

Xác định tỷ lệ mất đoạn AZF ở bệnh nhân nam vô tinh hoặc thiếu tinh tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương bằng phương pháp QF – PCR

Ngô Thị Tuyết Nhung¹, Phan Thu Giang¹, Trần Danh Cường^{1,2}, Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}, Ngô Văn Phương¹

¹ Bệnh viện Phụ Sản Trung ương

² Trường Đại học Y Hà Nội

doi:10.46755/vjog.2021.4.1311

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Hoàng Thị Ngọc Lan, email: hoangthingoclan@hmu.edu.vn

Nhận bài (received): 29/11/2021 - Chấp nhận đăng (accepted): 20/12/2021

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ mất đoạn AZF ở bệnh nhân nam vô tinh đi khám tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương bằng phương pháp QF-PCR.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Mô tả cắt ngang có hồi cứu 86 bệnh nhân nam vô tinh hoặc thiếu tinh nặng được lấy mẫu ngoại vi, tách chiết ADN, sử dụng kỹ thuật QF - PCR với 2 bộ kit Devyser sử dụng đồng thời với tổng cộng 17 trình tự đích và 2 nội kiểm ZFX/Y và SRY ở AZFa,b,c ở vùng cơ bản và mở rộng để phát hiện đột biến mất đoạn.

Kết quả nghiên cứu: Phát hiện mất đoạn AZF ở 24/86 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 27,9%. Mất đoạn vùng cơ bản có 6/24 bệnh nhân chiếm 25% đột biến ở vùng cơ bản và mở rộng AZFb,c. Bệnh nhân chỉ có đột biến mất đoạn vùng mở rộng chiếm 75% (18/24). Trong 24 bệnh nhân có đột biến không phát hiện thấy đột biến AZFa, mất đoạn nhiều nhất được tìm thấy là ở AZFc. Tại AZFc trình tự được phát hiện nhiều nhất là sY1291. Phát hiện thấy mất đoạn AZF chủ yếu trên bệnh nhân không có tinh trùng 16/69, bệnh nhân thiếu tinh nặng là 8/17.

Kết luận: Ở bệnh nhân nam vô tinh hoặc thiếu tinh, sử dụng kỹ thuật QF-PCR đã xác định được 27,9% (24/86) đột biến mất đoạn nhỏ gen AZF, trong đó có 4/24 (25%) đột biến vùng cơ bản AZFb,c; 18/24 (75%) ở vùng mở rộng.

Từ khóa: AZF, QF-PCR, vô tinh.

Determination of the rate of AZF microdeletions in azoospermic or severe oligozoospermic male patients examined at the National Hospital of Obstetrics and Gynecology by QF-PCR method

Ngo Thi Tuyen Nhung¹, Phan Thu Giang¹, Tran Danh Cuong^{1,2}, Hoang Thi Ngoc Lan^{1,2}

¹ National Hospital of Obstetric and Gynecology

² Hanoi Medical University

Abstract

Objectives: This study aimed to identify the rate of AZF microdeletions in infertile male patients examined at the National Hospital of Obstetrics and Gynecology by QF-PCR method.

Materials and methods: A cross-sectional descriptive study on 86 azoospermic or severe oligozoospermic male patients who were sampled, extracted DNA by the QF-PCR method with 2 Devyser kits used simultaneously with 17 target sequences and 2 controls ZFX/Y and SRY at AZFa,b,c in basic and extended regions to identify microdeletion mutations.

Results: Among 86 patients, 24 (27.9%) were AZF microdeletions. 6 out of 24 patients had microdeletions in the basic region, accounting for 25% of mutations of basic and extended regions AZFb,c. None of these 24 patients was recognized as AZFa microdeletions, the most microdeletion was found in AZFc. At AZFc, the most detected sequence was sY1291. AZF microdeletions were found mainly in azoospermic patients 16/69, in severe oligospermic patients is 8/17.

