

KHẢO SÁT BẤT THƯỜNG PHÂN TỬ TRONG BỆNH LÝ THIỂU SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH

Lê Gia Hoàng Linh¹, Lâm Văn Hoàng², Đỗ Đức Minh¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Thiếu sản thượng thận bẩm sinh (AHC: adrenal hypoplasia congenita) là một bệnh lý di truyền theo nhiễm sắc thể X đặc trưng bởi tình trạng suy thượng thận nguyên phát và suy sinh dục thứ phát gặp ở nam giới. Việc chẩn đoán chính xác bệnh lý này trên lâm sàng còn nhiều thách thức và thường cần có bằng chứng về bất thường di truyền.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm, tiến hành xây dựng quy trình giải trình tự gen NR0B1. Hai bệnh nhân nghi ngờ AHC được khảo sát bất thường gen NR0B1 bằng phương pháp giải trình tự Sanger.

Kết quả: Chúng tôi phát hiện 2 kiểu đột biến bán hợp tử gây bệnh ở 2 bệnh nhân được chẩn đoán AHC trên lâm sàng bao gồm c.1292delG (p. Cys431Ilefs*5) và c.622C>T (p. Q208X) trên gen NR0B1. Cả 2 đột biến này đều đã được báo cáo là nguyên nhân gây bệnh AHC.

Kết luận: Chúng tôi đã xây dựng thành công quy trình khảo sát bất thường gen NR0B1 giúp chẩn đoán chính xác bệnh lý AHC.

Từ khóa: thiếu sản thượng thận bẩm sinh di truyền theo nhiễm sắc thể X (X-linked adrenal hypoplasia congenita), gen NR0B1, giải trình tự Sanger

ABSTRACT

MOLECULAR DIAGNOSIS OF ADRENAL HYPERPLASIA CONGENITA

Le Gia Hoang Linh, Lam Van Hoang, Do Duc Minh

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No. 2 - 2021: 250 - 255

Objectives: X-linked adrenal hypoplasia congenita (AHC) is a rare hereditary disease characterized by primary adrenal insufficiency and hypogonadotropic hypogonadism in male patients. The accurate diagnosis of AHC is still a challenge in clinical practice and usually requires molecular evidences.

Methods: This is an experimental study in which sequencing protocol of NR0B1 gene was established. NR0B1 gene sequencing was performed in two patients suspected with AHC.

Results: Two hemizygous mutations were found in NR0B1 gene of the two probands including c.1292delG (p. Cys431Ilefs*5) and c.622C>T (p. Q208X). These two mutations were previously reported to be associated with AHC.

Conclusion: NR0B1 sequencing protocol was successfully developed and this allows the molecular diagnosis of AHC.

Keywords: X-linked adrenal hypoplasia congenita, NR0B1 gene, Sanger sequencing

ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy vỏ thượng thận nguyên phát bẩm sinh, đặc trưng bởi tình trạng giảm thiểu sản xuất các hormon vỏ thượng thận như aldosteron, cortisol và testosterone, có thể do các bất thường con

đường sinh tổng hợp các hormon steroid hoặc do các bệnh lý tại tuyến thượng thận⁽¹⁾. Biểu hiện lâm sàng của suy thượng thận bẩm sinh thường xuất hiện rất sớm trong giai đoạn chu sinh và cần được điều trị thay thế với glucocorticoid và

¹Trung tâm Y sinh học phân tử - ĐHY Dược TP. Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: TS. Đỗ Đức Minh ĐT: 0932 999989

²Khoa Nội tiết – Bệnh viện Chợ Rẫy

Email: ducminh@ump.edu.vn

thậm chí mineralocorticoid⁽²⁾. Chẩn đoán nguyên nhân của suy thượng thận bẩm sinh thường khó khăn nhưng có vai trò hết sức quan trọng giúp tiên lượng bệnh và tư vấn di truyền phù hợp⁽³⁾.

