thời gian vô sinh

và tiền sử điều trị bằng các phương pháp hỗ trợ sinh sản của nhóm bệnh

Thời gian vô sinh (tháng)		Tiền sử điều trị bằng các phương pháp HTSS					
		Có		Không		Thiếu dữ liệu	
Mean $\pm$ SD	Min -Max	n	%	n	%	n	%
48 $\pm$ 30,5	12 - 180	106	50,5	87	41,4	17	8,1

Các đối tượng trong nhóm bệnh có thời gian vô sinh từ 12 tháng đến 180 tháng, trung bình khoảng 48 tháng (mean $\pm$ SD: 48 $\pm$ 30,5); có 106/210 bệnh nhân đã từng điều trị bằng một hoặc nhiều phương pháp hỗ trợ sinh sản khác nhau, chiếm 50,5%.

3.1.2. Đặc điểm tinh dịch đồ

Các đối tượng thuộc nhóm bệnh hoặc nhóm chứng đều có thời gian kiêng xuất tinh từ 2-7 ngày. Nhóm bệnh trong nghiên cứu gồm 170 bệnh nhân thiếu tinh năng và 40 bệnh nhân vô tinh. Dữ liệu tinh dịch đồ bao gồm độ pH, thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, mật độ tinh trùng, khả năng di động (*149 bệnh nhân thiếu tinh năng và 198 đối chứng được phân tích bằng máy; 21 bệnh nhân thiếu tinh năng và 02 đối chứng được phân tích trên buồng đếm bằng kỹ thuật viên*), tỷ lệ sống và hình thái bình thường. Để đánh giá chi tiết các chỉ số của tinh dịch đồ, chúng tôi đã thực hiện tính toán so sánh giữa 170 bệnh nhân thiếu tinh năng với 200 bệnh nhân nhóm chứng, kết quả tại Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Đặc điểm TDD của nhóm chứng và nhóm thiếu tinh năng

Đặc điểm (Mean $\pm$ SD)	Nhóm chứng (n=200)	Nhóm bệnh (n=170)	Giá trị <i>p</i>*
Độ pH	7,51 $\pm$ 0,1	7,49 $\pm$ 0,16	0,247
Thể tích tinh dịch (mL)	2,65 $\pm$ 0,72	2,59 $\pm$ 0,77	0,487
Tổng số tinh trùng (10 ⁶)	160,9 $\pm$ 90,97	7,11 $\pm$ 4,49	<0,001
Tính di động			
<i>Di động tiến tới-PR (%)</i>	48,52 $\pm$ 13,24	17,90 $\pm$ 15,45	<0,001
<i>Tiến tới nhanh-A (%)</i>	15,97 $\pm$ 7,53	4,67 $\pm$ 7,75	<0,001
<i>Tiến tới chậm-B (%)</i>	32,55 $\pm$ 9,98	13,24 $\pm$ 11,82	<0,001
<i>Không tiến tới-NP (%)</i>	30,29 $\pm$ 8,58	16,48 $\pm$ 12,07	<0,001
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	80,93 $\pm$ 12,32	37,06 $\pm$ 21,72	<0,001
Hình thái bình thường (%)	4,86 $\pm$ 0,81	1,94 $\pm$ 1,12	<0,001

Chú thích: *: Independent Samples T-Test

Từ kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa nhóm chứng và nhóm thiếu tinh năng về tổng số tinh trùng, tỷ lệ di động tiến tới, tỷ lệ tiến tới nhanh, tiến tới chậm, tỷ lệ tinh trùng sống, tỷ lệ hình thái bình thường với $p < 0,001$. Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về độ pH và thể tích tinh dịch giữa hai nhóm trong nghiên cứu ($p > 0,05$).

3.1.3. Đặc điểm nội tiết tố sinh sản

Trong nghiên cứu có tổng số 410 đối tượng tham gia, chúng tôi đã thu thập đầy đủ dữ liệu nội tiết tố sinh sản gồm FSH, LH, testosterone của cả 210 bệnh nhân và 200 đối chứng. Tuy nhiên, một số đối tượng còn thiếu thông tin về nồng độ prolactin và estradiol, cụ thể chỉ số về prolactin chỉ gồm dữ liệu của 202 bệnh nhân, chiếm 96,19% và 196 đối chứng, chiếm 98%. Đặc biệt, dữ liệu về chỉ số estradiol còn thiếu ở nhiều đối tượng của cả 2 nhóm, cụ thể là nhóm chứng thiếu 20/200 (10%), nhóm bệnh thiếu 61/210 (29,05%). Do vậy, chúng tôi chỉ so sánh giữa hai nhóm về nội tiết tố sinh sản gồm FSH, LH, testosterone, prolactin và không so sánh giữa 2 nhóm về chỉ số estradiol.

Bảng 3.5. Đặc điểm nội tiết tố sinh sản giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Các thông số nội tiết (Mean $\pm$ SD)	Nhóm chứng (n=200)	Nhóm bệnh (n=210)	Giá trị p^*
FSH (mIU/mL)	4,00 $\pm$ 1,55	8,57 $\pm$ 6,49	<0,001
LH (mIU/mL)	5,00 $\pm$ 2,12	6,53 $\pm$ 3,38	<0,001
Testosterone (nmol/L)	15,30 $\pm$ 5,92	15,35 $\pm$ 7,36	0,933
Prolactin (mIU/L) **	253,09 $\pm$ 115,81	263,29 $\pm$ 120,96	0,391

Chú thích: *: Independent Samples T-Test

** : Chỉ số nội tiết tố được thu thập ở 196 chứng và 202 bệnh

Nồng độ FSH và LH trung bình của nhóm bệnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$) lần lượt là 8,57 $\pm$ 6,49 so với 4,00 $\pm$ 1,55 và

$6,53 \pm 3,38$ so với $5,00 \pm 2,12$. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về nồng độ trung bình của testosterone và prolactin giữa hai nhóm nghiên cứu với giá trị p lần lượt là 0,933 và 0,391.

3.1.4. Đặc điểm kích thước tinh hoàn

Bảng 3.6. Đặc điểm thể tích tinh hoàn giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Thể tích tinh hoàn (Mean $\pm$ SD)	Nhóm chứng (n=200)	Nhóm bệnh (n=210)	Giá trị p^*
Bên phải (mL)	$13,39 \pm 1,7$	$9,92 \pm 2,19$	$<0,001$
Bên trái (mL)	$12,78 \pm 1,67$	$9,32 \pm 1,91$	$<0,001$
Tổng 2 bên (mL)	$26,16 \pm 3,29$	$19,24 \pm 4,01$	$<0,001$

Chú thích: *: Independent Samples T-Test

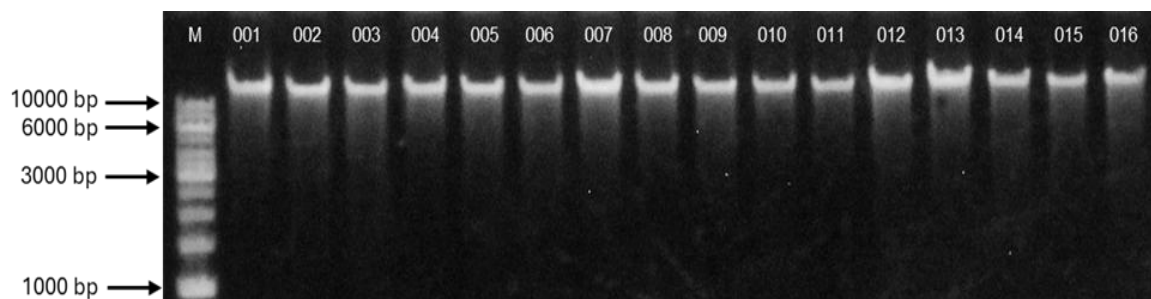
So sánh thể tích tinh hoàn giữa nhóm bệnh và nhóm chứng, cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Cụ thể là thể tích tinh hoàn bên phải, bên trái và tổng thể tích 2 bên của nhóm bệnh đều nhỏ hơn so với nhóm chứng, lần lượt là $9,92 \pm 2,19$ so với $13,39 \pm 1,7$; $9,32 \pm 1,91$ so với $12,78 \pm 1,67$; $19,24 \pm 4,01$ so với $26,16 \pm 3,29$.

3.2. Xác định các biến thể của gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14*

3.2.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số và PCR các đoạn gen chứa biến thể nghiên cứu

Sau khi tách chiết DNA tổng số từ máu ngoại vi toàn phần, sản phẩm được kiểm tra chất lượng thông qua điện di trên gel Agarose 1%. Quan sát hình ảnh điện di thấy các dải băng sáng, rõ, phản ánh DNA tổng số không bị đứt gãy và có độ tinh sạch cao, đảm bảo chất lượng sử dụng cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả hình ảnh điện di đại diện của 16 mẫu DNA tổng số được thể hiện ở Hình 3.1. Nồng độ DNA tổng số của các mẫu nghiên cứu được tổng hợp tại Phụ lục 3.

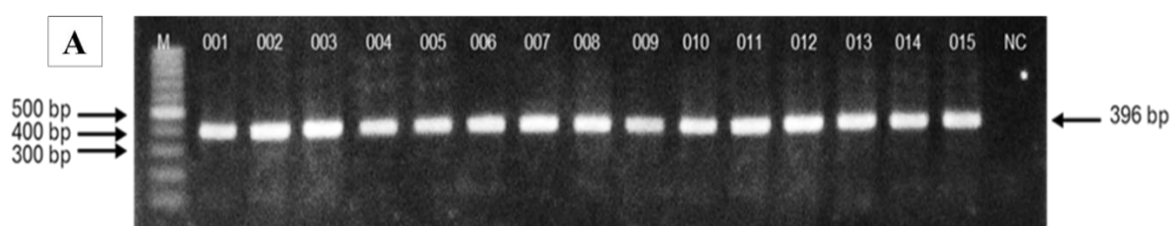


Hình 3.1. Hình ảnh điện di DNA tổng số

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn; 001-016: Sản phẩm DNA tổng số tương ứng của các đối tượng nghiên cứu: QMI-P3, QMI-P4, QMI-P5, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P19, QMI-P22, QMI-P25, QMI-P26, QMI-P28, QMI-C4, QMI-C6, QMI-C7, QMI-C8.

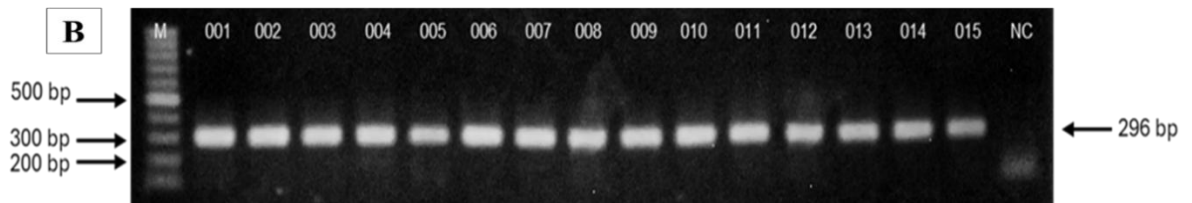
Để khuếch đại đặc hiệu các đoạn gen chứa các biến thể nghiên cứu, chúng tôi sử dụng các cặp mồi đã được thiết kế cho mỗi gen và tiến hành các phản ứng PCR. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel Agarose 1,2%.

Toàn bộ các mẫu nghiên cứu (210 mẫu bệnh và 200 mẫu đối chứng), đã được khuếch đại thành công tất cả 4 đoạn gen mang các biến thể rs10835638 của gen *FSHB* (Hình 3.2.1), rs6166 của gen *FSHR* (Hình 3.2.2), rs4844247 của gen *TEX11* (Hình 3.2.3) và rs79813370 của gen *TEX14* (Hình 3.2.4)



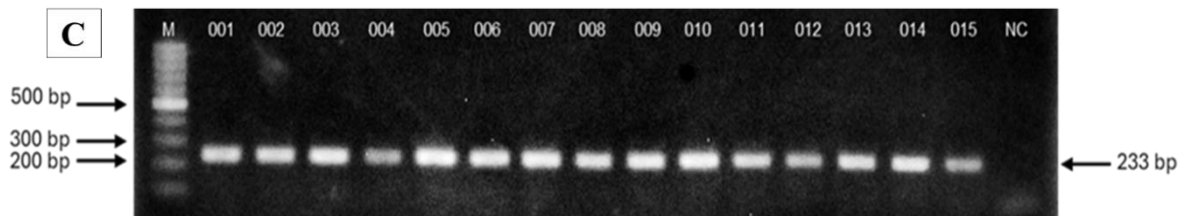
Hình 3.2.1. Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa *FSHB* rs10835638

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn. NC: đối chứng âm; 001-015: Sản phẩm sau PCR của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P3, QMI-P4, QMI-P5, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P19, QMI-P22, QMI-P25, QMI-P26, QMI-P28, QMI-P31, QMI-P32, QMI-P34.



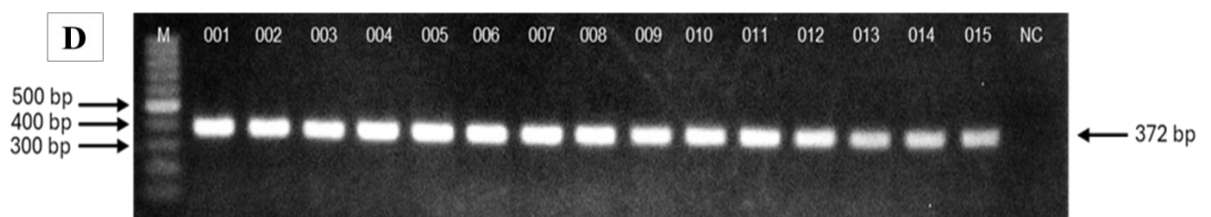
Hình 3.2.2. Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa *FSHR* rs6166

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn. NC: đối chứng âm; 001-015: Sản phẩm sau PCR của các đối chứng nghiên cứu: QMI-C4, QMI-C6, QMI-C7, QMI-C8, QMI-C9, QMI-C10, QMI-C11, QMI-C13, QMI-C14, QMI-C15, QMI-C16, QMI-C17, QMI-C20, QMI-C21, QMI-C22.



Hình 3.2.3. Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa *TEX11* rs4844247

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn. NC: đối chứng âm; 001-015: Sản phẩm sau PCR của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P3, QMI-P4, QMI-P5, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P19, QMI-P22, QMI-P25, QMI-P26, QMI-P28, QMI-P31, QMI-P32, QMI-P34.



Hình 3.2.4. Hình ảnh điện di sản phẩm sau PCR đoạn gen chứa *TEX14* rs79813370

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn. NC: đối chứng âm; 001-015: Sản phẩm sau PCR của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P3, QMI-P4, QMI-P5, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P19, QMI-P22, QMI-P25, QMI-P26, QMI-P28, QMI-P31, QMI-P32, QMI-P34.

Hình ảnh điện di của các đoạn gen có kích thước so với thang DNA chuẩn, tất cả phù hợp với tính toán lý thuyết, cụ thể đoạn gen chứa *FSHB* rs10835638 là 396bp; đoạn gen chứa *FSHR* rs6166 là 296bp; đoạn gen chứa *TEX11* rs4844247 là 233bp; đoạn gen chứa *TEX14* rs79813370 là 372bp. Hình ảnh các băng điện di sáng, gọn và không có các băng của sản phẩm phụ, thể hiện độ đặc hiệu của môi và phản ứng.

3.2.2. Phân tích biến thể gen của các đối tượng nghiên cứu

3.2.2.1. Biến thể rs10835638 của gen *FSHB*

Đối với biến thể rs10835638 (c.-211G>T) của gen *FSHB*, nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được 02 kiểu gen là GG và GT trong cả nhóm bệnh và nhóm chứng (Phụ lục 4). Dữ liệu tần số kiểu gen và tần số alen của biến thể rs10835638 được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.7.

Bảng 3.7. Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs10835638 gen *FSHB*

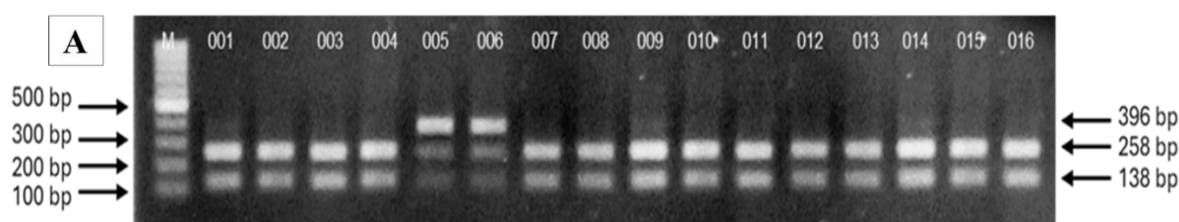
Nhóm	Kiểu gen			Tần số alen	
	GG n (%)	GT n (%)	TT n (%)	G n (%)	T n (%)
Vô tinh (n=40)	37 (92,5)	3 (7,5)	0 (0)	77 (96,25)	3 (3,75)
Thiếu tinh nặng (n=170)	157 (92,35)	13 (7,65)	0 (0)	327 (96,18)	13 (3,82)
Bệnh (n=210)	194 (92,38)	16 (7,62)	0 (0)	404 (96,19)	16 (3,81)
Chứng (n=200)	194 (97)	6 (3)	0 (0)	394 (98,5)	6 (1,5)

Đối với riêng nhóm vô tinh (n=40) có 92,5% mang kiểu gen GG và 7,5% mang kiểu gen GT; Không có kiểu gen TT; Tỷ lệ alen G và T lần lượt là 96,25% và 3,75%. Nhóm thiếu tinh nặng (n=170) có 92,35% mang kiểu gen GG và 7,65% mang kiểu gen GT; Không có kiểu gen TT; Tỷ lệ alen G và T lần lượt là 96,18% và 3,82%.

Tổng hợp ở nhóm bệnh (vô tinh, thiếu tinh nặng) xác định được 194/210 (92,4%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử GG, 16/210 (7,6%) cá thể mang kiểu gen dị hợp tử GT, tuy nhiên không có cá thể nào mang kiểu gen đồng hợp

tử TT. Trong nhóm đối chứng, có 194/200 (97%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử GG, 6/200 (3%) cá thể mang kiểu gen dị hợp tử GT, và cũng giống như nhóm bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng, chúng tôi không thấy có cá thể nào mang của gen đồng hợp tử TT ở nhóm đối chứng.

Phân tích tần số các alen của biến thể, ở nhóm bệnh (vô tinh, thiếu tinh nặng) tần số alen G là 96,2%, alen T là 3,8%. Trong khi đó, ở nhóm chứng, tần số alen G là 98,5%, alen T là 1,5%. Tính toán cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) cho thấy cả nhóm bệnh và nhóm chứng đều đạt trạng thái cân bằng di truyền với $p > 0,05$ (Phụ lục 5).

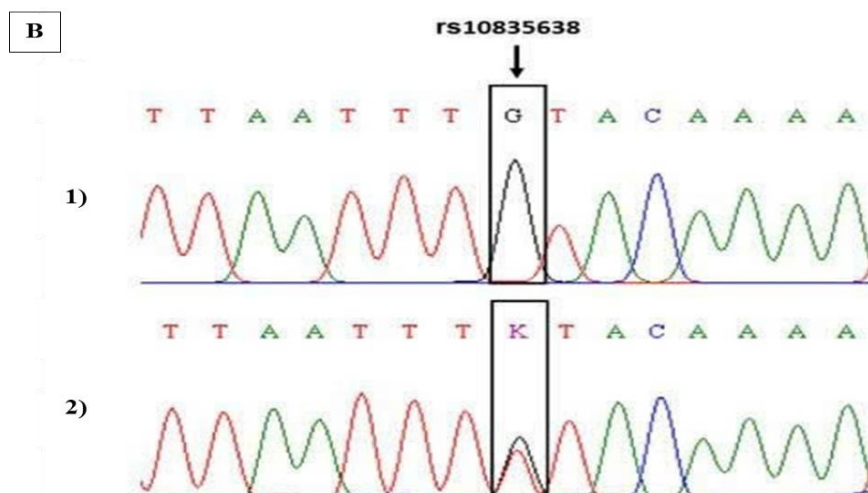


Hình 3.3. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs10835638 gen *FSHB*

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn; 001-016: Sản phẩm PCR cắt bằng enzym của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P83, QMI-P86, QMI-P87, QMI-P88, QMI-P90, QMI-P94, QMI-P96, QMI-P98, QMI-P51, QMI-P53, QMI-P56, QMI-P58, QMI-P72, QMI-P74, QMI-P80, QMI-P92.

Kết quả điện di 16 mẫu đại diện trên gel Agarose 3% được thể hiện trong Hình 3.3 cho thấy, ở giếng 1-4 và 7-16 có hai băng sáng với kích thước là 258bp và 138bp tương ứng kiểu gen là đồng hợp tử GG. Tương tự, mẫu ở giếng số 5 và 6 có ba băng sáng với kích thước là 396 bp, 258 bp và 138bp tương ứng với kiểu gen dị hợp tử GT. Các mẫu trong nghiên cứu đều không thấy xuất hiện kiểu gen đồng hợp tử TT.

Kiểm tra ngẫu nhiên 5% số lượng mẫu bằng phương pháp giải trình tự Sanger cho thấy kết quả tương đồng với kết quả nhận được khi sử dụng phương pháp PCR - RFLP (Hình 3.4).



Hình 3.4. Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs10835638 gen *FSHB*

Chú thích: 1) Kiểu gen GG (G) của đối chứng QMI-C69.

2) Kiểu gen GT (K) của bệnh nhân QMI-P307.

3.2.2.2. Biến thể rs6166 của gen *FSHR*

Với biến thể rs6166 (c.2039G>A) của gen *FSHR*, đã xác định được kiểu gen GG, GA và AA trong cả hai nhóm nghiên cứu (Phụ lục 4). Dữ liệu tần số kiểu gen và tần số alen của biến thể rs6166 được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.8.

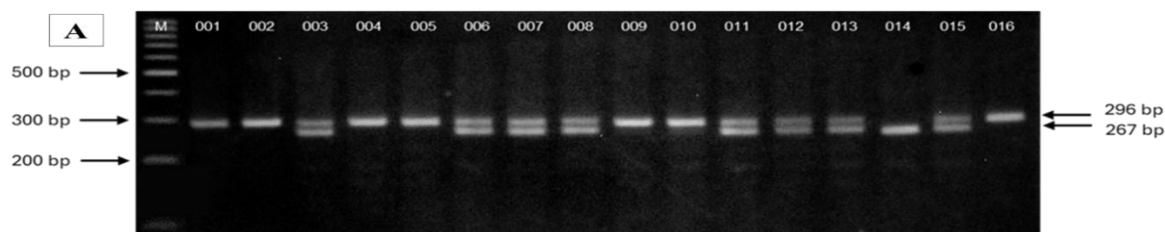
Bảng 3.8. Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs6166 gen *FSHR*

Nhóm	Kiểu gen			Tần số alen	
	GG n (%)	GA n (%)	AA n (%)	G n (%)	A n (%)
Vô tình (n=40)	7 (17,5)	17 (42,5)	16 (40)	31 (38,75)	49 (61,25)
Thiếu tinh nặng (n=170)	18 (10,59)	72 (42,35)	80 (47,06)	108 (31,76)	232 (68,24)
Bệnh (n=210)	25 (11,9)	89 (42,38)	96 (45,71)	139 (33,1)	281 (66,9)
Chứng (n=200)	23 (11,5)	88 (44)	89 (44,5)	134 (33,5)	266 (66,5)

Nhóm vô tình (n=40) có tỷ lệ các kiểu gen GG, GA và AA lần lượt là 17,5%, 42,5% và 40%; Tỷ lệ alen G và A lần lượt là 38,75% và 61,25%. Nhóm thiếu tinh nặng (n=170) có tỷ lệ các kiểu gen GG, GA và AA lần lượt là 10,59%, 42,35% và 47,06%; Tỷ lệ alen G và A lần lượt là 31,768% và 68,24%.

Ở cả nhóm bệnh (vô tinh, thiếu tinh nặng) đã xác định được 25/210 (11,91%) cá thể mang kiểu gen GG, 89/210 (42,38%) cá thể mang kiểu gen GA, 96/210 (45,71%) cá thể mang kiểu gen AA. Trong nhóm chứng, có 23/200 (11,5%) cá thể mang kiểu gen GG, 88/200 (44%) cá thể mang kiểu gen GA và 89/200 (44,5%) cá thể mang kiểu gen AA.

Kết quả xác định tần số alen ở nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng gồm alen G chiếm 33,1%, alen A chiếm 66,9%. Kết quả ở nhóm chứng, tần số alen G chiếm 33,5%, alen A chiếm 66,5%. Tính toán cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) cho thấy cả nhóm bệnh và nhóm chứng đều đạt trạng thái cân bằng di truyền với $p > 0,05$ (Phụ lục 5).

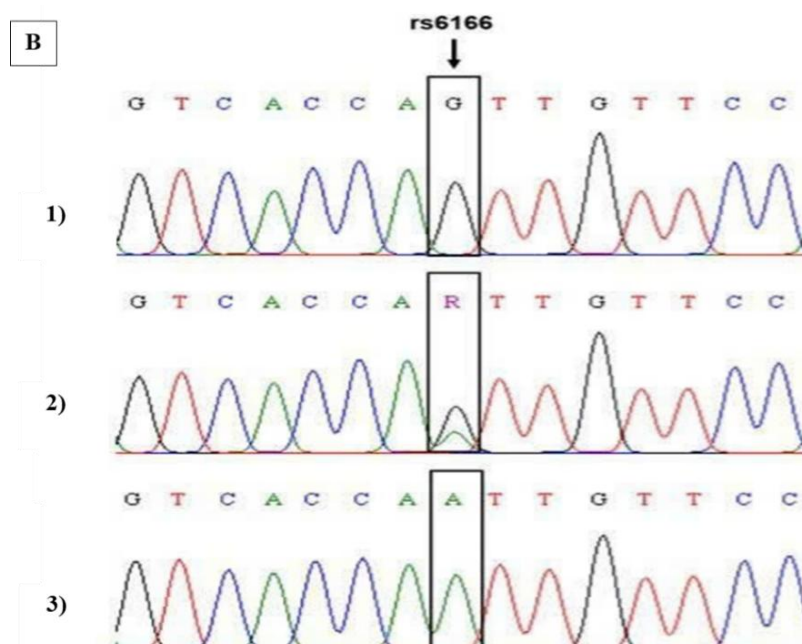


Hình 3.5. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs6166 gen *FSHR*

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn; 001-016: Sản phẩm PCR cắt bằng enzym của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P28, QMI-P31, QMI-P32, QMI-P34, QMI-P5, QMI-P35, QMI-P3, QMI-P4, QMI-P19, QMI-P25, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P22, QMI-P26.

Kết quả điện di 16 mẫu đại diện trên gel Agarose 3% được thể hiện trong Hình 3.5 cho thấy, ở giếng 1, 2, 4, 5, 9, 10, 16 có một băng sáng với kích thước là 296 bp tương ứng kiểu gen là đồng hợp tử AA. Mẫu ở giếng số 3, 6-8, 11-13, 15 có hai băng sáng với kích thước là 296 bp và 267 bp (không quan sát thấy băng DNA 29bp do kích thước quá bé đã vượt qua bản gel) tương ứng với kiểu gen dị hợp tử GA. Mẫu ở giếng 14 có một băng với kích thước 267bp (không quan sát thấy băng 29bp do kích thước quá bé đã vượt qua bản gel) tương ứng với kiểu gen đồng hợp tử GG.

Kiểm tra ngẫu nhiên 5% số lượng mẫu bằng phương pháp giải trình tự Sanger cho thấy kết quả tương đồng với kết quả nhận được khi sử dụng phương pháp PCR - RFLP (Hình 3.6)



Hình 3.6. Kết quả giải trình tự Sanger (B) của biến thể rs6166 gen *FSHR*

Chú thích: 1) Kiểu gen GG (G) của bệnh nhân QMI-P56.

2) Kiểu gen GA (R) của đối chứng QMI-C6.

3) Kiểu gen AA (A) của bệnh nhân QMI-P5.

3.2.2.3. Biến thể rs4844247 của gen *TEX11*

Đối với biến thể rs4844247 của gen *TEX11*, đã xác định được 2 alen là C và T ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng (Phụ lục 4). Dữ liệu tần số kiểu gen và tần số alen của biến thể rs4844247 được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.9.

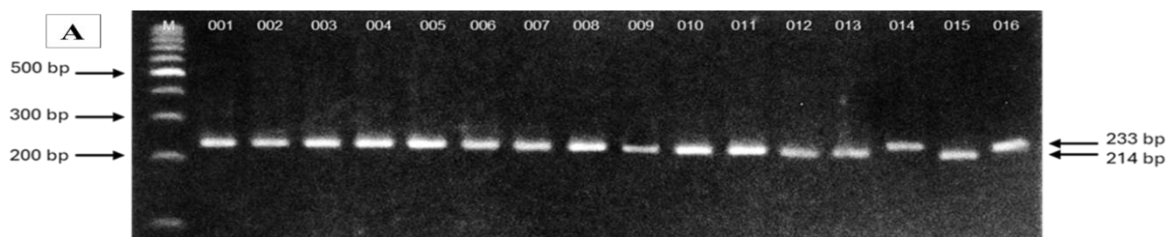
Bảng 3.9. Tần số alen của biến thể rs4844247 gen *TEX11*

Nhóm	Tần số alen	
	C n (%)	T n (%)
Vô tinh (n=40)	33 (82,5)	7 (17,5)
Thiếu tinh nặng (n=170)	148 (87,06)	22 (12,94)
Bệnh (n=210)	181 (86,19)	29 (13,81)
Chứng (n=200)	174 (87)	26 (13)

Đối với riêng nhóm vô tình (n=40) có 82,5% mang alen C và 17,5% mang alen T. Nhóm thiếu tinh nặng (n=170) có 87,06% mang alen C và 12,94% mang alen T.

Tổng hợp ở nhóm bệnh (vô tình, thiếu tinh nặng) đã xác định được 181/210 (86,19%) cá thể mang alen C, 29/210 (13,81%) cá thể mang alen T. Trong nhóm đối chứng, có 174/200 (87%) cá thể mang alen C, 26/200 (13%) cá thể mang alen T.

Phép kiểm tra cân bằng Hardy-Weinberg không thực hiện đối với *TEX11* rs4844247, do vị trí của đa hình này nằm trên nhiễm sắc thể X.