Conclusions: In infertile male due to azoospermic or oligozoospermia, QF-PCR identified 27.9% (24/86) AZF microdeletion, of which 4/24 (25%) occurred in basic region AZFb,c, 18/24 (75%) in extended regions

Keywords: AZF, QF-PCR, azoospermic

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Có nhiều nguyên nhân gây vô sinh ở nam giới, trong đó nguyên nhân di truyền chiếm 4-38%. Hội chứng Klinefelter và các mất đoạn AZF là những nguyên nhân thường gặp nhất hiện nay ở nam giới khám vô sinh [1]. Mất đoạn nhỏ trên NST Y chủ yếu xảy ra ở vùng AZF (azoospermia factor) trên nhánh dài của NST Y (Yq), là nơi có chứa nhiều gen liên quan tới quá trình sinh tinh, được coi là nguyên nhân bất thường di truyền thứ hai sau hội chứng Klinefelter gây vô sinh ở nam giới [2]. Phát hiện được những mất đoạn nhỏ trên NST Y sẽ là căn cứ chẩn đoán để đưa ra được hướng can thiệp đúng đắn cho những trường hợp vô sinh nam. Ở những đột biến gây không có tinh trùng, sinh thiết tinh hoàn để tìm tinh trùng không thể thực hiện được. Ngược lại ở những trường hợp đột biến gây thiếu tinh, người nam này vẫn có thể sử dụng kỹ thuật hỗ trợ sinh sản để có con nhưng những người con trai của họ cũng sẽ mang những đột biến này tương tự như họ. Ở Việt Nam hiện nay có rất nhiều kỹ thuật xét nghiệm nhằm phát hiện mất đoạn AZF như kĩ thuật Real Time PCR, kĩ thuật QF-PCR, Multiplex PCR hoặc sử dụng các đoạn mồi mồi tự thiết kế. Trung tâm Chẩn đoán trước sinh, Bệnh viện Phụ Sản Trung ương đã xây dựng và hoàn thiện quy trình kĩ thuật xét nghiệm mất đoạn gen AZF trên NST Y bằng kỹ thuật QF-PCR ở bệnh nhân vô tinh và thiếu tinh nặng ở cả vùng cơ bản và mở rộng với chi phí tương đương kĩ thuật Multiplex nhưng phát hiện được nhiều marker hơn, vì vậy giúp tư vấn di truyền cho bệnh nhân có hiệu quả, đồng thời giúp cho các bác sĩ lâm sàng đưa ra những phương pháp can thiệp phù hợp cho từng bệnh nhân. Để góp phần đánh giá tỷ lệ về các đột biến mất đoạn AZF tại Việt Nam chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu xác định tỷ lệ đột biến mất đoạn AZF trên NST Y ở bệnh nhân nam vô tinh hoặc thiếu tinh nặng tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương bằng phương pháp QF – PCR.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Những nam giới được chẩn đoán vô sinh đã xét nghiệm tinh dịch đồ xác định là không có tinh trùng hoặc tinh trùng ít < 5 triệu/ml tinh dịch.
- Kết quả NST kết quả không phát hiện thấy bất thường NST giới tính.

3.2. Phân bố vị trí mất đoạn theo từng Sequence - Tagged - Site (STS)

Bảng 1. Phân bố vị trí mất đoạn theo từng STS

Vùng	Vị trí	Vị trí sY	Số lượng	Tỷ lệ %
AZFa	Vùng cơ bản	sY86, sY84	0	0
		sY82	0	0
		sY83	0	0
		sY1065	0	0
		sY88	0	0

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang có hồi cứu.

Quy trình nghiên cứu

- Mỗi bệnh nhân lấy 2ml máu ngoại vi, có chống đông EDTA.

- Tách chiết ADN từ máu ngoại vi bằng kit Qagen.

Xét nghiệm chẩn đoán bằng cách sử dụng kit V2 AZF (bộ cơ bản) và kit AZF extension (bộ mở rộng) của hãng Devyser. Ứng dụng kỹ thuật QF – PCR phát hiện mất đoạn nhỏ trên Y phát hiện 17 trình tự trong 2 phản ứng Multiplex PCR. Tổng số mồi của bộ cơ bản và mở rộng tính theo từng vùng như sau AZFa có 6 markers (sY84, sY86, sY82, sY83, sY88, sY1065), AZFb có 6 markers (sY127, sY134, sy121, sY105, sY1192, sY153), AZFc có 5 markers (sY254, sY255, sY1291, sY1191, sY160) và 2 nội kiểm là sY14 và ZFX. Tiến hành phản ứng PCR trong 23 chu trình -> 95°C - 15 phút; [94°C - 30 giây, 62°C – 1 phút, 72°C – 1 phút], 23 chu kỳ; 75°C – 15 phút.