Trong số các nguyên nhân gây suy thượng thận nguyên phát, thiếu sản thượng thận bẩm sinh liên quan đến nhiễm sắc thể X (AHC: adrenal hypoplasia congenita; OMIM: 300200) là một bệnh lý di truyền hiếm gặp đặc trưng bởi tình trạng thiếu hụt hình thành các tế bào của vỏ thượng thận⁽⁴⁾, chiếm khoảng 0,97% các nguyên nhân suy thượng thận nguyên phát ở các trường hợp được chẩn đoán trước 18 tuổi⁽⁵⁾. Biểu hiện lâm sàng chủ đạo của bệnh lý này là suy vỏ thượng thận⁽³⁾ và suy sinh dục thứ phát vào giai đoạn dậy thì chỉ gặp ở nam giới. Bệnh do đột biến gen *NR0B1* (Nuclear Receptor subfamily 0, group B, member 1); hay còn có tên gọi khác là gen *DAX-1* (Dosage-sensitive sex reversal), gen này mã hóa cho protein DAX-1, một protein thụ thể trong nhân tế bào, có nhiều trong các tế bào ở vùng hạ đồi, tuyến yên, tuyến sinh dục và tuyến thượng thận^(6,7). Biểu hiện lâm sàng của bệnh rất đa dạng tùy thuộc vào loại đột biến, tuổi xuất hiện và mức độ suy của tuyến thượng thận, ngay cả anh em trong gia đình mang đột biến giống nhau cũng có thể có biểu hiện lâm sàng khác nhau⁽⁸⁻¹⁰⁾. Hầu hết các đột biến gây bệnh mất đoạn lớn trên gen *NR0B1* dẫn đến các dị tật bẩm sinh đi kèm với biểu hiện suy thượng thận, trong khi đó, các đột biến sai nghĩa hoặc mất đoạn nhỏ biểu hiện lâm sàng chỉ rõ rệt ở giai đoạn trưởng thành do vẫn còn một phần nhỏ chức năng sinh tổng hợp hormon ở tuyến thượng thận⁽¹¹⁾.

Vì là một bệnh lý hiếm gặp, việc chẩn đoán AHC trên lâm sàng còn gặp nhiều khó khăn do các biểu hiện lâm sàng dễ nhầm lẫn với các bệnh lý khác như tăng sản thượng thận bẩm sinh nếu bệnh nhân được phát hiện trong giai đoạn sơ sinh hoặc nữ nhi hay suy tuyến yên toàn bộ nếu bệnh nhân được chẩn đoán vào giai đoạn dậy thì hoặc trưởng thành. Do đó, thông qua nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xây dựng

quy trình khảo sát gen *NR0B1* nhằm phục vụ chẩn đoán xác định bệnh lý AHC nếu có nghi ngờ trên lâm sàng.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chúng tôi tiến hành giải trình tự DNA để phát hiện đột biến gen *NR0B1* cho 2 bệnh nhân nam trưởng thành (24 tuổi và 27 tuổi) nghi ngờ mắc AHC với biểu hiện lâm sàng đặc trưng bao gồm suy thượng thận nguyên phát (ACTH tăng cao đi kèm với nồng độ cortisol máu rất thấp, aldosteron trong giới hạn bình thường) và có biểu hiện suy sinh dục thứ phát (LH, FSH và testosterone đều giảm thấp) đi kèm với các chức năng còn lại của tuyến yên được bảo tồn.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm nhằm mục tiêu xây dựng quy trình giải trình tự gen *NR0B1* và báo cáo các trường hợp lâm sàng bệnh lý AHC.

Phương pháp thực hiện

Tách chiết DNA bộ gene

Bệnh nhân được thu thập lấy 2 ml máu tĩnh mạch, cho vào ống chống đông có EDTA, lắc đều nhẹ nhàng. Genomic DNA của các tế bào bạch cầu trong máu toàn phần được tách chiết trong vòng 24 giờ bằng bộ kit GeneJet™ whole blood genomic DNA purification (Thermo Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

Phản ứng PCR khuếch đại và giải trình tự gen mục tiêu

Bảng 1: Bộ môi dùng để khuếch đại các exon mã hóa và vùng intron lân cận của gen *NR0B1*

Tên môi	Sequencing (5'→ 3')	Kích thước khuếch đại (bp)
NR0B1-1F1	TGAGAGGAAGGAGGAAAGTG	715
NR0B1-1R2	CTAGTGAGCAAGCTGTAGAG	
NR0B1-1F3	CTGCTGCTTTTGCGGTAAAG	738
NR0B1-1R3	ACTTCCACAGTCTCGAACTG	
NR0B1-1F2	TGCGCTTCGTCAAGTACTTG	520
NR0B1-1R1	ACTCTGCTGAGTTAGTCACG	
NR0B1-2F	TCTTGGACACGTTGCTTCTG	641
NR0B1-2R	GTACAGAGCTATGCTACCTG	

Cặp mồi được thiết kế và tổng hợp (IDT, Mỹ) dựa trên trình tự DNA của gen *NR0B1* mang mã số NG_009814.1 trong kho dữ liệu của NCBI (Bảng 1).

