

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



HOÀNG QUỐC HUY

**SINH TỔNG HỢP, VẬN CHUYỂN,
CHUYỂN HÓA VÀ TÁC DỤNG CỦA
TESTOSTERON**

CHUYÊN ĐỀ TIẾN SĨ

HÀ NỘI – 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

=====

HOÀNG QUỐC HUY

**SINH TỔNG HỢP, VẬN CHUYỂN,
CHUYỂN HÓA VÀ TÁC DỤNG CỦA
TESTOSTERON**

**Thuộc đề tài: “Nghiên cứu hiệu quả của Androgel bôi da trong kích
thích buồng trứng ở người bệnh đáp ứng kém buồng trứng”**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 9720105

Người hướng dẫn khoa học:

TS. Trần Thanh Tùng

CHUYÊN ĐỀ TIẾN SĨ

HÀ NỘI – 2019

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

LDL	: Low density lipoprotein
HDL	: High density lipoprotein
GnRH	: Gonadotropine releasing hormon
GMP	: Guanosin Monophosphat
DHT	: Dihydrotestosteron
DHEA	: Dehydroepiandrosterone
AMH	: Anti Mullerian Hormon
AFCs	: Antral Follicle counts (Nang thứ cấp)
ADN	: Adenodeoxyribonucleic
AMP	: Adenosin Monophosphat
AR	: Androgen Receptor
ARN	: Adenoribonucleic
CoA	: Coenzym A
CYP	: Cytochrom
FSH	: Folicle Stimulating Hormon
E2	: Estradiol
TTTON	: Thụ Tinh Trong Ống Nghiệm
IVF	: In invitro Fertilization
PKA	: Protein kinase A
AI	: Aromatase Inhibitor (Chất ức chế men thơm hóa)
PKC	: Protein kinase C
ASD	: Androstenedione
mRNA	: Messenger Ribonucleic Acid
PCOS	: Polycytic Ovary Syndrome (Hội chứng buồng trứng đa nang)
SHBG	: Sex Hormon-Binding Globulin (Globulin kích thích tố giới tính)
TNF	: Tumor Necrosis Factor (Yếu tố hoại tử khối u)

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
1. Giới thiệu.....	2
1.1 Các tế bào Leydig.....	3
1.2 Sinh tổng hợp, vận chuyển và chuyển hóa androgen.....	5
2. Tác dụng sinh lý của androgen.....	8
2.1. Vai trò của testosterone trong quá trình phát triển của thai nhi.....	9
2.2. Vai trò của testosterone trong sự phát triển các đặc tính sinh dục nam nguyên phát và thứ phát.....	10
2.3. Vai trò của testosterone đối với hoạt động tình dục ở nam giới.....	11
2.4. Vai trò của testosterone đối với chức năng sinh sản ở nam giới.....	18
2.5. Vai trò của testosterone trên các cơ quan đích.....	23
3. Cơ chế tác dụng của androgen.....	23
3.1. Cấu trúc của androgen receptor.....	24
3.2. Tác dụng của androgen thông qua hệ gen.....	26
3.3. Tác dụng của androgen không thông qua hệ gen.....	26
4. Lợi ích của điều trị testosterone.....	29
4.1 Trên ham muốn, hành vi và chức năng sinh dục.....	30
4.2 Trên cảm xúc, tâm thần.....	30
4.3 Trên cơ, xương.....	31
4.4. Lợi ích khác.....	32
5. Các dạng bào chế.....	34
5.1. Dạng uống.....	35
5.2. Dạng tiêm bắp.....	35
5.3. Dạng cấy dưới da.....	37
5.4. Dạng dán dưới da.....	37
5.5. Gel bôi trên da.....	38

5.6. Dạng hấp thu qua niêm mạc má.....	38
6. Tác dụng không mong muốn của testosterone.....	40
6.1. Bệnh lý tuyến tiền liệt.....	40
6.2. Phì đại tuyến vú và ung thư vú ở nam giới.....	40
6.3. Bệnh lý tim mạch.....	41
6.4. Tăng sản hồng cầu.....	42
6.5. Ngừng thở khi ngủ.....	42
6.6. Tăng lipid máu.....	43
6.7. Thay đổi về tâm thần.....	43
7. Các nghiên cứu về bổ sung testosterone cho các bệnh nhân dự trữ buồng trứng giảm trong thụ tinh trong ống nghiệm.....	44
7.1. Thuốc Androgel sử dụng trong nghiên cứu.....	46
7.2. Tính an toàn của bổ sung testosterone qua da.....	47
KẾT LUẬN.....	48
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.2. Các Androgen chính trong cơ thể.....	5
Bảng 5.6. So sánh ưu điểm, nhược điểm của các dạng chế phẩm testosterone dùng trong điều trị suy sinh dục nam.....	39
Bảng 6.7. Theo dõi khi điều trị bằng testosterone.....	44

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Con đường sinh tổng hợp testosterone tại tinh hoàn.....	6
Hình 1.2. Chuyển hóa testosterone.....	8
Hình 2.1. Sự thay đổi nồng độ testosterone theo tuổi	9
Hình 2.2 Cấu trúc của ống sinh tinh	19
Hình 3.1 Cấu trúc gen mã hóa cho androgen receptor	24
Hình 3.2. Các domain chức năng khác của androgen receptor	25
Hình 3.3. Cơ chế tác dụng thông qua hệ gen và không thông qua hệ gen của androgen	29

