

IDENTIFY SPERM CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH FERTILITY ABNORMALITIES FROM 2023 TO 2024

Pham Tan Hung¹, Tran Thuy Tien¹, Nguyen Ngoc Hieu², Tran Vo Truc Linh¹,
Huynh Anh Tu¹, Nguyen Thanh Truc¹, Nguyen Thi Han Ny³, Le Huu Tung⁴,
Nguyen Van Huong^{1*}

¹Nguyen Tat Thanh University - 300A Nguyen Tat Thanh, ward 13, district 4, HCMC, Vietnam

²Duy Tan University - 254 Nguyen Van Linh, Thac Gian, Thanh Ke, Da Nang, Vietnam

³Hospital for Tropical Disease - 764 Vo Van Kiet, ward 1, district 5, HCMC, Vietnam

⁴Le Van Thinh Hospital - 130 Le Van Thinh, Binh Trung Tay ward, district 2, HCMC, Vietnam

Received: 10/04/2024

Revised: 20/04/2024; Accepted: 02/05/2024

ABSTRACT

Objective: This study aims to identify the culprits and assess the risk of infertility in male patients. The characteristics of sperm, sperm DNA and chromosomes of groups of infertile patients, patients whose wives have a history of 2-3 consecutive miscarriages are compared to those with normal fertility.

Methods: Analyze influencing factors, determine the possibility of sperm DNA breakage and the impact of abnormal chromosomes on fertility in men. Analyzing relevant factors, determining the possibility of sperm DNA fragmentation and the effect of abnormal chromosomes on fertility in men.

Results: Semen volume, total sperm count, survival rate, pH, lysis time in infertile patients are lower, semen has high viscosity, low viscosity, acidic pH and normal sperm shape low, sperm mobility and movement speed were 2 - 3.3 times slower but the number of white blood cells and red blood cells was higher than other groups. Infertility appears at the age of 35-40, accounting for the highest rate of 36% ($p < 0.05$), of which 100% of infertile patients have broken sperm DNA ($p < 0.05$), 35% of patients whose wives had a history of 2-3 miscarriages had chromosomes of abnormal size and number, and did not appear in control group.

Keywords: Male infertility, DNA fragmentation, semen analysis, sperm, karyotype.

*Corresponding author

Email address: huongnv@ntt.edu.vn

Phone number: (+84) 586 167 668

<https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD4.1152>

NHẬN DIỆN ĐẶC ĐIỂM CỦA TINH TRÙNG Ở BỆNH NHÂN BẤT THƯỜNG VỀ KHẢ NĂNG SINH SẢN TỪ 2023 ĐẾN 2024

Phạm Tấn Hưng¹, Trần Thủy Tiên¹, Nguyễn Ngọc Hiếu², Trần Võ Trúc Linh¹,
Huỳnh Anh Tú¹, Nguyễn Thanh Trúc¹, Nguyễn Thị Hàn Ny³, Lê Hữu Tùng⁴,
Nguyễn Văn Hương^{1*}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành - 300A Nguyễn Tất Thành, phường 13, quận 4, TP.HCM, Việt Nam

²Trường Đại học Duy Tân - 254 Nguyễn Văn Linh, Thạc Gián, Thanh Khê, Đà Nẵng, Việt Nam

³Bệnh viện Nhiệt Đới - 764 Võ Văn Kiệt, phường 1, quận 5, TP.HCM, Việt Nam

⁴Bệnh viện Lê Văn Thịnh - 130 Lê Văn Thịnh, phường Bình Trưng Tây, quận 2, TP.HCM, Việt Nam

Ngày nhận bài: 10 tháng 04 năm 2024

Ngày chỉnh sửa: 20 tháng 04 năm 2024; Ngày duyệt đăng: 02 tháng 05 năm 2024

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nguyên nhân và đánh giá nguy cơ vô sinh ở nam giới. So sánh đặc điểm tinh trùng, DNA tinh trùng và nhiễm sắc thể của các nhóm bệnh nhân vô sinh, bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai liên tiếp 2 – 3 lần so với người sinh sản bình thường.

Phương pháp nghiên cứu: Phân tích các yếu tố tác động, xác định khả năng đứt gãy DNA tinh trùng và ảnh hưởng của nhiễm sắc thể bất thường đến khả năng sinh sản ở nam giới từ 2023 đến 2024.