Tiến hành phản ứng PCR: Mỗi tube PCR có thể tích 15µl chứa các thành phần: 1,5µl PCR buffer 10X; 1,5µl dNTP 2,5mM; 0,75µl cho mỗi cặp mồi xuôi và ngược (10nM/µl) bên trong và bên ngoài, 0,1µl TaKaRa Taq TM HotStart Polymerase (Takara, Nhật Bản), 2µl genomic DNA (20-50ng/µl) và 8,4µl nước cất 2 lần khử ion. Các phản ứng luôn kèm theo một chứng âm không chứa DNA để kiểm soát ngoại nhiễm.

Chu trình luân nhiệt cho PCR được thực hiện trên máy Mastercycler@Pro S (Eppendorf, Đức).

Chu kỳ nhiệt: khởi đầu tại 98°C trong 3 phút, tiếp theo với 40 chu kỳ lặp lại các bước 98°C: 20 giây, 58°C: 20 giây, 72°C: 60 giây; kế tiếp với bước 72°C: 2 phút. Trữ sản phẩm PCR tại 16°C.

Kỹ thuật giải trình tự

Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng Exosap-IT glycerol solution (Affymetrix, Mỹ) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất và được thực hiện phản ứng cycle sequencing với

BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Mỹ) cặp mồi được thiết kế trong Bảng 2. Sản phẩm sau đó được kết tủa bằng ethanol, hòa tan trong Hi-Di formamide, biến tính ở 95°C trước khi làm lạnh đột ngột. Trình tự DNA được đọc bằng máy ABI 3500 Genetic Analyzer, với POP-7 polymer và capillary 50 cm (Applied Biosystems, Mỹ). Kết quả giải trình tự DNA được phân tích bằng phần mềm CLC Main Workbench.

Bảng 2: Bộ mồi dùng để giải trình tự các exon và vùng intron lân cận của gen *NR0B1*

Tên mồi	Sequencing (5'→3')
NR0B1-1R2	CTAGTGAGCAAGCTGTAGAG
NR0B1-1F3	CTGCTGCTTTTTCGGTAAAG
NR0B1-1R3	ACTTCCACAGTCTCGAACTG
NR0B1-1R1	ACTCTGCTGAGTTAGTCACG
NR0B1-2F	TCTTGGACACGTTGCTTCTG

KẾT QUẢ

Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Các thông tin lâm sàng và cận lâm sàng của 2 bệnh nhân được chẩn đoán thiếu sản thượng thận bẩm sinh được tóm tắt trong Bảng 3.

Bảng 3: Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của 2 bệnh nhân được chẩn đoán AHC

Đặc điểm	Bệnh nhân 1	Bệnh nhân 2
Tuổi	24 tuổi	27 tuổi
Giới	Nam	Nam
Chiều cao	187 cm	165 cm
Cân nặng	45 kg	
Kiểu hình	Sạm da nhẹ Suy sinh dục: thang điểm Tanner là 1 cho cả bộ phận sinh dục ngoài lẫn lông mu	Sạm da Suy sinh dục: thang điểm Tanner là 1 cho cả bộ phận sinh dục ngoài lẫn lông mu
ACTH (7,9-66,1 ng/mL)	1560	980
Cortisol máu (50-230 ng/ml)	<5	<5
Renin (4,4-46,1 mIU/mL)	28,80	21,35
Aldosteron máu (1,76-39,2 ng/dL)	9,90	15,87
FSH (1,3-11,8 mIU/mL)	0,56	0,72
LH (2,8-6,8 mIU/mL)	0,25	0,34
Testosteron (1,9-6,1 ng/mL)	< 0,13	<0,13
PTH (18,5-88 pg/mL)	26,3	25,4
Phosphate (25-50 mg/L)	38	41
Calci (1,1-1,3 mmol/L)	1,17	1,20
FT4 (0,89-1,76 ng/dL)	1,34	1,18
TSH (0,55-4,78 uIU/mL)	2,32	1,45