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đáp ứng kém với kích thích buồng trứng trong thụ tinh trong ống nghiệm là một vấn đề mà các nhà thực hành lâm sàng về hỗ trợ sinh sản rất quan tâm trong thời gian gần đây, tuy đã có nhiều giả thuyết cũng như các giải pháp đã được đưa ra và chứng minh là có hiệu quả trong cải thiện khả năng đáp ứng với thuốc kích trứng, tuy nhiên số liệu còn ít và không thống nhất về các tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân cũng như cách thức tiến hành nghiên cứu cho nên vẫn chưa có một khuyến cáo cụ thể nào về mặt lâm sàng cho các bác sỹ điều trị.

Nổi bật lên trong khoảng 5 năm trở lại đây rất nhiều nghiên cứu đã chứng minh tác dụng cải thiện số lượng, chất lượng cũng như tỷ lệ có thai lâm sàng của các loại Androgen như (DHEA/Testosteron gel) trên những bệnh nhân đáp ứng kém với kích thích buồng trứng. Tuy nhiên, để áp dụng chính xác biện pháp điều trị, các nhà lâm sàng cần có cái nhìn sâu sắc về nguyên nhân cũng như cơ chế bệnh sinh của đáp ứng kém. Không có một biện pháp điều trị nào có thể chữa được tất cả những nguyên nhân gây đáp ứng kém, đặc biệt trên những phụ nữ trẻ tuổi < 35 mà được tiên lượng là sẽ đáp ứng kém với kích thích buồng trứng.

Cho đến nay hai giải pháp được nghiên cứu nhiều nhất trong điều trị đáp ứng kém là testosteron và xin noãn. Đối với testosteron bên cạnh hiệu quả điều trị trước khi kích thích buồng trứng đã được chứng minh trên mô hình động vật cũng như phần nào đó trên mô hình của con người, một vấn đề rất quan trọng là tính an toàn, các tác dụng không mong muốn khi điều trị, đặc biệt ở những bệnh nhân phải dùng trong thời gian dài.

Do đó việc nắm rõ cơ chế bệnh sinh, sinh tổng hợp, vận chuyển, chuyển hóa cũng như các hoạt động không phải hệ gen của testosteron trong đáp ứng kém với kích thích buồng trứng là cực kỳ quan trọng. Từ đó các nhà nghiên

cứu và các bác sỹ lâm sàng hiểu rõ hơn về cơ chế, tác dụng của testosterone trong điều trị đáp ứng kém. Bởi vậy mục đích của chuyên đề này nhằm tổng hợp các kiến thức về sinh tổng hợp, vận chuyển, chuyển hóa và các hoạt động không phải hệ gen của testosterone.

1. Giới thiệu

Androgen là những hormon steroid, có tác dụng kích thích hoặc kiểm soát sự phát triển và duy trì các đặc tính nam thứ phát của động vật có xương sống. Androgen cũng chính là những steroid đồng hóa gốc và là tiền thân của tất cả các estrogen [1], [2]. Những androgen quan trọng trong cơ thể là testosterone, dihydrotestosterone (DHT), dehydroepiandrosteron (DHEA), androstenedion và androstenediol. Androgen chính và được biết đến nhiều nhất là testosterone.

Androgens rất cần thiết cho sự phát triển và hoạt động chức năng của các cơ quan sinh sản nam, ví dụ như sự trưởng thành của các đặc tính sinh dục phụ, ham muốn tình dục và kích thích sự sản sinh tinh trùng. Ngoài ra androgen ảnh hưởng đến nhiều chức năng cơ quan thực thể, mà các chức năng được khám phá trong chuyên đề này. Thực tế, rất nhiều cơ quan thể hiện thụ thể androgen [3]. Tác dụng sinh lý của androgen phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau như số lượng phân tử androgen, phân phối androgen và các chất chuyển hóa của androgen trong tế bào, tương tác với các thụ thể, số lượng polyglutamin của chuỗi amino acid trong thụ thể androgen và kích hoạt thụ thể [4]. Để đạt sự bộc lộ đầy đủ với androgen trong các mô mục tiêu, mức độ ngoại vi và khu trú của chúng phải được cân bằng tốt và vận chuyển với tỷ lệ bài tiết/giải phóng cũng phải cân bằng. Hoạt động của androgen trong tế bào đích phụ thuộc vào lượng steroid mà steroid có thể thâm nhập vào các tế bào, mức độ chuyển hóa trao đổi trong tế bào, tương tác với các protein thụ thể và cuối cùng, khi tác động của các thụ thể androgen ở mức hệ gen. Trừ khi được

đề cập cụ thể, chuyên đề này đề cập đến dữ liệu của con người. Cung cấp một tổng quan về testosterone và tập trung vào các tế bào Leydig, điều hòa chức năng tế bào Leydig, tạo steroid, vận chuyển và chuyển hóa của testosterone và hoạt động androgen hệ gen/không hệ gen.