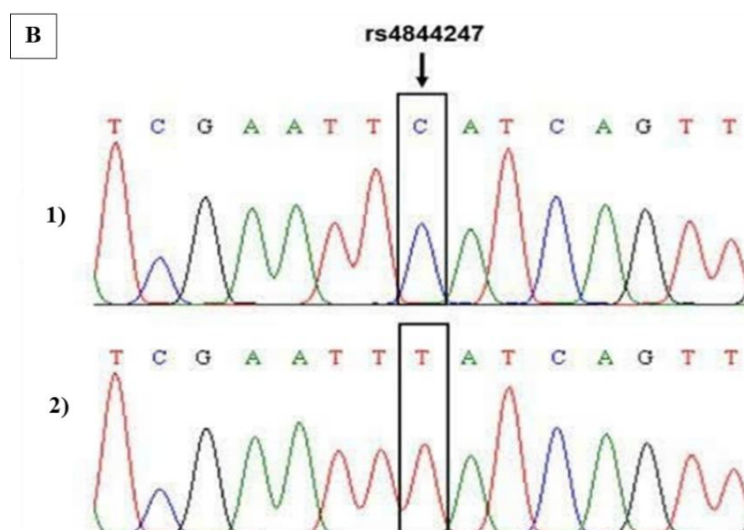


Hình 3.7. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs4844247 gen *TEX11*

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn; 001-016: Sản phẩm PCR cắt bằng enzym của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P3, QMI-P4, QMI-P5, QMI-P6, QMI-P13, QMI-P14, QMI-P18, QMI-P19, QMI-P72, QMI-P74, QMI-P80, QMI-P83, QMI-P86, QMI-P87, QMI-P88, QMI-P90.

Kết quả điện di 16 mẫu đại diện trên gel Agarose 3,5% được thể hiện trong Hình 3.7 cho thấy, ở giếng 1-13 và 15 có một băng sáng với kích thước là 214 bp tương ứng kiểu gen mang alen C. Mẫu ở giếng số 14 và 16 có một băng sáng với kích thước là 233 bp tương ứng với kiểu gen mang alen T. Băng DNA với kích thước 19 bp không quan sát được trên gel Agarose 3,5 % do kích thước quá nhỏ.

Kiểm tra ngẫu nhiên 5% số lượng mẫu bằng phương pháp giải trình tự Sanger cho thấy kết quả tương đồng với kết quả nhận được khi sử dụng phương pháp PCR - RFLP (Hình 3.8).



Hình 3.8. Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs4844247 gen *TEX11*

Chú thích: 1) Kiểu alen C của đối chứng QMI-C80.

2) Kiểu alen T của bệnh nhân QMI-P325.

3.2.2.4. Biến thể rs79813370 của gen *TEX14*

Đối với biến thể rs79813370 của gen *TEX14*, đã xác định được 3 kiểu gen gồm GG, GT và TT (Phụ lục 4). Dữ liệu tần số kiểu gen và tần số alen của biến thể rs79813370 được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.10.

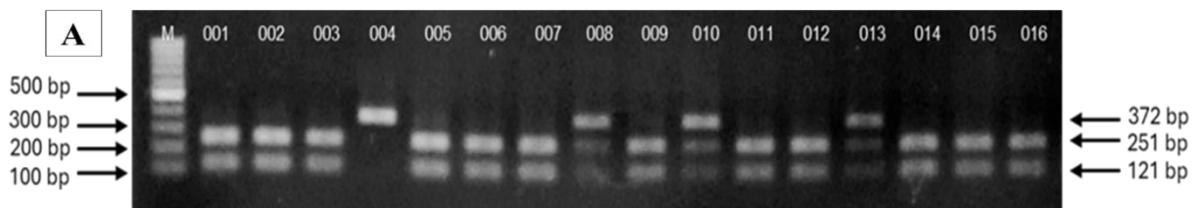
Bảng 3.10. Tần số alen, tần số kiểu gen của biến thể rs79813370 gen *TEX14*

Nhóm	Kiểu gen			Tần số alen	
	GG n (%)	GT n (%)	TT n (%)	G n (%)	T n (%)
Vô tinh (n=40)	31 (77,5)	9 (22,5)	0 (0)	71 (88,75)	9 (11,25)
Thiếu tinh nặng (n=170)	143 (84,12)	25 (14,71)	2 (1,18)	311 (91,47)	29 (8,53)
Bệnh (n=210)	174 (82,86)	34 (16,19)	2 (0,95)	382 (90,95)	38 (9,05)
Chứng (n=200)	163 (81,5)	35 (17,5)	2 (1)	361 (90,25)	39 (9,75)

Riêng nhóm vô tinh (n=40) có 77,5% kiểu gen GG và 22,5% kiểu gen GT; Không có kiểu gen TT; Tỷ lệ alen G và T lần lượt là 88,75% và 11,25%. Nhóm thiếu tinh nặng (n=170) có tỷ lệ các kiểu gen GG, GT và TT lần lượt là 84,12%, 14,71% và 1,18%; Tỷ lệ alen G và T lần lượt là 91,47% và 8,53%.

Tổng cộng ở nhóm bệnh (vô tình, thiếu tình nặng) đã xác định được 174/210 (82,86%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử GG, 34/210 (16,19%) cá thể mang kiểu gen dị hợp tử GT, 02/210 (0,95%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử TT. Trong nhóm đối chứng, có 163/200 (81,5%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử GG, 35/200 (17,5%) cá thể mang kiểu gen dị hợp tử GT và 02/200 (1%) cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử TT.

Phân tích tần số các alen của biến thể, ở nhóm vô tình, thiếu tình nặng, tần số alen G là 91%, alen T là 9%. Kết quả tương tự ở nhóm chứng, với tần số alen G là 90,2%, alen T là 9,8%. Tính toán cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) cho thấy cả nhóm bệnh và nhóm chứng đều đạt trạng thái cân bằng di truyền với $p > 0,05$ (Phụ lục 5).

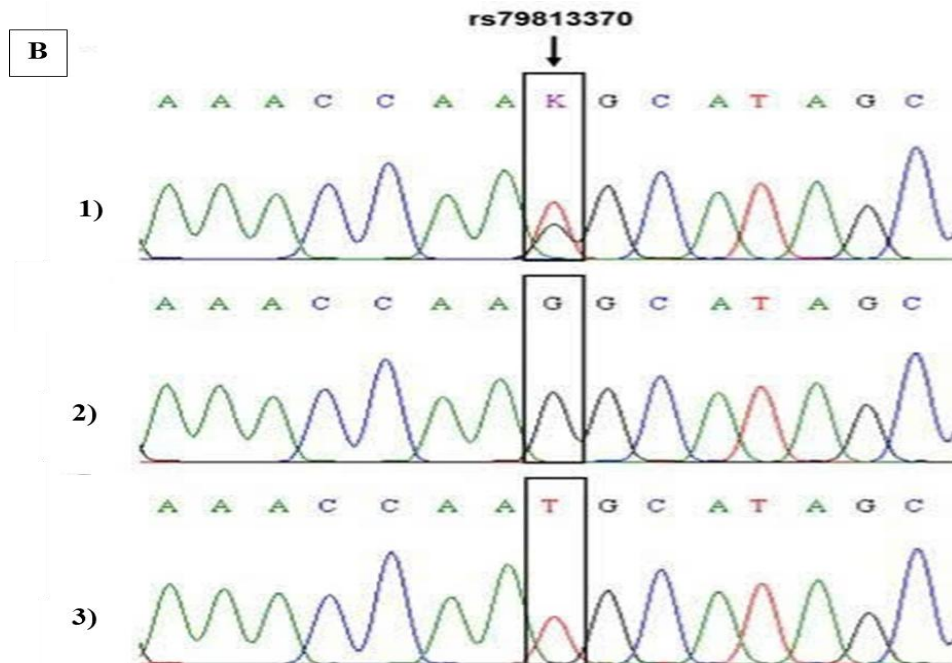


Hình 3.9. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của biến thể rs79813370 gen *TEX14*.

Chú thích: M: Thang DNA chuẩn; 001-016: Sản phẩm PCR cắt bằng enzym của các bệnh nhân nghiên cứu: QMI-P31, QMI-P32, QMI-P34, QMI-P35, QMI-P43, QMI-P44, QMI-P53, QMI-P47, QMI-P51, QMI-P80, QMI-P83, QMI-P74, QMI-P86, QMI-P72, QMI-P58, QMI-P56.

Kết quả điện di 16 mẫu nghiên cứu đại diện trên bản gel Agarose 3% được thể hiện trong Hình 3.9 cho thấy, ở các giếng từ 1 đến 3, từ 5 đến 7, 9, 11, 12 và từ 14 đến 16 có hai băng sáng với kích thước là 251 bp và 121 bp, tương ứng kiểu gen là đồng hợp tử GG. Tương tự, mẫu ở các giếng số 8, 10, 13 có ba băng sáng với kích thước là 372 bp, 251 bp và 121bp, tương ứng với kiểu gen dị hợp tử GT. Riêng với mẫu nghiên cứu ở giếng số 4 có một băng sáng với kích thước 372bp, tương ứng với kiểu gen đồng hợp tử TT.

Kiểm tra ngẫu nhiên 5% số lượng mẫu bằng phương pháp giải trình tự Sanger cho thấy kết quả tương đồng với kết quả nhận được khi sử dụng phương pháp PCR - RFLP (Hình 3.10)



Hình 3.10. Kết quả giải trình tự Sanger của biến thể rs79813370 gen *TEX14*.

Chú thích: 1) Kiểu gen GT (K) của bệnh nhân QMI-P5.

2) Kiểu gen GG (G) của đối chứng QMI-C72.

3) Kiểu gen TT (T) của đối chứng QMI-C85.

3.3. Khảo sát mối liên quan giữa biến thể của các gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

3.3.1. Đánh giá đặc điểm di truyền của nhóm bệnh và nhóm chứng trong mối tương quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng

3.3.1.1. Biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166

Sự khác biệt về tần số kiểu gen và tần số alen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166 được phân tích so sánh giữa nhóm bệnh và nhóm đối chứng, nhằm làm rõ mối liên quan giữa đặc điểm di truyền của các biến thể gen nghiên cứu với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng. Kết quả được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.11.1, Bảng 3.11.2 và Bảng 3.11.3.

Bảng 3.11.1. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiểu tinh nặng

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm bệnh (n = 210)	OR	95% CI	Giá trị p χ^2	OR
<i>FSHB</i> / rs10835638	Cộng gộp						
	GG	194 (97%)	194 (92,38%)	1,000		0,038	
	GT	6 (3%)	16 (7,62%)	2,619	1,043- 7,551		0,045
	Alen						
	G	394 (98,5%)	404 (96,19%)	1,000		0,041	
	T	6 (1,5%)	16 (3,81%)	2,556	1,030- 7,302		0,048
<i>FSHR</i> / rs6166	Cộng gộp						
	GG	23 (11,50%)	25 (11,90%)	1,000		0,946	
	GA	88 (44,00%)	89 (42,38%)	0,93	0,491- 1,762		0,825
	AA	89 (44,50%)	96 (45,71%)	0,992	0,526- 1,874		0,981
	Lặn						
	GG+GA	111 (55,50%)	114 (54,3%)	1,000		0,805	
	AA	89 (44,50%)	96 (45,7%)	1,05	0,712- 1,55		0,805
	Trội						
	GG	23 (11,50%)	25 (11,9%)	1,000		0,899	
	GA+AA	177 (88,50%)	185 (88,1%)	0,962	0,526- 1,757		0,899
	Alen						
	G	134 (33,50%)	139 (33,1%)	1,000		0,902	
	A	266 (66,50%)	281 (66,9%)	1,018	0,762- 1,362		0,902

Đối với biến thể gen *FSHB* rs10835638, có sự khác biệt giữa hai nhóm, cụ thể tần số kiểu gen GT và alen T ở nhóm bệnh cao hơn so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê với $p(\chi^2)$ lần lượt là 0,038 và 0,041. Khi phân tích mối liên quan giữa biến thể gen với tình trạng vô sinh, thì kiểu gen GT và alen T đều có mối liên quan với giá trị $p(OR)$ lần lượt là 0,045 và 0,048.

Phân tích so sánh đối với biến thể *FSHR* rs6166, cho thấy ở mô hình cộng gộp, lặn, trội và alen, thì các kiểu gen và alen đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.

Bảng 3.11.2. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm thiếu tinh năng (n = 170)	OR	95% CI	Giá trị <i>p</i> χ^2	OR
<i>FSHB</i> / rs10835638	Cộng gộp						
	GG	194 (97%)	157 (92,35%)	1,000		0,044	0,051
	GT	6 (3%)	13 (7,65%)	2,677	0,995- 7,205		
	Alen						
	G	394 (98,5%)	327 (96,18%)	1,000		0,046	0,055
	T	6 (1,5%)	13 (3,82%)	2,611	0,981- 6,945		
<i>FSHR</i> / rs6166	Cộng gộp						
	GG	23 (11,5%)	18 (10,59%)	1,000		0,879	0,900
	GA	88 (44%)	72 (42,35%)	1,045	0,524- 2,086		
	AA	89 (44,5%)	80 (47,06%)	1,149	0,578- 2,282		
	Lặn						
	GG+GA	111 (55,5%)	90 (52,94%)	1,000		0,622	0,622
	AA	89 (44,5%)	80 (47,06%)	1,109	0,735- 1,671		
	Trội						
	GG	23 (11,5%)	18 (10,59%)	1,000		0,781	0,781
	GA+AA	177 (88,5%)	152 (89,41%)	0,911	0,474- 1,752		
	Alen						
	G	134 (33,5%)	108 (31,76%)	1,000		0,616	0,616
	A	266 (66,5%)	232 (68,24%)	1,082	0,795- 1,473		

Đối với biến thể gen *FSHB* rs10835638, có sự khác biệt giữa hai nhóm, cụ thể tần số kiểu gen GT và alen T ở nhóm vô sinh do thiếu tinh năng cao hơn

so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê với $p(\chi^2)$ lần lượt là 0,044 và 0,046. Tuy nhiên, khi phân tích mối liên quan với tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng, thì kiểu gen GT và alen T đều chưa có mối liên quan với giá trị $p(OR) > 0,05$.

Với biến thể *FSHR* rs6166 không có sự khác biệt về tần số các kiểu gen và alen giữa nhóm vô sinh do thiếu tinh năng và nhóm chứng với $p(\chi^2) > 0,05$.

Bảng 3.11.3. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với tình trạng vô tinh

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm vô tinh (n = 40)	OR	95% CI	Giá trị p χ^2	OR
FSHB / rs10835638	Cộng gộp						
	GG	194 (97%)	37 (92,5%)	1,000		0,175**	
	GT	6 (3%)	3 (7,5%)	2,622	0,627-10,953		0,186
	Alen						
	G	394 (98,5%)	77 (96,25%)	1,000		0,177**	
	T	6 (1,5%)	3 (3,75%)	2,558	0,626-10,451		0,191
FSHR / rs6166	Cộng gộp						
	GG	23 (11,5%)	7 (17,5%)	1,000		0,568	
	GA	88 (44%)	17 (42,5%)	0,635	0,235-1,713		0,369
	AA	89 (44,5%)	16 (40%)	0,591	0,217-1,605		0,302
	Lặn						
	GG+GA	111 (55,5%)	24 (60%)	1,000		0,600	
	AA	89 (44,5%)	16 (40%)	0,831	0,416-1,66		0,601
	Trội						
	GG	23 (11,5%)	7 (17,5%)	1,000		0,295	
	GA+AA	177 (88,5%)	33 (82,5%)	0,613	0,243-1,543		0,299
	Alen						
	G	134 (33,5%)	31 (38,75%)	1,000		0,367	
	A	266 (66,5%)	49 (61,25%)	0,796	0,485-1,307		0,367

Chú thích: ** Giá trị p được tính toán bằng phép kiểm định Fisher's Exact.

Biến thể *FSHB* rs10835638 và *FSHR* rs6166 đều không có sự khác biệt về tần số kiểu gen và alen giữa nhóm chứng và nhóm vô tinh với $p(\chi^2) > 0,05$.

3.3.1.2. Biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370

Tương tự, các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 được phân tích so sánh giữa nhóm bệnh và nhóm đối chứng trong mối liên quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng. Kết quả phân tích được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.12.1, Bảng 3.12.2 và Bảng 3.12.3.

Bảng 3.12.1. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm bệnh (n = 210)	OR	95% CI	Giá trị p χ^2	OR
<i>TEX11</i> / rs4844247	Alen						
	C	174 (87,00%)	181 (86,19%)	1,000		0,810	
	T	26 (13,00%)	29 (13,81%)	1,072	0,607- 1,894		0,810
<i>TEX14</i> / rs79813370	Cộng gộp						
	GG	163 (81,50%)	174 (82,86%)	1,000		0,937	
	GT	35 (17,50%)	34 (16,19%)	0,910	0,542- 1,528		0,721
	TT	2 (1,00%)	2 (0,95%)	0,937	0,13- 6,728		0,948
	Lặn						
	GG+GT	198 (99,00%)	208 (99,05%)	1,000		>0,999**	
	TT	2 (1,00%)	2 (0,95%)	0,952	0,133- 6,823		>0,999
	Trội						
	GG	163 (81,50%)	174 (82,86%)	1,000		0,720	
	GT+TT	37 (18,50%)	36 (17,14%)	0,911	0,549- 1,512		0,720
	Alen						
	G	361 (90,25%)	382 (90,95%)	1,000		0,730	
	T	39 (9,75%)	38 (9,05%)	0,921	0,576- 1,472		0,730

Chú thích: ** Giá trị p được tính toán bằng phép kiểm định Fisher's Exact.

Kết quả phân tích với biến thể *TEX11* rs4844247 thì alen T có xu hướng gây ra tình trạng bệnh lý nhưng không có ý nghĩa thống kê. Với biến thể *TEX14* rs79813370 cũng chưa thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ở tất cả các mô hình cộng gộp, trội, lặn và alen.

Bảng 3.12.2. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm thiếu tinh năng (n = 170)	OR	95% CI	Giá trị p χ^2	OR
<i>TEX11</i> / rs4844247	Alen						
	C	174 (87%)	148 (87,06%)	1,000		0,987	
	T	26 (13%)	22 (12,94%)	0,995	0,541- 1,828		0,987
<i>TEX14</i> / rs79813370	Cộng gộp						
	GG	163 (81,5%)	143 (84,12%)	1,000		0,761	
	GT	35 (17,5%)	25 (14,71%)	0,814	0,465- 1,426		0,472
	TT	2 (1%)	2 (1,18%)	1,140	0,159- 8,196		0,897
	Lặn						
	GG+GT	198 (99%)	168 (98,82%)	1,000		>0,999**	
	TT	2 (1%)	2 (1,18%)	1,179	0,164- 8,457		0,870
	Trội						
	GG	163 (81,5%)	143 (84,12%)	1,000		0,507	
	GT+TT	37 (18,5%)	27 (15,88%)	0,832	0,483- 1,434		0,507
	Alen						
	G	361 (90,25%)	311 (91,47%)	1,000		0,567	
	T	39 (9,75%)	29 (8,53%)	0,863	0,521- 1,429		0,567

Chú thích: ** Giá trị p được tính toán bằng phép kiểm định Fisher's Exact.

Cả biến thể *TEX11* rs4844247 và *TEX14* rs79813370 đều không có sự khác biệt về tần số các kiểu gen và alen giữa nhóm thiếu tinh năng và nhóm

chúng ở tất cả các mô hình với $p(\chi^2) > 0,05$. Đồng thời cũng không thấy có mối liên quan giữa các biến thể gen với tình trạng thiếu tinh năng với $p(OR) > 0,05$.

Bảng 3.12.3. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với tình trạng vô tinh

Gen/SNP	Mô hình	Nhóm chứng (n = 200)	Nhóm vô tinh (n = 40)	OR	95% CI	Giá trị p χ^2	OR
<i>TEX11</i> / rs4844247	Alen						
	C	174 (87%)	33 (82,5%)	1,000		0,454**	
	T	26 (13%)	7 (17,5%)	1,420	0,569-3,54		0,452
<i>TEX14</i> / rs79813370	Cộng gộp						
	GG	163 (81,5%)	31 (77,5%)	1,000		0,631	
	GT	35 (17,5%)	9 (22,5%)	1,352	0,591-3,092		0,475
	TT	2 (1%)	0 (0%)	0,000	0,000-0,000		0,999
	Lặn						
	GG+GT	198 (99%)	40 (100%)	1,000		>0,999**	
	TT	2 (1%)	0 (0%)	0,000	0,000-0,000		0,999
	Trội						
	GG	163 (81,5%)	31 (77,5%)	1,000		0,557	
	GT+TT	37 (18,5%)	9 (22,5%)	1,279	0,561-2,914		0,558
	Alen						
	G	361 (90,25%)	71 (88,75%)	1,000		0,683	
	T	39 (9,75%)	9 (11,25%)	1,173	0,544-2,53		0,683

Chú thích: ** Giá trị p được tính toán bằng phép kiểm định Fisher's Exact.

Hai biến thể *TEX11* rs4844247 và *TEX14* rs79813370 đều không có sự khác biệt về tần số các kiểu gen và alen giữa nhóm vô tinh và nhóm chứng với $p(\chi^2) > 0,05$. Đồng thời cũng không thấy có mối liên quan giữa các biến thể gen với tình trạng vô tinh với $p(OR) > 0,05$.

3.3.2. Mô hình hồi quy logistic đa biến giữa các biến thể gen, các đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng

Sử dụng phép hồi quy Bilinear logistic, để đánh giá sự ảnh hưởng của các yếu tố khác đối với mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB* rs10835638 và tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng.

Chúng tôi đã phân tích tác động đồng thời của các yếu tố bao gồm đặc điểm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa hai nhóm như thói quen có sử dụng rượu; các đặc điểm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($0,05 < p < 0,2$), nhưng có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh như: Độ tuổi từ 40 trở lên, tình trạng béo phì, thừa cân, thiếu cân và các biến thể gen trong nghiên cứu. Kết quả tại Bảng 3.13.

Bảng 3.13. Phân tích hồi quy logistic đa biến liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* và một số đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh nam

Đặc điểm	OR	Khoảng tin cậy (95% CI)	Giá trị p
Tuổi ≥ 40	0,617	0,358-1,065	0,083
Có uống rượu	0,603	0,354-1,025	0,062
BMI thiếu cân	0,405	0,062-2,633	0,344
BMI thừa cân	0,694	0,435-1,106	0,125
BMI béo phì	0,688	0,409-1,158	0,159
<i>FSHB</i> rs10835638 GT	3,087	1,132-8,416	0,028
<i>FSHR</i> rs6166 GA	0,866	0,449-1,672	0,669
<i>FSHR</i> rs6166 AA	0,930	0,487-1,778	0,827
<i>TEX11</i> rs4844247 T	0,974	0,539-1,760	0,930
<i>TEX14</i> rs79813370 GT	0,824	0,482-1,408	0,478
<i>TEX14</i> rs79813370 TT	0,860	0,118-6,285	0,882

Kết quả phân tích cho thấy kiểu gen *FSHB* rs10835638 GT có liên quan đến tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng với $OR=3,087$; $p=0,028$. Đồng

thời, không thấy ảnh hưởng của độ tuổi, thói quen sử dụng rượu, các thay đổi chỉ số khối cơ thể, cũng như kiểu gen của các biến thể *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 đối với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh năng.

Tương tự, chúng tôi cũng phân tích tác động đồng thời các yếu tố có khả năng liên quan đến tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng, bao gồm độ tuổi từ 40 trở lên, thói quen có sử dụng rượu, tình trạng béo phì, thừa cân, thiếu cân và các biến thể gen trong nghiên cứu. Kết quả cụ thể tại Bảng 3.14.

Bảng 3.14. Phân tích hồi quy logistic đa biến liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* và một số đặc điểm lâm sàng với tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng

Đặc điểm	OR	Khoảng tin cậy (95% CI)	Giá trị <i>p</i>
Tuổi ≥ 40	0,682	0,386-1,204	0,187
Có uống rượu	0,621	0,355-1,084	0,094
BMI thiếu cân	0,286	0,029-2,837	0,285
BMI thừa cân	0,563	0,343-0,923	0,023
BMI béo phì	0,610	0,353-1,053	0,076
<i>FSHB</i> rs10835638 GT	3,103	1,099-8,757	0,032
<i>FSHR</i> rs6166 GA	1,010	0,495-2,062	0,978
<i>FSHR</i> rs6166 AA	1,097	0,542-2,220	0,796
<i>TEX11</i> rs4844247 T	0,949	0,502-1,793	0,872
<i>TEX14</i> rs79813370 GT	0,714	0,397-1,284	0,261
<i>TEX14</i> rs79813370 TT	1,031	0,141-7,551	0,976

Kết quả phân tích cho thấy kiểu gen *FSHB* rs10835638 GT có liên quan đến tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng với OR=3,103; $p=0,032$. Đồng thời, không thấy ảnh hưởng của độ tuổi, thói quen sử dụng rượu, các thay đổi chỉ số khối cơ thể, cũng như kiểu gen của các biến thể *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 đối với tình trạng vô sinh do thiếu tinh năng.

3.3.3. Đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm di truyền với các chỉ số tinh dịch đồ, nội tiết tố sinh sản và thể tích tinh hoàn ở nhóm bệnh

3.3.3.1. Mối liên quan với các đặc điểm tinh dịch đồ ở nhóm bệnh

Trong nhóm bệnh bao gồm 40 bệnh nhân vô tinh và 170 bệnh nhân thiếu tinh năng. Do đó, chúng tôi chỉ phân tích mối liên quan giữa các biến thể gen với các chỉ số tinh dịch đồ ở riêng nhóm thiếu tinh năng. Kết quả phân tích được thể hiện chi tiết ở Bảng 3.15, Bảng 3.16, Bảng 3.17 và Bảng 3.18.

Bảng 3.15. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh năng

Nhóm thiếu tinh năng (n=170)			
Chỉ số TDD Median (Q1-Q3)	Kiểu gen <i>FSHB</i> rs10835638		Giá trị <i>p</i> *
	GG (n=157)	GT (n=13)	
Mật độ tinh trùng ($10^6/\text{mL}$)	3,29 (1,20-4,42)	1,64 (0,99-2,79)	0,12
Tổng số tinh trùng (10^6)	7,34 (3,21-10,97)	4,00 (2,46-7,51)	0,099
Di động tiến tới-PR (%)	14,75 (5,56-27,06)	11,11 (4,52-29,41)	0,916
Tiến tới nhanh-A (%)	2,00 (0-6,33)	0 (0-0,32)	0,024
Tiến tới chậm-B (%)	10 (3,9-18,18)	10,53 (4,52-29,41)	0,432
Không tiến tới-NP (%)	15,15 (8,57-21,61)	15,79 (13,13-21,15)	0,963
Di động (PR+NP) (%)	33,33 (19,48-49,01)	26,32 (25,00-50,56)	0,981
Bất động - IM (%)	66,67 (50,99-80,52)	73,68 (49,44-75,00)	0,981
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	38 (21-52)	27 (25-51)	0,963
Hình thái bình thường (%)	2,0 (1,0-3,0)	2,0 (1,0-2,0)	0,853

Chú thích: *: Mann-Whitney U

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả phân tích cho thấy, đối với biến thể *FSHB* rs10835638, qua quan sát cũng có sự khác biệt về mật độ tinh trùng giữa các kiểu gen, cụ thể là kiểu gen GT có mật độ tinh trùng thấp hơn so với kiểu GG (median=1,64x $10^6/\text{ml}$ so với median=3,29x $10^6/\text{ml}$), tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ngưỡng có ý nghĩa

thống kê ($p=0,12$). Trong khi đó về khả năng di động, kiểu gen *FSHB* rs10835638 GT liên quan tới giảm tỷ lệ tinh trùng tiến tới nhanh, với $p=0,024$.