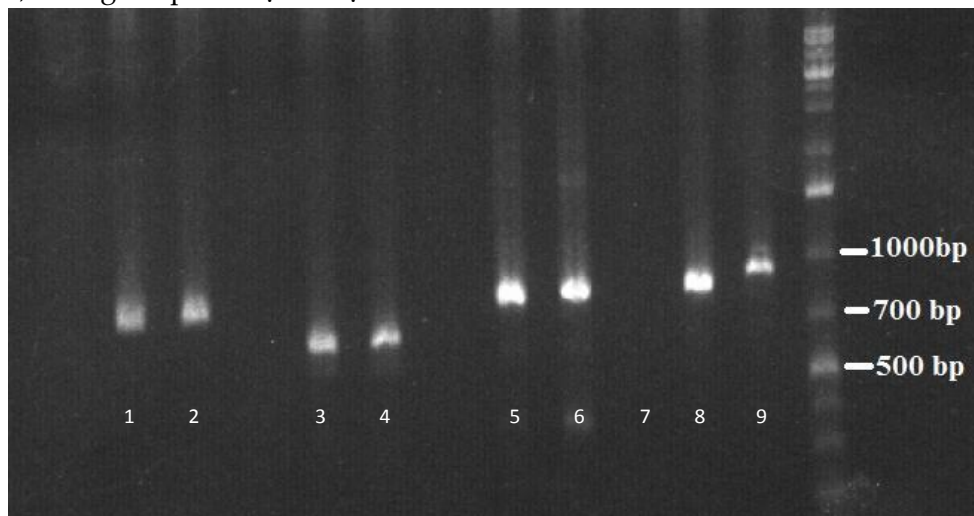
Kết quả PCR

Phản ứng PCR khuếch đại các exon và vùng lân cận của gen *NR0B1* cho sản phẩm có hình ảnh kích thước đúng với thiết kế ban đầu khi điện di trên gel agarose 1% (Hình 1).

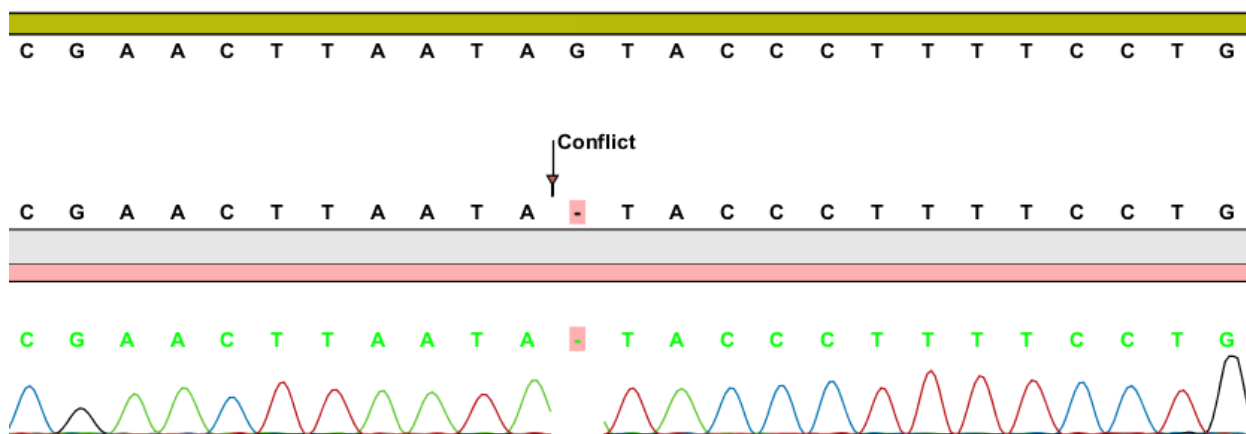
Kết quả giải trình tự

Kết quả giải trình tự toàn bộ các exon mã hoá và vùng intron lân cận gen *NR0B1* của 2 bệnh nhân AHC, chúng tôi phát hiện 2 đột biến bán