Phát hiện: Trộn hỗn hợp cho vào hệ thống ABI3500

Phân tích kết quả: Marker nội kiểm ZFX và sY14 đều có mặt và trên ngưỡng cut- off 500rfu (ngưỡng của máy ABI3500) trước khi phân tích kết quả. Không có peak đặc trưng nào cao hơn khoảng từ 110- 480 bp. Đánh giá mất đoạn các STS ở các vùng AZFa, AZFb, AZFc tại các vùng cơ bản và mở rộng.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Trước khi tiến hành nghiên cứu, đối tượng được nghe tư vấn, thông báo về mục đích nghiên cứu, quyền lợi và trách nhiệm khi tham gia. Các xét nghiệm được thực hiện liên quan trong đề tài đều được bệnh nhân tự nguyện tham gia và cung cấp kết quả nếu có. Các thông tin liên quan đến bệnh nhân được giữ kín. Bệnh nhân có quyền ngừng tham gia nghiên cứu bất cứ lúc nào.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ nam giới vô sinh bị mất đoạn AZF

Có 24/86 bệnh nhân chiếm 27,9% các trường hợp mất đoạn AZF bao gồm cả vùng cơ bản và vùng mở rộng, 62/86 bệnh nhân chiếm 72,1% không phát hiện thấy mất đoạn AZF. Trong số 24 bệnh nhân có mất đoạn AZF không có bệnh nhân nào mất đoạn AZFa, chỉ có 6/24 bệnh nhân mất đoạn AZFb, AZFc vùng cơ bản và mở rộng chiếm 25%, 18/24 bệnh nhân chỉ mất đoạn AZF vùng mở rộng chiếm 75% tổng số bệnh nhân mất đoạn AZF.

AZFb	Vùng cơ bản	sY127, sY134	3	4,8
		sY121	3	4,8
	Vùng mở rộng	sY105	2	3,2
		sY1192	9	14,5
		sY153	9	14,5
AZFc	Vùng cơ bản	sY254, sY255	5	8,2
		sY1291	20	32,3
	Vùng mở rộng	sY1191	9	14,5
		sY160	2	3,2
Tổng		17 STS	62	100

Bảng 1 thể hiện sự phân bố các mất đoạn theo từng STS. Trong số 86 bệnh nhân được xét nghiệm chúng tôi không phát hiện mất đoạn vùng AZFa, chỉ mất vùng AZFb,c. Trong đó phát hiện được 62 mất đoạn của 24 bệnh nhân có đột biến. Tần suất mất đoạn hay gặp nhất là mất sY1291 chiếm tỷ lệ 32,3%, các sY1192, sY1191 tỷ lệ phát hiện là 14,2%. Tỷ lệ mất sY121 là 4,8%, tỷ lệ mất sY160 là 3,2%. Tỷ lệ bệnh nhân mất đoạn vùng cơ bản thấp hơn nhiều so với tỷ lệ phát hiện mất đoạn vùng mở rộng. Tỷ lệ mất đồng thời sY254, sY255 là 8,2%, mất sY127, sY134 là 4,8%.

3.3. Phân bố các vùng gen mất trên AZF của bệnh nhân

Bảng 2. Vị trí, tỷ lệ các vùng gen mất trên AZF của bệnh nhân

Vùng	Vị trí sY phối hợp	Số bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
AZFb	sY127, sY134, sY121, sY1192, sY153, sY105	2	8,3
AZFc	sY254, sY255, sY1191, sY1291, sY160		
AZFb	sY1192, sY153	3	12,5
AZFc	sY254, sY255, sY1191, sY1291		
AZFb	sY127, sY134, sY121	1	4,2
AZFc	sY1291		
AZFb	sY1192, sY153	4	16,7
AZFc	sY1191		
AZFc	sY1291	14	58,3
Tổng		24	100