Kết quả nghiên cứu: Thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, tỷ lệ sống, pH, thời gian ly giải ở bệnh nhân vô sinh thấp hơn, tinh dịch có độ đặc cao, đột nhớt thấp, pH có tính acid và hình dạng tinh trùng bình thường thấp, khả năng di động và tốc độ di chuyển của tinh trùng chậm hơn 2 – 3,3 lần nhưng số lượng bạch cầu và hồng cầu cao hơn ở nhóm khác. Tình trạng vô sinh xuất hiện chủ yếu ở độ tuổi từ 35- 40 chiếm tỷ lệ cao nhất 36% ($p < 0,05$) trong đó, 100% bệnh nhân vô sinh đều có DNA tinh trùng đứt gãy (chỉ số đứt gãy > 30 , $p < 0,05$), 35% bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần, xuất hiện các nhiễm sắc thể có kích thước và số lượng bất thường và không xuất hiện ở mẫu đối chứng.

Từ khóa: Vô sinh nam, đứt gãy DNA, tinh dịch đồ, tinh trùng, karyotype.

*Tác giả liên hệ

Email: huongnv@ntt.edu.vn

Điện thoại: (+84) 586 167 668

<https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD4.1152>



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh được Tổ chức Y tế thế giới – WHO định nghĩa là một căn bệnh không có khả năng thụ thai sau 1 năm quan hệ tình dục thường xuyên và không có biện pháp bảo vệ [1]. Tỷ lệ vô sinh ngày càng tăng do xu hướng kết hôn muộn, béo phì, stress và các yếu tố tác động khác [2]. Hiện nay trên thế giới có gần 200 triệu người bị vô sinh, trong đó vô sinh nam chiếm 20%– 50% với số lượng và chất lượng tinh trùng ngày càng giảm trong những năm gần đây [3]. Phân tích tinh dịch đồ [4] kết hợp với lập karyotype và nhận diện cấu trúc bất thường trên nhiễm sắc thể ở nam giới cung cấp một giải pháp trong điều trị và cải thiện khả năng sinh sản ở nam và nữ, giải thích được cơ chế gây bệnh nhằm đưa ra liệu pháp điều trị ứng dụng IVF hoặc mang thai tự nhiên.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các nghiên cứu được thực hiện trên 150 bệnh nhân nam từ ngày 01/12/2023 – 30/03/2024. Tất cả các bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu và được thông qua Hội đồng Y đức. 150 bệnh nhân được thực hiện xét nghiệm sinh hóa thường quy kết hợp tinh dịch đồ, trong đó 50 bệnh nhân sinh sản bình thường được sử dụng làm mẫu đối chứng, 50 bệnh nhân vô sinh, 50 bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai liên tiếp 2 – 3 lần.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Lấy mẫu tinh dịch: Bệnh nhân không quan hệ và không sử dụng chất kích thích trong 3 - 7 ngày trước khi lấy mẫu. Sau 7 ngày, bệnh nhân tự tiến hành lấy mẫu, 5 ml mẫu được bảo quản lạnh trong dung dịch đệm HEPES trong nitơ lỏng ở -196°C.

Tinh dịch đồ: Sau khi lấy mẫu, tiến hành đánh giá tổng số tinh trùng, tỷ lệ sống, thể tích, màu sắc, pH, độ đặc, độ nhớt của tinh dịch, thời gian ly giải, số lượng, hình dạng, khả năng di động và tốc độ di chuyển của tinh trùng và tế bào khác bằng phương pháp thường quy [4].

Xét nghiệm lập karyotype: 500µl máu ngoại vi của bệnh nhân được nuôi cấy trong 6ml môi trường Nutrient

Mixture F-10 Ham bổ sung 0,1ml dung dịch PHA và 2ml huyết thanh, ủ ở 37°C trong 72 giờ. Tại giờ thứ 70, bổ sung colcemid 0,1 µg/ml ủ ở 37°C trong 2 giờ thu cặn tế bào, nhuộm trương bằng KCl 0,075M ở 37°C/30 phút thu cặn tế bào và cố định mẫu bằng Carnoy lạnh. Làm tiêu bản, nhuộm mẫu, quan sát và đọc kết quả [5].