Bảng 3.16. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHR* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh năng

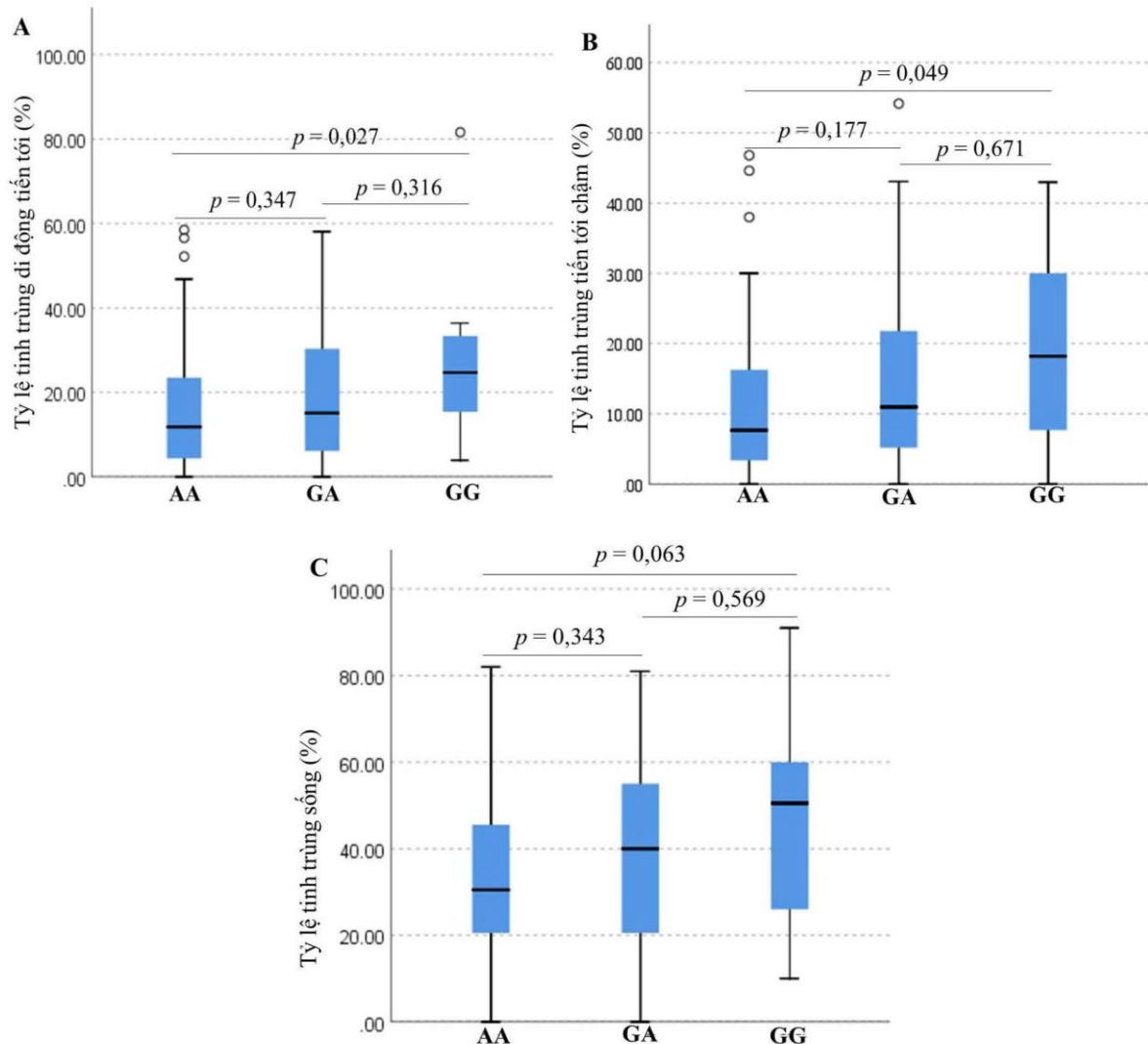
Nhóm thiếu tinh năng (n=170)				
Chỉ số TDD Median (Q1-Q3)	Kiểu gen <i>FSHR</i> rs6166			Giá trị p^*
	GG (n=18)	GA (n=72)	AA (n=80)	
Mật độ tinh trùng ($10^6/\text{mL}$)	2,19 (1,15-4,00)	2,90 (1,07-4,31)	3,46 (1,21-4,53)	0,263
Tổng số tinh trùng (10^6)	7,14 (2,6-10,00)	7,35 (2,99-10,85)	7,24 (3,57-11,1)	0,710
Di động tiến tới-PR (%)	24,69 (15,38-33,33)	15,08 (6,13-30,34)	11,81 (4,35-23,48)	0,023
Tiến tới nhanh-A (%)	3,40 (1,00-8,88)	1,50 (0-6,14)	1,89 (0-5,13)	0,351
Tiến tới chậm-B (%)	18,18 (7,69-30,00)	10,96 (5,17-21,80)	7,65 (3,38-16,27)	0,026
Không tiến tới-NP (%)	17,06 (10,00-24,49)	15,00 (7,73-20,85)	15,52 (8,5-22,2)	0,814
Di động (PR+NP) (%)	49,01 (25,81-54,00)	36,14 (19,86-50,00)	29,66 (17,38-44,83)	0,076
Bất động - IM (%)	51,00 (46,00-74,19)	63,86 (50,00-80,15)	70,35 (55,17-82,62)	0,076
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	50,50 (26,00-60,00)	40,00 (20,5-55,0)	30,50 (20,5-45,5)	0,045
Hình thái bình thường (%)	2,00 (1,00-3,00)	2,00 (1,00-2,00)	2,00 (1,00-3,00)	0,328

Chú thích: *: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Phân tích ở biến thể *FSHR* rs6166, các kiểu gen GG, GA và AA có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về khả năng di động của tinh trùng, cụ thể gồm tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới và tỷ lệ tinh trùng tiến tới chậm với p lần lượt là 0,023 và 0,026. Đồng thời cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tinh trùng sống giữa các kiểu gen GG, GA và AA với $p=0,045$. Chúng tôi tiếp tục khảo sát để so sánh chi tiết mối liên quan giữa từng cặp gen của biến thể

FSHR rs6166 về các khác biệt vừa đề cập. Kết quả chi tiết được thể hiện tại Hình 3.11.



Hình 3.11. Mối liên quan giữa biến thể rs6166 gen *FSHR* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nặng.

Chú thích: A: Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới;

B: Tỷ lệ tinh trùng tiến tới chậm;

C: Tỷ lệ tinh trùng sống.

Kết quả phân tích so sánh chi tiết các cặp gen ở nhóm thiếu tinh nặng, cho thấy biến thể *FSHR* rs6166 chỉ có kiểu gen đồng hợp tử AA liên quan với tình trạng giảm khả năng di động của tinh trùng có ý nghĩa thống kê so với kiểu

gen GG, cụ thể giảm tỷ lệ tiến tới với $p=0,027$ và giảm tỷ lệ tiến tới chậm với $p=0,049$. Trong khi đó, không còn sự khác biệt đạt ngưỡng có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tinh trùng sống giữa các kiểu gen.

Bảng 3.17. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh năng

Nhóm thiếu tinh năng (n=170)			
Chỉ số TDD Median (Q1-Q3)	Kiểu alen <i>TEX11</i> rs4844247		Giá trị p^*
	C (n=148)	T (n=22)	
Mật độ tinh trùng ($10^6/\text{mL}$)	3,17 (1,21-4,42)	1,74 (0,82-4,32)	0,319
Tổng số tinh trùng (10^6)	7,40 (3,36-10,98)	3,82 (2,13-9,56)	0,146
Di động tiến tới-PR (%)	14,46 (5,45-25,99)	16,88 (5,56-33,33)	0,469
Tiến tới nhanh-A (%)	1,69 (0-5,84)	1,57 (0-8,33)	0,938
Tiến tới chậm-B (%)	9,96 (4,15-19,99)	10,36 (3,26-16,67)	0,991
Không tiến tới-NP (%)	15,52 (8,76-21,94)	13,12 (0-21,15)	0,237
Di động (PR+NP) (%)	33,13 (19,65-48,74)	33,73 (16,67-51,00)	0,756
Bất động - IM (%)	66,88 (51,26-80,35)	66,27 (49,00-83,33)	0,756
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	37,50 (21,00-52,00)	35,00 (17,00-54,00)	0,922
Hình thái bình thường (%)	2,00 (1,00-3,00)	1,00 (1,00-3,00)	0,551

Chú thích: *: Mann-Whitney U

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả phân tích liên quan giữa biến thể gen *TEX11* rs4844247 với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh năng, cho thấy không có sự khác biệt về các đặc điểm của tinh dịch đồ giữa kiểu alen C và T ($p>0,05$).

Bảng 3.18. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX14* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh năng

Nhóm thiếu tinh năng (n=170)				
Chỉ số TDD Median (Q1-Q3)	Kiểu gen <i>TEX14</i> rs79813370			Giá trị <i>p</i>*
	GG (n=143)	GT (n=25)	TT (n=2)	
Mật độ tinh trùng (10 ⁶ /mL)	3,2 (1,15-4,44)	2,78 (0,99-4,09)	3,72 (3,00-4,43)	0,638
Tổng số tinh trùng (10 ⁶)	7,24 (3,17-11,19)	7,10 (2,47-9,28)	7,19 (6,00-8,37)	0,679
Di động tiến tới-PR (%)	15,00 (5,26-27,06)	11,11 (8,33-28,95)	12,5 (0-25,00)	0,841
Tiến tới nhanh-A (%)	1,75 (0-6,49)	1,47 (0-3,23)	0 (0-0)	0,214
Tiến tới chậm-B (%)	10,00 (3,90-18,18)	10,53 (6,45-22,78)	12,5 (0-25,0)	0,83
Không tiến tới-NP (%)	15,0 (8,43-21,51)	15,79 (11,0-30,77)	7,5 (0-15,0)	0,35
Di động (PR+NP) (%)	33,33 (19,48-49,32)	42,64 (25,0-50,0)	20 (0-40,0)	0,462
Bất động - IM (%)	66,67 (50,68-80,52)	57,36 (50,0-75,0)	80 (60,0-100)	0,462
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	37,0 (21,0-51,0)	45,0 (25,0-62,0)	34,5 (7,0-62,0)	0,743
Hình thái bình thường (%)	2,0 (1,0-3,0)	2,0 (1,0-2,0)	1,0 (1,0-1,0)	0,419

Chú thích: *: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Từ bảng kết quả phân tích ở nhóm thiếu tinh năng, cho thấy biến thể gen *TEX14* rs79813370 không thấy có sự khác biệt về các đặc điểm của tinh dịch đồ ở các kiểu gen khác nhau.

3.3.3.2. Mối liên quan giữa đặc điểm di truyền và đặc điểm nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh

Khảo sát mối liên quan giữa các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với đặc điểm về nồng độ FSH,

LH, testosterone, prolactin ở nhóm bệnh. Cụ thể, chúng tôi cũng phân thành các quần thể khảo sát dựa trên đặc điểm chung của nhóm bao gồm: Nhóm bệnh nhân vô sinh (n=210), nhóm thiếu tinh nặng (n=170), nhóm vô tinh (n=40).

* Kết quả phân tích của biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166 thể hiện chi tiết tại Bảng 3.19.1, Bảng 3.19.2 và Bảng 3.19.3.

Bảng 3.19.1. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh

Nhóm bệnh (n=210)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i> *
	GG (n=194)	GT (n=16)		
FSH (mIU/mL)	6,46 (4,23-11,1)	7,23 (3,94-12,16)		0,898
LH (mIU/mL)	5,55 (4,08-7,72)	6,54 (5,01-10,25)		0,083
Testosterone (nmol/L)	13,8 (10,99-18,8)	15,65 (11,34-17,6)		0,896
Prolactin (mIU/L)	235 (180-318,6)	238 (170,5-310)		0,977
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i> **
	GG (n=25)	GA (n=89)	AA (n=96)	
FSH (mIU/mL)	5,43 (4,01-9,23)	5,69 (4,41-10,15)	7,13 (4,18-13,01)	0,417
LH (mIU/mL)	4,83 (4,2-7,92)	5,84 (3,99-8,05)	5,91 (4,33-7,41)	0,839
Testosterone (nmol/L)	13,5 (10,1-16,91)	13,8 (10,3-18,13)	14,5 (12,18-19,3)	0,267
Prolactin (mIU/L)	236,15 (173,5-415)	234,5 (183-311)	234,5 (178-310,5)	0,692

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả cụ thể khảo sát ở nhóm bệnh cho thấy, không có mối liên quan đáng kể nào giữa các kiểu gen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166 với nồng độ của FSH, LH, testosterone và prolactin.

Bảng 3.19.2. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm thiếu tinh năng

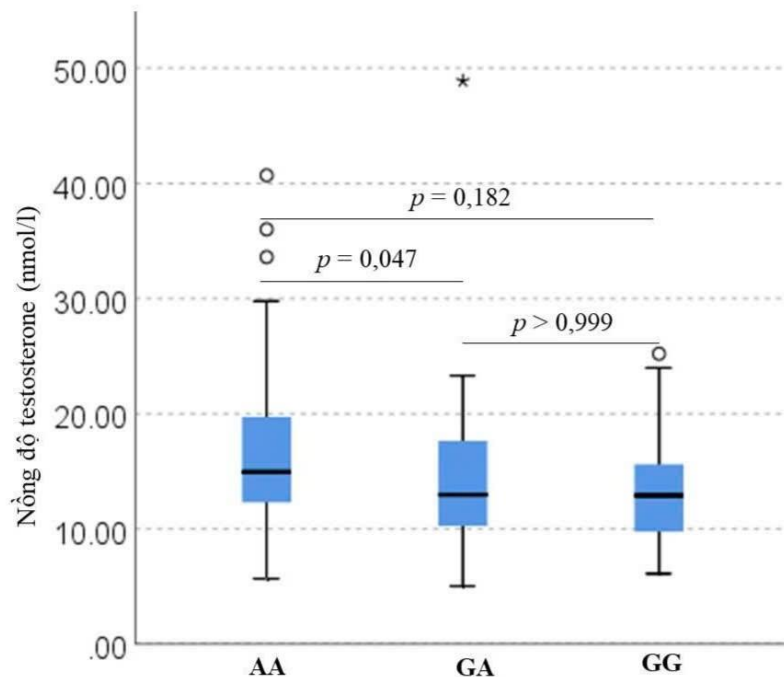
Nhóm thiếu tinh năng (n=170)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i> *
	GG (n=157)	GT (n=13)		
FSH (mIU/mL)	5,68 (3,89-8,41)	6,42 (3,57-7,99)		0,821
LH (mIU/mL)	5,32 (3,90-7,35)	5,93 (4,97-7,77)		0,229
Testosteron (nmol/L)	13,8 (10,8-18,8)	15,7 (12,2-16,7)		0,620
Prolactin (mIU/L)	230,5 (179,5-310,5)	206,0 (164,0-307,0)		0,535
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i> **
	GG (n=18)	GA (n=72)	AA (n=80)	
FSH (mIU/mL)	4,74 (3,89-7,87)	4,99 (3,81-7,86)	6,51 (3,93-9,63)	0,179
LH (mIU/mL)	4,72 (3,59-7,07)	5,24 (3,86-7,44)	5,87 (4,22-7,33)	0,527
Testosteron (nmol/L)	12,9 (9,75-15,6)	12,95 (10,25-17,65)	14,95 (12,3-19,7)	0,026
Prolactin (mIU/L)	224 (171-388)	232 (183-295)	230 (178-300)	0,903

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả tại bảng phân tích đã cho thấy các kiểu gen của biến thể *FSHB* rs10835638 không có mối liên quan với nồng độ của FSH, LH, testosteron và prolactin ($p > 0.05$). Tương tự, biến *FSHR* rs6166 cũng không có liên quan với nồng độ FSH, LH, prolactin, tuy nhiên, có sự khác biệt về nồng độ testosteron giữa các kiểu gen GG, GA và AA với $p = 0,026$. Cụ thể, các cá thể mang alen A có xu hướng tăng nồng độ testosteron so với kiểu gen GG. Chúng tôi thực hiện

đánh giá cụ thể sự khác biệt về nồng độ testosterone giữa từng kiểu gen của biến thể *FSHR* rs6166. Kết quả được thể hiện chi tiết ở Hình 3.12.



Hình 3.12. Mối liên quan giữa biến thể rs6166 gen *FSHR* với nồng độ testosterone ở nhóm thiếu tinh năng.

Kết quả phân tích so sánh chi tiết các cặp gen ở nhóm thiếu tinh năng, cho thấy biến thể *FSHR* rs6166 chỉ có kiểu gen dị hợp tử GA có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kiểu gen AA về nồng độ testosterone, với $p=0,047$. Tức kiểu gen AA có liên quan tới tăng nồng độ testosterone so với kiểu gen GA, trong khi kiểu gen đồng hợp tử GG không có sự khác biệt đáng kể so với kiểu gen AA với $p=0,182$. Điều này có thể do sự khác biệt lớn về số lượng cá thể mang các kiểu gen, nên khi phân tích so sánh kiểu gen GG với kiểu gen AA không đạt ngưỡng có ý nghĩa thống kê. Do vậy, chúng tôi đã tiến hành khảo sát về tần số của các cá thể mang các biến thể của *FSHR* rs6166 ở nhóm thiếu tinh năng để nhận định thêm về điều đó.

Kết quả khi khảo tần xuất các kiểu gen của biến thể *FSHR* rs6166 ở nhóm thiếu tinh năng đã cho thấy tỷ lệ cá thể mang kiểu gen GG khá thấp so với các

kiểu gen còn lại, cụ thể có 18/170 (10,5%) kiểu gen GG; 72/170 (42,4%) kiểu gen GA; 80/170 (47,1%) kiểu gen AA.

Bảng 3.19.3. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm vô tinh

Nhóm vô tinh (n=40)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i> *
	GG (n=37)	GT (n=3)		
FSH (mIU/mL)	12,81 (9,4-17,12)	17,15 (14,93-19,72)		0,104
LH (mIU/mL)	7,25 (4,88-9,71)	10,77 (10-17,71)		0,041
Testosteron (nmol/L)	14,79 (11,42- 18,13)	9,89 (6,97-22,84)		0,492
Prolactin (mIU/L)	269,2 (195,04-346,04)	287,7 (271,77-456,44)		0,472
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i> **
	GG (n=7)	GA (n=17)	AA (n=16)	
FSH (mIU/mL)	9,4 (9,17-17,4)	14,93 (10,62-17,15)	13,76 (10,45-17,13)	0,506
LH (mIU/mL)	5,45 (4,2- 10,84)	9,35 (7,71-10,77)	6,08 (4,78-8,07)	0,090
Testosteron (nmol/L)	16,43 (13,1-24,31)	15,09 (11,28-19,84)	13,12 (9,63-15,51)	0,114
Prolactin (mIU/L)	284,85 (222,4-442)	282,4 (196,3-391,3)	276,75 (195,04-342,45)	0,864

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Từ bảng phân tích cho thấy, không có mối liên quan giữa các kiểu gen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166 với nồng độ của FSH, LH, testosteron và prolactin ở nhóm vô tinh (n=40).

* Kết quả phân tích mối liên quan giữa các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với đặc điểm các thông số nội tiết tố sinh sản của nhóm bệnh được thể hiện chi tiết tại Bảng 3.20.1, Bảng 3.20.2 và Bảng 3.20.3.

Bảng 3.20.1. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh

Nhóm bệnh (n=210)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i> *
	C (n=181)	T (n=29)		
FSH (mIU/mL)	6,49 (4,41-11,4)	6,42 (3,4-10,15)		0,336
LH (mIU/mL)	5,78 (4,2-7,75)	5,88 (4,45-8,05)		0,996
Testosteron (nmol/L)	13,8 (10,9-18,9)	14,79 (11,42-16)		0,902
Prolactin (mIU/L)	236 (181-319)	231 (164-300)		0,594
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i> **
	GG (n=174)	GT (n=34)	TT (n=2)	
FSH (mIU/mL)	6,49 (4,39-11,2)	6,18 (3,4-10,62)	5,63 (3,52-7,73)	0,595
LH (mIU/mL)	5,89 (4,2-7,77)	5,25 (4,19-7,92)	5,21 (4,98-5,44)	0,927
Testosteron (nmol/L)	13,8 (10,8-18,6)	14,32 (11,77-18,13)	17,79 (14,07-21,5)	0,614
Prolactin (mIU/L)	238 (180-318,6)	226,6 (179-315)	170,72 (111,44-230)	0,453

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%)

Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Từ kết quả cho thấy không có mối liên quan giữa các kiểu gen của các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với nồng độ FSH, LH, testosteron và prolactin ở nhóm bệnh (n=210).

Chúng tôi tiếp tục phân tích chi tiết mối liên quan của các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với đặc điểm nội tiết tố sinh sản ở từng nhóm nhỏ trong nhóm bệnh, bao gồm nhóm thiếu tinh năng và nhóm vô tinh.

Bảng 3.20.2. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm thiếu tinh năng

Nhóm thiếu tinh năng (n=170)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i> *
	C (n=148)	T (n=22)		
FSH (mIU/mL)	5,73 (4,04-8,66)	4,47 (3,11-7,16)		0,107
LH (mIU/mL)	5,33 (3,95-7,39)	5,39 (4,33-6,93)		0,705
Testosteron (nmol/L)	13,8 (10,9-19,1)	13,7 (11,2-16)		0,793
Prolactin (mIU/L)	230 (180,9-311)	220 (170-275,5)		0,426
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i> **
	GG (n=143)	GT (n=25)	TT (n=2)	
FSH (mIU/mL)	5,69 (3,96-8,7)	5,43 (3,3-7,79)	5,63 (3,52-7,73)	0,593
LH (mIU/mL)	5,47 (3,93-7,4)	5,02 (4,19-7,27)	5,21 (4,98-5,44)	0,913
Testosteron (nmol/L)	13,8 (10,8-18,8)	13,4 (11,5-16,3)	17,79 (14,07-21,5)	0,477
Prolactin (mIU/L)	231 (179-311)	217,44 (180,5-292)	170,72 (111,44-230)	0,454

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Từ bảng phân tích cho nhóm thiếu tinh năng (n=170), có thể thấy không có mối liên quan đáng kể giữa các kiểu gen của các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với nồng độ của các chỉ số nội tiết gồm FSH, LH, testosteron và prolactin.

Bảng 3.20.3. Mối liên quan giữa biến thể gen *TEX11*, *TEX14* với thông số nội tiết tố sinh sản ở nhóm vô tinh

Nhóm vô tinh (n=40)				
Thông số nội tiết tố Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i>[*]
	C (n=33)	T (n=7)		
FSH (mIU/mL)	13,95 (10,2-17,15)	11,37 (9,17-17,48)		0,781
LH (mIU/mL)	7,71 (4,88-10)	8,33 (5,07-10,79)		0,626
Testosteron (nmol/L)	13,4 (11,1-18,13)	15,09 (11,42-22,84)		0,553
Prolactin (mIU/L)	263,885 (196,3-346,04)	297,5 (161-348,15)		0,985
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i>[*]
	GG (n=31)	GT (n=9)	TT (n=0)	
FSH (mIU/mL)	14,04 (10,15-17,4)	11,58 (5,8-14,96)	-	0,306
LH (mIU/mL)	7,91 (4,88-10,77)	7,71 (5,78-9,19)	-	0,633
Testosteron (nmol/L)	13,4 (10,5-16,91)	16,03 (13,19-18,99)	-	0,291
Prolactin (mIU/L)	277,085 (208,05-344,32)	304,2 (169,8-348,15)	-	0,821

Chú thích: *: Mann-Whitney U

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả cho thấy, không có mối liên quan giữa các kiểu gen của các biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với nội tiết tố sinh sản FSH, LH, testosteron, prolactin ở nhóm vô tinh (n=40).

3.3.3.3. Mối liên quan giữa đặc điểm di truyền và đặc điểm kích thước tinh hoàn ở nhóm bệnh

Chúng tôi khảo sát mối liên quan giữa các đặc điểm di truyền của nhóm bệnh với đặc điểm kích thước tinh hoàn bên phải, bên trái và tổng 2 bên. Kết quả phân tích cụ thể ở Bảng 3.21.1, Bảng 3.21.2 và Bảng 3.21.3.

Bảng 3.21.1. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với kích thước tinh hoàn ở nhóm bệnh

Nhóm bệnh (n=210)				
Thế tích tinh hoàn Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i>[*]
	GG (n=194)	GT (n=16)		
Bên phải	10 (8,4-11,4)	10,75 (9,7-11,6)		0,366
Bên trái	9,4 (8,1-10,4)	10 (8,95-10,3)		0,333
Tổng hai bên	19,2 (16,6-21,6)	20,95 (18,65-21,8)		0,288
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i>^{**}
	GG (n=25)	GA (n=89)	AA (n=96)	
Bên phải	10 (8,5-10,9)	10 (8,1-11,4)	10 (8,6-11,45)	0,797
Bên trái	9 (8-10,4)	9,8 (8,1-10,4)	9,4 (8,2-10,25)	0,945
Tổng hai bên	19 (17,1-21,3)	19,4 (16,4-22)	19,5 (16,85-21,5)	0,952
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i>[*]
	C (n=181)	T (n=29)		
Bên phải	10 (8,3-11,4)	10 (8,9-11,2)		0,722
Bên trái	9,4 (8,1-10,4)	9,6 (8,2-10,2)		0,842
Tổng hai bên	19,4 (16,6-21,6)	19,6 (17,1-21,3)		0,786
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i>^{**}
	GG (n=174)	GT (n=34)	TT (n=2)	
Bên phải	10 (8,5-11,4)	10,2 (8-11,8)	11,75 (11,5-12)	0,369
Bên trái	9,35 (8,1-10,4)	9,85 (8-10)	10,55 (10,5-10,6)	0,358
Tổng hai bên	19,15 (16,6-21,4)	20,15 (16-21,6)	22,3 (22,1-22,5)	0,346

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả cụ thể cho thấy, ở nhóm bệnh không có mối liên quan đáng kể nào giữa các kiểu gen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với thể tích tinh hoàn của bên phải, bên trái

cũng như thể tích chung của cả hai bên tinh hoàn. Tiếp tục phân tích mối liên quan đối với từng nhóm nhỏ hơn là nhóm thiếu tinh nặng (n=170) và nhóm vô tinh (n=40).

Bảng 3.21.2. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với kích thước tinh hoàn ở nhóm thiếu tinh nặng

Nhóm thiếu tinh nặng (n=170)				
Thể tích tinh hoàn Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i>[*]
	GG (n=157)	GT (n=13)		
Bên phải	10 (8,8-11,6)	11 (10-11,8)		0,155
Bên trái	9,5 (8,2-10,4)	10 (10-10,4)		0,150
Tổng hai bên	19,4 (17,2-22)	21 (20-22)		0,119
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i>^{**}
	GG (n=18)	GA (n=72)	AA (n=80)	
Bên phải	10,1 (8,9-10,9)	10 (8,5-11,8)	10,2 (9-11,7)	0,698
Bên trái	9 (8-10,4)	9,85 (8,3-10,45)	9,6 (8,3-10,35)	0,689
Tổng hai bên	19 (17,1-21,3)	19,55 (17-22)	20 (17,45-22)	0,768
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i>[*]
	C (n=148)	T (n=22)		
Bên phải	10 (8,85-11,8)	10 (8,9-11,2)		0,853
Bên trái	9,6 (8,3-10,4)	9,35 (8,2-10,2)		0,642
Tổng hai bên	19,8 (17,3-22,05)	19,5 (17,1-21,3)		0,749
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i>^{**}
	GG (n=143)	GT (n=25)	TT (n=2)	
Bên phải	10 (8,9-11,8)	9,8 (8-11,2)	11,75 (11,5-12)	0,298
Bên trái	9,6 (8,2-10,4)	9,6 (8,2-10)	10,55 (10,5-10,6)	0,262
Tổng hai bên	19,6 (17,3-22)	19,7 (16,7-21)	22,3 (22,1-22,5)	0,326

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Bảng 3.21.3. Mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với kích thước tinh hoàn ở nhóm vô tinh

Nhóm vô tinh (n=40)				
Thể tích tinh hoàn Median (Q1-Q3)	Kiểu gen			Giá trị <i>p</i>
	<i>FSHB</i> rs10835638			<i>p</i>[*]
	GG (n=37)	GT (n=3)		
Bên phải	8,5 (6-10,4)	8 (6,6-10)		1
Bên trái	8,4 (6-10)	8 (6,9-10)		0,962
Tổng hai bên	16,9 (12-20,3)	16 (13,5-20)		0,962
	<i>FSHR</i> rs6166			<i>p</i>^{**}
	GG (n=7)	GA (n=17)	AA (n=16)	
Bên phải	10 (6-13)	8 (6-10,4)	7,8 (6-9,95)	0,592
Bên trái	9,8 (6-12)	8 (6-10)	8 (6-10)	0,788
Tổng hai bên	19,5 (12-26)	16 (12,3-20,3)	16,15 (12-20)	0,785
	<i>TEX11</i> rs4844247			<i>p</i>[*]
	C (n=33)	T (n=7)		
Bên phải	8 (6-10)	10 (6-14)		0,246
Bên trái	8 (6-10)	10 (8-12)		0,192
Tổng hai bên	16 (12-20)	20 (14-26)		0,218
	<i>TEX14</i> rs79813370			<i>p</i>[*]
	GG (n=31)	GT (n=95)	TT (n=0)	
Bên phải	8 (6-10)	10,4 (7,4-12)	-	0,114
Bên trái	8 (6-10)	10 (7,7-12)	-	0,138
Tổng hai bên	16 (12-20)	20,3 (15,1-24)	-	0,099

Chú thích: *: Mann-Whitney U; **: Kruskal Wallis

Q1: Tứ phân vị thứ nhất (25%); Q3: Tứ phân vị thứ ba (75%)

Kết quả cụ thể cho thấy, ở nhóm thiếu tinh năng và nhóm vô tinh đều không có mối liên quan đáng kể nào giữa các kiểu gen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 với thể tích tinh hoàn của bên phải, bên trái và thể tích của hai bên.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Các biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* và mối liên quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng

Nam giới vô sinh có rối loạn sinh tinh là một quần thể khá không đồng nhất về các chỉ số tinh dịch đồ. Nhằm tăng độ tin cậy của nghiên cứu, chúng tôi chỉ chọn những nam giới vô tinh không do tắc và thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân, để so sánh với những nam giới có các chỉ số tinh dịch đồ bình thường và đã có ít nhất một con tự nhiên.

Tìm kiếm nguyên nhân suy giảm sinh tinh do yếu tố di truyền cấp độ phân tử ngày càng được đánh giá kỹ lưỡng, trong đó có các gen biểu hiện ở nội tại tế bào dòng tinh, tương tác giữa tế bào dòng tinh và tế bào sinh dưỡng, cuối cùng là các hormon sinh sản [98]. Nghiên cứu này đã tiến hành khảo sát mối liên quan giữa bốn biến thể gen với tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng, trong đó có hai biến thể gen biểu hiện về hormon sinh sản gồm *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166 và hai biến thể gen biểu hiện nội tại của tế bào dòng tinh gồm *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370.

4.1.1. Biến thể gen *FSHB*

Gen *FSHB* đại diện cho một trong những gen của động vật có xương sống nói chung và con người nói riêng, có tính bảo tồn cao trong quá trình tiến hóa bởi nằm trong một vùng nghèo gen và có cấu trúc ổn định [99]. Đột biến gen *FSHB* được báo cáo thường không tạo ra các biến thể sai nghĩa [72]. Tuy nhiên cũng có đột biến dẫn đến tình trạng thiếu hụt FSH đơn độc, một dạng rối loạn di truyền hiếm gặp, chỉ xuất hiện ở một vài trường hợp đơn lẻ đã được báo cáo [40], [41].

Một số đa hình đơn nucleotide (SNPs) phổ biến trong các quần thể châu Âu, châu Á, châu Phi của gen *FSHB* đã được công bố bao gồm các SNPs ở cả vùng mã hóa (exon) và vùng không mã hóa (intron) [72], tuy nhiên chỉ có đa

hình *FSHB* -211G>T (rs10835638) ở vùng khởi động được báo cáo đầu tiên vào năm 2008 cho thấy có liên quan đến sự thay đổi biểu hiện của gen ở nam giới, trong đó có giảm nồng độ FSH [84]. Hormon FSH đóng vai trò quan trọng đối với quá trình sinh tinh, thông qua trung gian tế bào Sertoli để xác định số lượng tinh nguyên bào tham gia vào quá trình biệt hóa tạo thành tinh trùng, kết quả biểu hiện ở số lượng tinh trùng trong tinh dịch [28].

Trong nghiên cứu của chúng tôi về mối liên quan giữa *FSHB* -211G>T với tình trạng suy giảm sinh tinh, đã xác định được 2 biến thể có kiểu gen GG và GT trong toàn bộ 410 đối tượng nghiên cứu. Riêng nhóm 210 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng tỷ lệ kiểu gen GG là 92,38% và tỷ lệ kiểu gen GT là 7,62%. Trong khi đó, kiểu gen TT không thấy ở bất kỳ cá thể nào (Bảng 3.7).