1.1 Các tế bào Leydig.

Các tế bào Leydig nằm trong mô kẽ tinh hoàn. Những tế bào này là nguồn chính của testosterone, và tạo ra khoảng 95% testosterone tuần hoàn ở nam giới. Các tế bào Leydig chiếm khoảng 10-20% diện tích mô kẽ và tinh hoàn người chứa khoảng 200×10^6 tế bào Leydig. Sản xuất testosterone hàng ngày từ tinh hoàn được ước tính khoảng 8mg. Do hầu hết các testosterone ngoại vi có nguồn gốc từ các tế bào Leydig ở tinh hoàn, nên không có gì ngạc nhiên khi nồng độ testosterone tinh hoàn vượt quá nồng độ hormon giới tính gắn globulin (SHBG)/protein gắn với androgen protein (ABP) khoảng 200 lần [3], cho thấy dư đáng kể testosterone (tự do) trong tinh hoàn. Liên quan đến nồng độ trong máu ngoại vi, nồng độ testosterone tinh hoàn thực sự cao gấp khoảng 80 lần [6]. Tế bào Leydig là tế bào duy nhất có tất cả các enzyme cần thiết để chuyển đổi cholesterol thành testosterone [7]. Trong tế bào Leydig, testosterone cũng có thể được chuyển hóa thành dihydrotestosterone (DHT) hoặc estradiol.

Từ quan điểm phát triển, hình thái và chức năng, các loại tế bào Leydig khác nhau có thể được phân biệt: tế bào Leydig như tế bào sáng lập, tế bào Leydig tiền thân như tế bào biệt hóa ở bào thai và tế bào Leydig trưởng thành như tế bào Leydig phân chia cuối cùng [8]. Tế bào Leydig phôi thai trở thành tế bào Leydig sơ sinh khi sinh và thoái hóa sau đó hoặc thoái lưu thành các tế bào Leydig chưa trưởng thành [9]. Tế bào Leydig bào thai sản xuất testosterone. Tế bào Leydig chưa trưởng thành chủ yếu sản xuất androstane- 3α , 17β -diol thay cho testosterone cũng đã được mô tả. Tốc độ tăng sinh của các tế bào Leydig trong tinh hoàn người trưởng thành khá thấp và chịu ảnh hưởng

của luteinizing hormon (LH). Sự phát triển của các tế bào Leydig là chưa hoàn toàn rõ ràng, và trung thận (mesonephros), mào thần kinh và các nguồn celomic đã được biết đến. Trong tinh hoàn người lớn, các tế bào Leydig phát triển từ các tế bào giống như mạch máu ngoại vi, ống ngoại vi, trung mô, và sự biệt hóa của các tế bào này thành tế bào Leydig do LH tạo ra, nhưng cũng bởi các yếu tố tăng trưởng và các yếu tố biệt hóa có nguồn gốc từ tế bào sertoli. Cả việc tổng hợp và bài tiết đều theo sự điều hòa của LH tuyến yên và các yếu tố tại chỗ [10], [11]. Nói chung, ở hầu hết các loài động vật có vú, tinh hoàn trải qua một giai đoạn chức năng độc lập trước khi trục Dưới đồi-Tuyến yên-Tuyến sinh dục phát triển vào khoảng giữa thai kỳ [12]. Sau đó, tinh hoàn của thai nhi xuất hiện trở thành phụ thuộc vào hormon tuyến yên, đồng thời với chức năng tế bào Leydig giảm, nhưng làm tăng số lượng tế bào Sertoli. Động vật gặm nhấm và động vật linh trưởng xuất hiện để đại diện cho các trường hợp đặc biệt trong phạm vi như loài gặm nhấm được sinh ra trước giai đoạn phụ thuộc vào tuyến yên của sự phát triển của bào thai; trong khi ở động vật linh trưởng, tinh hoàn phụ thuộc vào gonadotropin rau thai xuất hiện trong giai đoạn phát triển độc lập tuyến yên.

Ngoài các tế bào Leydig, việc sản xuất testosterone/androgen còn lại với ý nghĩa sinh học có nguồn gốc từ việc tạo ra steroid tuyến thượng thận. Việc sản xuất steroid không nhất thiết giới hạn ở các tuyến nội tiết, nhưng lượng rất nhỏ, chủ yếu phát sinh của thai kỳ, cũng có thể được sản xuất tại các tế bào não, và mặc dù sự đóng góp của các tế bào hệ thần kinh đến lưu thông hormon là rất nhỏ, đặc biệt, việc sản xuất steroid có thể rất quan trọng về mặt sinh lý, đặc biệt là khi vận chuyển và giải phóng thấp [13].

1.2 Sinh tổng hợp, vận chuyển và chuyển hóa androgen

Androgen là những hormon steroid chủ yếu liên quan đến sự phát triển của kiểu hình nam trong giai đoạn phát sinh phôi, hình thành các đặc tính sinh dục nam ở tuổi dậy thì, và duy trì chức năng sinh sản nam, hoạt động sinh tinh và hành vi tình dục khi trưởng thành. Androgen còn ảnh hưởng đến chức năng của nhiều mô và cơ quan khác trong cơ thể như xương và cơ xương, trên cả nam và nữ. Androgen cũng chính là những steroid đồng hóa gốc và là tiền thân của tất cả các estrogen [14], [15]. Các androgen quan trọng trong cơ thể là testosterone, dihydrotestosterone (DHT), dehydroepiandrosteron (DHEA), androstenedion và androstenediol; trong đó testosterone là androgen chính lưu hành trong vòng tuần hoàn [15], [16].