Xét nghiệm cấu trúc NST tinh trùng: Mẫu tinh trùng tươi được pha loãng 1 – 2 x10⁶ tinh trùng/ml trong 200 µl dung dịch đệm TNE (8,76 g NaCl 0,15 M, 1,58 g Tris-HCl 0,01 M, 0,37 g EDTA 1 mM, pH = 7,4) và bổ sung 400µl dung dịch acid detergent solution, trộn đều trong 30 giây, nhuộm mẫu tinh trùng với 1,20 ml dung dịch cridine orange. Phân tích dữ liệu SCSA ở bước sóng 488nm và đọc kết quả trên máy đếm tế bào dòng chảy [6].

Phân tích thống kê: Tất cả các phân tích thống kê đã được thực hiện bằng phần mềm SPSS. Khoảng tin cậy (CI) được tính toán ở mức 95%. Các giá trị p<0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá chất lượng tinh trùng

Từ bảng 1, cho thấy, có sự chênh lệch (p<0,05) giữa các thông số phân tích và màu sắc tinh dịch ở bệnh nhân vô sinh với các nhóm khác. Cụ thể, thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, tỷ lệ sống, pH, thời gian ly giải ở bệnh nhân vô sinh (2,22 mL ± 1,62; 33,07 triệu ± 5,61; 44 % ± 4,07, 6,8 ± 0,1; 11 phút ± 0,1, p<0,05) thấp hơn ở bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần (3,04 mL ± 1,78; 44,09 triệu ± 6,12; 60% ± 3,47; 7,4 ± 0,2, 15 phút ± 1, p<0,05) và người bình thường (3,86 mL ± 1,53; 47,36 triệu ± 1,45; 60% ± 1,95; 7,5 ± 0,2, 15 phút ± 1, p<0,05). Ở bệnh nhân vô sinh, tinh dịch có độ đặc cao, độ nhớt thấp, pH có tính acid và hình dạng tinh trùng bình thường thấp (70,43% ± 2,75, p<0,05). Đáng chú ý về khả năng di động (14% ± 22,57, p<0,05) và tốc độ di chuyển (10 micromet/s ± 2,43, p<0,05) của tinh trùng chậm hơn 2 – 3,3 lần nhưng số lượng bạch cầu (4,52 ± 8,4, p<0,05) và hồng cầu (0,45 ± 0,75, p<0,05) cao hơn so với 2 nhóm còn lại (p<0,05).

Bảng 1. Kết quả tình dịch đồ

STT	Thông số (đơn vị)	Bệnh nhân vô sinh	Bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần	Đối chứng
1	Số lượng bệnh nhân (người)	50	50	50
2	Thể tích (mL)	2,22 ± 1,62	3,04 ± 1,78	3,86 ± 1,53
3	Tổng số tinh trùng (triệu)	33,07 ± 5,61	44,09 ± 6,12	47,36 ± 1,45
4	Tỷ lệ sống (%)	44 ± 4,07	60 ± 3,47	60 ± 1,95
5	Màu sắc	Trắng/Vàng nhạt đục	Trắng đục	Trắng đục
6	pH	6,8 ± 0,1	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,2
7	Độ đặc	Cao	Bình thường	Bình thường
8	Độ nhớt (<2/>2, cm)	47/3	35/15	40/10
9	Thời gian ly giải (phút)	11 ± 0,1	15 ± 1	15 ± 1
10	Số lượng tinh trùng (triệu/ml)	10,69 ± 1,87	16,03 ± 2,04	17,43 ± 1,26
11	Hình dạng tinh trùng bình thường (%)	70,43 ± 2,75	84,67 ± 4,25	92,67 ± 3,03
12	Khả năng di động (%)	14 ± 22,57	31 ± 24,67	48,86 ± 15,43
13	Tốc độ di chuyển (micromet/s)	10 ± 2,43	26 ± 25,67	33,7 ± 17,74
14	Số lượng bạch cầu	4,52 ± 8,4	3,57 ± 6,29	2,78 ± 2,33
15	Số lượng hồng cầu	0,45 ± 0,75	0,37 ± 0,58	0,28 ± 0,30

3.2. Độ tuổi và các yếu tố tác động đến tình trạng sinh sản ở bệnh nhân vô sinh

Từ kết quả ở Bảng 2, nhận thấy tình trạng vô sinh xuất hiện chủ yếu ở độ tuổi từ 25 - 40 tuổi (32%-36%), trong đó độ tuổi từ 35- 40 chiếm tỷ lệ cao nhất 36% (p<0,05). Ở độ tuổi 35-40, tình trạng béo phì với chỉ BMI > 30

chiếm tỷ lệ 16% (p<0,05). Tình trạng hút thuốc bao gồm thuốc lá thông thường/điện tử, thuốc lào, uống rượu và tiếp xúc hoá chất cũng tác động đến vô sinh, cụ thể trong độ tuổi 35-40 có nhiều trường hợp nhất (28%, 22% và 12%, p<0,05). Các giá trị ở độ tuổi 25 - 35 cũng có giá trị đáng quan tâm là 24%, 14% và 6%, p<0,05.