Một số công bố liên quan đến ảnh hưởng của biến thể *FSHB*-211G>T đối với nam giới, các tác giả đều đã xác định được 3 kiểu gen GG, GT và TT trong quần thể nghiên cứu, tuy nhiên tỷ lệ kiểu gen TT thường rất thấp. Với cỡ mẫu gồm 255 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh chưa rõ nguyên nhân và 340 nam giới bình thường ở Trung Quốc, Wu Q. và cộng sự (2025) đã xác định được kiểu gen GG, GT và TT trong cả 2 nhóm, trong đó ở nhóm vô tinh, thiếu tinh chỉ có 01 bệnh nhân mang kiểu gen *FSHB*-211TT, chiếm 0,4%, và bệnh nhân này cũng nằm trong phân nhóm gồm 166 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng, chiếm 0,6% tổng số bệnh nhân của phân nhóm [86]. Hoặc trong báo cáo năm 2011 của Grigorova M. và cộng sự tiến hành nghiên cứu trên số lượng lớn gồm 1.054 nam giới người Estonia (châu Âu) được lựa chọn ngẫu nhiên, cũng đã xác định được 3 kiểu gen GG, GT, TT và chỉ có 14 đối tượng mang kiểu gen *FSHB*-211TT, chiếm tỷ lệ 1,3% [100].

Một nghiên cứu khác về biến thể gen *FSHB*-211G>T đối với vô sinh nữ của Polyzos N. P. báo cáo năm 2021, gồm 368 bệnh nhân nữ, trong đó có 168 bệnh nhân ở châu Âu (Tây Ban Nha và Bỉ) và 200 bệnh nhân ở châu Á (Việt Nam). Kết quả phân tích cho thấy kiểu gen GG và GT có cả trong 2 nhóm châu

lục, trong khi đó, riêng kiểu gen TT chỉ có trong nhóm châu Âu, chiếm 1,2% và không có trong nhóm châu Á, cụ thể là Việt Nam [101].

Từ kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi và một số công bố của các nghiên cứu liên quan đã đề cập, đặc biệt là những nghiên cứu với cỡ mẫu khoảng 200 bệnh nhân như của chúng tôi, đã cho thấy, có thể tần số kiểu gen *FSHB*-211TT ở quần thể người Châu Á nói chung và người Việt Nam nói riêng là rất thấp, nên chúng tôi chưa thấy có trong quần thể các đối tượng tham gia nghiên cứu. Do đó cần thêm các nghiên cứu khác thực hiện trên một cỡ mẫu lớn hơn để đánh giá.

Mặt khác, nghiên cứu của chúng tôi là khảo sát cụ thể đầu tiên về biến thể gen *FSHB*-211G>T đối với nam giới tại Việt Nam, chưa có cơ sở dữ liệu tương tự để so sánh về tỷ lệ các kiểu gen. Do vậy, để khảo sát có tính tổng thể hơn nữa thì cũng cần có các nghiên cứu khác trên các quần thể ở các vùng địa lý khác nhau, nhằm xác định rõ các kiểu gen của biến thể *FSHB* -211G>T có thể tồn tại ở người Việt Nam.

Một số nghiên cứu trước đây trên các quần thể lớn đã cho thấy ảnh hưởng tiêu cực của alen T trong biến thể *FSHB* -211G>T đối với chức năng sinh sản của nam giới, liên quan đến tình trạng vô sinh có suy giảm sinh tinh. Tüttelmann, F. và cộng sự (2012) đã báo cáo về nghiên cứu trên quần thể gồm 1.213 nam giới người Đức vô sinh nguyên phát hoặc thứ phát chưa rõ nguyên nhân, trong mô hình cộng gộp của alen T, cho thấy alen này có ảnh hưởng tiêu cực, gây ra sự suy giảm mật độ tinh trùng ($p=0,048$), tác giả cũng thấy ảnh hưởng tương tự khi khảo sát trên quần thể ngẫu nhiên gồm 2.989 nam giới người Đức và Estonia [88]. Năm 2021, Krenz H. tiến hành phân tích ở 2.742 bệnh nhân nam vô sinh nguyên phát chưa rõ nguyên nhân bao gồm vô tinh, thiếu tinh và tinh dịch đồ bình thường, cũng cho thấy alen T có liên quan đến sự suy giảm về mật độ tinh trùng [102].

Ở nghiên cứu này của chúng tôi, khi phân tích ảnh hưởng của alen T cũng cho kết quả tương đồng với một số nghiên cứu trước đây. Cụ thể, có sự khác biệt giữa nhóm 210 bệnh nhân vô sinh có suy giảm sinh tinh (vô tinh, thiếu tinh nặng) và nhóm 200 đối chứng về tần số alen T, lần lượt là 3,81% so với 1,5% (OR=2,556; CI: 1,030-7,302; $p=0,041$). Điều đó cho thấy alen T có liên quan tới tình trạng vô sinh do suy giảm sinh tinh. Đồng thời, khi phân tích mối liên quan của biến thể gen *FSHB* -211G>T với tình trạng vô sinh của riêng nhóm thiếu tinh nặng (Bảng 3.11.2 và Bảng 3.14) đã cho thấy alen T cũng có sự liên quan với tình trạng vô sinh do thiếu tinh nặng.

Cùng với alen T, kết quả của nghiên cứu cũng đã cho thấy tần số kiểu gen GT ở nhóm bệnh là 7,62% và nhóm chứng là 3%, có sự khác biệt giữa nhóm bệnh và nhóm chứng với $p = 0,038$ (OR=2,619, CI: 1,043-7,551). Do đó kiểu gen *FSHB*-211GT và tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng có mối liên quan với nhau. Như vậy, đa hình gen *FSHB* -211G>T có liên quan đến tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng trong quần thể nghiên cứu. Mối liên quan này cũng đã được thể hiện tương tự trong báo cáo kết quả của Zanganehnejad Z. và nhóm nghiên cứu (2025) trên 120 bệnh nhân vô sinh nam có suy giảm sinh tinh và 120 đối chứng khỏe mạnh, đã chỉ ra có mối liên quan giữa đa hình gen *FSHB*-211G>T với tình trạng vô sinh nam ở Iran, cụ thể sự liên quan bao gồm các biến thể *FSHB*-211GT, *FSHB*-211TT và alen T [103].

Trong khi đó, nghiên cứu của Neslihan Hekim và cộng sự (2022) lại có phát hiện khác về biến thể của gen *FSHB*-211G>T trong mối liên quan với vô sinh nam. Cụ thể, tác giả cho rằng biến thể hoang dại *FSHB*-211GG có liên quan đến tình trạng vô tinh, thiếu tinh ở nam giới tại Thổ Nhĩ Kỳ, với tỷ lệ kiểu gen GG cao hơn có ý nghĩa thống kê so với kiểu gen GT và TT ($p = 0,046$) ở những bệnh nhân mắc thiếu tinh và vô tinh không tắc nghẽn so với nhóm đối chứng có khả năng sinh sản bình thường. Tuy nhiên, nghiên cứu chỉ tiến hành trên cỡ mẫu khá khiêm tốn là 159 đối tượng, gồm 109 bệnh nhân và 50 đối

chúng [104]. Sự chưa nhất quán giữa mối tương quan của đa hình *FSHB*-211G>T với vô sinh nam trong công bố của Neslihan Hekim nêu trên, so với các nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của alen T, có thể do số lượng các cá thể nghiên cứu trên từng quần thể, đặc trưng di truyền giữa các quần thể người, sự khác biệt về môi trường sống và các yếu tố ảnh hưởng khác.

Theo các thử nghiệm chức năng, biến thể vùng khởi động kiểu hoang dại đồng hợp tử GG có hoạt động gấp đôi so với kiểu gen đồng hợp tử TT. Đặc biệt, nồng độ FSH trong huyết thanh ở những người mang gen dị hợp tử *FSHB*-211GT và đồng hợp tử *FSHB*-211TT thấp hơn so với những người mang kiểu gen đồng hợp tử hoang dại *FSHB*-211GG [105]. Điều này ảnh hưởng đến đáp ứng của các tế bào dòng tinh với mức độ FSH thấp qua trung gian tế bào Sertoli, dẫn tới giảm cả số lượng tế bào tham gia vào chu trình sinh tinh, cũng như chất lượng của tinh trùng trưởng thành, kết quả là sự suy giảm sinh tinh cả về số lượng và chất lượng.

Một nghiên cứu của Wu Q. và cộng sự thực hiện năm 2017, có nhiều điểm tương đồng với chúng tôi về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của quần thể khảo sát, với 340 đối chứng đã có ít nhất 1 con tự nhiên và 255 nam giới vô sinh chưa rõ nguyên nhân người Trung Quốc (gồm 166 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng và 89 bệnh nhân thiếu tinh nhẹ hoặc trung bình), nhưng kết quả đánh giá cho thấy không có mối liên quan giữa biến thể gen *FSHB*-211G>T với tình trạng vô sinh nói chung và nhóm vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng nói riêng. Tuy nhiên, khi xem xét kỹ về nồng độ FSH trong nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng thì thấy khá cao (mean±SD:19,28±17,32) so với nhóm đối chứng (mean±SD:4,72±2,51) [86], còn nồng độ FSH trong nghiên cứu của chúng tôi ở nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng gần với mức giới hạn bình thường (mean±SD:8,57±6,49) và ở nhóm đối chứng có sự tương đồng với nhóm đối chứng của tác giả (mean±SD:4,00±1,55) (Bảng 3.7).

Sự khác biệt nêu trên về nồng độ FSH là một điểm thú vị đáng lưu ý vì FSH có ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả của quá trình sinh tinh và nguyên nhân gây tăng FSH cũng rất đa dạng. Có thể do đặc thù di truyền của từng chủng người liên quan đến mối quan hệ phức tạp giữa vùng khởi động, vùng điều hòa và các vùng tăng cường ở xa gen trong hoạt động phiên mã của gen *FSHB* [106], hoặc nguyên nhân di truyền nào khác cần nghiên cứu thêm, đặc biệt là sự tác động của một yếu tố ảnh hưởng nào đó đến quá trình sinh tinh có thể chưa được khai thác kỹ, cụ thể trong nghiên cứu của Wu Q. chưa thấy đề cập đến việc loại trừ bệnh nhân có tình trạng giãn tĩnh mạch tinh hoặc đang sử dụng các thuốc ảnh hưởng đến nội tiết [86]. Tất cả các tình huống đã đề cập ở trên, đều có thể là một trong các lý do góp phần gây ra sự khác biệt về nồng độ FSH, ảnh hưởng tới việc đánh giá tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng và mối quan hệ với biến thể gen *FSHB*-211G>T.

Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, các trường hợp có giãn tĩnh mạch tinh (GTMT) và đang sử dụng thuốc ảnh hưởng tới nội tiết tố sinh sản, đều được loại khỏi nghiên cứu. Hậu quả của GTMT đối với tinh hoàn là làm tăng nhiệt độ tinh hoàn, ứ đọng các độc tố, một số báo cáo đã cho rằng GTMT có thể dẫn tới xuất hiện kháng thể chống tinh trùng trong tinh dịch. Bệnh nhân bị bệnh độ II và III thường có dấu hiệu thiếu tinh, mô kẽ xơ hóa, thậm chí ức chế quá trình sinh tinh và dẫn tới tình trạng vô tinh [4].

Đồng thời, chúng tôi khai thác rất kỹ các thông tin về các yếu tố có thể ảnh hưởng tới kết quả của quá trình sinh tinh như cân nặng, chiều cao, BMI, thói quen hút thuốc, uống rượu, tiền sử điều trị bằng các phương pháp HTSS.

Tình trạng thừa cân, béo phì có thể làm nhiệt độ bìu tăng cao do tích tụ mô mỡ, rối loạn trục hạ đồi-tuyến yên-tuyến tinh hoàn và gốc oxy hóa tự do từ nhiều chất trung gian có nguồn gốc từ mô mỡ dẫn tới tình trạng suy giảm về số lượng và chất lượng tinh trùng [107]. Béo phì có thể coi như một căn bệnh mới của cuộc sống hiện đại. Trong khi đó ảnh hưởng của thuốc lá đối với sức khỏe

sinh sản của nam giới đã được biết đến từ lâu, với hơn 4000 chất độc hại, đáng chú ý là nicotine và cadmium, ảnh hưởng đến hệ thống sinh sản của nam giới và chất lượng tinh dịch, làm suy yếu quá trình sinh tinh, đặc biệt là quá trình tổng hợp/giải phóng hormone và khả năng vận động của tinh trùng dẫn tới tình trạng thiếu tinh ở nhiều mức độ khác nhau [108]. Tuy nhiên, qua khảo sát thì chúng tôi không thấy có sự khác biệt giữa nhóm bệnh ($n=210$) và nhóm chứng ($n=200$) trong nghiên cứu về yếu tố BMI (Bảng 3.2) và sử dụng thuốc lá (Bảng 3.1) với p lần lượt là 0,153 và 0,453.

Trong khi đó, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tình trạng sử dụng rượu. Với tình trạng sử dụng rượu, nhóm chứng có tỷ lệ sử dụng nhiều hơn so với nhóm bệnh với $p=0,028$ (Bảng 3.1), điều này không có nghĩa là rượu có tác dụng làm giảm nguy cơ suy giảm sinh tinh, mà có lẽ bởi thời gian vô sinh của nhóm bệnh trung bình khoảng 48 tháng ($\text{mean} \pm \text{SD}$: $48 \pm 30,5$), nên các bệnh nhân đã tự ý thức tác hại của rượu và hạn chế sử dụng. Các nghiên cứu lâm sàng và thực nghiệm đã xem xét việc tiêu thụ rượu như một yếu tố nguy cơ tiềm ẩn gây vô sinh ở nam giới, tác động trực tiếp đến cả quá trình chuyển hóa testosterone và quá trình sinh tinh. Cụ thể, việc uống rượu quá mức và liên tục có vẻ như có tác động bất lợi đến hormon sinh sản nam và gây suy giảm các chỉ số tinh dịch đồ. Tuy nhiên, tác động của việc uống rượu vừa phải vẫn còn nhiều tranh luận [108]. Một hạn chế trong nghiên cứu của chúng tôi khi thu thập thông tin về tình trạng uống rượu là chưa khai thác được về thời gian và lượng rượu tiêu thụ của mỗi đối tượng.

Ngoài ra, so sánh về độ tuổi dưới 40 và từ 40 trở lên, cho thấy không sự khác biệt rõ ràng giữa 2 nhóm bệnh và nhóm chứng với $p=0,158$ (Bảng 3.1). Tuy nhiên, ở độ tuổi 40 trở lên thì nồng độ testosterone tự do trong máu giảm dần, trong khi nồng độ globulin liên kết chặt testosterone (SHBG) tăng dần, tỷ lệ androgen/estrogen giảm và có thể tăng LH, FSH trong máu, dẫn tới sự suy giảm về sinh tinh [109].

Dựa trên giá trị p khi so sánh sự khác biệt về các đặc điểm nêu trên giữa nhóm bệnh ($n=210$) và nhóm chứng ($n=200$) trong nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành phân tích hồi quy logistic đa biến ảnh hưởng của các yếu tố, bao gồm độ tuổi, BMI (với $p<0,2$ nhưng có khả năng cao ảnh hưởng tới khả năng sinh tinh); thói quen sử dụng rượu ($p<0,05$); và các biến thể gen trong nghiên cứu gồm *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 đối với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng (Bảng 3.13), kết quả chỉ ra kiểu gen *FSHB*-211GT vẫn có liên quan tới tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng ($p < 0,05$) trên quần thể người Việt Nam trong nghiên cứu.

Một số nghiên cứu trước đây về vô sinh nam nói chung và suy giảm sinh tinh nói riêng, đã chỉ ra rối loạn sinh tinh liên quan đến sự tác động bởi nhiều yếu tố, trong đó có các yếu tố như sử dụng rượu, độc hại từ môi trường và nghề nghiệp [3], [110]. Đặc biệt, nhiều nghiên cứu gần đây đã chỉ ra tình trạng phân mảnh tinh trùng (DFI) có thể là nguyên nhân của suy giảm mật độ tinh trùng và giảm khả năng thụ thai, vấn đề có thể do thói quen sử dụng rượu, tuổi cao, hóa chất, các stress nhiệt và căng thẳng sinh lý như rối loạn giấc ngủ ... [111]. Trong nghiên cứu của chúng tôi chưa đánh giá chỉ số phân mảnh tinh trùng, tuy nhiên có đánh giá hồi quy logistic đa biến với yếu tố thói quen sử dụng rượu, độ tuổi liên quan nhiều đến DFI. Kết quả phân tích cho thấy kiểu gen *FSHB* rs10835638 GT vẫn có liên quan đến tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng nói chung (Bảng 3.13), cũng như tình trạng vô sinh do thiếu tinh nặng nói riêng (Bảng 3.14).

4.1.2. Biến thể gen *FSHR*

Thụ cảm thể của FSH có vai trò quan trọng để thể hiện tác dụng sinh học của FSH đối với quá trình sinh tinh. Biến thể của *FSHR* được công bố trong nhiều nghiên cứu đối với cả nam và nữ, bao gồm các đột biến bất hoạt, tăng hoạt tính và các dạng đa hình khác nhau [112]. Trong đó có các đột biến bất

hoạt ở nam giới gây ra tình trạng suy giảm sinh tinh và vô sinh, còn đột biến tăng hoạt tính thường rất hiếm khi xảy ra, với biểu hiện tinh dịch đồ bình thường hoặc tăng hơn trong khi nồng độ FSH thấp.

Hàng nghìn đa hình đơn nucleotide (SNPs) của *FSHR* đã được khảo sát bao gồm cả vùng mã hóa và không mã hóa, có tần xuất cao nhất trong các quần thể là biến thể rs6165 và rs6166 đều nằm trên exon 10 [71]. Trong đó, *FSHR* rs6166 nằm tại vị trí 2039 của gen (*FSHR* 2039 G>A), biến đổi Serin (AGT) thành Asparagine (AAT) tại vị trí 680 của chuỗi acid amin (nên rs6166 còn được gọi là *FSHR* Ser680Asn hoặc *FSHR* S680N) nằm trong miền nội bào của thụ cảm thể, có vai trò hoạt hóa và truyền tín hiệu của FSH tới các tế bào dòng tinh [75], [78].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích kiểu gen của biến thể *FSHR* rs6166 (2039 G>A), kết quả tần xuất của các kiểu gen trong nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng gồm GG:GA:AA là 0,119:0,424:0,457. Có thể thấy tỷ lệ của các biến thể GA và AA cao hơn so với kiểu hoang dại GG.

Trong một vài nghiên cứu đối với bệnh nhân có suy giảm sinh tinh, các tác giả đều đưa ra tỷ lệ các biến thể của gen *FSHR* 2039 G>A tương tự như của chúng tôi. Nghiên cứu của Grigorova M. trên quần thể gồm 738 bệnh nhân nam người Estonia vô sinh vô căn gồm 54 trường hợp vô tinh và 684 trường hợp thiếu tinh, kết quả phân tích kiểu gen cũng tương tự với tỷ lệ kiểu gen GG là thấp nhất (16,8%), còn kiểu gen GA và AA cao hơn với tỷ lệ lần lượt là 47,8% và 35,4% [113]. Hay như trong nghiên cứu của Wu Q. ở quần thể 166 bệnh nhân vô sinh vô căn người Trung Quốc bao gồm vô tinh và thiếu tinh nặng, đã cho kết quả phân tích kiểu gen với tỷ lệ GG là thấp nhất, cụ thể tỷ lệ GG: GA: AA lần lượt là 0,108:0,416:0,476 [86].

Ở một khía cạnh khác, cũng khảo sát về di truyền của vô sinh nam, nhưng nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân vô tinh không do tắc, thì Ali A. R. lại chỉ ra kiểu gen *FSHR* 2039 GG có tần số cao nhất chiếm 58,6% so với kiểu gen

FSHR 2039 GA và *FSHR* 2039 AA có tần số lần lượt là 35,7% và 5,7%, tuy nhiên, cỡ mẫu của nghiên cứu này chỉ gồm 70 bệnh nhân nam vô sinh người Irắc [78], sự khác biệt này có thể do khác biệt về tiêu chuẩn lựa chọn quần thể nghiên cứu chỉ gồm vô tinh và/hoặc cũng có thể do cỡ mẫu trong nghiên cứu còn thấp. Bởi trong phân tích của Tüttelmann F. và cộng sự đối với một quần thể lớn gồm 1.213 đối tượng nam giới ngẫu nhiên của Đức, có bao gồm những trường hợp suy giảm sinh tinh thì tần số GG vẫn là thấp nhất, với tỷ lệ GG:GA:AA lần lượt là 0,22:0,49:0,29 [88].

Trong một quần thể, các alen kiểu hoang dại thường xuất hiện thường xuyên hơn các alen biến thể, bởi vì chúng đại diện cho dạng ban đầu, phổ biến nhất của một gen. Các alen biến thể phát sinh thông qua đột biến, và những alen mới này ban đầu rất hiếm. Theo thời gian, một alen biến thể có thể trở nên phổ biến hơn do các yếu tố như chọn lọc tự nhiên hoặc trôi dạt di truyền, thậm chí có khả năng thay thế kiểu gen hoang dại ban đầu.

Nếu một alen biến thể trở thành dạng phổ biến nhất trong quần thể, nó có thể được coi là kiểu hoang dại mới. Nên nhiều công trình nghiên cứu khi công bố đã coi alen A là kiểu alen hoang dại mới với cách viết biến thể *FSHR* rs6166 là *FSHR* 2039 A>G. Trong phạm vi nghiên cứu này của chúng tôi, khi bàn luận với các nghiên cứu khác, sẽ sử dụng cách viết biến thể là *FSHR* 2039 G>A theo nguyên gốc ban đầu (đồng nghĩa với cách viết *FSHR* Ser680Asn hoặc *FSHR* S680N).

Khi phân tích kiểu gen của *FSHR* 2039 G>A giữa nhóm bệnh và nhóm chứng trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả cho thấy không có mối liên quan giữa các đa hình với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiểu tinh nặng, cụ thể GA (OR=0,93; CI: 0,491 - 1,762; $p=0,825$), AA (OR=0,992; CI=0,526 - 1,874; $p=0,981$). Kết quả tương tự với chúng tôi đã được thể hiện trong một số nghiên cứu có đối chứng ở nhiều quần thể nam giới vô sinh với cỡ mẫu tương tự, như công bố của Pengo M. (2006) khi khảo sát ở 215 bệnh nhân vô tinh (NOA),

thiếu tinh ở các mức độ khác nhau chưa rõ nguyên nhân và 349 đối chứng người Italia [89]. Hoặc nghiên cứu của Ghirelli-Filho M. (2012) trên quần thể người Brazil gồm 138 bệnh nhân vô tinh (NOA), thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân và 217 đối chứng [114]. Gần đây, vào năm 2017 Wu Q. và cộng sự cũng đã chỉ ra không có mối liên quan giữa gen *FSHR* 2039G>A với tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng khi phân tích kiểu gen của 166 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân và 340 đối chứng người Trung Quốc [86].

Bên cạnh đó còn có các công trình công bố tính tích cực của biến thể này, như một nghiên cứu gần đây nhất vào năm 2021 của Ali A. R. trên 104 đối tượng, gồm 70 bệnh nhân vô tinh không do tắc và 34 đối chứng khỏe mạnh người Irắc, đã cho kết quả có thể liên quan đến việc làm giảm nguy cơ vô tinh không do tắc của các kiểu gen có alen A (*FSHR* 2039 GA và *FSHR* 2039 AA) [78]. Nhưng ngược lại, trong báo cáo trước đây của Ahda Y. năm 2005 cho rằng biến thể này có ảnh hưởng tiêu cực, tức alen A có thể là yếu tố liên quan đến tình trạng vô tinh không do tắc, khi phân tích ở 438 nam giới bị vô tinh (NOA) và 304 đối chứng người Đức [115]. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu còn khiêm tốn của tác giả Ali, A. R. ở quần thể người Irắc so với Ahda, Y. hoặc do sự khác biệt về chủng tộc ở hai nghiên cứu.

Đồng thời, một tác giả khác là Balkan M. (2010) khi khảo sát trên quần thể người Thổ Nhĩ Kỳ cũng có cùng nhận định với Ahda về ảnh hưởng tiêu cực của alen A, trong công bố kết quả phân tích kiểu gen đối với 270 bệnh nhân vô sinh nam vô căn (gồm 150 trường hợp vô tinh không do tắc và 120 trường hợp thiếu tinh nặng) và 240 đối chứng khỏe mạnh, đã cho thấy có mối liên quan giữa alen A với tình trạng suy giảm sinh tinh ở nam giới [116].

Trong khi vai trò của alen A trong biến thể *FSHR* 2039 G>A đã được thể hiện khá rõ về xu hướng làm tăng cường hoạt hóa FSH đối với nữ giới [101], [10], [11], [117]. Nếu một alen biến thể mang lại một số lợi thế (ví dụ, khả năng sống sót hoặc sinh sản tốt hơn), nó có thể được chọn lọc tự nhiên ưu tiên và trở

nên phổ biến hơn, có lẽ vì lý do này mà alen A đã trở nên phổ biến hơn alen G trong các quần thể.

Đối với nam giới, alen A cũng đã cho thấy xu hướng phổ biến hơn alen G, tuy nhiên vai trò của alen A và các biến thể gen *FSHR* 2039 G>A còn nhiều điều chưa thống nhất ở các công bố. Ngay cả trong các kết quả nghiên cứu đa hình gen *FSHR* và ứng dụng điều trị bằng FSH đối với tình trạng vô sinh nam, cũng cho thấy sự đáp ứng không tương đồng giữa các quần thể khác nhau. Chẳng hạn như tác giả Simoni M. cho rằng kiểu gen *FSHR* 2039AA có độ hoạt hóa đối với FSH tốt hơn [118], trong khi Selice R. lại đưa ra nhận định rằng phản ứng tốt hơn với FSH xuất hiện ở các kiểu gen có alen G [119].

Có thể thấy liên quan giữa biến thể *FSHR* 2039 G>A với tình trạng vô tinh, thiểu tinh chưa thực sự rõ ràng. Sự khác biệt về chủng tộc hoặc các yếu tố môi trường có thể là nguyên nhân gây ra sự bất đồng này về vai trò của alen A trong các nghiên cứu. Khi mà khả năng hoạt hóa FSH của các biến thể *FSHR* 2039 G>A được trải rộng từ alen G mạnh hơn, hoặc không thấy sự khác biệt giữa 2 alen, cho tới vai trò của alen A thể hiện ưu thế.

Một điều quan trọng là theo quan sát của chúng tôi thì đã có những công bố về vai trò của alen A tăng hoạt hóa liên quan đến tình trạng ung thư tinh hoàn, còn alen G thì chưa có báo cáo nào. Các nghiên cứu về ung thư tinh hoàn đã chỉ ra alen A tăng tính hoạt hóa FSH có liên quan đến tình trạng bệnh lý này, trong mối tương tác với mức nồng độ cao hơn của FSH [120], [121]. Có thể sự tăng hoạt hóa FSH của alen A trong các biến thể của *FSHR* 2039G>A đã hỗ trợ tế bào Sertoli nuôi dưỡng mạnh mẽ các tế bào dòng tinh tân sinh và hạn chế sự chết theo sinh lý. Tuy nhiên có thể thêm tác động của yếu tố chủng tộc và môi trường đã dẫn tới tình trạng tín hiệu của FSH được đẩy lên quá cao, vượt ngưỡng và xảy ra tình trạng ung thư tế bào dòng tinh. Trong khi, có thể nếu mức độ hoạt hóa của alen A có cao hơn alen G, nhưng vẫn trong ngưỡng giới hạn sẽ đem lại hiệu quả tốt cho liệu pháp kích thích sinh tinh ở những trường

hợp mang kiểu gen AA có suy giảm sinh tinh. Trong khoảng từ trạng thái alen A hoạt hóa tốt hơn cho tới trạng thái hoạt hóa quá mức gây ung thư tinh hoàn, thì còn có trạng thái alen A bắt đầu gây ức chế, liên quan đến ức chế quá trình sinh tinh ở các mức độ khác nhau [115], [116].

Từ đó có thể suy đoán rằng vai trò hoạt hóa FSH của biến thể *FSHR* 2039G>A khá không đồng nhất phụ thuộc vào đặc điểm chủng tộc, vùng địa lý và trong nghiên cứu của chúng tôi biến thể này có thể tồn tại ở dạng đồng trội giữa alen G và alen A.

4.1.3. Biến thể gen *TEX11*

Gen *TEX11* nằm trên NST X, nên các đột biến không thể được bù đắp bằng một alen kiểu hoang dại tương ứng như ở những đột biến lặn trên nhiễm sắc thể thường. Do đó, các đột biến của gen *TEX11* chiếm một tỷ lệ đáng kể trong các đột biến gây vô sinh ở nam giới. Như trong nghiên cứu của Ji, Z. (2021) trên quần thể gồm 479 bệnh nhân vô tinh chưa rõ nguyên nhân người Trung Quốc, thì tác giả đã phát hiện được 1,5% mang đột biến gen *TEX11* [122]. Hầu hết các gen gây bệnh đều liên quan đến các cá thể đơn lẻ với biểu hiện vô tinh không do tắc liên quan đến ngừng trưởng thành tế bào dòng tinh, bao gồm các đột biến dịch khung, đột biến vị trí ghép nối, và một số đột biến sai nghĩa [91], [92], [122], [123]. Các đột biến *TEX11* có thể làm rối loạn sự hình thành và chức năng của phức hợp tiếp hợp, gây ra sự gián đoạn nghiêm trọng trong hoạt động phân bào ở kỳ sau, từ đó kích hoạt sự ngừng giảm phân, dẫn tới chết sinh lý tế bào dòng tinh không thể trưởng thành và vô tinh.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát biến thể đơn nucleotide của gen *TEX11*, cụ thể là *TEX11* -1306 C>T (rs4844247). Khi phân tích kiểu gen của biến thể này đã cho kết quả với tỷ lệ kiểu gen ở nhóm chứng và nhóm bệnh đối với alen C lần lượt là 87% và 86,19%; alen T lần lượt là 13% và 13,81%. Có thể thấy tần số alen T thấp hơn đáng kể so với alen C trong cả hai nhóm. Kết quả về tần số các kiểu gen của biến thể *TEX11* rs4844247 trong nghiên cứu

của chúng tôi cũng tương tự như của Zhang X. và cộng sự (2015) khi phân tích kiểu gen của 316 bệnh nhân vô sinh chưa rõ nguyên nhân người Trung Quốc (gồm 244 đối tượng vô tinh và 72 đối tượng thiếu tinh), với tỷ lệ alen C cũng có tần số cao hơn rõ rệt so với alen T, cụ thể là 80,7% so với 19,3%, ngay cả khi phân tích tần số của hai alen này trong nhóm đối chứng, gồm 614 nam giới khỏe mạnh thì tỷ lệ các alen cũng tương tự (alen C chiếm 85,9% và alen T chiếm 14,1%) [90].