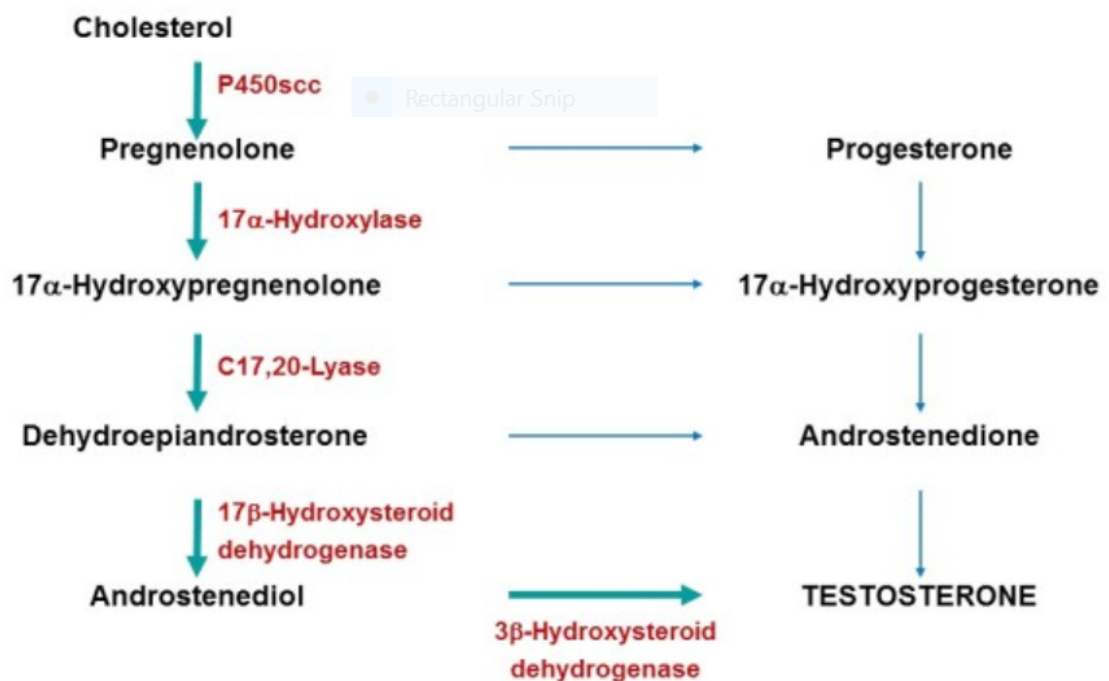
Bảng 1.2. Các Androgen chính trong cơ thể [17]

Androgen	Nơi sản xuất	Chức năng
Testosterone	Tinh hoàn	Điều hòa gonadotropin Sản xuất tinh trùng Nam hóa ống Wolf
Dihydrotestosterone	Mô ngoại vi	Nam hóa cơ quan sinh dục ngoài và xoang niệu sinh dục Đặc điểm sinh dục thứ phát
Dehydrotestosterone	Thượng thận	Tiền chất của testosterone
Androstenedion	Thượng thận	Tiền chất của testosterone

Ở nam giới, có khoảng 8 mg testosterone được sản xuất hàng ngày, trong đó 95% testosterone do tế bào Leydig bài tiết, và chỉ có 5% là được sản xuất bởi tuyến thượng thận. Những tế bào này nằm ở khoảng kẽ giữa các ống sinh tinh và chiếm 20% tổng khối lượng tinh hoàn [14], [15]. Tế bào Leydig hầu như không có mặt ở tinh hoàn trẻ em nam, do đó ở thời kỳ này tinh hoàn không bài tiết testosterone. Nhưng trong thời kỳ bào thai, vài tháng đầu ở trẻ

trai mới sinh và nam giới kể từ tuổi dậy thì thì tinh hoàn bài tiết nhiều testosterone [16].

Tại tinh hoàn và tuyến thượng thận, các androgen được tổng hợp chủ yếu từ cholesterol hoặc trực tiếp từ acetyl coenzyme A [16]. Quá trình sinh tổng hợp testosterone từ cholesterol bao gồm nhiều bước, trong đó bước đầu tiên là quá trình chuyển cholesterol từ bên ngoài vào bên trong màng ty thể nhờ protein điều hòa sản xuất steroid cấp tính (steroidogenic acute regulatory protein – StAR), và sau đó là sự phân cắt chuỗi bên của cholesterol bởi enzym P450_{scc} (CYP11A1). Sự phân cắt này tạo ra pregnenolon, là bước giới hạn tốc độ trong sinh tổng hợp testosterone. Các bước tiếp theo đòi hỏi sự xúc tác của một số enzym, bao gồm 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 17 α -hydroxylase/C17-20-lyase và 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase typ 3[18]. Các tiền chất của testosterone là androstenedion và dehydroepiandrosteron là các androgen yếu và có thể bị biến đổi ở ngoại vi thành testosterone [15].