Bảng 2. Yếu tố tác động đến bệnh nhân vô sinh

Độ tuổi	Tổng bệnh nhân		Béo phì BMI >30 (%)		Uống rượu (%)		Hút thuốc (%)		Tiếp xúc hoá chất (%)	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
≤ 25	4	8%	1	2%	3	6%	2	4%	1	2%
(25 - 35)	16	32%	6	12%	12	24%	7	14%	3	6%
(35 - 40)	18	36%	8	16%	14	28%	11	22%	6	12%
(40 - 50)	5	10%	5	10%	5	10%	4	8%	3	6%
≥ 50	6	12%	6	12%	5	10%	4	8%	2	4%



Bảng 3. Tình trạng bệnh nền và tiền sử mắc bệnh của bệnh nhân vô sinh và bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần

Độ tuổi	Đối chứng		Bệnh nhân vô sinh				Bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần			
			Bệnh nền (%)		Tiền sử gia đình mắc bệnh vô sinh (%)		Bệnh nền (%)		Tiền sử gia đình mắc bệnh vô sinh (%)	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
≤ 25	2	4%	0	0%	2	4%	0	0%	2	4%
(25 - 35)	18	36%	0	0%	1	2%	0	0%	1	2%
(35 - 40)	18	36%	0	0%	3	6%	2	4%	2	4%
(40 - 50)	6	12%	5	10%	3	6%	4	8%	2	4%
≥ 50	5	10%	5	10%	3	6%	3	6%	4	8%

Kết quả ở bảng 3 phản ánh tỷ lệ bệnh nhân ở độ tuổi >40 xuất hiện tình trạng vô sinh có bệnh nền và tiền sử gia đình mắc bệnh vô sinh lần lượt là 20% và 14%, $p < 0,05$, cao hơn người có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần (14% và 12%, $p < 0,05$).

3.3. Tương quan của tình dịch đồ và yếu tố ngoại cảnh tác động ở nam giới có vợ sảy thai 2-3 lần

Nguyên nhân sảy thai và lưu thai không chỉ là vấn đề ở người mẹ mà còn do hiện tượng đứt gãy DNA tinh trùng ở người. Trong kết quả của nghiên cứu này cho thấy, bệnh nhân mắc bệnh béo phì có uống rượu, hút thuốc, tiếp xúc hoá chất chiếm tỷ lệ cao lần lượt 34%, 52%, 40%, 24%, $p < 0,05$ trong độ tuổi 25-40 (bảng 4).

Bảng 4. Yếu tố ngoại cảnh đến bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần

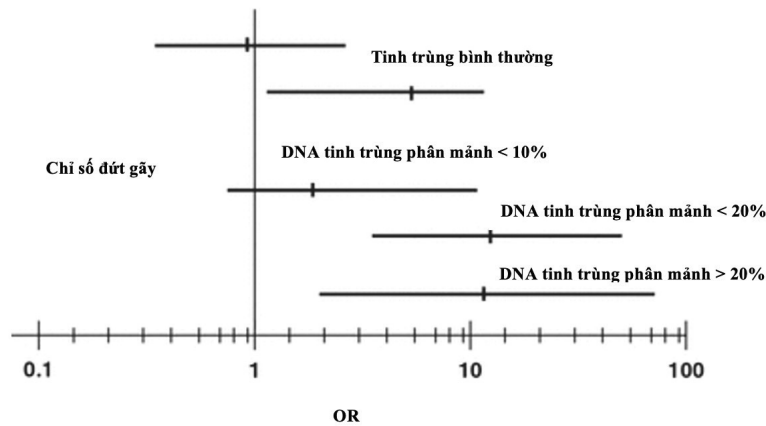
Độ tuổi	Tổng bệnh nhân		Béo phì BMI >30 (%)		Uống rượu (%)		Hút thuốc (%)		Tiếp xúc hoá chất (%)	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
≤ 25	3	6%	2	4%	3	6%	2	4%	0	0%
(25 - 35)	17	34%	7	14%	12	24%	8	16%	4	8%
(35 - 40)	19	38%	5	10%	14	28%	12	24%	8	16%
(40 - 50)	6	12%	5	10%	5	10%	4	8%	4	8%
≥ 50	5	10%	4	8%	5	10%	4	8%	3	6%