Khi chúng tôi phân tích mối quan hệ giữa biến thể *TEX11* rs4844247 với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng, kết quả cho thấy không có mối liên quan giữa biến thể này và tình trạng bệnh (OR=1,072; CI: 0,607 - 1,894; $p = 0,810$). Kết quả này của chúng tôi tương tự như của Aston K. I. (2010) khảo sát trên 221 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân và 158 đối chứng khỏe mạnh người châu Âu [95]. Hoặc như Zhang X. (2015) khi phân tích trên nhóm bệnh nhân vô tinh và thiếu tinh nặng có đối chứng người Trung Quốc [90]. Tuy nhiên, năm 2021, tác giả Kolmykov và cộng sự khảo sát trên 95 bệnh nhân rối loạn sinh tinh và 62 đối chứng có tinh dịch đồ bình thường, đã tìm thấy alen T của đa hình *TEX11* rs4844247 liên quan đến sự phát triển của kiểu hình thiếu tinh, giảm di động, dị dạng (Oligo-Asthenoteratozoospermia - OAT) ở quần thể người Nga, nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng tần suất alen T của đa hình này trong nhóm vô sinh cao hơn khoảng bảy lần so với nhóm khỏe mạnh ($p < 0,05$), tức alen T có liên quan đến tình trạng vô sinh do suy giảm sinh tinh [124]. Có thể thấy, đã có những công bố bao gồm cả liên quan và không liên quan giữa các SNP của *TEX11* rs4844247 với tình trạng suy giảm sinh tinh. Sự khác biệt của các kết quả nghiên cứu giữa các quần thể khác nhau, có thể được giải thích bằng sự khác biệt trong nguồn gốc di truyền của các chủng người, lối sống cũng như các yếu tố môi trường.

Như chúng ta đã biết, biểu hiện kiểu hình của các gen thể hiện ở các chuỗi polypeptide bao gồm các tổ hợp axit amin cụ thể. Do vậy, sự kết hợp của

các SNP của một gen (haplotype) sẽ thể hiện rõ hơn nữa về sự liên quan của gen với tình trạng bệnh lý [125]. Trong nghiên cứu của Zhang X đã chỉ ra đa hình *TEX11* rs4844247 không liên quan đến tình trạng suy giảm sinh tinh như kết quả của chúng tôi, nhưng khi phân tích tương tác kết hợp với đa hình *TEX11* rs65254433 lại thấy có sự liên quan đến tình trạng suy giảm tinh [90]. Tuy nhiên, do giới hạn về số SNP của *TEX11* trong nghiên cứu của chúng tôi, nên không thực hiện được phân tích mối kết hợp tương tự. Điều này gợi ý về các khảo sát khác nên được tiến hành với nhiều SNP của gen *TEX11* để đánh giá thêm về sự kết hợp giữa các SNP.

Ngoài ra, *TEX11* có tham gia vào quá trình tiếp hợp và tái tổ hợp, có thể dẫn tới các bất thường trong cấu trúc và số lượng nhiễm sắc thể của tinh trùng [126]. Chúng tôi chưa thấy mối liên quan đến tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng, nhưng nếu có thể thì tiếp tục mở rộng hướng nghiên cứu về quá trình tạo phôi và chất lượng phôi trong hỗ trợ sinh sản, để đánh giá thêm khả năng liên quan của biến thể này với các đặc điểm của phôi.

4.1.4. Biến thể gen *TEX14*

Một số công trình nghiên cứu trước đây đã gợi ý rằng các đột biến trên *TEX14*, đặc biệt là các biến thể vị trí ghép nối và sai nghĩa, thường được tìm thấy ở những bệnh nhân vô tinh [95], [127], [128]. Tuy nhiên, rất ít nghiên cứu về vai trò của gen *TEX14* đối với tình trạng thiếu tinh ở các mức độ khác nhau được tiến hành. Một nghiên cứu liên kết toàn bộ hệ gen đã đánh giá vai trò của 07 SNP của gen *TEX14* bao gồm rs389389, rs7220834, rs35927726, rs35195402, rs35081269, rs34960869, rs35551271 đối với các bệnh nhân vô sinh nam có suy giảm sinh tinh chưa rõ nguyên nhân (80 bệnh nhân vô tinh, 141 bệnh nhân thiếu tinh nặng và 63 bệnh nhân thiếu tinh nhẹ) ở quần thể người châu Âu, cho thấy không có mối liên quan giữa các biến thể nêu trên với tình trạng suy giảm sinh tinh [95].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích kiểu gen của biến thể *TEX14* rs79813370, kết quả tần xuất của các kiểu gen trong nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng gồm 174 bệnh nhân có kiểu gen GG, chiếm 82,86%; 34 bệnh nhân có kiểu gen GT, chiếm 16,19% và 02 bệnh nhân có kiểu gen TT, chiếm 0,95%. Kết quả tần số các kiểu gen cũng tương tự như nghiên cứu trước đây của Trần Hữu Định và cộng sự (2024) về biến thể này trên quần thể người Việt Nam, với tỷ lệ lớn nhất là kiểu gen hoang dã GG chiếm 80,58%, 17,96% GT và 1,46% TT, tuy nhiên, tác giả đã xác định được mối liên quan giữa đa hình *TEX14* rs79813370 với vô sinh nam có suy giảm sinh tinh ở các mức độ khác nhau, khi phân tích so sánh với nhóm đối chứng khỏe mạnh [90]. Còn với nghiên cứu này, chúng tôi chỉ khảo sát đối với tình trạng vô tinh, thiếu tinh nặng thì không thấy sự khác biệt đáng kể nào giữa nhóm bệnh và nhóm đối chứng trên các mô hình cộng gộp, trội, lặn và alen; đồng thời không có mối liên quan giữa biến thể *TEX14* rs79813370 với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng; cũng như với tình trạng vô tinh (Bảng 3.12.3) hoặc thiếu tinh nặng (Bảng 3.12.2). Đáng chú ý là khi khảo sát riêng nhóm vô tinh, thì chúng tôi không thấy có kiểu gen TT (Bảng 3.10), có thể đây là do hạn chế trong quá trình thu thập mẫu, với số lượng bệnh nhân vô tinh chỉ có 40 đối tượng. Điều này cũng có thể ảnh hưởng đến kết quả khi phân tích mối liên quan của biến thể *TEX14* rs79813370 với tình trạng vô tinh.

Trong nghiên cứu xác định vai trò của các SNP có liên quan đến quá trình sinh tinh hay không, thì việc một SNP có liên quan đến cả nhóm đối tượng có suy giảm sinh tinh, song lại không có liên quan đối với các phân nhóm nhỏ trong quần thể đó cũng có thể xảy ra. Ví dụ như trong nghiên cứu có đối chứng của Zhang X. đã chỉ ra đa hình *TEX11* rs6525433 có liên quan đến tình trạng suy giảm sinh tinh bao gồm 244 đối tượng vô tinh và 72 đối tượng thiếu tinh, nhưng khi phân tích đa hình *TEX11* rs65254433 với riêng nhóm suy giảm sinh tinh nặng nhất là vô tinh thì lại không thấy có sự liên quan [90].

Có thể biến thể *TEX14 rs79813370* có liên quan nhiều hơn đến các biểu hiện nhẹ của tình trạng rối loạn sinh tinh ở nam giới Việt Nam, ví dụ như thiếu tinh mức độ nhẹ hoặc các rối loạn chức năng của tinh trùng dẫn tới không thể thụ thai tự nhiên.

4.2. Liên quan của các biến thể *FSHB*, *FSHR*, *TEX11*, *TEX14* với đặc điểm tinh dịch đồ, nội tiết tố sinh sản, kích thước tinh hoàn của nhóm bệnh

4.2.1. Biến thể gen *FSHB*

Ở nghiên cứu của chúng tôi, khi phân tích liên quan của biến thể gen *FSHB rs10835638* với các chỉ số tinh dịch đồ ở nhóm thiếu tinh nặng, đã chỉ ra có sự liên quan của kiểu gen GT với tình trạng suy giảm khả năng di động của tinh trùng, cụ thể là khả năng di động tiến tới nhanh (Bảng 3.15). Kết quả này cũng tương tự như trong nghiên cứu Zanganehnejad Z. năm 2025 với 120 nam giới vô sinh có đối chứng người Iran cũng đã chỉ ra liên quan có ý nghĩa thống kê của các kiểu gen GT, TT với tình trạng giảm khả năng di chuyển của tinh trùng [103].

Hay như kết quả nghiên cứu của Bang A. K công bố năm 2021 khi khảo sát trên quần thể gồm 2.020 nam giới ngẫu nhiên người Đan Mạch, đã chỉ ra những cá thể mang kiểu gen GT có tỷ lệ tinh trùng tiến tới thấp hơn so với những cá thể mang kiểu gen GG [129], nhưng không thấy mối liên quan của kiểu gen GT, cũng như TT với sự suy giảm mật độ tinh trùng hay tổng số tinh trùng [129].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi khảo sát về mật độ tinh trùng ở nhóm thiếu tinh nặng thì cũng không thấy có sự khác biệt rõ ràng giữa cá thể mang kiểu gen GT và GG, mặc dù, qua quan sát có thể thấy cá thể mang kiểu gen GT có mật độ tinh trùng thấp hơn so với GG, nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê với $p=0,12$ (Bảng 3.15).

Mặc dù có những nghiên cứu trên quần thể ngẫu nhiên đã chỉ ra kiểu gen TT liên quan đến suy giảm sinh tinh có ý nghĩa thống kê, như nghiên cứu của tác giả Tüttelmann F. năm 2012 phân tích trên 1.213 nam giới người Đức bao gồm cả các đối tượng có tinh dịch đồ bình thường và suy giảm sinh tinh [88]. Trong nghiên cứu của chúng tôi chưa thấy xuất hiện kiểu gen TT trong quần thể khảo sát (có thể đây là một kiểu gen ít gặp ở người châu Á [86], [101]). Với nhiều yếu tố về di truyền đặc thù của chủng tộc, vùng địa lý phối hợp ảnh hưởng tới hoạt động sinh tinh [130], có thể đưa ra giả thuyết rằng ảnh hưởng tiêu cực của alen T, chỉ cần kiểu gen dị hợp tử GT ở người Châu Á cũng có thể gây ra tình trạng suy giảm sinh tinh có ý nghĩa thống kê, tương đương với kiểu gen đồng hợp tử TT ở quần thể người châu Âu (Đức). Tuy nhiên điều này không tương đồng với kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi, kiểu gen *FSHB* rs10835638 GT chưa thấy có liên quan đến sự suy giảm mật độ tinh trùng trong nhóm thiếu tinh năng.

Có thể, ở một khía cạnh nào đó, việc lựa chọn bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi ở đa cơ sở khám chữa bệnh và khoảng thời gian kiêng xuất tinh ở các bệnh nhân có sự khác nhau khá rộng, từ 2 đến 7 ngày, có thể dẫn đến kết quả xét nghiệm đánh giá mật độ tinh trùng chưa thực sự đồng nhất. Bởi vậy, dù kiểu gen GT có liên quan đến tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh năng (n=210), hoặc vô sinh do thiếu tinh năng (n=170) nhưng chưa thấy được sự liên quan có ý nghĩa thống kê với sự thay đổi về mật độ tinh trùng.

Khi đánh giá liên quan với các nội tiết tố sinh sản thì ảnh hưởng của *FSHB* rs10835638 cũng không có sự khác biệt đáng kể giữa kiểu gen GG và GT ở nhóm bệnh (Bảng 3.19.1), hoặc riêng nhóm thiếu tinh năng (Bảng 3.19.2), cũng như riêng nhóm vô tinh (Bảng 3.19.3). Điều này không tương tự như một số công bố trước đây về liên quan giữa kiểu gen GT với thay đổi về nồng độ FSH. Grigorova, M. (2008) đã công bố biến thể *FSHB* rs10835638 làm giảm nồng độ FSH, tăng testosterone, không ảnh hưởng tới LH và inhibin B, cụ thể

trong đó có kiểu gen GT làm giảm nồng độ FSH khi nghiên cứu trên quần thể gồm 554 nam giới khỏe mạnh người Estonia [85], hoặc Krenz (2021) đã phân tích trên 2.742 bệnh nhân vô sinh gồm vô tinh, thiếu tinh và tinh dịch đồ bình thường, chỉ ra các cá thể mang alen T (GT và TT) có liên quan đến nồng độ FSH thấp hơn so với kiểu gen GG [102].

Mặc dù trong nghiên cứu của chúng tôi đã loại bỏ những bệnh nhân đang có dùng các thuốc hỗ trợ sinh sản, có thể ảnh hưởng đến nồng độ FSH và các chỉ số tinh dịch đồ. Tuy nhiên thì kết quả phân tích cho thấy nồng độ FSH ở nhóm bệnh cao hơn so với nhóm chứng (Bảng 3.5), trong khi phân tích riêng nhóm bệnh, thì không có sự khác biệt rõ ràng về nồng độ FSH giữa GG và GT. Nhưng, có một điều đáng chú ý là thời gian vô sinh của nhóm bệnh sinh từ 12 đến 180 tháng (15 năm), trung bình khoảng 48 tháng (mean $\pm$ SD: 48 $\pm$ 30,5) và 50,5 % trường hợp bệnh nhân đã từng điều trị bằng một hoặc nhiều phương pháp HTSS khác nhau (Bảng 3.3). Do vậy, có thể nhiều bệnh nhân đã từng có sử dụng các thuốc làm ảnh hưởng tới nồng độ FSH để kích thích sinh tinh và tại thời điểm làm xét nghiệm nội tiết tố sinh sản, thì vẫn còn ảnh hưởng của thuốc, hoặc việc sử dụng thuốc trước đây, đặc biệt là các thuốc chưa phù hợp, hoặc các thủ thuật can thiệp tại tinh hoàn có thể đã gây ra những thay đổi về các chỉ số nội tiết của bệnh nhân. Dẫn tới không thấy sự khác biệt về nồng độ FSH giữa các cá thể mang kiểu gen GG và kiểu gen GT.

Về mặt thực nghiệm trên động vật đã chỉ ra nồng độ FSH thấp có ảnh hưởng đến suy giảm số lượng và chất lượng của tế bào Sertoli. Tuy nhiên, đối với chức năng sinh sản của con người, thì nồng độ FSH thấp dẫn tới giảm số lượng tế bào Sertoli còn chưa rõ ràng, gần đây đã có các công bố về vô sinh nam có nồng độ FSH thấp liên quan đến biến thể *FSHB* rs10835638 cho thấy vẫn đủ số lượng tế bào Sertoli, tuy nhiên, vấn đề về chức năng thì có thể chưa thực sự hoàn thiện [131], đó có thể là cơ sở mà các cá thể có biến thể *FSH* rs10835638 cần một lượng FSH tăng thêm để đủ cho hoạt động chức năng sinh

tinh tốt hơn. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân có thể còn lượng FSH cao hơn do dùng thuốc, nhưng không phải đang dùng thuốc tại khoảng thời gian thăm khám, nên chưa đạt ngưỡng nồng độ FSH tốt nhất để cải thiện được khả năng sinh tinh. Do vậy, mật độ tinh trùng vẫn thấp thuộc nhóm vô tinh, thiếu tinh nặng.

Mặt khác, trong một số nghiên cứu trước đây đã chỉ ra kiểu gen GT có liên quan đến giảm nồng độ FSH, đều được tiến hành trên mẫu tổng hợp các đối tượng nam giới bao gồm cả vô tinh, thiếu tinh và tinh dịch đồ bình thường.

Có nghiên cứu thì không tuyển chọn các đối tượng có dùng thuốc có ảnh hưởng đến nồng độ FSH trong vòng 6 tháng [132], điều này chúng tôi chưa thực hiện trong tiêu chí loại trừ bệnh nhân. Hoặc một số khảo sát được thực hiện đối với các đối tượng thanh niên trẻ tuổi, như nghiên cứu trên 554 nam giới có tuổi trung bình là 19,2 [85], hoặc 1.054 nam giới có độ tuổi trung bình là 19,8 [100], khả năng cao là các đối tượng này chưa có tiền sử sử dụng các biện pháp hỗ trợ sinh sản, nên giảm thiểu yếu tố ảnh hưởng tới nồng độ FSH.

Đặc biệt một nghiên cứu trên một cỡ mẫu rất lớn của Zitzmann M. gồm 3.456 nam giới vô sinh, với những tiêu chí lựa chọn bệnh nhân khá chặt chẽ để đánh giá liên quan giữa biến thể *FSHB* rs10835638 với nồng độ FSH, trong đó có loại trừ những đối tượng có FSH >7UI/L. Kết quả của tác giả đã chỉ ra sự liên quan với giảm nồng độ FSH của kiểu gen GT so với GG, khi phân tích ở cả quần thể, hoặc nhóm tinh dịch đồ bình thường, hoặc nhóm thiếu tinh mức độ nhẹ và vừa. Tuy nhiên, kết quả phân tích ở riêng nhóm thiếu tinh nặng lại không thấy sự khác biệt về nồng độ FSH giữa kiểu gen GT và GG [133].

Kể cả kiểu gen TT, đã được nhiều công bố có liên quan đến sự suy giảm FSH ở các quần thể nghiên cứu người châu Âu trước đây, bao gồm tổng hợp các dạng rối loạn sinh tinh [87], [88], [102], thì trong nghiên cứu của Zitzmann M. cũng thấy không có khác biệt giữa kiểu gen TT so với kiểu gen GG và GT

về nồng độ FSH trong nhóm thiếu tinh nạng, mặc dù đã chỉ ra kiểu gen TT có liên quan đến nồng độ FSH thấp hơn so với kiểu gen GG và GT trong các nhóm rối loạn sinh sinh còn lại và tổng hợp cả quần thể nghiên cứu [133].

Một minh chứng khác cho sự ảnh hưởng của *FSHB* rs10835638 làm giảm nồng độ FSH, nhưng nồng độ FSH thực tế của bệnh nhân vẫn ở mức cao do ảnh hưởng của các rối loạn khác cùng tồn tại ở bệnh nhân, đó là khi nghiên cứu về các bệnh nhân Klinefelter, đã chỉ ra alen T trong biến thể *FSHB* rs10835638 có xu hướng làm giảm nồng độ FSH siêu sinh lý của các bệnh di truyền Klinefelter, tuy nhiên nồng độ FSH vẫn ở mức cao [134], [135].

Từ những công bố trên, có thể nồng độ FSH ở bệnh nhân vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng bị chi phối bởi nhiều yếu tố hơn các dạng rối loạn sinh tinh khác, bao gồm cả bên trong nội tại cơ thể và bên ngoài môi trường.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi đánh giá thể tích tinh hoàn đã cho thấy, thể tích trung bình bên phải, bên trái và tổng thể tích 2 bên của nhóm bệnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$), và có giá trị lần lượt là $9,92 \pm 2,19$; $9,32 \pm 1,91$ và $19,24 \pm 4,01$ (ml) (Bảng 3.6). Kết quả này gợi ý thể tích tinh hoàn có thể là một chỉ số đánh giá chức năng tinh hoàn, điều này tương đồng với các nghiên cứu đã báo cáo trước đây [136], [137], được minh chứng cụ thể ở sự suy giảm sinh tinh của nhóm bệnh (Bảng 3.6).

Mặt khác, kích thước tinh hoàn được chi phối bởi các yếu tố nội tiết, trong đó chủ yếu là testosterone, FSH và LH [138], nên sẽ có những thay đổi về nồng độ của các chỉ số nội tiết này ở nhóm bệnh nhân của nghiên cứu. Tuy nhiên, khi phân tích các yếu tố nội tiết, thì nồng độ testosterone không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh và nhóm chứng (Bảng 3.5), nên sự khác biệt về kích thước tinh hoàn chỉ còn liên quan đến sự khác biệt về nồng độ FSH và LH giữa nhóm bệnh và nhóm chứng, trong đó FSH có vai trò quan trọng và trực tiếp hơn đối với quá trình sinh tinh [28].

Đồng thời, khi đánh giá liên quan giữa các biến thể của *FSHB* rs10835638 với kích thước tinh hoàn. Các nghiên cứu đã chỉ ra mối liên quan của alen T với việc suy giảm kích thước tinh hoàn [85], [88], [100], [129]. Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi, thì chưa thấy mối liên quan này (Bảng 3.21.1, Bảng 3.21.2 và Bảng 3.21.3).

Do đó, tình trạng không khác biệt về kích thước tinh hoàn giữa kiểu gen GT và GG có thể là bắt nguồn từ sự không khác biệt về nồng độ FSH giữa hai kiểu gen GG và GT ở nhóm bệnh (Bảng 3.19.1); nhóm thiếu tinh nặng (Bảng 3.19.2) và nhóm vô tinh (Bảng 3.19.3).

Sự không khác biệt này tương tự như đã trình bày phía trên, có thể do còn ảnh hưởng nhiều yếu tố chưa xác định rõ, trong đó có thể có ảnh hưởng của các thuốc kích thích tăng FSH hoặc các thuốc điều trị chưa phù hợp hoặc các can thiệp khác gây ra. Đây là một yếu tố nhiễu trong khi phân tích mối liên quan của di truyền đối với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng. Có thể cần có sự lựa chọn đối tượng nghiên cứu có độ tin cậy cao hơn nữa, như chỉ nghiên cứu ở các đối tượng thanh niên trẻ tuổi [85], [100], hoặc điều tra trên một cỡ mẫu lớn hơn, và bao gồm cả thiếu tinh nhẹ, vừa và tinh dịch đồ bình thường để giảm bớt chi phối của yếu tố nhiễu chi phối và có thể có đầy đủ các kiểu gen để đánh giá [88], [129].

4.2.2. Biến thể gen *FSHR*

Biến thể gen *FSHR* rs6166 thay đổi sự hoạt hóa FSH thông qua sự biến đổi của alen G và A. Khi chúng tôi phân tích mối liên quan của biến thể này với các chỉ số tinh dịch đồ, thì không thấy sự liên quan có ý nghĩa đối với số lượng tinh trùng, tuy nhiên về khả năng di động thì có mối liên quan giữa *FSHR* rs6166 với sự suy giảm các chỉ số đó (Bảng 3.16). Cụ thể ở nhóm thiếu tinh nặng (n=170), kiểu gen AA ảnh hưởng tiêu cực đến nhiều chỉ số TĐĐ so với

kiểu gen GG, như liên quan đến giảm tỷ lệ di động tiến tới với $p=0,027$ và giảm tỷ lệ tinh trùng tiến tới chậm với $p=0,049$ (Hình 3.11).

Mặc dù alen A có thể hiện được sự tăng nhạy cảm với FSH và thể hiện tính tích cực ở nhiều công bố liên quan đến chức năng sinh sản của phụ nữ [10], [11], [101], [117]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, alen A của biến thể *FSHR* rs6166 có xu hướng làm tăng mật độ tinh trùng, nhưng chưa đủ ngưỡng có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.16). Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy alen A có vai trò tiêu cực, cụ thể là kiểu gen AA liên quan đến suy giảm chức năng di động của tinh trùng. Mặc dù, chưa thực sự đồng nhất trong cách phân tích khả năng di động của tinh trùng, cụ thể với 170 bệnh nhân thiếu tinh nạng, có 149 bệnh nhân được phân tích bằng máy và 21 bệnh nhân được phân tích bằng kỹ thuật viên. Tuy nhiên, xét về tính tổng thể, đại đa số cả bệnh nhân đã được phân tích thống nhất bằng máy, chiếm 87,65%. Như vậy, độ tin cậy về mối liên quan của kiểu gen AA và độ di động của tinh trùng là khá cao.

Có thể do alen A không hoàn toàn là dạng đồng trội so với alen G, mà bắt đầu có sự tăng nhẹ về khả năng hoạt hóa FSH dẫn tới quá trình sinh tinh diễn ra nhanh hơn, đôi khi các giai đoạn của các tế bào dòng tinh chưa có đủ thời gian để hoàn thiện tốt nhất về mặt cấu trúc, nên xuất hiện tình trạng giảm chức năng di động của tinh trùng. Hoặc có thể mức hoạt hóa của alen A dưới mức trung tính không nhiều, gây ức chế nhẹ, nhưng chưa đủ ảnh hưởng tới số lượng tinh trùng, mà chỉ đủ ảnh hưởng tới quá trình biệt hóa cấu trúc đuôi tinh trùng ở giai đoạn sau của quá trình sinh tinh.

Tuy nhiên với xu hướng có tăng mật độ tinh trùng (Bảng 3.16), chúng tôi nghĩ nhiều đến tình huống có thể alen A của *FSHR* rs6166 đã ở một mức độ hoạt hóa hơn alen G, mà mức độ hoạt hóa cao nhất chính là tình trạng liên quan đến ung thư tế bào dòng tinh đã được công bố [120], [121]. Ung thư là tình trạng tăng sinh không kiểm soát và mất chức năng của các tế bào dòng tinh.

Khi đánh giá mối liên quan của *FSHR* rs6166 với các nội tiết tố sinh sản ở nhóm bệnh cũng như riêng nhóm thiếu tinh nặng hoặc vô tinh, bao gồm FSH, LH và prolactin thì đều không thấy có sự khác biệt giữa các kiểu gen GG, GA và AA (Bảng 3.19.1, Bảng 3.19.2 và Bảng 3.19.3), tức là biến thể này không có liên quan đến nồng độ nồng độ FSH, LH và prolactin ở quần thể nam giới vô tinh, thiếu tinh nặng trong nghiên cứu.

Đáng chú ý nhất là không có mối liên quan với nồng độ FSH, kết quả này tương tự như nhiều nghiên ở các quần thể nam giới khác nhau có suy giảm sinh tinh trên thế giới công bố. Điển hình như của tác giả Ghirelli-Filho nghiên cứu trên quần thể nam giới vô sinh người Brazil [114], hay tác giả Balkan, M. công bố đối với quần thể nam giới vô tinh, thiếu tinh nặng người Thổ Nhĩ Kỳ [116], hoặc tác giả Ahda Y. báo cáo ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc người Đức [115], cũng như công bố trên quần thể gồm các nam vô tinh, thiếu tinh người Ý của tác giả Pengo M. [89]. Có thể do mức độ hoạt hóa FSH của alen A và alen G trong biến thể *FSHR* rs6166 là cân bằng nhau đối với các quần thể nêu trên, nên để đạt được hiệu quả hoạt động đối với quá trình sinh tinh thì nồng độ FSH không có sự khác biệt.

Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, khi khảo sát nồng độ testosterone ở nhóm thiếu tinh nặng, thấy có sự khác biệt giữa các kiểu gen của biến thể *FSHR* rs6166 (Bảng 3.19.2), cụ thể là kiểu gen AA có liên quan đến nồng độ testosterone cao hơn so với GA; trong khi, nồng độ testosterone của kiểu gen AA cũng cao hơn kiểu gen GG, nhưng không đủ ngưỡng có ý nghĩa thống kê (Hình 3.12), có thể do tần xuất kiểu gen GG thấp (chỉ chiếm 10,5%), trong khi kiểu gen GA chiếm 42,4% và AA chiếm 47,1%, nên khi phân tích so sánh số lượng các thể mang kiểu gen GG quá ít so với kiểu gen AA, dẫn tới sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Từ kết quả vừa nêu trên, cho thấy kiểu gen *FSHR* rs6166 AA có liên quan tới tăng nồng độ testosterone, trong khi không có sự khác biệt về nồng độ các nội tiết tố sinh sản khác, đặc biệt là FSH. Điều này là cơ sở đáng tin cậy hơn để lý giải cho việc kiểu gen AA có liên quan đến giảm khả năng di động của tinh trùng (Bảng 3.16), bởi có thể kiểu gen AA bắt đầu tăng hoạt hóa thụ cảm thể FSH, nhưng mới chỉ ở mức ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh tại giai đoạn sau, trong đó có sự biệt hóa tinh tử để tạo cấu trúc phần đuôi tinh trùng. Giai đoạn này, chính là thời kỳ phụ thuộc nhiều vào testosterone [28], [74], mặt khác, trong công bố trước đây của tác giả Grande G. đã chứng minh mối liên quan của nồng độ testosterone với khả năng di động của tinh trùng [139], cho nên khi quá trình biệt hóa tế bào dòng tinh có sự bất thường, thì hoạt động trực dưới đồi, tuyến yên, tuyến tinh hoàn sẽ làm tăng nồng độ testosterone để điều hòa quá trình biệt hóa từ tinh bào II, tinh tử đến tinh trùng. Do đó, dẫn tới bệnh nhân mang kiểu gen AA có nồng độ testosterone cao hơn. Như vậy, có thể trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi, alen A của biến thể *FSHR* rs6166 bắt đầu có xu hướng tăng hoạt thụ thể FSH, mặc dù có thể ở mức nhẹ, nhưng đã gây ảnh hưởng tiêu cực tới khả năng di động của tinh trùng và dẫn tới tăng nồng độ testosterone; chưa đủ làm thay đổi số lượng tinh trùng, cũng như nồng độ FSH.

Tuy nhiên, trong nghiên cứu trên một quần thể khá lớn của Grigorova M. thì alen G lại có liên quan đến nồng độ FSH cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm 738 bệnh nhân vô sinh, cũng như ở nhóm 684 bệnh nhân thiếu tinh người Estonia, ngoài ra tác giả còn báo cáo về sự liên quan đến tình trạng giảm testosterone toàn phần với alen G trong quần thể ngẫu nhiên gồm 1.790 người Bantic (trong đó có đối tượng suy giảm sinh tinh) [113]. Có thể ở quần thể nam giới này, độ nhạy cảm của alen G có sự tương đồng với các khảo sát trên quần thể nữ đã công bố trước đây [10], [11], [117], tức là alen G có độ hoạt hóa FSH kém hơn so với alen A, do đó cần nồng độ FSH cao hơn để đủ cho việc truyền tín hiệu của FSH đối với hoạt động sinh tinh.