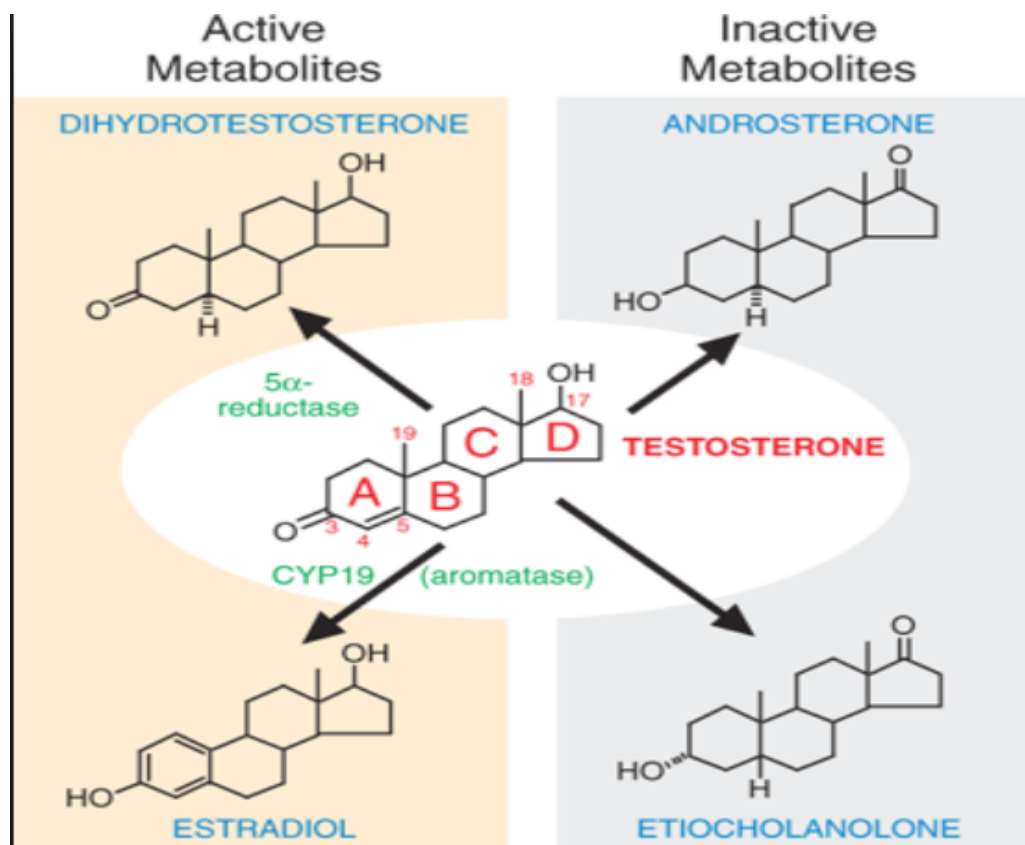
Hình 1.1. Con đường sinh tổng hợp testosterone tại tinh hoàn [18]

Sau khi được bài tiết từ tinh hoàn, khoảng 97% testosterone sẽ liên kết với protein huyết tương, hoặc liên kết lỏng lẻo với albumin, hoặc liên kết chặt chẽ hơn với một beta globulin được gọi là globulin liên kết với hormon sinh dục (sex hormone-binding globulin – SHBG). Phần testosterone liên kết với SHBG chiếm khoảng 40% và là phần không có tác dụng sinh học. Phần testosterone liên kết với albumin và lượng testosterone tự do là phần hormon thể hiện hoạt tính sinh học [6]. Dạng liên kết với protein huyết tương của testosterone sẽ lưu hành trong máu từ 30 phút đến vài giờ, và trong thời gian này, testosterone hoặc sẽ được chuyển vào các mô đích, hoặc sẽ bị giáng hóa thành các sản phẩm không có hoạt tính và bị bài xuất ra khỏi cơ thể [18].

Tại các mô, testosterone có thể được chuyển hóa thành 2 steroid có hoạt tính khác, DHT và estradiol. Quá trình chuyển testosterone thành DHT diễn ra mạnh ở một số cơ quan đích như tuyến tiền liệt ở người trưởng thành và bộ phận sinh dục ngoài của thai nhi nam [16]. Cả testosterone và DHT đều tác động thông qua androgen receptor, tuy nhiên DHT có ái lực với receptor cao hơn và hoạt hóa sự biểu hiện gen hiệu quả hơn. Enzym chịu trách nhiệm cho quá trình chuyển hóa testosterone thành DHT là 5α -reductase. Hai typ của 5α -reductase đã được xác định: typ I phân bố chủ yếu trên da không phụ thuộc bộ phận sinh dục, gan và xương; typ 2 được tìm thấy trong nhiều mô niệu sinh dục ở nam giới và da bộ phận sinh dục ở cả nam và nữ [15]. Phức hợp enzym aromatase có mặt ở nhiều mô, đặc biệt là tại gan và mô mỡ, xúc tác cho quá trình chuyển testosterone thành estradiol. Lượng estradiol lưu hành trong vòng tuần hoàn của nam giới, phần còn lại được bài tiết từ tinh hoàn, có thể là từ tế bào Leydig [15].