3.4. Khả năng đứt gãy DNA tinh trùng

Xét nghiệm SCSA được thực hiện trên 50 bệnh nhân vô sinh với chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng ≥ 20 để kiểm tra độ chính xác của tình dịch đồ trong quá trình phân tích khả năng sinh sản ở nam giới kết hợp với các triệu chứng lâm sàng. Chỉ số đứt gãy DNA từ 0–20%, khả

năng mang thai tự nhiên là một hằng số không đổi. Khi giá trị $> 20\%$, khả năng thụ thai tự nhiên sẽ giảm và gần bằng 0 khi $> 30-40\%$ [7]. Kết quả phân tích SCSA cho thấy, 100% bệnh nhân vô sinh đều có DNA tinh trùng đứt gãy (chỉ số đứt gãy > 30 , $OR=3,5$, $95\% CI: 1,1-4,8$, $p < 0,05$), chỉ xuất hiện ở 35% bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần và không xuất hiện ở đối chứng.

Hình 1. Giá trị OR của tình trạng bình thường và tình trạng phân mảnh

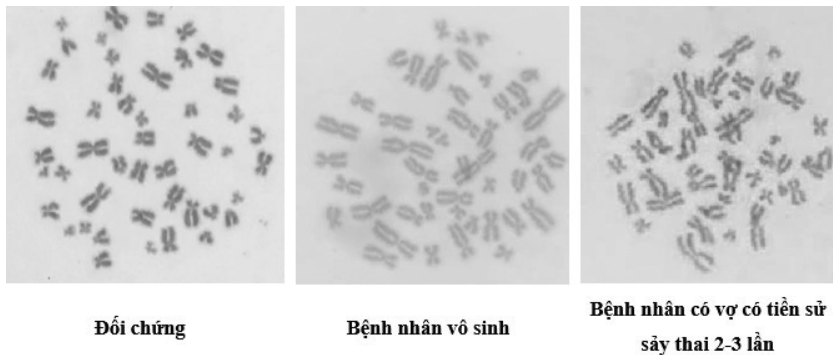


3.5. Ảnh hưởng của nhiễm sắc thể bất thường đến khả năng sinh sản nam giới

Mẫu máu ngoại vi được tiến hành nuôi cấy để quan sát số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể ở bệnh nhân vô sinh

và bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần. Trong đó ở bệnh nhân vô sinh và bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần chứa DNA đứt gãy xuất hiện các nhiễm sắc thể có kích thước bất thường – dài hơn so với kích thước ở người bình thường.

Hình 2. Nhiễm sắc thể ở người bình thường và bất thường về khả năng sinh sản



Số lượng nhiễm sắc thể ở người bình thường có xu hướng ít hơn ở các bệnh nhân bất thường về khả năng sinh sản

4. BÀN LUẬN

Dựa vào các giá trị tham chiếu của WHO năm 2021[4] để phân tích tinh dịch, các bệnh nhân vô sinh có kết quả khác biệt rõ rệt, các giá trị đều thấp hơn người bình thường ($p < 0,05$). Ở bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần, tinh trùng có độ biến dạng thấp (15,33%), khả năng và tốc độ di động ổn định và các thông số khác nằm trong khoảng tham chiếu của người bình thường. Ngoài ra, xuất hiện tế bào hồng cầu hoặc bạch cầu ở

bệnh nhân vô sinh được chẩn đoán nhiễm trùng đường sinh dục như lậu, HIV, viêm tinh hoàn [8].... Vì vậy, cần thực hiện các xét nghiệm tinh dịch để xác định các yếu tố nguy cơ như một phương thức thiết yếu không chỉ trong chẩn đoán mà còn ứng dụng theo dõi điều trị vô sinh ở nam giới. Nguy cơ vô sinh tăng dần theo thời gian khi bệnh nhân làm việc trong môi trường có kim loại nặng, hoá chất, tia bức xạ hoặc nhiệt độ cao [9]. Từ đó cho thấy, môi trường và điều kiện sống ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh sản, là một điểm cần lưu ý về dịch tễ.