Sự phân bố các vùng gen mất trên AZF được thể hiện ở bảng 2. Trong số 24 nam giới vô sinh có mất đoạn vùng AZF, có tới 14 bệnh nhân chỉ mất AZFc vùng mở rộng ở vị trí sY1291 (58,3%); 2 bệnh nhân mất hoàn toàn AZFbc (8,3%) bao gồm tất cả các STS tại vùng cơ bản và ¼ gen ở vùng mở rộng; 4 bệnh nhân mất đồng thời sY1192, sY153 (AZFb) và sY1191 (AZFc); 3 bệnh nhân mất hoàn toàn AZFc, kèm theo các vị trí mở rộng sY1192, sY153 của AZFb; 1 bệnh nhân mất AZFb không hoàn toàn kèm theo mất vùng mở rộng của AZFc là sY1191.

3.4. Đối chiếu giữa mất đoạn AZF với số lượng tinh trùng

Bảng 3. Đối chiếu mất đoạn AZF vùng cơ bản và mở rộng với số lượng tinh trùng

Số lượng tinh trùng (n = 86)	AZFb						AZFc				
			Vùng cơ bản	Vùng mở rộng					Vùng cơ bản	Vùng mở rộng	
VT (69)	Vài con (12)	<5tr (5)	sY127, sy154	sY105	sY121	sY1192	sY153	sY254, sY255	sY1191	sY1291	sY160
	2		-	-	-	2	2	2	2	2	-
	5		-	-	-	-	-	-	-	5	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
1			1	-	1	-	-	-	-	1	-
2			2	2	2	2	2	2	2	2	2
8			-	-	-	-	-	-	-	8	-
4			-	-	-	4	4	-	4	-	-
1			-	-	-	1	1	1	1	1	-

Trong số 69 bệnh nhân vô tình có 1 bệnh nhân mất AZFc hoàn toàn và mất AZFb vùng mở rộng, 1 bệnh nhân mất AZFb vùng cơ bản, 1/3 gen vùng mở rộng và 1/3 gen vùng mở rộng AZFc, 1 bệnh nhân mất AZFbc hoàn toàn. Trong số 12 bệnh nhân tinh dịch đồ chỉ có vài con tinh trùng trên nhiều vi trường, có 2 trường hợp mất AZFc hoàn toàn, mất AZFb vùng mở rộng (bảng 3).

Bảng 4. Đối chiếu mất đoạn vùng AZFc với số lượng tinh trùng

Tinh dịch đồ	n= 86	Gr/gr (sY1291)	b1/b3 (sY1291,1191)	b2/b3 (1191)	¾ b2/b4 (sY1191, sY1192, sY153)
Vô tình	69	8 (11,6%)	0	0	4 (5,8%)
Vài tinh trùng	12	5 (41,7%)	0	0	0
< 5 triệu	5	1 (20%)	0	0	0

Chỉ tính riêng mất đoạn AZFc trong nghiên cứu của chúng tôi phát hiện thấy có 8/69 bệnh nhân vô tình mất đoạn gr/gr (11,6%), có 4 bệnh nhân phát hiện thấy mất vùng ¾ b2/b4. Trong số 12 bệnh nhân mà kết quả tinh dịch đồ chỉ có vài tinh trùng trong nhiều vi trường thì thấy có đến 5/12 bệnh nhân (41,7%) có mất đoạn gr/gr. 5 bệnh nhân thiếu tinh có số lượng tinh trùng dưới 5 triệu chúng tôi phát hiện thấy 1 trường hợp có mất đoạn gr/gr (bảng 4).

4. BÀN LUẬN

Kết quả cho thấy trong tổng số 86 bệnh nhân có 6 bệnh nhân mất đoạn AZF cả vùng cơ bản và vùng mở rộng chiếm 7% kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phan Thị Hoan và các cs [3] khi xét nghiệm vùng AZF cơ bản ở những bệnh nhân vô sinh nam, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên Y là 6,9% (11/160), còn trong nghiên cứu của Trần Văn Khoa và cs [2] tỷ lệ mất đoạn AZF là 5,26% ở những bệnh nhân vô sinh nam.