hợp tử gây bệnh bao gồm c.1292delG (p. Cys431Ilefs*5) và c.621_622GC>TT (p. Q208*) (Hình 2, 3). Cả hai đột biến này đều là các đột biến gây bệnh đã được báo cáo trước đây^(12,13). Đặc biệt, đột biến Q208* dẫn đến kiểu hình bệnh lý phức tạp vừa bao gồm dậy thì sớm và cả suy sinh dục trong cùng một gia đình⁽¹³⁾. Kết quả giải trình tự và hậu quả của thay đổi phân tử của 2 bệnh nhân được mô tả trong Bảng 4.



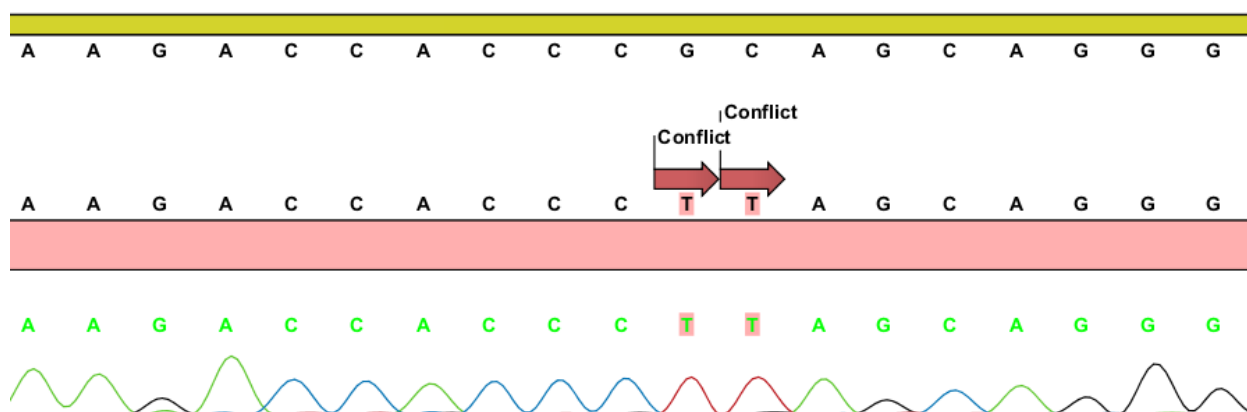
Hình 1: Kết quả PCR các exon và vùng intron lân cận gen *NR0B1* của 2 bệnh nhân. Giếng 1,2: exon 2. Giếng 3,4,5,6,8,9: các đoạn khuếch đại exon 1. Giếng 7: chứng âm



Hình 2: Đột biến gây bệnh c.1292delG (p. Cys431Ilefs*5)

Bảng 4: Thay đổi di truyền và hậu quả

	Bệnh nhân 1	Bệnh nhân 2
Bất thường trên gen <i>NR0B1</i>	c.1292delG	c.621_622GC>TT
Hậu quả	p. Cys431Ilefs*5 Đột biến làm lệch khung đọc dẫn đến stop codon tại vị trí amino acid thứ 5 sau vị trí đột biến.	p. Q208* Đột biến tạo ra mã dừng ngay tại codon số 208.



Hình 3: Đột biến gây bệnh c.621_622GC>TT (p. Q208*)

BÀN LUẬN

AHC là một bệnh hiếm di truyền trên nhiễm sắc thể X ảnh hưởng đến quá trình phân chia và biệt hóa của các tế bào vỏ thượng thận. Tần suất của bệnh lý này được ước đoán vào khoảng 1:140,000 đến 1:1,200,000 trẻ sinh sống⁽³⁾. Quá trình tăng trưởng và biệt hóa của các tế bào vỏ thượng thận ở tam cá nguyệt đầu tiên bị suy giảm trong bệnh lý AHC, ảnh hưởng đến cả sự bài tiết của cortisol lẫn aldosterone. Một số ca lâm sàng thiếu hụt mineralocorticoid đơn độc cũng đã được báo cáo trước đây trong bệnh lý này⁽¹⁴⁾. Các bệnh nhân được chẩn đoán sớm trong giai đoạn sơ sinh với các triệu chứng điển hình như chậm phát triển, nôn ói, mất muối và tăng sắc tố da rất khó phân biệt với bệnh lý thiếu hụt men 21-hydroxylase, vốn phổ biến hơn nhiều. Do đó, AHC thường được chẩn đoán lâm với tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH: congenital adrenal hyperplasia)^(15,16). Tuy nhiên, một nét đặc trưng của bệnh lý AHC là bài tiết androgen cũng giảm thiểu và điều này hoàn toàn trái ngược với bệnh lý CAH. Từ khi đột biến gen *NR0B1* đầu tiên được mô tả, cho đến nay, đã có hơn 100 kiểu đột biến gen này được báo cáo. Hầu hết các đột biến này là các đột biến vô nghĩa hoặc lệch khung đọc làm cho sản phẩm protein cuối cùng bị cắt ngắn^(17,18). Chẩn đoán phân tử đột biến gen *NR0B1* rất quan trọng trên