Phần testosterone không gắn vào các mô sẽ nhanh chóng bị chuyển dạng, chủ yếu tại gan, thành các hợp chất không có hoạt tính sinh học là androsteron

và eticholanolon và bị đào thải ra ngoài qua nước tiểu. Dihydrotestosteron bị chuyển hóa thành androsteron, androstanedion, và androstanediol [15], [16].

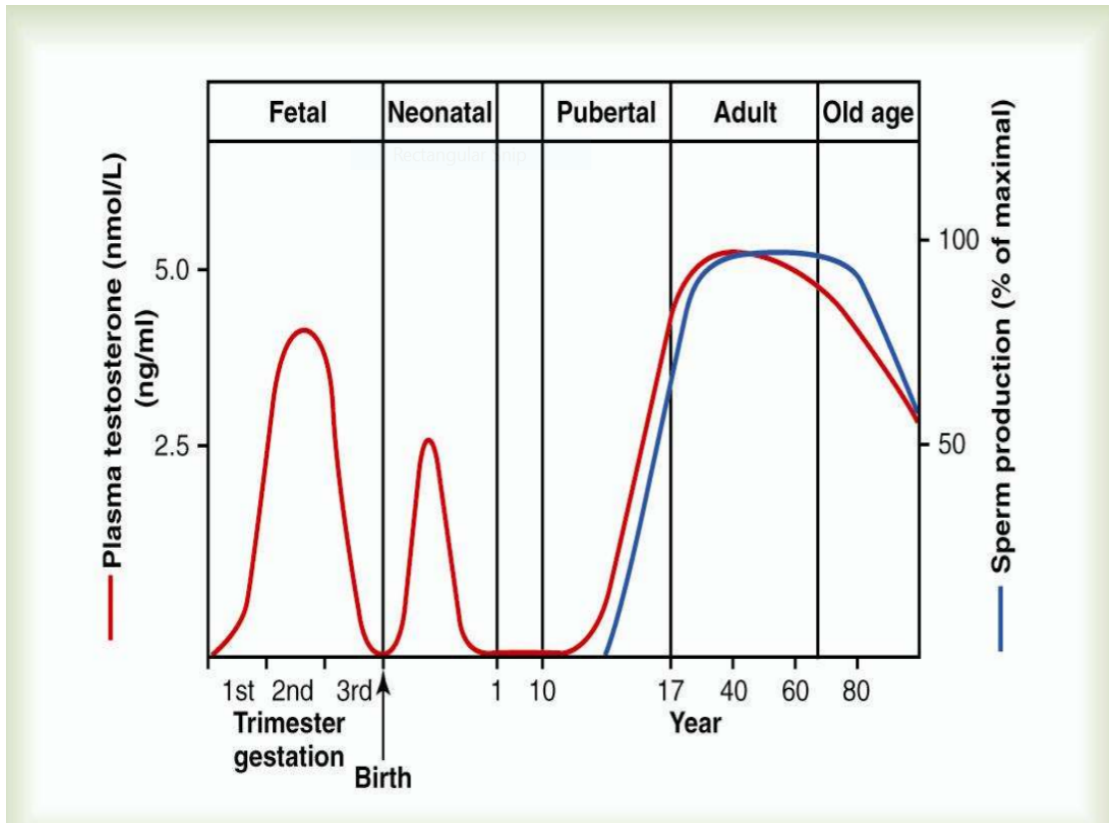


Hình 1.2. Chuyển hóa testosterone [15]

2. Tác dụng sinh lý của androgen

Nói chung testosterone có vai trò trong sự hình thành và duy trì các đặc tính của cơ thể nam. Ngay trong thời kỳ bào thai, tinh hoàn đã được kích thích bởi hCG từ rau thai để sản xuất một lượng vừa phải testosterone trong suốt giai đoạn phát triển của thai nhi và trong 10 hoặc nhiều tuần sau khi sinh; sau đó, về cơ bản không có testosterone được sản xuất trong thời thơ ấu cho đến khoảng 10-13 tuổi. Đến tuổi dậy thì, sự sản xuất testosterone bắt đầu tăng nhanh dưới sự kích thích của các hormon sinh dục thùy trước tuyến yên, và kéo dài trong suốt hầu hết phần thời gian còn lại của cuộc đời. Theo tuổi,

nồng độ testosterone trong huyết thanh của nam giới giảm dần, đặc biệt giảm nhanh khi > 50 tuổi và thường chỉ đạt 20-50% giá trị đỉnh của testosterone khi 80 tuổi (Hình 2.1).



Hình 2.1. Sự thay đổi nồng độ testosterone theo tuổi [16]

2.1. Vai trò của testosterone trong quá trình phát triển của thai nhi

Testosterone bắt đầu được bài tiết từ tinh hoàn thai nhi vào khoảng tuần thứ 7 của thai kỳ. Tác dụng của testosterone trong thời kỳ này là [14], [16]:

- Kích thích phát triển đường sinh dục ngoài của bào thai theo kiểu nam như tạo dương vật và bìu, hình thành tuyến tiền liệt, túi tinh và đường dẫn tinh.
- Trong 2-3 tháng cuối của thai kỳ, tinh hoàn bài tiết một lượng testosterone thích hợp để kích thích đưa tinh hoàn di chuyển từ bụng xuống bìu. Nếu không đủ lượng testosterone, tinh hoàn vẫn nằm trong ổ bụng và sẽ khó sản sinh tinh trùng.