Ngoài ra, cũng chính trong nghiên cứu của Grigorova M. thì tác giả đã cho rằng alen G có liên quan đến kích thước tinh hoàn nhỏ hơn ở tất cả các nhóm quần thể trong nghiên cứu bao gồm nhóm 1.052 người Bantic ngẫu nhiên, nhóm 738 người Estonia vô sinh và 684 người Estonia thiếu tinh, cũng như toàn bộ 1.790 đối tượng trong nghiên cứu [113]. Điều này cũng dễ hiểu, bởi như công bố về alen G có liên quan đến nồng độ FSH cao hơn của tác giả, chứng tỏ alen G hoạt hóa FSH kém hơn, do đó mức độ phát triển của tinh hoàn dưới tác dụng của FSH cũng giảm phần nào, đặc biệt là ở quần thể này tác giả còn chỉ ra nồng độ testosterone toàn phần cũng thấp hơn có liên quan đến alen G. Mà nồng độ testosterone và FSH là hai yếu tố nội tiết chính ảnh hưởng đến kích thước tinh hoàn [138]. Do đó, dẫn tới kích thước tinh hoàn nhỏ hơn ở những đối tượng mang alen G.

Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi thì không thấy sự khác biệt về kích thước tinh hoàn giữa bệnh nhân mang kiểu gen GG, GA hay AA (Bảng 3.21.1, Bảng 3.21.2 và Bảng 3.21.3). Có thể do chính sự không khác biệt là nồng độ FSH giữa các kiểu gen, nên mức độ hoạt hóa FSH vẫn gần mức cân bằng giữa alen G và alen A, dẫn tới kích thước tinh hoàn cũng tương tự nhau.

4.2.3. Biến thể gen *TEX11*

Đối với biến thể gen *TEX11* rs4844247, chúng tôi chưa thấy có sự khác biệt nào của alen C và T đối với các chỉ số tinh dịch đồ (Bảng 3.17). Trong một nghiên cứu của Kolmykov S. trên quần thể gồm 157 người Nga, trong đó có 62 đối tượng có tinh dịch đồ bình thường và 95 đối tượng có rối loạn sinh tinh, đã thấy rằng tác động tiêu cực của gen *TEX11* rs4844247 đối với chức năng sinh tinh, cụ thể chỉ ra có mối liên hệ đáng kể giữa biến thể này với chất lượng tinh trùng, trong đó alen T có liên quan đến giảm tổng số lượng tinh trùng, mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động và hình thái bình thường so với alen C [124].

Gen *TEX11* nằm trên NST X, đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiếp hợp và tái tổ hợp vật chất di truyền, cũng như phân chia nhiễm sắc thể [12]. Do đó có thể nhưng thay đổi về alen giữa alen C và alen T đều có thể được biểu hiện thành kiểu hình, mức độ khác nhau về kiểu hình tùy thuộc vào đặc điểm của chủng tộc cũng như các yếu tố môi trường tác động.

Ngoài ra, chúng tôi cũng chưa phát hiện sự khác biệt đáng kể nào giữa alen C và alen T của biến thể *TEX11* rs4844247 đối với nội tiết tố sinh sản (Bảng 3.20.1, Bảng 3.20.2 và Bảng 3.20.3) và thể tích tinh hoàn (Bảng 3.21.1, Bảng 3.21.2 và Bảng 3.21.3). Với những hiểu biết của chúng tôi, thì chưa thấy có nghiên cứu nào đề cập đến vấn đề này khi nghiên cứu về biến thể *TEX11* rs4844247. Có thể coi như alen T và alen C là những alen đồng trội và không có liên quan đến thay đổi nồng độ nội tiết tố FSH, LH, testosterone, prolactin ở quần thể nam giới vô tinh, thiếu tinh nạng người Việt Nam trong nghiên cứu. Tuy nhiên, vì đây là một biến thể có số lượng công trình công bố liên quan đến chức năng của tinh hoàn còn hạn chế, cho nên cần có thêm các nghiên cứu khác để hiểu rõ hơn về biến thể này đối với khả năng sinh tinh và các thay đổi về nội tiết tố sinh sản. Đặc biệt, nhiều công bố đã chỉ ra gen *TEX11* có liên quan nhiều đến tình trạng vô tinh, tuy nhiên số lượng bệnh nhân vô tinh trong nghiên cứu này khá hạn chế, chỉ gồm 40 đối tượng, do vậy, cần có các nghiên cứu tiếp theo trên cỡ mẫu vô tinh đủ lớn để khảo sát kỹ hơn.

4.2.4. Biến thể gen *TEX14*

Đây là một biến thể rất ít được công bố, theo như quan sát của chúng tôi, thì công bố trước đây của Trần Hữu Định và cộng sự (2024) về liên quan của *TEX14* rs79813370 với tình trạng vô sinh ở nam giới người Việt Nam là công bố đầu tiên trên thế giới về biến thể này. Theo đó alen T của rs79813370 có thể là một yếu tố làm giảm nguy cơ gây vô sinh nam [16]. Tuy nhiên ở trong nghiên cứu đó, tác giả chưa khảo sát mối liên quan với các đặc điểm về các chỉ số tinh dịch đồ, nội tiết tố và thể tích tinh hoàn trong mối liên quan với biến thể này.

Với nghiên cứu này, trên quần thể nam giới vô tinh, thiếu tinh nạng chưa rõ nguyên nhân, chúng tôi có phân tích mối liên quan của *TEX14* rs79813370 với các chỉ số tinh dịch đồ (Bảng 3.18), nội tiết tố sinh sản (Bảng 3.20.1, Bảng 3.20.2 và Bảng 3.20.3) và thể tích tinh hoàn (Bảng 3.21.1, Bảng 3.21.2 và Bảng 3.21.3). Tuy nhiên, không thấy có sự khác biệt nào đáng kể giữa các kiểu gen GG, GT và TT, hay biến thể rs79813370 không có liên quan đến sự suy giảm các chỉ số tinh dịch đồ, sự thay đổi của nồng độ FSH, LH, testosterone, prolactin, cũng như suy giảm kích thước tinh hoàn của các bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nạng người Việt Nam trong nghiên cứu.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu một số biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* trên 410 đối tượng nghiên cứu, gồm 210 bệnh nhân (40 vô tinh, 170 thiếu tinh nặng) và 200 đối chứng có thể kết luận như sau:

1. Đã xác định được tần số kiểu gen, tần số alen của các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247 và *TEX14* rs79813370 trên 210 bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân

- Biến thể *FSHB* rs10835638 gồm có 92,38% kiểu gen GG và 7,62% kiểu gen GT, không có kiểu gen TT. Cụ thể ở nhóm thiếu tinh nặng gồm 92,35% kiểu gen GG và 7,65% kiểu gen GT, không có kiểu gen TT; ở nhóm vô tinh gồm 92,5% kiểu gen GG và 7,5% kiểu gen GT, không có kiểu gen TT.

- Biến thể *FSHR* rs6166 gồm có 11,9% kiểu gen GG, 42,38% kiểu gen GA và 45,71% kiểu gen AA. Cụ thể ở nhóm thiếu tinh nặng gồm có 10,59% kiểu gen GG, 42,35% kiểu gen GA và 47,06% kiểu gen AA; ở nhóm vô tinh gồm có 17,5% kiểu gen GG, 42,5% kiểu gen GA và 40% kiểu gen AA.

- Biến thể *TEX11* rs4844247 có 86,19% alen C và 13,81% alen T. Cụ thể ở nhóm thiếu tinh nặng có 87,06% alen C và 12,94% alen T; ở nhóm vô tinh có 82,5% alen C và 17,5% alen T.

- Biến thể *TEX14* rs79813370 có 82,86% kiểu gen GG, 16,19% kiểu gen GT và 0,95% kiểu gen TT. Cụ thể ở nhóm thiếu tinh nặng có 84,12% kiểu gen GG, 14,71% kiểu gen GT và 1,18% kiểu gen TT; ở nhóm vô tinh có 77,5% kiểu gen GG, 22,5% kiểu gen GT và không có kiểu gen TT.

2. Đánh giá mối liên quan của các biến thể với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm bệnh.

- Biến thể *FSHB* rs10835638 có liên quan đến tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nặng, cụ thể là tần số kiểu gen GT và alen T ở nhóm bệnh cao hơn so với nhóm chứng, lần lượt với OR=2,619 (95%CI: 1,043-7,551; $p=0,038$) và OR=2,556 (95%CI: 1,030-7,302; $p=0,041$); đồng thời có liên quan đến tình

trạng vô sinh do thiếu tinh nạng, cụ thể là tần số kiểu gen GT và alen T ở nhóm thiếu tinh nạng cao hơn so với nhóm chứng, lần lượt với $OR=2,667$ (95%CI: 0,995-7,205; $p=0,044$) và $OR=2,611$ (95%CI: 0,981-6,945; $p=0,046$). Kiểu gen GT có thể là nguy cơ làm giảm khả năng tiến tới nhanh của tinh trùng; mật độ tinh trùng ở kiểu gen GT thấp hơn so với kiểu gen GG, nhưng chưa đạt ngưỡng có ý nghĩa thống kê ($p=0,12$). Kiểu gen GT không có mối liên quan với nồng độ FSH, LH, testosterone, prolactin và thể tích tinh hoàn.

- Biến thể *FSHR* rs6166 không có mối liên quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng. Tuy nhiên, ở nhóm thiếu tinh nạng, kiểu gen AA có nguy cơ làm giảm khả năng di động của tinh trùng so với kiểu gen GG và tăng nồng độ testosterone so với các kiểu gen có alen G (có ý nghĩa thống kê so với kiểu gen GA, nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với kiểu gen GG). Ngoài ra, không có mối liên quan giữa biến thể *FSHR* rs6166 với nồng độ FSH, LH, prolactin và thể tích tinh hoàn.

- Biến thể *TEX11* rs4844247, *TEX14* rs79813370 đều không có mối liên quan với tình trạng vô sinh do vô tinh, thiếu tinh nạng. Đồng thời cũng không có mối liên quan với các chỉ số tinh dịch đồ, nồng độ FSH, LH, testosterone, prolactin và thể tích tinh hoàn.

KIẾN NGHỊ

1. Cần có những khảo sát khác đối với riêng nhóm bệnh nhân vô tình trên cỡ mẫu đủ lớn để xác định mối liên quan giữa các biến thể *FSHB* rs10835638, *FSHR* rs6166, *TEX11* rs4844247 và *TEX14* rs79813370 với tình trạng bệnh.

2. Cần lựa chọn các đối tượng nghiên cứu ở cùng một cơ sở và nên giới hạn về khoảng thời gian kiêng xuất tinh hẹp hơn; đồng thời chỉ lựa chọn các bệnh nhân chưa từng điều trị bằng bất cứ phương pháp HTSS nào, nhằm không chế tốt hơn các yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng tới các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ
ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1. Phạm Văn Quyết, Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Duy Bắc, Vũ Thị Hoa, Lê Thị Thu Hiền, Đinh Hữu Việt, Hà Ngọc Mạnh, Trịnh Thế Sơn (2025).** Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân vô tinh, thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 551:302-308.
- 2. Phạm Văn Quyết, Trịnh Thế Sơn, Nguyễn Duy Bắc, Lê Thị Thu Hiền, Đinh Hữu Việt, Hà Ngọc Mạnh, Trần Hữu Định, Nguyễn Thùy Dương (2025).** Nghiên cứu mối liên quan của đa hình gen FSHB rs10835638 với bệnh vô sinh tại Việt Nam, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 551:351-357.
- 3. Phạm Văn Quyết, Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Duy Bắc, Lê Thị Thu Hiền, Đinh Hữu Việt, Hà Ngọc Mạnh, Vũ Thị Hoa, Lang Phallin, Men Borall, Soeng Piseth, Trịnh Thế Sơn (2025).** Nghiên cứu mối liên quan giữa biến thể gen *FSHR* rs6166 với đặc điểm tinh dịch đồ ở nam giới vô sinh tại Việt Nam, *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 50(9):25-34.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sun H., Gong T. T., Jiang Y. T., et al. (2019). Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990–2017: results from a global burden of disease study, 2017. *Aging (Albany NY)*, 11(23), 10952.
2. Levine H., Jørgensen N., Martino-Andrade A., et al. (2023). Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Human reproduction update*, 29(2), 157-176.
3. Babakhanzadeh E., Nazari M., Ghasemifar S., et al. (2020). Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. *International journal of general medicine*, 29-41.
4. Trịnh Thế Sơn, Hồ Sỹ Hùng (2023). *Rối loạn chức năng sinh sản nam giới*. NXB Y học, Hà Nội, 34-139.
5. Corsini C., Boeri L., Candela L., et al. (2022). Is there a relevant clinical impact in differentiating idiopathic versus unexplained male infertility?. *The World Journal of Men's Health*, 41(2), 354.
6. Ramasamy R., Stahl P. J., & Schlegel P. N. (2011). Medical therapy for spermatogenic failure. *Asian journal of andrology*, 14(1), 57.
7. Cannarella R., La Vignera S., Condorelli R. A., et al. (2020). FSH dosage effect on conventional sperm parameters: a meta-analysis of randomized controlled studies. *Asian journal of andrology*, 22(3), 309-316.
8. Grande G., Graziani A., Scafa R., et al. (2024). FSH therapy in male factor infertility: evidence and factors which might predict the response. *Life*, 14(8), 969.
9. Santi, D., Corona, G., Salonia, A., & Ferlin, A. (2025). Current drawbacks and future perspectives in the diagnosis and treatment of male factor infertility,

with a focus on FSH treatment: an expert opinion. *Journal of Endocrinological Investigation*, 48(5), 1085-1100.

10. Mã Phạm Quế Mai, Lê Long Hồ, Phạm Thiếu Quân và cs. (2019). Mối tương quan giữa đa hình gen thụ thể FSH và đáp ứng kích thích buồng trứng cận tối ưu trên nhóm phụ nữ thực hiện IVF tại Việt Nam. *Tạp chí Phụ sản*, 17(1), 75-79.

11. Hoàng Thị Thanh Thủy, Trịnh Thế Sơn, Nguyễn Việt Quang và cs. (2024). Biến thể gen FSHR và kết quả kích thích nhẹ buồng trứng ở bệnh nhân Poseidon nhóm 3 và 4. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 178(5), 95-103.

12. Bellil H., Ghieh F., Hermel E., et al. (2021). Human testis-expressed (TEX) genes: a review focused on spermatogenesis and male fertility. *Basic and clinical andrology*, 31(1), 9.

13. Boroujeni P. B., Sabbaghian M., Totonchi M., et al. (2018). Expression analysis of genes encoding TEX11, TEX12, TEX14 and TEX15 in testis tissues of men with non-obstructive azoospermia. *JBRA assisted reproduction*, 22(3), 185.

14. Houston B. J., Riera-Escamilla A., Wyrwoll M. J., et al. (2022). A systematic review of the validated monogenic causes of human male infertility: 2020 update and a discussion of emerging gene–disease relationships. *Human reproduction update*, 28(1), 15-29.

15. Greenbaum M. P., Iwamori T., Buchold G. M., et al. (2011). Germ cell intercellular bridges. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(8), a005850.

16. Dinh T. H., Anh N. P., Thao et al. (2024). Single nucleotide polymorphisms of CFAP43 and TEX14 associated with idiopathic male infertility in a Vietnamese population. *Medicine*, 103(39), e39839.

17. Carrell D. T., & Aston K. I. (2011). The search for SNPs, CNVs, and epigenetic variants associated with the complex disease of male infertility. *Systems biology in reproductive medicine*, 57(1-2), 17-26.
18. Marzouni E. T., Ilkhani H., Harchegani A. B., et al. (2022). Epigenetic modifications, a new approach to male infertility etiology: a review. *International Journal of Fertility & Sterility*, 16(1), 1.
19. Lê Gia Vinh (2006). *Giải phẫu học ngực-bụng*. NXB Quân đội Nhân dân, Hà Nội, 274-287.
20. Condorelli, R., Calogero, A. E., & La Vignera, S. (2013). Relationship between testicular volume and conventional or nonconventional sperm parameters. *International journal of endocrinology*, 2013(1), 145792.
21. Bergmann M. (2006). Physiology of spermatogenesis. In *Andrology for the Clinician* (pp. 272-281). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
22. Damyanova K. B., Nixon B., Johnston S. D., et al. (2024). Spermatogonial stem cell technologies: applications from human medicine to wildlife conservation. *Biology of Reproduction*, 111(4), 757-779.
23. Tempest H. G. (2011). Meiotic recombination errors, the origin of sperm aneuploidy and clinical recommendations. *Systems biology in reproductive medicine*, 57(1-2), 93-101.
24. Sorkin J., Tilton K., Lawlor M. A., et al. (2025). Intercellular bridges are essential for transposon repression and meiosis in the male germline. *Nature Communications*, 16(1), 1488.
25. Ozkaya M., Oztekin U., Caniklioglu M., et al. (2020). Re-determination of upper reference range of follicular stimulating hormone in infertile men. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 66(5), 329-336.
26. Brannigan R. E., Hermanson L., Kaczmarek J., et al. (2024). Updates to male infertility: AUA/ASRM Guideline (2024). *Journal of Urology*, 10-1097.
27. Salonia, A., Capogrosso, P., Boeri, L., et al. (2025). European association of urology guidelines on male sexual and reproductive health: 2025 update on

male hypogonadism, erectile dysfunction, premature ejaculation, and peyronie's disease. *European Urology*.

28. Santi D., Crépieux P., Reiter E., et al. (2020). Follicle-stimulating hormone (FSH) action on spermatogenesis: a focus on physiological and therapeutic roles. *Journal of clinical medicine*, 9(4), 1014.

29. Oduwole O. O., Peltoketo H., & Huhtaniemi I. T. (2018). Role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis. *Frontiers in endocrinology*, 9, 763.

30. Esteves S. C., & Humaidan P. (2025). The role of luteinizing hormone activity in spermatogenesis: from physiology to clinical practice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 23(1), 6.

31. Mulhall J. P., Trost L. W., Brannigan R. E., et al. (2018). Evaluation and management of testosterone deficiency: AUA guideline. *The Journal of urology*, 200(2), 423-432.

32. Dabbous Z., & Atkin S. L. (2018). Hyperprolactinaemia in male infertility: clinical case scenarios. *Arab journal of urology*, 16(1), 44-52.

33. Schulster M., Bernie A. M., & Ramasamy R. (2016). The role of estradiol in male reproductive function. *Asian journal of andrology*, 18(3), 435-440.

34. O'brien K. L. F., Varghese A. C., & Agarwal A. (2010). The genetic causes of male factor infertility: a review. *Fertility and sterility*, 93(1), 1-12.

35. Zhang X., Liu X., Xi Q., et al. (2020). Reproductive outcomes of 3 infertile males with XYY syndrome: Retrospective case series and literature review. *Medicine*, 99(9), e19375.

36. Qin S., Wang X., Wang J., et al. (2022). Verification of a cryptic t (Y; 15) translocation in a male with an apparent 45, X karyotype. *Molecular Cytogenetics*, 15(1), 3.

37. Adrião M., Ferreira S., Silva R. S., et al. (2020). 46, XX male disorder of sexual development. *Clinical Pediatric Endocrinology*, 29(1), 43-45.

38. Cassidy S. B., Schwartz S., Miller J. L., et al. (2012). Prader-willi syndrome. *Genetics in medicine*, 14(1), 10-26.

39. Poot M., & Hochstenbach R. (2021). Prevalence and phenotypic impact of Robertsonian translocations. *Molecular syndromology*, 12(1), 1-11.
40. Rougier C., Hieronimus S., Panaia-Ferrari P., et al. (2019). Isolated follicle-stimulating hormone (FSH) deficiency in two infertile men without FSH β gene mutation: Case report and literature review. In *Annales d'endocrinologie* (Vol. 80, No. 4, pp. 234-239). Elsevier Masson.
41. Sugie M., & Hibi H. (2023). A Case of Suspected Isolated Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Deficiency Where Spermatogenesis Was Acquired by Human Menopausal Gonadotropin (hMG). *Cureus*, 15(3).
42. Edouard T., & Cartault A. (2022). Gonadal function in Noonan syndrome. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 83, No. 3, pp. 203-206). Elsevier Masson.
43. Hufnagel R. B., Arno G., Hein N. D., et al. (2015). Neuropathy target esterase impairments cause Oliver–McFarlane and Laurence–Moon syndromes. *Journal of medical genetics*, 52(2), 85-94.
44. Forsythe E., & Beales P. L. (2013). Bardet–biedl syndrome. *European journal of human genetics*, 21(1), 8-13.
45. Kang H. J., Imperato-McGinley J., Zhu Y. S., et al. (2014). The effect of 5 α -reductase-2 deficiency on human fertility. *Fertility and sterility*, 101(2), 310-316.
46. Rocca M. S., Minervini G., Vinanzi C., et al. (2023). Mutational screening of androgen receptor gene in 8224 men of infertile couples. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 108(5), 1181-1191.
47. Whirledge S., & Cidlowski J. A. (2017). Glucocorticoids and reproduction: traffic control on the road to reproduction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 28(6), 399-415.
48. Guiton R., & Drevet J. R. (2023). Viruses, bacteria and parasites: infection of the male genital tract and fertility. *Basic and clinical andrology*, 33(1), 19.

49. Peel A., Saini A., Deluao J. C., et al. (2023). Sperm DNA damage: the possible link between obesity and male infertility, an update of the current literature. *Andrology*, 11(8), 1635-1652.
50. Kumar N., & Singh A. K. (2022). Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility: a narrative review. *Environmental Sciences Europe*, 34, 1-13.
51. Vũ Xuân Tùng, Hồ Nguyệt Minh, Nguyễn Thị Lý và cs (2024). Một số yếu tố liên quan đến thông số tinh dịch đồ của nam giới đến khám tại bệnh viện Phụ sản Trung ương. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 534(2).
52. Dương Văn Sang, Cao Ngọc Thành, Lê Minh Tâm (2021). Chất lượng tinh trùng của nam giới ở các cặp vợ chồng vô sinh và một số yếu tố liên quan. *Tạp chí Phụ sản*, 19(1), 67-74.
53. Alengebawy A., Abdelkhalek S. T., Qureshi S. R., et al. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 9(3), 42.
54. De Felice F., Marchetti C., Marampon F., et al. (2019). Radiation effects on male fertility. *Andrology*, 7(1), 2-7.
55. Harris I. D., Fronczak C., Roth L., et al. (2011). Fertility and the aging male. *Reviews in urology*, 13(4), e184.
56. Jimbo M., Kunisaki J., Ghaed M., et al. (2022). Fertility in the aging male: a systematic review. *Fertility and sterility*, 118(6), 1022-1034.
57. Cavalhas-Almeida C., Cristo M. I., Cavadas C., et al. (2025). Sleep and male (In) Fertility: A comprehensive overview. *Sleep Medicine Reviews*, 102080.
58. Wagner H., Cheng J. W., & Ko E. Y. (2018). Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. *Arab journal of urology*, 16(1), 35-43.

59. Bieniek J. M., Lapin C. D., & Jarvi K. A. (2021). Genetics of CFTR and male infertility. *Translational andrology and urology*, 10(3), 1391.
60. Wang Y. H., Yan M., Zhang X., et al. (2021). Rescue of male infertility through correcting a genetic mutation causing meiotic arrest in spermatogonial stem cells. *Asian Journal of Andrology*, 23(6), 590-599.
61. Alkandari M. H., & Zini A. (2021). Medical management of non-obstructive azoospermia: A systematic review. *Arab Journal of Urology*, 19(3), 215-220.
62. Choy J. T., & Amory J. K. (2020). Nonsurgical management of oligozoospermia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(12), e4194-e4207.
63. Pelzman D. L., & Hwang K. (2021). Genetic testing for men with infertility: techniques and indications. *Translational Andrology and Urology*, 10(3), 1354.
64. Rahim N. G., Harismendy O., Topol E. J., et al. (2008). Genetic determinants of phenotypic diversity in humans. *Genome biology*, 9, 1-9.
65. Stormont G. D., & Deibert C. M. (2021). Genetic causes and management of male infertility. *Translational Andrology and Urology*, 10(3), 1365.
66. Lương Thị Lan Anh (2021). Kỹ nguyên mới của xét nghiệm di truyền. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 147(11), 38-46.
67. Aston K. I. (2014). Genetic susceptibility to male infertility: news from genome-wide association studies. *Andrology*, 2(3), 315-321.
68. Kikas T., Punab A. M., Kasak L., et al. (2023). Microdeletions and microduplications linked to severe congenital disorders in infertile men. *Scientific Reports*, 13(1), 574.
69. Eren K., Taktakoğlu N., & Pirim I. (2022). DNA sequencing methods: from past to present. *The Eurasian journal of medicine*, 54(Suppl 1), S47.
70. Tarach P. (2021). Application of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (RFLP-PCR) in the analysis of single

nucleotide polymorphisms (SNPs). *Acta Universitatis Lodziensis. Folia Biologica et Oecologica*, 17, 48-53.

71. Bhartiya D., & Patel H. (2021). An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. *Journal of ovarian research*, 14, 1-14.

72. Grigorova M., Rull K., & Laan M. (2007). Haplotype structure of FSHB, the beta-subunit gene for fertility-associated follicle-stimulating hormone: possible influence of balancing selection. *Annals of Human Genetics*, 71(1), 18-28.

73. Shah W., Khan R., Shah B., et al. (2021). The molecular mechanism of sex hormones on Sertoli cell development and proliferation. *Frontiers in endocrinology*, 12, 648141.

74. Wang J. M., Li Z. F., Yang W. X., et al. (2022). Follicle-stimulating hormone signaling in Sertoli cells: a licence to the early stages of spermatogenesis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 20(1), 97.

75. Ulloa-Aguirre A., Zariñán T., Jardón-Valadez E., et al. (2018). Structure-function relationships of the follicle-stimulating hormone receptor. *Frontiers in endocrinology*, 9, 707.

76. Banerjee A. A., Joseph S., & Mahale S. D. (2021). From cell surface to signalling and back: the life of the mammalian FSH receptor. *The FEBS Journal*, 288(8), 2673-2696.

77. Gheorghiu M. L. (2019). Actualities in mutations of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) receptors. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, 15(1), 139.

78. Ali A. R., Abdul-Rasheed O., & Alkawaz U. (2021). Follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene polymorphisms in Iraqi patients with non-obstructive azoospermia. *Baghdad Journal of Biochemistry and Applied Biological Sciences*, 2(04), 187-202.

79. Qureshi S., Bibi N., Ahmed J., et al. (2021). Computational screening of pathogenic non-synonymous SNPs of the human TEX11 gene and their structural and functional consequences. *Meta Gene*, 28, 100874.
80. Llano E., & Pendás A. M. (2023). Synaptonemal complex in human biology and disease. *Cells*, 12(13), 1718.
81. de Boer E., & Heyting C. (2006). The diverse roles of transverse filaments of synaptonemal complexes in meiosis. *Chromosoma*, 115(3), 220-234.
82. Song J., Sha Y., Liu X., et al. (2023). Novel mutations of TEX11 are associated with non-obstructive azoospermia. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1159723.
83. Iwamori T., Iwamori N., Ma L., et al. (2010). TEX14 interacts with CEP55 to block cell abscission. *Molecular and cellular biology*, 30(9), 2280-2292.
84. Mantovani G., Borgato S., Beck-Peccoz P., et al. (2003). Isolated follicle-stimulating hormone (FSH) deficiency in a young man with normal virilization who did not have mutations in the FSH β gene. *Fertility and sterility*, 79(2), 434-436.
85. Grigorova M., Punab M., Ausmees K., et al. (2008). FSHB promoter polymorphism within evolutionary conserved element is associated with serum FSH level in men. *Human Reproduction*, 23(9), 2160-2166.
86. Wu Q., Zhang J., Zhu P., et al. (2017). The susceptibility of FSHB-211G>T and FSHR G-29A, 919A>G, 2039A>G polymorphisms to men infertility: an association study and meta-analysis. *BMC Medical genetics*, 18(1), 81.
87. Ferlin A., Vinanzi C., Selice R., et al. (2011). Toward a pharmacogenetic approach to male infertility: polymorphism of follicle-stimulating hormone beta-subunit promoter. *Fertility and sterility*, 96(6), 1344-1349.
88. Tüttelmann F., Laan M., Grigorova M., et al. (2012). Combined effects of the variants FSHB– 211G>T and FSHR 2039A>G on male reproductive

parameters. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(10), 3639-3647.

89. Pengo M., Ferlin A., Arredi B., et al. (2006). FSH receptor gene polymorphisms in fertile and infertile Italian men. *Reproductive biomedicine online*, 13(6), 795-800.

90. Zhang X., Ding M., Ding X., et al. (2015). Six polymorphisms in genes involved in DNA double-strand break repair and chromosome synapsis: association with male infertility. *Systems biology in reproductive medicine*, 61(4), 187-193.

91. Behvarz M., Rahmani S. A., Siasi Torbati E., et al. (2022). Association of CATSPER1, SPATA16 and TEX11 genes polymorphism with idiopathic azoospermia and oligospermia risk in Iranian population. *BMC Medical Genomics*, 15(1), 47.

92. Yatsenko A. N., Georgiadis A. P., Röpke A., et al. (2015). X-linked TEX11 mutations, meiotic arrest, and azoospermia in infertile men. *New England Journal of Medicine*, 372(22), 2097-2107.

93. Yang F., Silber S., Leu N. A., et al. (2015). TEX 11 is mutated in infertile men with azoospermia and regulates genome-wide recombination rates in mouse. *EMBO molecular medicine*, 7(9), 1198-1210.

94. Krausz C., & Cioppi F. (2021). Genetic factors of non-obstructive azoospermia: consequences on patients' and offspring health. *Journal of Clinical Medicine*, 10(17), 4009.

95. Aston K. I., Krausz C., Laface I., et al. (2010). Evaluation of 172 candidate polymorphisms for association with oligozoospermia or azoospermia in a large cohort of men of European descent. *Human reproduction*, 25(6), 1383-1397.

96. Fakhro K. A., Elbardisi H., Arafa M., et al. (2018). Point-of-care whole-exome sequencing of idiopathic male infertility. *Genetics in Medicine*, 20(11), 1365-1373.