lâm sàng. Đầu tiên, việc xét nghiệm di truyền cho người mẹ mang gen bệnh sẽ giúp cho việc chọn lọc tiền làm tổ hoặc có thể chẩn đoán và điều trị sớm cho bé trai mắc bệnh ngay khi vừa ra đời nhằm hạn chế các di chứng cũng như tử vong⁽¹⁹⁾. Bên cạnh đó, các nhà lâm sàng sẽ chắc chắn được nguy cơ suy sinh dục của trẻ khi dậy thì để có thể lựa chọn chính xác thời điểm và phương pháp điều trị phù hợp^(20,21). Mặc dù tiên lượng sinh sản của các bệnh nhân AHC là dè dặt do các bệnh nhân này thường có ít tinh trùng và cấu trúc mô học của tinh hoàn bị thay đổi⁽²²⁾, tuy nhiên đã có những bệnh nhân AHC đã thành công trong việc ly trích tinh trùng và thụ tinh thành công được báo cáo⁽²³⁾. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, có 2 kiểu đột biến bán hợp tử trên gen *NR0B1* được phát hiện bao gồm c.1292delG (p. Cys431Ilefs*5) và c.621_622GC>TT (p. Q208X). Cả 2 kiểu đột biến này đều làm cho sản phẩm protein DAX1 bị cắt cụt và dẫn đến chức năng không hoàn chỉnh, và các kiểu đột biến này đã được báo cáo trong các công trình nghiên cứu trước đây^(12,13). Các bệnh nhân đều không được chẩn đoán trên lâm sàng là AHC cho đến tuổi trưởng thành, khi đã bắt đầu có các biểu hiện của suy sinh dục. Từ đó cho thấy vai trò quan trọng của việc chẩn đoán phân tử chính xác của bệnh lý này, việc xác định đúng nguyên nhân di truyền sẽ hỗ trợ rất nhiều cho kế

hoạch điều trị cũng như tư vấn di truyền cho người thân trong gia đình bệnh nhân.

KẾT LUẬN

Thông qua nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng hoàn chỉnh quy trình chẩn đoán phân tử đột biến gen *NR0B1* có liên quan đến bệnh lý AHC. Việc chẩn đoán chính xác AHC đóng vai trò hết sức quan trọng trong việc nâng cao nhận thức về bệnh lý để bệnh nhân và thân nhân được tư vấn di truyền phù hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Huecker MR, Dominique E (2019). Adrenal Insufficiency. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441832/>.
- Pazderska A, Pearce SH (2017). Adrenal insufficiency – recognition and management. *Clin Med*, 17(3):258-262.
- Lin L, Gu W-X, Ozisik G, et al (2006). Analysis of DAX1 (NR0B1) and steroidogenic factor-1 (NR5A1) in children and adults with primary adrenal failure: ten years' experience. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(8):3048-3054.
- Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, et al (1994). An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature*, 372(6507):635-641.
- Perry R, Kecha O, Paquette J, Huot C, Van Vliet G, Deal C (2005). Primary adrenal insufficiency in children: twenty years experience at the Sainte-Justine Hospital, Montreal. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(6):3243-3250.
- Jadhav U, Harris RM, Jameson JL (2011). Hypogonadotropic Hypogonadism in Subjects with DAX1 Mutations. *Mol Cell Endocrinol*, 346(1-2):65-73.
- Peter M, Viemann M, Partsch CJ, Sippell WG (1998). Congenital adrenal hypoplasia: clinical spectrum, experience with hormonal diagnosis, and report on new point mutations of the DAX-1 gene. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(8):2666-2674.
- Ali JM, Jalaludin MY, Harun F (2014). Late onset X-linked adrenal hypoplasia congenita with hypogonadotropic hypogonadism due to a novel 4-bp deletion in exon 2 of NR0B1. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*, 27(11-12):1189-1192.
- Sánchez-Pacheco M, Moreno-Pérez O, Sánchez-Ortiga R, Picó A, Moreno F (2012). Congenital adrenal hypoplasia and hypogonadotropic hypogonadism: phenotypic variability of the DAX-1 gene R267P mutation. *Endocrinol Nutr Organo Soc Espanola Endocrinol Nutr*, 59(2):140-142.
- Calliari LEP, Rocha MN, Rocha MN, Monte O, Longui CA (2013). Mild adrenal insufficiency due to a NR0B1 (DAX1) gene mutation in a boy presenting an association of hypogonadotropic hypogonadism, reduced final height and