2.2. Vai trò của testosterone trong sự phát triển các đặc tính sinh dục nam nguyên phát và thứ phát

Sau tuổi dậy thì, lượng testosterone tăng nhanh làm tăng kích thước của dương vật, bìu và tinh hoàn, đồng thời kích thích sự hình thành các đặc tính sinh dục nam thứ phát từ khi bắt đầu dậy thì cho đến khi trưởng thành [14], [16].

– *Ảnh hưởng đến phân bố lông/tóc trên cơ thể*: Testosterone kích thích sự phát triển của lông trên xương mu, lông dọc theo vùng từ mu đến rốn và có thể trên rốn, lông trên mặt, trên ngực, và ít hơn ở các vùng khác trên cơ thể, ví dụ như lưng. Ngược lại, testosterone có thể làm giảm sự phát triển của tóc ở trên đỉnh đầu và gây hói đầu.

– *Ảnh hưởng đến giọng nói*: Testosterone được bài tiết từ tinh hoàn hoặc được tiêm vào cơ thể đều làm phì đại niêm mạc thanh quản và mở rộng thanh quản, gây nên hiện tượng “vỡ giọng” ở tuổi dậy thì, sau đó dần chuyển sang giọng nói trầm đặc trưng của nam giới.

– *Ảnh hưởng đến da và sự phát triển của mụn trứng cá*: Testosterone làm tăng độ dày và thô của da trên toàn cơ thể; làm tăng hoạt động của tuyến bã nhờn, đặc biệt là ở mặt nên dễ gây hình thành mụn trứng cá. Mụn trứng cá là dấu hiệu phổ biến của lứa tuổi thanh thiếu niên khi cơ thể nam bắt đầu được testosterone kích thích.

– *Ảnh hưởng đến chuyển hóa protein và phát triển cơ*: Một trong những đặc tính nam quan trọng nhất là sự phát triển mạnh của khối cơ sau tuổi dậy thì dưới tác dụng của testosterone, với khối lượng cơ có thể tăng trên 50% so với nữ giới. Ngoài ra, ở những vị trí khác của cơ thể cũng có hiện tượng tăng lượng protein. Ví dụ như tăng lắng đọng protein ở da làm da dày hơn, phì đại niêm mạc thanh quản, phì đại dây âm thanh làm giọng nói trầm hơn nữ. Tất cả những hiện tượng này đều liên quan đến tác dụng đồng hóa protein của testosterone. Chính do tác dụng này trên testosterone đã được một số vận động

viên sử dụng để phát triển khối cơ bắp, nhưng việc lạm dụng sẽ gây nhiều tác dụng có hại. Testosteron các androgen tổng hợp còn được sử dụng ở người già như một “hormone trẻ hóa” để làm tăng sức mạnh của cơ.

– *Ảnh hưởng đến xương*: Testosteron làm tăng tổng hợp khung protein của xương, phát triển và cốt hóa sụn liên hợp đầu xương dài, làm dày xương, và tăng lắng đọng muối calci ở xương, do đó làm tăng tổng sức mạnh của xương. Đối với xương chậu, testosteron có tác dụng đặc biệt, bao gồm làm hẹp đường kính khung chậu, tăng chiều dài của khung chậu làm cho khung chậu có hình ống khác với khung chậu mở rộng của nữ, và làm tăng sức mạnh của khung chậu. Do tác dụng làm tăng kích thước và sức mạnh của xương nên testosteron được dùng để điều trị loãng xương ở người đàn ông lớn tuổi.

– *Ảnh hưởng đến chuyển hóa cơ sở*: Với lượng testosteron được bài tiết hàng ngày ở tuổi thanh thiếu niên, chuyển hóa cơ sở tăng 5-10% so với khi không có tác dụng của testosteron. Mức chuyển hóa cơ sở có thể tăng đến 15% khi có mặt một lượng lớn testosteron. Tác dụng tăng mức chuyển hóa cơ sở có thể là do testosteron làm tăng đồng hóa protein, tăng lượng protein, đặc biệt là các enzym, do đó làm tăng hoạt động của tất cả các tế bào.

– *Ảnh hưởng đến hồng cầu*: Testosteron làm tăng số lượng hồng cầu trong 1 mm^3 máu khoảng 15-20%, vì vậy số lượng hồng cầu ở nam thường cao hơn ở nữ khoảng 700.000 tế bào/ mm^3 .

– *Ảnh hưởng đến cân bằng nước và các chất điện giải*: Cũng như các hormon steroid, testosteron làm tăng tái hấp thu Na^+ ở ống lượn xa của thận, nhưng tác dụng này thấp hơn rất nhiều so với các mineralocorticoid của tuyến thượng thận.