97. Vahedi M., & Sheidai M. (2021). Association study of RS535296987 in TEX14 gene in azoospermia men: RFLP and DNA sequencing. *Genetika*, 53(2), 729-737.
98. Cannarella R., Condorelli R. A., Mongioi L. M., et al. (2020). Molecular biology of spermatogenesis: novel targets of apparently idiopathic male infertility. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1728.
99. Nagirnaja L., Rull K., Uusküla L., et al. (2010). Genomics and genetics of gonadotropin beta-subunit genes: Unique FSHB and duplicated LHB/CGB loci. *Molecular and cellular endocrinology*, 329(1-2), 4-16.
100. Grigorova M., Punab M., Žilaitienė B., et al. (2011). Genetically determined dosage of follicle-stimulating hormone (FSH) affects male reproductive parameters. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(9), E1534-E1541.
101. Polyzos N. P., Neves A. R., Drakopoulos P., et al. (2021). The effect of polymorphisms in FSHR and FSHB genes on ovarian response: a prospective multicenter multinational study in Europe and Asia. *Human Reproduction*, 36(6), 1711-1721.
102. Krenz H., Sansone A., Kliesch S., et al. (2021). FSHB genotype identified as a relevant diagnostic parameter revealed by cluster analysis of men with idiopathic infertility. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 780403.
103. Zanganehnejad Z., Saberi A., Pezeshki M., et al. (2025). Investigating the association of FSHB-211G> T polymorphism with male infertility and reproductive parameters in the men from South-West of Iran. *Gene Reports*, 102254.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S245201442500127X>
104. Hekim N., Aydin M., Gunes S., et al. (2022). Follicle-stimulating hormone beta subunit and receptor variations in infertile men in Central Black Sea Region of Turkey. *Andrologia*, 54(5), e14383.

105. Benson C. A., Kurz T. L., & Thackray V. G. (2013). A human FSHB promoter SNP associated with low FSH levels in men impairs LHX3 binding and basal FSHB transcription. *Endocrinology*, 154(9), 3016-3021.
106. Stadhouders R., van den Heuvel A., Kolovos P., et al. (2012). Transcription regulation by distal enhancers: who's in the loop?. *Transcription*, 3(4), 181-186.
107. Chaudhuri G. R., Das A., Kesh S. B., et al. (2022). Obesity and male infertility: multifaceted reproductive disruption. *Middle East Fertility Society Journal*, 27(1), 8.
108. Sansone A., Di Dato C., de Angelis C., et al. (2018). Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility. *Reproductive biology and endocrinology*, 16(1), 3.
109. Ajayi A. F., Onaolapo M. C., Omole A. I., et al. (2023). Mechanism associated with changes in male reproductive functions during ageing process. *Experimental Gerontology*, 179, 112232.
110. Marić T., Fučić A., & Aghayanian A. (2021). Environmental and occupational exposures associated with male infertility. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 72(2), 101.
111. Andrabi S. W., Ara A., Saharan A., et al. (2024). Sperm DNA Fragmentation: causes, evaluation and management in male infertility. *JBRA assisted reproduction*, 28(2), 306.
112. Desai S. S., Roy B. S., & Mahale S. D. (2013). Mutations and polymorphisms in FSH receptor: functional implications in human reproduction. *Reproduction*, 146(6), R235-R248.
113. Grigorova M., Punab M., Poolamets O., et al. (2013). Study in 1790 Baltic men: FSHR Asn680Ser polymorphism affects total testes volume. *Andrology*, 1(2), 293-300.
114. Ghirelli-Filho M., Peluso C., Christofolini D. M., et al. (2012). Variants in follicle-stimulating hormone receptor gene in infertile Brazilian men and the

correlation to FSH serum levels and sperm count. *Reproductive Sciences*, 19(7), 733-739.

115. Ahda Y., Gromoll J., Wunsch A., et al. (2005). Follicle-stimulating hormone receptor gene haplotype distribution in normozoospermic and azoospermic men. *Journal of andrology*, 26(4), 494-499.

116. Balkan M., Gedik A., Akkoc H., et al. (2010). FSHR single nucleotide polymorphism frequencies in proven fathers and infertile men in Southeast Turkey. *BioMed Research International*, 2010(1), 640318.

117. Neves A. R., Garcia S., Vuong L. T., et al. (2023). Association between sequence variants in the FSHR gene and reproductive outcomes following IVF in predicted normoresponders. *Reproductive BioMedicine Online*, 46(5), 826-834.

118. Simoni M., Santi D., Negri L., et al. (2016). Treatment with human, recombinant FSH improves sperm DNA fragmentation in idiopathic infertile men depending on the FSH receptor polymorphism p. N680S: a pharmacogenetic study. *Human Reproduction*, 31(9), 1960-1969.

119. Selice R., Garolla A., Pengo M., et al. (2011). The response to FSH treatment in oligozoospermic men depends on FSH receptor gene polymorphisms. *International journal of andrology*, 34(4pt1), 306-312.

120. Ferlin A., Pengo M., Selice R., et al. (2008). Analysis of single nucleotide polymorphisms of FSH receptor gene suggests association with testicular cancer susceptibility. *Endocrine-Related Cancer*, 15(2), 429.

121. Bang A. K., Busch A. S., Almstrup K., et al. (2018). Is the FSHR 2039A>G variant associated with susceptibility to testicular germ cell cancer?. *Andrology*, 6(1), 176-183.

122. Ji Z., Yao C., Yang C., et al. (2021). Novel hemizygous mutations of TEX11 cause meiotic arrest and non-obstructive azoospermia in Chinese Han population. *Frontiers in Genetics*, 12, 741355.

123. Yu X. C., Li M. J., Cai F. F., et al. (2021). A new TEX11 mutation causes azoospermia and testicular meiotic arrest. *Asian journal of andrology*, 23(5), 510-515.
124. Kolmykov S., Vasiliev G., Osadchuk L., et al. (2021). Whole-exome sequencing analysis of human semen quality in Russian multiethnic population. *Frontiers in genetics*, 12, 662846.
125. Kamatani N., Sekine A., Kitamoto T., et al. (2004). Large-scale single-nucleotide polymorphism (SNP) and haplotype analyses, using dense SNP Maps, of 199 drug-related genes in 752 subjects: the analysis of the association between uncommon SNPs within haplotype blocks and the haplotypes constructed with haplotype-tagging SNPs. *The American Journal of Human Genetics*, 75(2), 190-203.
126. Ioannou D., Fortun J., & Tempest H. G. (2019). Meiotic nondisjunction and sperm aneuploidy in humans. *Reproduction*, 157(1), R15-R31.
127. Araujo T. F., Friedrich C., Grangeiro C. P., et al. (2020). Sequence analysis of 37 candidate genes for male infertility: challenges in variant assessment and validating genes. *Andrology*, 8(2), 434-441.
128. An M., Liu Y., Zhang M., et al. (2021). Targeted next-generation sequencing panel screening of 668 Chinese patients with non-obstructive azoospermia. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(8), 1997-2005.
129. Bang A. K., Almstrup K., Nordkap L., et al. (2021). FSHB and FSHR gene variants exert mild modulatory effect on reproductive hormone levels and testis size but not on semen quality: A study of 2020 men from the general Danish population. *Andrology*, 9(2), 618-631.
130. 1000 Genomes Project Consortium. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, 491(7422), 56.
131. Schubert M., Kaldewey S., Pérez Lanuza L., et al. (2020). Does the FSHB c.-211G> T polymorphism impact Sertoli cell number and the spermatogenic potential in infertile patients?. *Andrology*, 8(5), 1030-1037.

132. Tamburino L., La Vignera S., Tomaselli V., et al. (2017). Impact of the FSHB gene -211G/T polymorphism on male gonadal function. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(5), 671–676.
133. Zitzmann M., Schubert M., Sansone A., et al. (2023). Spontaneous alterations in semen parameters are associated with age, accessory gland function and the FSHB c.-211G> T variant. *Andrology*, 11(7), 1386-1397.
134. Busch A. S., Tüttelmann F., Zitzmann M., et al. (2015). The FSHB–211G> T variant attenuates serum FSH levels in the supraphysiological gonadotropin setting of Klinefelter syndrome. *European Journal of Human Genetics*, 23(5), 700-703.
135. Busch A. S., Tüttelmann F., Cremers J. F., et al. (2019). FSHB–211 G> T polymorphism as predictor for TESE success in patients with unexplained azoospermia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(6), 2315-2324.
136. Nguyễn Hoài Bắc, Trần Quốc Hòa, Đinh Quang Khải (2023). Đánh giá mối liên quan giữa thể tích với chức năng của tinh hoàn trên đối tượng nam giới đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 171(10):87-94.
137. Huang Y. P., Liu W., Liu Y. D., et al. (2018). Right testicular volume is a dominant predictor of testicular function determined by sperm parameters and total testosterone. *Andrologia*, 50(4), e12955.
138. Li L., Lin W., Wang Z., et al. (2024). Hormone regulation in testicular development and function. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5805.
139. Grande G., Barrachina F., Soler-Ventura A., et al. (2022). The role of testosterone in spermatogenesis: lessons from proteome profiling of human spermatozoa in testosterone deficiency. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 852661.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Phiếu thu thập thông tin của nhóm chứng

PHIẾU THĂM KHÁM

(Đối với người tham gia nghiên cứu một số biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* ở người bệnh vô tinh và thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân)

Mã người tham gia:

I. PHẦN HÀNH CHÍNH

1. Họ và tên: Giới: Tuổi:
2. Dân tộc: Số điện thoại:
3. Nghề nghiệp:
4. Quê quán:
5. Ngày thăm khám:
6. Bệnh viện:
7. Họ và tên Bác sĩ thăm khám:
Số điện thoại Bác sĩ thăm khám:

II. PHẦN CHUYÊN MÔN

1. Lý do đến viện:
2. Số con sinh học đã có:con. Phương pháp có con:
3. Tiền sử:
 - 3.1. **Bản thân:**
 - Tiền sử sử dụng các biện pháp hỗ trợ sinh sản:
Phương pháp hỗ trợ:
 - Sử dụng thuốc lá, thuốc lào:
 - + Tần xuất sử dụng:
 - + Số năm sử dụng: năm
 - + Số lượng/năm (tính theo số bao thuốc lá, mỗi bao thuốc lá gồm 20 điếu. Quy đổi 1 điếu thuốc lá = 1g thuốc lào sợi = 5 lần hút tương đương với 1/20 bao):
 - Sử dụng rượu, bia [01 đơn vị chuẩn=10 gram cồn nguyên chất = 3/4 lon/chai bia = 1 cốc bia hơi = 1 ly (40ml) rượu 40 độ = 1 ly (100ml) rượu vang/rượu nhẹ]:

- + Tần xuất sử dụng:
- + Số năm sử dụng: năm.
- + Số lượng (đơn vị chuẩn)/năm:
- Chế độ ngủ, nghỉ:
- Tiếp xúc hóa chất, phóng xạ: Số năm: năm
- Tiền sử bệnh lý vùng bẹn bìu (*Tuổi bị bệnh tại ô “Phải” hoặc “Trái”*):

Bệnh lý	Phải	Trái
Quai bị biến chứng viêm tinh hoàn (tuổi):		
Chấn thương tinh hoàn (tuổi):		
Bệnh lý khác (tuổi):		

- Tiền sử bệnh lý lây qua đường tình dục:
 - + Giang Mai:
 - + Lậu:
- Bệnh lý khác:
- Thuốc đang dùng thường xuyên:
- Đang sử dụng thuốc về sinh lý hoặc bệnh lý nam khoa:

3.2. Gia đình

Vô sinh nam:

4. Khám bệnh

4.1. Toàn thân

- Thể trạng: Chiều cao: m Cân nặng: kg
- Thời gian kiêng xuất tinh: ngày
- Tình trạng lông cơ thể:

4.2. Thăm khám vùng bẹn bìu

- Vị trí tinh hoàn:
 - + Bên phải:
 - + Bên trái:

- Thăm khám tinh hoàn, mào tinh, thường tinh :

Vị trí	Phải	Trái
Thể tích tinh hoàn (ml)		
Mào tinh		
Sờ ống dẫn tinh		
Giãn tĩnh mạch tinh		
Đặc điểm bất thường khác:		

5. Cận lâm sàng

5.1. Tinh dịch đồ

TT	Chỉ số xét nghiệm		Kết quả
1	Màu sắc		
2	Độ ly giải		
3	PH		
4	Độ nhớt		
5	Thể tích (ml)		
6	Mật độ tinh trùng (triệu/ml)		
7	Tổng số tinh trùng		
8	Độ di động	Tiến tới (PR) %	
		+ Nhanh (A) %	
		+ Chậm (B) %	
		Không tiến tới (NP) %	
		Di động (PR+NP) %	
		Bất động (IM) %	
9	Tỷ lệ tinh trùng sống %		
10	Hình thái bình thường %		
11	Đặc điểm khác		

5.2. Nội tiết tố

Chỉ số xét nghiệm	FSH	LH	Testosteron	Prolactin	Estradiol
Đơn vị tính	mIU/ml	mIU/ml	nmol/l	mIU/l	pg/ml
Kết quả					

5.3. Siêu âm tinh hoàn:

Vị trí	Phải	Trái
Kích thước (ml)		
Cấu trúc		
Mào tinh		
Tĩnh mạch tinh		
Đặc điểm bất thường khác		

5.6. Kết quả xét nghiệm khác:

- HIV:

- Giang mai:

6. Kết luận:

Hà Nội, ngày tháng..... năm 202...

BÁC SĨ THĂM KHÁM

.....

XÁC NHẬN CỦA BỆNH VIỆN

.....

Phụ lục 2. Phiếu thu thập thông tin của nhóm bệnh

PHIẾU THĂM KHÁM BỆNH NHÂN

(Đối với bệnh nhân tham gia nghiên cứu một số biến thể gen *FSHB*, *FSHR*, *TEX11* và *TEX14* ở người bệnh vô tinh và thiếu tinh nặng chưa rõ nguyên nhân)

Mã bệnh nhân:

I. PHẦN HÀNH CHÍNH

1. Họ và tên: Giới: Tuổi:
2. Dân tộc: Số điện thoại:
3. Nghề nghiệp:
4. Quê quán:
5. Ngày thăm khám:
6. Bệnh viện:
7. Họ và tên Bác sĩ thăm khám:
Số điện thoại Bác sĩ thăm khám:

II. PHẦN CHUYÊN MÔN

1. Lý do đến viện:
2. Số con sinh học đã có: con. Phương pháp có con:
3. Thời gian vô sinh: tháng
4. Tiền sử:
 - 4.1. **Bản thân:**
 - Tiền sử sử dụng các biện pháp hỗ trợ sinh sản:
Phương pháp hỗ trợ:
 - Sử dụng thuốc lá, thuốc lào:
 - + Tần xuất sử dụng:
 - + Số năm sử dụng: năm
 - + Số lượng/năm (tính theo số bao thuốc lá, mỗi bao thuốc lá gồm 20 điếu. Quy đổi 1 điếu thuốc lá = 1g thuốc lào sợi = 5 lần hút tương đương với 1/20 bao):
 - Sử dụng rượu, bia [01 đơn vị chuẩn=10 gram cồn nguyên chất = 3/4 lon/chai bia = 1 cốc bia hơi = 1 ly (40ml) rượu 40 độ = 1 ly (100ml) rượu vang/rượu nhẹ]:

- + Tần xuất sử dụng:
- + Số năm sử dụng: năm.
- + Số lượng (đơn vị chuẩn)/năm:
- Chế độ ngủ, nghỉ: **Thường xuyên ngủ đầy đủ 6-8 giờ/ngày.**
- Tiền sử bệnh lý vùng bẹn bìu (*Tuổi bị bệnh tại ô “Phải” hoặc “Trái”*):

Bệnh lý	Phải	Trái
Quai bị biến chứng viêm tinh hoàn (tuổi):		
Chấn thương tinh hoàn (tuổi):		
Bệnh lý khác (tuổi):		

- Tiền sử bệnh lý lây qua đường tình dục:
 - + Giang Mai:
 - + Lậu:
- Bệnh lý khác:
- Thuốc đang dùng thường xuyên:
- Đang sử dụng thuốc về sinh lý hoặc bệnh lý nam khoa:

4.2. Gia đình

Vô sinh nam:

Khám bệnh

5.1. Toàn thân

- Thể trạng: Chiều cao: m. Cân nặng: kg
- Thời gian kiêng xuất tinh: ngày
- Tình trạng lông cơ thể:

5.2. Thăm khám vùng bẹn bìu

- Vị trí tinh hoàn:
 - + Bên phải:
 - + Bên trái:

- Thăm khám tinh hoàn, mào tinh, thường tinh :

Vị trí	Phải	Trái
Thể tích tinh hoàn (ml)		
Mào tinh		
Sờ ống dẫn tinh		
Giãn tĩnh mạch tinh		
Đặc điểm bất thường khác:		

6. Cận lâm sàng

6.1. Tinh dịch đồ

TT	Chỉ số xét nghiệm		Kết quả
1	Màu sắc		
2	Độ ly giải		
3	PH		
4	Độ nhớt		
5	Thể tích (ml)		
6	Mật độ tinh trùng (triệu/ml)		
7	Tổng số tinh trùng		
8	Độ di động	Tiến tới (PR) %	
		+ Nhanh (A) %	
		+ Chậm (B) %	
		Không tiến tới (NP) %	
		Di động (PR+NP) %	
		Bất động (IM) %	
9	Tỷ lệ tinh trùng sống %		
10	Hình thái bình thường %		
11	Đặc điểm khác		

6.2. Nội tiết tố

Chỉ số xét nghiệm	FSH	LH	Testosteron	Prolactin	Estradiol
Đơn vị tính	mIU/ml	mIU/ml	nmol/l	mIU/l	pg/ml
Kết quả					

6.3. Siêu âm tinh hoàn:

Vị trí	Phải	Trái
Kích thước (ml)		
Cấu trúc		
Mào tinh		
Tĩnh mạch tinh		
Đặc điểm bất thường khác		

6.4. Kết quả xét nghiệm Nhiễm sắc thể đồ:

6.5. Kết quả xét nghiệm AZF:

6.6. Kết quả xét nghiệm khác:

- HIV:

- Giang mai:

7. Chẩn đoán:

Hà Nội, ngày tháng..... năm 202...

BÁC SĨ THĂM KHÁM

.....

XÁC NHẬN CỦA BỆNH VIỆN

.....

Phụ lục 3. Thông tin về nồng độ DNA toàn phần của các mẫu nghiên cứu

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
1	QMI-P3	46.7	1.82	35	QMI-P98	54.4	1.7
2	QMI-P4	42.8	1.84	36	QMI-P101	30.6	1.8
3	QMI-P5	49.2	1.85	37	QMI-P102	60.2	1.8
4	QMI-P6	44.2	1.81	38	QMI-P108	50.6	1.85
5	QMI-P13	37.4	1.84	39	QMI-P109	51.7	1.85
6	QMI-P14	61.2	1.85	40	QMI-P113	50.9	1.83
7	QMI-P18	47.7	1.84	41	QMI-P115	51.4	1.84
8	QMI-P19	52.1	1.85	42	QMI-P118	33.5	1.76
9	QMI-P22	58.9	1.87	43	QMI-P120	56.3	1.83
10	QMI-P25	43.1	1.85	44	QMI-P121	36.2	1.73
11	QMI-P26	63.1	1.83	45	QMI-P122	50.9	1.73
12	QMI-P28	71.7	1.84	46	QMI-P123	39.2	1.81
13	QMI-P31	73.8	1.85	47	QMI-P124	42.6	1.81
14	QMI-P32	30.1	1.83	48	QMI-P125	64.1	1.83
15	QMI-P34	78.9	1.8	49	QMI-P128	37.2	1.83
16	QMI-P35	75.4	1.85	50	QMI-P129	55.3	1.77
17	QMI-P43	53.1	1.83	51	QMI-P132	59.7	1.79
18	QMI-P44	56.9	1.85	52	QMI-P134	50.2	1.78
19	QMI-P47	84	1.85	53	QMI-P138	54.3	1.81
20	QMI-P51	84.2	1.85	54	QMI-P145	55.6	1.7
21	QMI-P53	64.2	1.8	55	QMI-P146	48.5	1.73
22	QMI-P56	43.6	1.83	56	QMI-P147	47.7	1.73
23	QMI-P58	84.3	1.85	57	QMI-P148	37	1.78
24	QMI-P72	55.9	1.78	58	QMI-P149	91.2	1.83
25	QMI-P74	63.5	1.75	59	QMI-P155	81.2	1.87
26	QMI-P80	56.2	1.83	60	QMI-P156	64.3	1.82
27	QMI-P83	46	1.83	61	QMI-P158	32.9	1.78
28	QMI-P86	134.1	1.86	62	QMI-P159	58	1.8
29	QMI-P87	60.2	1.87	63	QMI-P160	34.9	1.7
30	QMI-P88	81.3	1.84	64	QMI-P164	55.2	1.82
31	QMI-P90	73.5	1.85	65	QMI-P166	56.8	1.75
32	QMI-P92	74	1.87	66	QMI-P173	43.4	1.71
33	QMI-P94	58.7	1.86	67	QMI-P174	75.2	1.82
34	QMI-P96	60.2	1.74	68	QMI-P216	59.1	1.76

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
69	QMI-P231	44.9	1.78	104	QMI-P317	30.2	1.72
70	QMI-P233	39	1.78	105	QMI-P319	53.1	1.84
71	QMI-P245	68.4	1.85	106	QMI-P320	40.3	1.78
72	QMI-P249	33.1	1.84	107	QMI-P321	39.6	1.81
73	QMI-P263	37.8	1.7	108	QMI-P323	40	1.82
74	QMI-P265	45.5	1.85	109	QMI-P324	37.1	1.83
75	QMI-P269	56.2	1.87	110	QMI-P325	50	1.76
76	QMI-P275	45.8	1.83	111	QMI-P326	44.2	1.81
77	QMIP279	60.5	1.82	112	QMI-P327	60	1.78
78	QMI-P281	77.3	1.81	113	QMI-P328	61.8	1.75
79	QMI-P283	34.5	1.72	114	QMI-P329	77.1	1.79
80	QMI-P285	58.3	1.82	115	QMI-P332	31.5	1.78
81	QMI-P287	71.5	1.78	116	QMI-P333	39.5	1.81
82	QMI-P288	57.6	1.82	117	QMI-P334	72.7	1.83
83	QMI-P289	62.7	1.79	118	QMI-P335	37.6	1.8
84	QMI-P290	22.7	1.80	119	QMI-P344	53.7	1.8
85	QMI-P291	57.2	1.8	120	QMI-P345	40.1	1.81
86	QMI-P292	52.4	1.87	121	QMI-P346	47.7	1.78
87	QMI-P294	33.2	1.74	122	QMI-P347	46.8	1.81
88	QMI-P295	71.7	1.78	123	QMI-P349	35.5	1.72
89	QMI-P296	51.4	1.73	124	QMI-P352	69.3	1.75
90	QMI-P297	60.8	1.8	125	QMI-P354	39.3	1.82
91	QMI-P298	47.4	1.81	126	QMI-P355	72	1.84
92	QMI-P299	75.9	1.84	127	QMI-P356	63.8	1.82
93	QMI-P302	38.2	1.79	128	QMI-P358	48.1	1.72
94	QMI-P304	42.3	1.71	129	QMI-P359	46.6	1.83
95	QMI-P305	50	1.73	130	QMI-P360	61.1	1.82
96	QMI-P307	41.7	1.84	131	QMI-P361	35.8	1.72
97	QMI-P308	52.6	1.74	132	QMI-P362	53.2	1.71
98	QMI-P309	75.2	1.73	133	QMI-P363	53.9	1.82
99	QMI-P311	53.4	1.81	134	QMI-P364	85	1.85
100	QMI-P313	73.9	1.78	135	QMI-P365	43.9	1.8
101	QMI-P314	56.9	1.82	136	QMI-P366	47.6	1.8
102	QMI-P315	42.9	1.81	137	QMI-P367	59.2	1.85
103	QMI-P316	45.7	1.73	138	QMI-P368	62.4	1.83

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
139	QMI-P369	80.4	1.85	174	QMI-P410	72.5	1.87
140	QMI-P371	66.3	1.8	175	QMI-P411	97.7	1.85
141	QMI-P372	45.5	1.81	176	QMI-P412	40.5	1.84
142	QMI-P373	42.6	1.84	177	QMI-P413	30.7	1.78
143	QMI-P374	61.3	1.82	178	QMI-P415	69.6	1.86
144	QMI-P376	58.5	1.85	179	QMI-P417	52.3	1.8
145	QMI-P378	54.3	1.78	180	QMI-P418	52.3	1.82
146	QMI-P379	36.2	1.81	181	QMI-P419	47.5	1.81
147	QMI-P380	51.9	1.84	182	QMI-P420	33.5	1.8
148	QMI-P381	54.6	1.84	183	QMI-P421	58.6	1.83
149	QMI-P382	58.6	1.84	184	QMI-P422	60.1	1.83
150	QMI-P383	59.1	1.84	185	QMI-P423	45.8	1.84
151	QMI-P384	55.2	1.8	186	QMI-P424	31.2	1.78
152	QMI-P385	63.2	1.86	187	QMI-P425	73.6	1.85
153	QMI-P386	66.7	1.8	188	QMI-P426	41.6	1.8
154	QMI-P387	41.4	1.83	189	QMI-P427	41.8	1.81
155	QMI-P388	40	1.84	190	QMI-P428	38.4	1.85
156	QMI-P389	58.2	1.87	191	QMI-P429	48.8	1.83
157	QMI-P390	57.4	1.8	192	QMI-P431	59.3	1.77
158	QMI-P391	59.5	1.87	193	QMI-P433	61.9	1.78
159	QMI-P392	58.3	1.87	194	QMI-P434	35.5	1.79
160	QMI-P393	37.5	1.84	195	QMI-P436	34.1	1.81
161	QMI-P394	78.7	1.88	196	QMI-P437	34.1	1.79
162	QMI-P395	49	1.85	197	QMI-P438	76.9	1.83
163	QMI-P396	44.9	1.86	198	QMI-P439	53.5	1.85
164	QMI-P397	66.7	1.86	199	QMI-P440	81	1.82
165	QMI-P398	51.5	1.8	200	QMI-P441	64.1	1.83
166	QMI-P400	70.7	1.86	201	QMI-P442	55.5	1.85
167	QMI-P401	47.4	1.87	202	QMI-P443	68.1	1.86
168	QMI-P402	66	1.87	203	QMI-P444	51.1	1.82
169	QMI-P403	80.9	1.86	204	QMI-P445	22.3	1.81
170	QMI-P404	52	1.84	205	QMI-P446	38.5	1.86
171	QMI-P405	48.2	1.86	206	QMI-P447	34.8	1.84
172	QMI-P406	33.8	1.85	207	QMI-P448	40.9	1.85
173	QMI-P409	40.2	1.87	208	QMI-P449	32	1.85

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
209	QMI-P450	45.7	1.86	244	QMI-C43	65.5	1.81
210	QMI-P453	45.7	1.86	245	QMI-C44	41.2	1.8
211	QMI-C4	53.1	1.81	246	QMI-C45	73.6	1.86
212	QMI-C6	46.9	1.85	247	QMI-C46	73.3	1.84
213	QMI-C7	32	1.78	248	QMI-C47	75.1	1.84
214	QMI-C8	33	1.73	249	QMI-C48	59.1	1.83
215	QMI-C9	35.4	1.78	250	QMI-C49	32.5	1.85
216	QMI-C10	34.8	1.79	251	QMI-C51	51.5	1.85
217	QMI-C11	34.7	1.83	252	QMI-C52	76.3	1.85
218	QMI-C13	89.9	1.85	253	QMI-C54	52.4	1.83
219	QMI-C14	59.1	1.85	254	QMI-C55	43.8	1.7
220	QMI-C15	59.1	1.84	255	QMI-C57	81.6	1.89
221	QMI-C16	149.2	1.84	256	QMI-C58	50.5	1.84
222	QMI-C17	98.5	1.83	257	QMI-C59	66.7	1.85
223	QMI-C20	59.7	1.83	258	QMI-C60	68.6	1.85
224	QMI-C21	52.1	1.84	259	QMI-C61	78.8	1.83
225	QMI-C22	71.2	1.85	260	QMI-C62	52.7	1.79
226	QMI-C23	44.2	1.87	261	QMI-C63	40.4	1.82
227	QMI-C24	43.1	1.85	262	QMI-C64	72.3	1.83
228	QMI-C25	52.6	1.85	263	QMI-C68	40.7	1.86
229	QMI-C26	58.7	1.84	264	QMI-C69	49.2	1.85
230	QMI-C27	37.8	1.78	265	QMI-C70	41.9	1.86
231	QMI-C28	85.2	1.86	266	QMI-C71	59.8	1.88
232	QMI-C29	56.2	1.83	267	QMI-C72	86.3	1.84
233	QMI-C30	37.6	1.76	268	QMI-C74	72.9	1.83
234	QMI-C31	70.6	1.84	269	QMI-C75	96.5	1.84
235	QMI-C32	42.2	1.84	270	QMI-C76	62.8	1.84
236	QMI-C35	73.6	1.81	271	QMI-C77	52	1.85
237	QMI-C36	20.1	1.86	272	QMI-C78	75.3	1.85
238	QMI-C37	64.5	1.85	273	QMI-C79	54.9	1.82
239	QMI-C38	67.6	1.84	274	QMI-C80	88.4	1.83
240	QMI-C39	24.1	1.79	275	QMI-C81	58.8	1.83
241	QMI-C40	72.3	1.82	276	QMI-C82	63.1	1.82
242	QMI-C41	97.3	1.85	277	QMI-C83	53.1	1.79
243	QMI-C42	76.2	1.81	278	QMI-C84	66.1	1.85

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
279	QMI-C85	55.3	1.84	314	QMI-C126	41.3	1.8
280	QMI-C86	65.3	1.84	315	QMI-C127	58.2	1.84
281	QMI-C87	71.5	1.99	316	QMI-C128	53.9	1.82
282	QMI-C88	74.1	1.86	317	QMI-C129	42.4	1.82
283	QMI-C89	98	1.85	318	QMI-C130	49.2	1.8
284	QMI-C90	75.8	1.84	319	QMI-C131	49.8	1.83
285	QMI-C91	71.3	1.8	320	QMI-C132	66.3	1.73
286	QMI-C93	46.9	1.83	321	QMI-C133	72.9	1.82
287	QMI-C94	68.7	1.84	322	QMI-C134	53	1.82
288	QMI-C96	58.5	1.84	323	QMI-C135	46.1	1.81
289	QMI-C97	87.2	1.85	324	QMI-C136	45.5	1.83
290	QMI-C98	78.6	1.85	325	QMI-C137	65.2	1.7
291	QMI-C100	61.9	1.84	326	QMI-C138	59.5	1.81
292	QMI-C101	106.9	1.85	327	QMI-C139	64.6	1.83
293	QMI-C102	42.3	1.77	328	QMI-C140	51	1.82
294	QMI-C103	53.4	1.85	329	QMI-C141	51.6	1.84
295	QMI-C104	51	1.86	330	QMI-C142	37.7	1.84
296	QMI-C105	73.7	1.86	331	QMI-C143	19.2	1.79
297	QMI-C106	61.1	1.87	332	QMI-C144	28.3	1.81
298	QMI-C107	29.9	1.86	333	QMI-C146	52.4	1.84
299	QMI-C108	67.4	1.85	334	QMI-C147	32	1.78
300	QMI-C111	44	1.84	335	QMI-C148	46	1.81
301	QMI-C112	56.7	1.86	336	QMI-C149	54	1.88
302	QMI-C113	48.8	1.86	337	QMI-C150	42.3	1.82
303	QMI-C114	47.1	1.85	338	QMI-C151	37.8	1.83
304	QMI-C115	43.2	1.85	339	QMI-C152	46.6	1.89
305	QMI-C116	90.9	1.85	340	QMI-C154	38.9	1.84
306	QMI-C117	32.7	1.86	341	QMI-C155	36.5	1.81
307	QMI-C118	88.4	1.84	342	QMI-C156	53.6	1.89
308	QMI-C119	63.7	1.86	343	QMI-C157	75.2	1.8
309	QMI-C120	58.4	1.85	344	QMI-C158	47.7	1.83
310	QMI-C121	52.5	1.79	345	QMI-C159	53.1	1.82
311	QMI-C123	54.2	1.83	346	QMI-C161	39.5	1.88
312	QMI-C124	63.1	1.83	347	QMI-C162	60.4	1.72
313	QMI-C125	39.2	1.77	348	QMI-C163	64.6	1.83

TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)	TT	Mã mẫu	Nồng độ (ng/μL)	OD (A260/ A280)
349	QMI-C164	66.6	1.71	380	QMI-C209	26.4	1.76
350	QMI-C165	51.7	1.88	381	QMI-C211	25.8	1.72
351	QMI-C166	53.7	1.86	382	QMI-C212	27.2	1.8
352	QMI-C167	62.2	1.84	383	QMI-C213	58.5	1.81
353	QMI-C168	77.4	1.85	384	QMI-C214	41.9	1.82
354	QMI-C169	65.6	1.82	385	QMI-C217	27.1	1.8
355	QMI-C170	42.4	1.83	386	QMI-C222	36.1	1.84
356	QMI-C171	39.2	1.85	387	QMI-C223	42.5	1.78
357	QMI-C172	33.4	1.86	388	QMI-C228	28.3	1.79
358	QMI-C173	86.7	1.84	389	QMI-C230	47.8	1.73
359	QMI-C174	75.4	1.86	390	QMI-C232	28.2	1.78
360	QMI-C175	36.9	1.88	391	QMI-C233	23.5	1.72
361	QMI-C177	60.9	1.86	392	QMI-C234	30.3	1.72
362	QMI-C178	58.2	1.89	393	QMI-C235	34.7	1.74
363	QMI-C179	31.3	1.8	394	QMI-C237	85	1.84
364	QMI-C180	38.7	1.83	395	QMI-C238	75.9	1.83
365	QMI-C182	53.7	1.84	396	QMI-C239	65.7	1.85
366	QMI-C183	76.8	1.86	397	QMI-C240	61	1.79
367	QMI-C185	55.1	1.87	398	QMI-C242	42.5	1.82
368	QMI-C188	31.6	1.75	399	QMI-C244	69.5	1.85
369	QMI-C189	31.3	1.78	400	QMI-C245	81.6	1.85
370	QMI-C191	45.1	1.8	401	QMI-C249	55.9	1.81
371	QMI-C192	31.5	1.7	402	QMI-C250	64	1.84
372	QMI-C193	66.9	1.83	403	QMI-C252	55.9	1.93
373	QMI-C194	46.7	1.75	404	QMI-C253	75.1	1.85
374	QMI-C197	32.4	1.8	405	QMI-C255	93.5	1.84
375	QMI-C198	54.6	1.79	406	QMI-C256	61.6	1.77
376	QMI-C202	30.6	1.78	407	QMI-C257	71.4	1.85
377	QMI-C203	60.3	1.75	408	QMI-C258	89	1.85
378	QMI-C205	72.6	1.82	409	QMI-C259	122.7	1.78
379	QMI-C208	21.9	1.73	410	QMI-C263	89.5	1.86

Phụ lục 4. Thông tin kiểu gen các mẫu nghiên cứu

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB</i>- rs10835638	<i>FSHR</i>- rs6166	<i>TEX11</i>- rs4844247	<i>TEX14</i>- rs79813370
1	QMI-P3	Bệnh	GG	GA	C	GT
2	QMI-P4	Bệnh	GG	GA	C	GG
3	QMI-P5	Bệnh	GG	AA	C	GT
4	QMI-P6	Bệnh	GG	GA	C	GG
5	QMI-P13	Bệnh	GG	GA	C	GG
6	QMI-P14	Bệnh	GG	GA	C	GG
7	QMI-P18	Bệnh	GG	GG	C	GG
8	QMI-P19	Bệnh	GG	AA	C	GG
9	QMI-P22	Bệnh	GT	GA	C	GG
10	QMI-P25	Bệnh	GG	AA	C	GG
11	QMI-P26	Bệnh	GG	AA	C	GG
12	QMI-P28	Bệnh	GG	AA	C	GG
13	QMI-P31	Bệnh	GG	AA	C	GG
14	QMI-P32	Bệnh	GG	GA	C	GG
15	QMI-P34	Bệnh	GG	AA	C	GG
16	QMI-P35	Bệnh	GG	GA	C	TT
17	QMI-P43	Bệnh	GG	GA	C	GG
18	QMI-P44	Bệnh	GG	GA	T	GG
19	QMI-P47	Bệnh	GG	GA	C	GT
20	QMI-P51	Bệnh	GG	AA	C	GG
21	QMI-P53	Bệnh	GG	AA	C	GG
22	QMI-P56	Bệnh	GG	GG	C	GG
23	QMI-P58	Bệnh	GG	GA	C	GG
24	QMI-P72	Bệnh	GG	AA	C	GG
25	QMI-P74	Bệnh	GG	GA	C	GG
26	QMI-P80	Bệnh	GG	AA	C	GT
27	QMI-P83	Bệnh	GG	GG	C	GG
28	QMI-P86	Bệnh	GG	GA	C	GT
29	QMI-P87	Bệnh	GG	AA	T	GG
30	QMI-P88	Bệnh	GG	GA	C	GG
31	QMI-P90	Bệnh	GT	GA	T	GG
32	QMI-P92	Bệnh	GG	GA	C	GG
33	QMI-P94	Bệnh	GT	GA	C	GG
34	QMI-P96	Bệnh	GG	AA	C	GG
35	QMI-P98	Bệnh	GG	GG	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
36	QMI-P101	Bệnh	GG	AA	C	GG
37	QMI-P102	Bệnh	GG	AA	C	GG
38	QMI-P108	Bệnh	GT	GA	C	GG
39	QMI-P109	Bệnh	GG	GA	T	GT
40	QMI-P113	Bệnh	GG	AA	C	GG
41	QMI-P115	Bệnh	GG	GG	T	GG
42	QMI-P118	Bệnh	GG	AA	T	GG
43	QMI-P120	Bệnh	GG	GG	T	GG
44	QMI-P121	Bệnh	GG	AA	C	GG
45	QMI-P122	Bệnh	GG	GG	C	GG
46	QMI-P123	Bệnh	GG	GA	C	GG
47	QMI-P124	Bệnh	GG	GA	T	GG
48	QMI-P125	Bệnh	GG	GA	T	GG
49	QMI-P128	Bệnh	GG	GA	C	GT
50	QMI-P129	Bệnh	GG	AA	C	GG
51	QMI-P132	Bệnh	GG	AA	C	GG
52	QMI-P134	Bệnh	GG	GA	C	GT
53	QMI-P138	Bệnh	GG	GA	C	GG
54	QMI-P145	Bệnh	GG	GA	C	GG
55	QMI-P146	Bệnh	GG	AA	T	GT
56	QMI-P147	Bệnh	GG	AA	C	GG
57	QMI-P148	Bệnh	GG	GA	C	GT
58	QMI-P149	Bệnh	GG	AA	C	GG
59	QMI-P155	Bệnh	GG	AA	C	GG
60	QMI-P156	Bệnh	GG	AA	C	GG
61	QMI-P158	Bệnh	GG	GA	C	GT
62	QMI-P159	Bệnh	GG	AA	C	GG
63	QMI-P160	Bệnh	GG	AA	C	GG
64	QMI-P164	Bệnh	GG	GA	C	GG
65	QMI-P166	Bệnh	GG	GG	C	GG
66	QMI-P173	Bệnh	GG	GA	C	GT
67	QMI-P174	Bệnh	GG	GG	C	GG
68	QMI-P216	Bệnh	GG	AA	C	GG
69	QMI-P231	Bệnh	GG	AA	C	GG
70	QMI-P233	Bệnh	GG	AA	C	GG
71	QMI-P245	Bệnh	GG	GA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
72	QMI-P249	Bệnh	GG	GA	C	GT
73	QMI-P263	Bệnh	GG	AA	C	GG
74	QMI-P265	Bệnh	GG	AA	C	GG
75	QMI-P269	Bệnh	GG	GA	C	GG
76	QMI-P275	Bệnh	GG	GA	C	GG
77	QMIP279	Bệnh	GG	AA	C	GG
78	QMI-P281	Bệnh	GG	GA	C	GG
79	QMI-P283	Bệnh	GG	AA	C	GG
80	QMI-P285	Bệnh	GG	AA	C	GG
81	QMI-P287	Bệnh	GG	AA	C	GG
82	QMI-P288	Bệnh	GG	GA	C	GG
83	QMI-P289	Bệnh	GG	AA	C	GG
84	QMI-P290	Bệnh	GG	GA	C	GG
85	QMI-P291	Bệnh	GG	AA	T	GT
86	QMI-P292	Bệnh	GG	GA	C	GG
87	QMI-P294	Bệnh	GT	AA	C	GG
88	QMI-P295	Bệnh	GG	GA	C	GG
89	QMI-P296	Bệnh	GG	GA	C	GG
90	QMI-P297	Bệnh	GG	GG	C	GG
91	QMI-P298	Bệnh	GG	GA	C	GG
92	QMI-P299	Bệnh	GG	GA	C	GG
93	QMI-P302	Bệnh	GG	GA	C	GG
94	QMI-P304	Bệnh	GT	GA	C	GT
95	QMI-P305	Bệnh	GT	GA	T	GT
96	QMI-P307	Bệnh	GT	AA	C	GG
97	QMI-P308	Bệnh	GT	GA	T	GG
98	QMI-P309	Bệnh	GG	AA	C	GG
99	QMI-P311	Bệnh	GG	AA	C	GG
100	QMI-P313	Bệnh	GG	AA	C	GG
101	QMI-P314	Bệnh	GG	AA	C	GG
102	QMI-P315	Bệnh	GG	GA	C	GT
103	QMI-P316	Bệnh	GG	AA	C	GG
104	QMI-P317	Bệnh	GG	AA	C	GG
105	QMI-P319	Bệnh	GG	AA	C	GG
106	QMI-P320	Bệnh	GG	GA	C	GG
107	QMI-P321	Bệnh	GG	AA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
108	QMI-P323	Bệnh	GG	AA	C	GG
109	QMI-P324	Bệnh	GG	GA	C	GG
110	QMI-P325	Bệnh	GG	GG	T	GG
111	QMI-P326	Bệnh	GT	GA	C	GT
112	QMI-P327	Bệnh	GG	GA	C	GG
113	QMI-P328	Bệnh	GG	AA	C	GT
114	QMI-P329	Bệnh	GG	AA	T	GG
115	QMI-P332	Bệnh	GG	GG	C	GG
116	QMI-P333	Bệnh	GG	GG	C	GG
117	QMI-P334	Bệnh	GG	GA	C	GG
118	QMI-P335	Bệnh	GG	AA	T	GG
119	QMI-P344	Bệnh	GG	GA	C	GG
120	QMI-P345	Bệnh	GG	GA	C	GG
121	QMI-P346	Bệnh	GG	AA	T	GG
122	QMI-P347	Bệnh	GG	AA	C	GG
123	QMI-P349	Bệnh	GG	AA	C	GG
124	QMI-P352	Bệnh	GG	GG	C	GG
125	QMI-P354	Bệnh	GG	AA	T	GG
126	QMI-P355	Bệnh	GG	AA	C	GG
127	QMI-P356	Bệnh	GG	GA	C	GG
128	QMI-P358	Bệnh	GG	GA	C	GG
129	QMI-P359	Bệnh	GG	AA	C	GG
130	QMI-P360	Bệnh	GG	GA	C	GG
131	QMI-P361	Bệnh	GG	GG	T	GG
132	QMI-P362	Bệnh	GG	GA	C	GG
133	QMI-P363	Bệnh	GG	AA	C	GG
134	QMI-P364	Bệnh	GG	AA	C	GG
135	QMI-P365	Bệnh	GG	GA	C	GG
136	QMI-P366	Bệnh	GG	AA	C	GG
137	QMI-P367	Bệnh	GG	GA	C	GG
138	QMI-P368	Bệnh	GG	AA	C	GG
139	QMI-P369	Bệnh	GG	AA	C	GG
140	QMI-P371	Bệnh	GG	AA	C	GG
141	QMI-P372	Bệnh	GG	AA	C	GG
142	QMI-P373	Bệnh	GG	AA	C	GT
143	QMI-P374	Bệnh	GG	AA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
144	QMI-P376	Bệnh	GG	GA	C	GG
145	QMI-P378	Bệnh	GG	GG	C	GG
146	QMI-P379	Bệnh	GG	GA	T	GG
147	QMI-P380	Bệnh	GG	GG	C	GG
148	QMI-P381	Bệnh	GG	AA	C	GG
149	QMI-P382	Bệnh	GG	GG	C	GT
150	QMI-P383	Bệnh	GT	AA	C	GG
151	QMI-P384	Bệnh	GG	AA	C	GG
152	QMI-P385	Bệnh	GG	GG	C	GG
153	QMI-P386	Bệnh	GG	AA	C	GT
154	QMI-P387	Bệnh	GG	GG	C	GT
155	QMI-P388	Bệnh	GG	AA	C	GT
156	QMI-P389	Bệnh	GG	AA	C	GG
157	QMI-P390	Bệnh	GG	AA	C	GG
158	QMI-P391	Bệnh	GG	GG	C	GG
159	QMI-P392	Bệnh	GG	GA	T	GG
160	QMI-P393	Bệnh	GG	AA	C	GG
161	QMI-P394	Bệnh	GG	GA	C	GG
162	QMI-P395	Bệnh	GG	GG	C	GG
163	QMI-P396	Bệnh	GG	GA	C	GT
164	QMI-P397	Bệnh	GG	GG	C	GG
165	QMI-P398	Bệnh	GG	GG	C	GG
166	QMI-P400	Bệnh	GG	GG	C	GT
167	QMI-P401	Bệnh	GG	GA	C	GT
168	QMI-P402	Bệnh	GG	AA	C	TT
169	QMI-P403	Bệnh	GG	GA	C	GT
170	QMI-P404	Bệnh	GG	AA	C	GG
171	QMI-P405	Bệnh	GG	GA	C	GG
172	QMI-P406	Bệnh	GG	AA	C	GT
173	QMI-P409	Bệnh	GG	AA	T	GG
174	QMI-P410	Bệnh	GG	AA	C	GG
175	QMI-P411	Bệnh	GG	GA	C	GT
176	QMI-P412	Bệnh	GG	AA	C	GG
177	QMI-P413	Bệnh	GG	GA	C	GG
178	QMI-P415	Bệnh	GG	AA	C	GG
179	QMI-P417	Bệnh	GG	GA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
180	QMI-P418	Bệnh	GT	AA	C	GG
181	QMI-P419	Bệnh	GG	AA	C	GG
182	QMI-P420	Bệnh	GG	GA	T	GG
183	QMI-P421	Bệnh	GG	AA	C	GG
184	QMI-P422	Bệnh	GG	AA	C	GG
185	QMI-P423	Bệnh	GG	GA	C	GG
186	QMI-P424	Bệnh	GG	GA	C	GG
187	QMI-P425	Bệnh	GG	GA	T	GG
188	QMI-P426	Bệnh	GG	AA	C	GG
189	QMI-P427	Bệnh	GG	AA	C	GG
190	QMI-P428	Bệnh	GG	GA	C	GG
191	QMI-P429	Bệnh	GG	GA	C	GG
192	QMI-P431	Bệnh	GG	AA	T	GG
193	QMI-P433	Bệnh	GG	GA	C	GG
194	QMI-P434	Bệnh	GG	AA	C	GG
195	QMI-P436	Bệnh	GG	GA	C	GG
196	QMI-P437	Bệnh	GT	AA	T	GG
197	QMI-P438	Bệnh	GG	GA	C	GT
198	QMI-P439	Bệnh	GG	AA	C	GG
199	QMI-P440	Bệnh	GT	GA	T	GT
200	QMI-P441	Bệnh	GG	AA	C	GG
201	QMI-P442	Bệnh	GG	GA	T	GG
202	QMI-P443	Bệnh	GG	GA	C	GG
203	QMI-P444	Bệnh	GG	GA	C	GG
204	QMI-P445	Bệnh	GG	GA	C	GG
205	QMI-P446	Bệnh	GG	GA	C	GT
206	QMI-P447	Bệnh	GG	GA	C	GG
207	QMI-P448	Bệnh	GG	AA	C	GT
208	QMI-P449	Bệnh	GG	AA	C	GG
209	QMI-P450	Bệnh	GT	AA	C	GG
210	QMI-P453	Bệnh	GT	GA	T	GG
211	QMI-C4	Chứng	GG	GA	C	GG
212	QMI-C6	Chứng	GG	GA	C	GG
213	QMI-C7	Chứng	GG	AA	C	GG
214	QMI-C8	Chứng	GG	AA	C	GG
215	QMI-C9	Chứng	GT	AA	C	GT

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
216	QMI-C10	Chứng	GG	GA	C	GT
217	QMI-C11	Chứng	GG	GG	C	GG
218	QMI-C13	Chứng	GG	GA	C	GG
219	QMI-C14	Chứng	GG	GA	C	GT
220	QMI-C15	Chứng	GG	GA	C	GG
221	QMI-C16	Chứng	GG	GA	C	GG
222	QMI-C17	Chứng	GG	GA	C	GG
223	QMI-C20	Chứng	GG	GA	C	GT
224	QMI-C21	Chứng	GG	AA	C	GT
225	QMI-C22	Chứng	GG	GA	C	GT
226	QMI-C23	Chứng	GG	GA	C	GG
227	QMI-C24	Chứng	GG	GA	C	GG
228	QMI-C25	Chứng	GG	AA	C	GG
229	QMI-C26	Chứng	GG	GA	C	GG
230	QMI-C27	Chứng	GG	GA	C	GG
231	QMI-C28	Chứng	GG	GG	T	GG
232	QMI-C29	Chứng	GG	AA	T	GT
233	QMI-C30	Chứng	GG	GA	C	GG
234	QMI-C31	Chứng	GG	AA	T	GT
235	QMI-C32	Chứng	GG	AA	C	GG
236	QMI-C35	Chứng	GG	GA	C	GG
237	QMI-C36	Chứng	GG	GG	T	GT
238	QMI-C37	Chứng	GG	AA	C	GG
239	QMI-C38	Chứng	GG	AA	C	GG
240	QMI-C39	Chứng	GG	GG	C	GT
241	QMI-C40	Chứng	GG	GA	C	GG
242	QMI-C41	Chứng	GG	GA	C	GG
243	QMI-C42	Chứng	GG	AA	C	GG
244	QMI-C43	Chứng	GG	GG	C	GG
245	QMI-C44	Chứng	GG	GA	C	GG
246	QMI-C45	Chứng	GG	GA	C	TT
247	QMI-C46	Chứng	GG	GA	C	GG
248	QMI-C47	Chứng	GG	AA	T	GG
249	QMI-C48	Chứng	GG	GA	C	GG
250	QMI-C49	Chứng	GG	AA	C	GG
251	QMI-C51	Chứng	GG	AA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
252	QMI-C52	Chứng	GG	GA	C	GG
253	QMI-C54	Chứng	GG	GA	C	GG
254	QMI-C55	Chứng	GT	AA	T	GG
255	QMI-C57	Chứng	GG	GA	C	GT
256	QMI-C58	Chứng	GG	GA	C	GG
257	QMI-C59	Chứng	GG	GG	C	GG
258	QMI-C60	Chứng	GG	AA	C	GG
259	QMI-C61	Chứng	GG	GA	C	GG
260	QMI-C62	Chứng	GG	AA	T	GG
261	QMI-C63	Chứng	GG	AA	C	GT
262	QMI-C64	Chứng	GG	GA	C	GG
263	QMI-C68	Chứng	GG	AA	C	GG
264	QMI-C69	Chứng	GG	AA	C	GG
265	QMI-C70	Chứng	GG	GA	C	GG
266	QMI-C71	Chứng	GG	AA	C	GG
267	QMI-C72	Chứng	GG	AA	C	GG
268	QMI-C74	Chứng	GG	GA	C	GG
269	QMI-C75	Chứng	GG	AA	C	GT
270	QMI-C76	Chứng	GG	GA	C	GG
271	QMI-C77	Chứng	GG	GA	C	GG
272	QMI-C78	Chứng	GG	AA	C	GG
273	QMI-C79	Chứng	GG	GG	C	GG
274	QMI-C80	Chứng	GT	AA	C	GG
275	QMI-C81	Chứng	GG	AA	C	GT
276	QMI-C82	Chứng	GG	GA	C	GT
277	QMI-C83	Chứng	GG	GA	C	GT
278	QMI-C84	Chứng	GG	GG	C	GG
279	QMI-C85	Chứng	GG	GA	C	TT
280	QMI-C86	Chứng	GG	AA	C	GG
281	QMI-C87	Chứng	GG	AA	C	GG
282	QMI-C88	Chứng	GG	GA	C	GG
283	QMI-C89	Chứng	GG	GG	C	GG
284	QMI-C90	Chứng	GG	GA	C	GG
285	QMI-C91	Chứng	GG	GA	C	GG
286	QMI-C93	Chứng	GG	GA	T	GG
287	QMI-C94	Chứng	GG	AA	T	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
288	QMI-C96	Chứng	GG	GA	C	GG
289	QMI-C97	Chứng	GG	AA	C	GT
290	QMI-C98	Chứng	GT	AA	C	GT
291	QMI-C100	Chứng	GG	AA	C	GG
292	QMI-C101	Chứng	GG	GA	C	GG
293	QMI-C102	Chứng	GG	AA	C	GG
294	QMI-C103	Chứng	GG	GA	C	GG
295	QMI-C104	Chứng	GG	AA	C	GG
296	QMI-C105	Chứng	GG	GG	T	GG
297	QMI-C106	Chứng	GG	AA	T	GG
298	QMI-C107	Chứng	GG	AA	C	GG
299	QMI-C108	Chứng	GG	GA	C	GG
300	QMI-C111	Chứng	GG	GA	T	GT
301	QMI-C112	Chứng	GG	GA	C	GG
302	QMI-C113	Chứng	GG	AA	C	GT
303	QMI-C114	Chứng	GG	GA	C	GG
304	QMI-C115	Chứng	GG	AA	C	GT
305	QMI-C116	Chứng	GG	GA	C	GG
306	QMI-C117	Chứng	GG	AA	C	GG
307	QMI-C118	Chứng	GG	AA	T	GG
308	QMI-C119	Chứng	GG	GA	T	GG
309	QMI-C120	Chứng	GG	GG	C	GG
310	QMI-C121	Chứng	GG	AA	C	GT
311	QMI-C123	Chứng	GG	AA	C	GG
312	QMI-C124	Chứng	GG	GA	C	GG
313	QMI-C125	Chứng	GG	AA	T	GG
314	QMI-C126	Chứng	GG	GA	C	GG
315	QMI-C127	Chứng	GG	AA	C	GG
316	QMI-C128	Chứng	GG	AA	C	GG
317	QMI-C129	Chứng	GG	AA	C	GT
318	QMI-C130	Chứng	GG	GG	C	GG
319	QMI-C131	Chứng	GG	AA	C	GG
320	QMI-C132	Chứng	GG	GA	T	GT
321	QMI-C133	Chứng	GG	GG	T	GG
322	QMI-C134	Chứng	GG	AA	C	GG
323	QMI-C135	Chứng	GG	AA	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
324	QMI-C136	Chứng	GG	AA	C	GG
325	QMI-C137	Chứng	GG	AA	C	GT
326	QMI-C138	Chứng	GG	GA	C	GG
327	QMI-C139	Chứng	GG	GA	C	GG
328	QMI-C140	Chứng	GG	GG	C	GG
329	QMI-C141	Chứng	GG	GG	C	GG
330	QMI-C142	Chứng	GG	AA	C	GG
331	QMI-C143	Chứng	GG	AA	C	GG
332	QMI-C144	Chứng	GG	GA	C	GG
333	QMI-C146	Chứng	GG	GA	C	GG
334	QMI-C147	Chứng	GG	AA	C	GG
335	QMI-C148	Chứng	GG	GA	T	GT
336	QMI-C149	Chứng	GG	GA	C	GT
337	QMI-C150	Chứng	GG	GA	C	GG
338	QMI-C151	Chứng	GG	GG	C	GG
339	QMI-C152	Chứng	GG	AA	C	GG
340	QMI-C154	Chứng	GG	GA	C	GG
341	QMI-C155	Chứng	GG	AA	C	GG
342	QMI-C156	Chứng	GG	GA	C	GG
343	QMI-C157	Chứng	GG	GA	C	GG
344	QMI-C158	Chứng	GG	AA	C	GG
345	QMI-C159	Chứng	GG	AA	C	GG
346	QMI-C161	Chứng	GG	GA	C	GG
347	QMI-C162	Chứng	GG	AA	T	GG
348	QMI-C163	Chứng	GG	GA	C	GG
349	QMI-C164	Chứng	GG	GA	C	GG
350	QMI-C165	Chứng	GG	AA	C	GG
351	QMI-C166	Chứng	GG	AA	C	GG
352	QMI-C167	Chứng	GG	AA	C	GG
353	QMI-C168	Chứng	GG	AA	C	GG
354	QMI-C169	Chứng	GG	GA	T	GT
355	QMI-C170	Chứng	GG	GA	C	GG
356	QMI-C171	Chứng	GG	AA	C	GG
357	QMI-C172	Chứng	GG	GA	C	GG
358	QMI-C173	Chứng	GG	GA	C	GG
359	QMI-C174	Chứng	GG	AA	T	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
360	QMI-C175	Chứng	GG	AA	C	GG
361	QMI-C177	Chứng	GG	AA	C	GT
362	QMI-C178	Chứng	GG	GA	C	GG
363	QMI-C179	Chứng	GG	GA	T	GG
364	QMI-C180	Chứng	GG	AA	C	GT
365	QMI-C182	Chứng	GG	AA	C	GG
366	QMI-C183	Chứng	GG	GA	C	GG
367	QMI-C185	Chứng	GG	GA	C	GG
368	QMI-C188	Chứng	GG	GA	C	GG
369	QMI-C189	Chứng	GG	AA	C	GG
370	QMI-C191	Chứng	GG	AA	C	GG
371	QMI-C192	Chứng	GT	GG	C	GG
372	QMI-C193	Chứng	GG	AA	C	GG
373	QMI-C194	Chứng	GG	GG	C	GG
374	QMI-C197	Chứng	GG	GA	C	GG
375	QMI-C198	Chứng	GG	GG	C	GG
376	QMI-C202	Chứng	GG	GA	C	GG
377	QMI-C203	Chứng	GG	GG	C	GG
378	QMI-C205	Chứng	GG	AA	C	GG
379	QMI-C208	Chứng	GG	AA	C	GG
380	QMI-C209	Chứng	GG	GA	C	GG
381	QMI-C211	Chứng	GG	GA	T	GG
382	QMI-C212	Chứng	GG	GA	C	GG
383	QMI-C213	Chứng	GT	AA	C	GG
384	QMI-C214	Chứng	GG	AA	C	GG
385	QMI-C217	Chứng	GG	AA	C	GG
386	QMI-C222	Chứng	GG	AA	C	GG
387	QMI-C223	Chứng	GG	AA	C	GT
388	QMI-C228	Chứng	GG	AA	C	GG
389	QMI-C230	Chứng	GG	AA	C	GT
390	QMI-C232	Chứng	GG	GA	C	GG
391	QMI-C233	Chứng	GG	GA	C	GG
392	QMI-C234	Chứng	GG	AA	T	GG
393	QMI-C235	Chứng	GG	AA	T	GG
394	QMI-C237	Chứng	GG	GA	C	GG
395	QMI-C238	Chứng	GG	GG	C	GG

TT	Mã mẫu	Ghi chú	<i>FSHB-</i> rs10835638	<i>FSHR-</i> rs6166	<i>TEX11-</i> rs4844247	<i>TEX14-</i> rs79813370
396	QMI-C239	Chứng	GG	GA	C	GG
397	QMI-C240	Chứng	GG	GA	C	GG
398	QMI-C242	Chứng	GG	AA	C	GT
399	QMI-C244	Chứng	GG	GA	C	GT
400	QMI-C245	Chứng	GG	GA	C	GG
401	QMI-C249	Chứng	GG	GG	C	GT
402	QMI-C250	Chứng	GG	AA	T	GG
403	QMI-C252	Chứng	GG	GA	C	GG
404	QMI-C253	Chứng	GG	GA	C	GG
405	QMI-C255	Chứng	GG	GG	C	GG
406	QMI-C256	Chứng	GG	AA	C	GG
407	QMI-C257	Chứng	GG	AA	C	GG
408	QMI-C258	Chứng	GG	AA	C	GG
409	QMI-C259	Chứng	GG	GA	C	GG
410	QMI-C263	Chứng	GG	AA	C	GG

Phụ lục 5. Cân bằng di truyền Hardy-Weinberg của các biến thể gen nghiên cứu

Biến thể *FSHB* rs10835638

	GG	GT	TT	Giá trị <i>p</i>
Nhóm chứng (n=200)	194	6	0	0,768
Nhóm bệnh (n=210)	194	16	0	0,885
Tổng (n=410)	388	22	0	0,757
Biến thể <i>FSHR</i> rs6166				
	GG	GA	AA	Giá trị <i>p</i>
Nhóm chứng (n=200)	23	88	89	0,860
Nhóm bệnh (n=210)	25	89	96	0,533
Tổng (n=410)	48	177	185	0,570
Biến thể <i>TEX14</i> rs79813370				
	GG	GT	TT	Giá trị <i>p</i>
Nhóm chứng (n=200)	163	35	2	0,937
Nhóm bệnh (n=210)	174	34	2	0,814
Tổng (n=410)	337	69	4	0,823