Tuy nhiên trong nghiên cứu này, kết quả thống kê cho thấy khi thực hiện xét nghiệm ở cả vùng cơ bản và vùng mở rộng, đã tăng số STS lên 19 thì tỷ lệ phát hiện ra đột biến tăng lên từ 7,0% (6/86) lên 27,9%. Trong số 24/86 (27,9%) bệnh nhân có mất đoạn nhỏ thì chỉ có 25% (6/24) trong số đó mất đoạn hoàn toàn (bao gồm cả vùng cơ bản và mở rộng) còn lại 75% (18/24) bệnh nhân mất đoạn AZF chỉ mất đoạn vùng mở rộng. Các nghiên cứu trước đây cũng hầu như sử dụng chủ yếu là 6 mồi cơ bản theo EAA.

Các nghiên cứu sau này đều bổ sung nhiều mồi khác ngoài các mồi cơ bản và đã phát hiện được nhiều đoạn mất hơn. Nghiên cứu năm 2014 của Fadlalla Elfateh trên 1050 bệnh nhân vô sinh ở Trung Quốc đã mở rộng thêm các trình tự sY143, sY153, sY157 ngoài các trình tự cơ bản [4]. Một nghiên cứu ở Ấn Độ chỉ phát hiện có 6 người trên tổng số 200 nam giới có mất đoạn, chiếm tỷ lệ 3% khi phân tích bằng các marker của EAA nhưng đã phát hiện thêm 15 trường hợp có mất đoạn khi bổ sung thêm các marker khác cho 3 vùng AZFabc nên tỷ lệ phát hiện lên tới 10,5%.

Ở nghiên cứu khác của Sen và cs (2013) phân tích mất đoạn AZF cho nhóm đối tượng vô tình và thiếu tinh nặng cho thấy khi sử dụng các marker vùng cơ bản tỷ lệ phát hiện mất đoạn là 5,4% nhưng khi sử dụng các trình tự ngoài trình tự cơ bản thì phát hiện thêm 3,1% có mất đoạn, nâng tỷ lệ phát hiện đột biến mất đoạn AZF là 8,5% [5]. Tương tự nghiên cứu của Fu và cs ở Trung Quốc khi

tăng lên 18 trình tự thì tỷ lệ mất đoạn tăng 22,7% so với 6 trình tự của EAA [6]. Trong báo cáo của hội đồng lâm sàng thuộc Hiệp hội sinh sản và Bệnh viện sinh sản di truyền Mỹ, khi phân tích mở rộng các vị trí mất đoạn ở người nam vô sinh, tỷ lệ mất đoạn nhỏ trên NST Y tăng lên 22 – 24% [7].

Tại Việt Nam, theo Lương Thị Lan Anh và cs năm 2019 khảo sát trên 30 bệnh nhân vô sinh cho thấy nếu chỉ tính riêng vùng AZF vùng cơ bản thì tỷ lệ mất đoạn là 6,7%. Nhưng khi tính tất cả các trình tự của các đoạn trên vùng AZF thì tỷ lệ bất thường lên tới 40%. Trong số 40% này thì chỉ có 16,7% mất đoạn vùng cơ bản, còn lại 83,3% là mất đoạn vùng AZF mở rộng. Kết quả này có tỷ lệ phát hiện bất thường cao hơn chúng tôi nhưng tỷ lệ mất đoạn AZF vùng cơ bản lại thấp hơn [8]. Kết quả của chúng tôi tính riêng vùng AZF cơ bản là 7,6% nhưng tính tất cả các trình tự mất cả cơ bản và mở rộng là 25,8%. Điều này có thể giải thích là do số lượng bệnh nhân trong nghiên cứu nhiều hơn và chúng tôi sử dụng bộ kit, phương pháp xét nghiệm và số lượng STS: Sequence Tagged Site) khác nhau.