- attention deficit disorder. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 57(7):562-565.
- Lin L, Achermann JC (2004). Inherited adrenal hypoplasia: not just for kids! *Clin Endocrinol*, 60(5):529-537.
- Loureiro M, Reis F, Robalo B, Pereira C, Sampaio L (2015). Adrenal Hypoplasia Congenita: A Rare Cause of Primary Adrenal Insufficiency and Hypogonadotropic Hypogonadism. *Pediatr Rep*, 7(3). doi:10.4081/pr.2015.5936
- Durmaz E, Turkkahraman D, Berdeli A, et al (2013). A novel DAX-1 mutation presented with precocious puberty and hypogonadotropic hypogonadism in different members of a large pedigree. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*, 26(5-6):551-555.
- Verrijn Stuart AA, Ozisik G, de Vroede MA, et al (2007). An amino-terminal DAX1 (NR0B1) missense mutation associated with isolated mineralocorticoid deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(3):755-761.
- Mantovani RM, Pezzuti IL, Dias VMA, Silva IN (2009). Identification of a novel mutation in DAX1/NR0B1A gene in two siblings with severe clinical presentation of adrenal hypoplasia congenita. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 53(6):771-776.
- Esden-Tempska Z, Lewczuk A, Tobias ES, Borozdin W, Kohlhase J, Sworczak K (2012). Delayed diagnosis of adrenal hypoplasia congenita in a patient with a new mutation in the NR0B1 gene. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*, 25(1-2):147-148.
- Krone N, Riepe FG, Dörr H-G, et al (2005). Thirteen novel mutations in the NR0B1 (DAX1) gene as cause of adrenal hypoplasia congenita. *Hum Mutat*, 25(5):502-503.
- Li N, Liu R, Zhang H, et al (2010). Seven novel DAX1 mutations with loss of function identified in Chinese patients with congenital adrenal hypoplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(9):E104-111.
- Ostermann S, Salvi R, Lang-Muritano M, et al (2006). Importance of genetic diagnosis of DAX-1 deficiency: example from a large, multigenerational family. *Horm Res*, 65(4):163-168.
- Klein DA, Emerick JE, Sylvester JE, Vogt KS (2017). Disorders of Puberty: An Approach to Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*, 96(9):590-599.
- Loke KY, Larry KS, Lee YS, Peter M, Drop SL (2000). Prepubertal diagnosis of X-linked congenital adrenal hypoplasia presenting after infancy. *Eur J Pediatr*, 159(9):671-675.
- Mantovani G, De Menis E, Borretta G, et al (2006). DAX1 and X-linked adrenal hypoplasia congenita: clinical and molecular analysis in five patients. *Eur J Endocrinol*, 154(5):685-689.
- Frapsauce C, Ravel C, Legendre M, et al (2011). Birth after TESE-ICSI in a man with hypogonadotropic hypogonadism and congenital adrenal hypoplasia linked to a DAX-1 (NR0B1) mutation. *Hum Reprod Oxf Engl*, 26(3):724-728.

Ngày nhận bài báo:	13/10/2020
Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo:	01/02/2021
Ngày bài báo được đăng:	10/03/2021