Kesari và cộng sự đã kết luận rằng tiếp xúc với hoá chất và bức xạ điện từ làm giảm testosterone, co rút ống sinh tinh và giảm số lượng cũng như khả năng vận



động của tinh trùng [10]. Hút thuốc, béo phì dẫn đến quá trình peroxid hóa lipid, DNA và chất nhiễm sắc, gây phân mảnh tinh trùng, dẫn đến thụ tinh thất bại, giảm số lượng tinh trùng do apoptosis hoặc tái sảy thai do các khiếm khuyết di truyền ảnh hưởng đến phôi. Nhưng sau khi thụ tinh, ở giai đoạn tiền phôi có thể xuất hiện đột biến do quá trình sửa chữa DNA tinh trùng bất thường của tế bào trứng dẫn đến sảy thai hoặc đột biến di truyền nhiễm sắc thể cho thai nhi [10].

5. KẾT LUẬN

Thể tích tinh dịch, tổng số tinh trùng, tỷ lệ sống, pH, thời gian ly giải ở bệnh nhân vô sinh ($p < 0,05$) thấp hơn ở bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần ($p < 0,05$) và người bình thường ($p < 0,05$). Đáng chú ý về khả năng di động và tốc độ di chuyển ($p < 0,05$) của tinh trùng chậm hơn 2 – 3,3 lần nhưng số lượng bạch cầu và hồng cầu ($p < 0,05$) cao hơn so với 2 nhóm còn lại ($p < 0,05$)

Tình trạng vô sinh xuất hiện chủ yếu ở độ tuổi từ 35- 40 chiếm tỷ lệ cao nhất 36% ($p < 0,05$). Ở độ tuổi 35-40, tình trạng béo phì với chỉ số BMI > 30 chiếm tỷ lệ 16% ($p < 0,05$). Tình trạng hút thuốc, uống rượu và tiếp xúc hoá chất cũng tác động đến vô sinh, cụ thể trong độ tuổi 35-40 có nhiều trường hợp nhất (28%, 22% và 12%, $p < 0,05$). Bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần bệnh mắc béo phì có uống rượu, hút thuốc, tiếp xúc hoá chất chiếm tỷ lệ cao lần lượt 34%, 52%, 40%, 24%, $p < 0,05$ trong độ tuổi 25-40.

100% bệnh nhân vô sinh đều có DNA tinh trùng đứt gãy ($p < 0,05$) và không xuất hiện ở đối chứng. Bệnh nhân vô sinh và bệnh nhân có vợ có tiền sử sảy thai 2-3 lần chứa DNA đứt gãy xuất hiện các nhiễm sắc thể có kích thước và số lượng bất thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Infertility – World Health Organization (WHO)
[2] Bunting L, Boivin J, Knowledge about infertility risk factors, fertility myths and illusory benefits

of healthy habits in young people. Hum Reprod. 2008;23(8):1858-1864. 10.1093/humrep/den168.

- [3] Inhorn MC, Patrizio P, Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. Hum Reprod Update. 2015;21(4):411-426. 10.1093/humupd/dmv016.
- [4] World Health Organization. WHO Laboratory Manual For The Examination And Processing Of Human Semen. Geneva: World Health Organization; 2021.
- [5] Ekin Ozkan; Marcelo P. Lacerda. Genetics, Cytogenetic Testing And Conventional Karyotype, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, August 8, 2023.
- [6] Mona B, Leif B, Aleksander G, Sperm chromatin structure assay (SCSA): a tool in diagnosis and treatment of infertility, Asian J Androl. 2011 Jan; 13(1): 69–75.
- [7] Nadia A du Fossé, Marie-Louise P van der Hoorn, Jan M M van Lith et al., Advanced paternal age is associated with an increased risk of spontaneous miscarriage: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2020 Sep; 26(5): 650–669
- [8] Arnold Peter Paul Achermann, Sandro C. Esteves, Diagnosis and management of infertility due to ejaculatory duct obstruction: summary evidence, Int Braz J Urol. 2021 Jul-Aug; 47(4): 868–881.
- [9] Jie L, Xiaoyan L, Jiahui Q et al., Association between heavy metals exposure and infertility among American women aged 20–44 years: A cross-sectional analysis from 2013 to 2018 NHANES data. Front Public Health. 2023; 11: 1122183
- [10] Kavindra KK, Ashok A, Ralf H et al., Radiations and male fertility. Reprod Biol Endocrinol. 2018; 16: 118