Các nghiên cứu trên đều phù hợp với kết quả của chúng tôi khi tỷ lệ mất gr/gr có cả ở bệnh nhân vô tình lẫn bệnh nhân vẫn có tinh trùng trong tinh dịch [9], [10]. So với các nghiên cứu trước đây, chúng tôi cũng phát hiện tỷ lệ mất đoạn sY1291 cao nhất ở những bệnh nhân vô tình và thiếu tinh nặng. Mất một phần b2/b4 cũng có thể là nguyên nhân chính dẫn đến vô sinh [11]. Vì vậy xét nghiệm mất đoạn nhỏ AZF là xét nghiệm cần thiết để tìm hiểu nguyên nhân gây vô tình và thiếu tinh nặng ở những bệnh nhân nam vô sinh. Các mất đoạn nhỏ sẽ di truyền dọc cho 100% con trai của các cặp vợ chồng thông qua sinh sản nên việc xét nghiệm mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể Y sẽ cho phép các cặp đôi đưa ra lựa chọn về khả năng điều trị vô sinh nam ở thế hệ tiếp theo. Mặc dù vậy, nhiều nghiên cứu cỡ mẫu lớn vẫn cần được thực hiện để có cái nhìn tổng thể và toàn diện hơn về vấn đề này.

5. KẾT LUẬN

Bằng cách ứng dụng kỹ thuật QF – PCR để xác định tỷ lệ mất đoạn AZF ở bệnh nhân nam vô tình hoặc thiếu tinh, chúng tôi đã phát hiện được 24/86 (27,9%) bệnh nhân có đột biến mất đoạn nhỏ AZF. Trong đó, có 6/24 (25%) đột biến ở vùng cơ bản AZFb,c; 18/24 (75%) mất đoạn ở vùng mở rộng. Các trình tự mở rộng tại vùng AZFc được phát hiện nhiều là sY1291. Không phát hiện đột biến AZFa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Minh Hà và cs. Bước đầu áp dụng kỹ thuật Multiplex PCR tìm đột biến mất đoạn trên vùng AZF của NST Y ở một số bệnh nhân nam vô sinh vô căn. Tạp chí nghiên cứu y học TPHCM. 2011;phụ bản 1(15):217-9.
2. Trần Văn Khoa, Triệu Tiến Sang, Quán Hoàng Lâm và cs. Đặc điểm phân bố mất đoạn nhỏ NST Y ở bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng và ít tinh trùng. Y dược học quân sự. 2013;1:56-62.
3. Phan Thị Hoan, Trần Đức Phấn, Lương Thị Lan Anh, Nguyễn Xuân Tùng, Lê Đình Trung. Phát hiện mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể y ở bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng hoặc ít tinh trùng. Y học Việt Nam. 2013;3(đặc biệt):623-9.
4. Elfateh F, Rulin D, Xin Y, Linlin L, Haibo Z, Liu RZ. Prevalence and patterns of Y chromosome microdeletion in infertile men with azoospermia and oligospermia in Northeast China. Iran J Reprod Med. 2014;12(6):383-8.
5. Sen S, Pasi AR, Dada R, Shamsi MB, Modi D. Y chromosome microdeletions in infertile men: prevalence, phenotypes and screening markers for the Indian population. J Assist Reprod Genet. 2013;30(3):413-22.
6. Fu L, Xiong DK, Ding XP, Li C, Zhang LY, Ding M, et al. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. J Assist Reprod Genet. 2012;29(6):521-7.
7. Practice Committee ASfR, Medicine. Evaluation of the azoospermic male: a committee opinion Azoospermia factors microdeletion in infertile men with idiopathic severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia. Fertility and Sterility. 2018;109(5):777-82.
8. Lương Thị Lan Anh, Hoàng Thu Lan. Ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR phát hiện mất đoạn AZF ở bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng. Khoa học Y - Dược. 2019;61(2):8-12.
9. Bansal SK, Jaiswal D, Gupta N, Singh K, Dada R, Sankhwar SN, et al. Gr/gr deletions on Y-chromosome correlate with male infertility: an original study, meta-analyses, and trial sequential analyses. Sci Rep. 2016;6:19798.
10. Sato Y, Iwamoto T, Shinka T, Nozawa S, Yoshiike M, Koh E, et al. Y chromosome gr/gr sub deletion is associated with lower semen quality in young men from the general Japanese population but not in fertile Japanese Men. Biol Reprod. 2014;90(6):116.
11. Rozen SG, Marszalek JD, Irenze K, Skaletsky H, Brown LG, Oates RD, et al. AZFc deletions and spermatogenic failure: a population-based survey of 20,000 Y chromosomes. Am J Hum Genet. 2012;91(5):890-6.