2.3. Vai trò của testosteron đối với hoạt động tình dục ở nam giới

Các androgen đóng vai trò “chìa khóa” trong cả việc kích thích và duy trì chức năng sinh dục ở nam giới. kích thích tình dục nam giới sẽ dẫn tới một

loạt những biến đổi về tâm thần, thần kinh, mạch máu và tại các cơ quan sinh dục, và mỗi giai đoạn khác nhau của hoạt động tình dục sẽ có những biến đổi đặc trưng. Hoạt động tình dục của nam giới bao gồm 5 giai đoạn: giai đoạn ham muốn tình dục (libido), giai đoạn cương dương (erection), giai đoạn xuất tinh (ejaculation), giai đoạn cực khoái (orgasm), và giai đoạn xui dương vật sau khi xuất tinh (detumescence) [18]. Testosteron là yếu tố cần thiết cho ham muốn tình dục, hoạt động xuất tinh, và hiện tượng cương dương tự phát diễn ra bình thường. Mỗi cá thể có một ngưỡng nồng độ tác dụng khác nhau, lượng testosterone giảm dưới ngưỡng này sẽ dẫn đến suy giảm chức năng sinh dục nam.

2.3.1. Giai đoạn ham muốn tình dục

Ham muốn tình dục là nhu cầu sinh học đối với hoạt động tình dục và thường biểu hiện bởi hành vi tìm kiếm tình dục (sex-seeking behavior). Mức độ ham muốn thay đổi giữa các cá thể, và trong các khoảng thời gian khác nhau của cùng một cá thể. Những hiểu biết về sinh lý ham muốn tình dục còn rất hạn chế. Hoạt động tình dục trước đây và hiện tại, và các vấn đề về tâm lý xã hội là những yếu tố ngoại cảnh tác động nhiều đến ham muốn tình dục. Thêm vào đó, Nhiều nghiên cứu đã cho thấy vai trò quan trọng của hệ dopaminergic ở thần kinh trung ương và các hormon sinh dục trong điều hòa ham muốn tình dục ở nam giới [18].

Vai trò của androgen trong điều hòa hành vi tình dục ở nam giới đã được đưa ra dựa vào kết quả của một số nghiên cứu. Nồng độ testosteron huyết thanh cao có liên quan đến tăng hoạt động tình dục ở nam giới cao tuổi khỏe mạnh nhưng không gặp ở nam giới trẻ tuổi. Bên cạnh đó, nồng độ testosteron trong huyết thanh tăng cao cũng có thể rút ngắn thời gian làm tiềm tàng của cương dương do tiếp xúc với các yếu tố kích thích tình dục. Việc sử dụng liệu pháp testosteron thay thế các bệnh nhân suy tuyến sinh dục nam có thể giúp hồi phục nhu cầu tình dục, rút ngắn thời gian tiềm tàng, đồng thời tăng tần số

và kích thước của dương vật cương cứng vào ban đêm (nocturnal penile tumescence – NPT). Ngược lại, những bệnh nhân suy tuyến sinh dục nam ngừng sử dụng liệu pháp hormon thay thế sẽ giảm ham muốn tình dục sau 3 – 4 tuần, đồng thời và giảm khả năng cương dương tự phát [18].

2.3.2. Giai đoạn cương dương

Cương dương là hoạt động phức tạp hình thành dưới sự phối hợp của các yếu tố tâm thần, thần kinh, mạch máu, và hormon. Rất nhiều nghiên cứu trên động vật thực nghiệm và trên người đã đưa ra những bằng chứng khoa học về vai trò của androgen đối với sinh lý cương dương.

2.3.2.1. Nghiên cứu trên động vật

Dữ liệu trên động vật thực nghiệm cho thấy testosterone có thể tác động như một chất giãn mạch ở dương vật và trong các mạch máu khác nhau như động mạch vành, một phần do cơ chế hoạt hóa NO synthase. Nghiên cứu của Chamness và cộng sự đã chỉ ra rằng, hoạt tính NO synthase trong dương vật của chuột bị thiếu đã giảm 45%, và việc sử dụng testosterone thay thế giúp ngăn chặn hiện tượng giảm hoạt tính này xảy ra [18]. Noradrenalin là một trong những dưỡng chất gây co mạch chính ở các động mạch và xoang tại dương vật giúp duy trì trạng thái mềm xìu của dương vật. Reilly và cộng sự đã nhận thấy mức độ đáp ứng với phenylephrin, một chất chủ vận α 1-adrenergic, ở chuột cống đực thiếu cao hơn gấp 6 lần so với chuột cống đực có nồng độ testosterone bình thường [19]. Điều này gợi ý rằng, testosterone có thể gián tiếp làm tăng khả năng cương dương bằng cách làm giảm hoạt tính của các chất gây co mạch α -adrenergic trên cơ trơn thể hang. Testosterone cũng có thể góp phần vào cơ chế tắc tĩnh mạch dương vật giúp duy trì sự cương cứng [20].

Ngoài các tác dụng ngoại vi tại dương vật, testosterone có thể ảnh hưởng đến hoạt động cương dương thông qua các cơ chế trung ương. Các nghiên cứu

trên chuột cống gợi ý rằng, testosterone có thể kích thích quá trình cương nhờ các tác động vùng mesolimbic dopamin [21].

2.3.2.2. *Nghiên cứu trên người*

Ở trên người, ảnh hưởng của testosterone lên mạch máu lần đầu tiên được Edwards và cộng sự báo cáo vào năm 1939, các tác giả đã quan sát thấy điều trị bằng testosterone trên những người đàn ông bị cắt bỏ tinh hoàn có liên quan đến hiện tượng tăng “động mạch” của hệ mạch máu trên da, hiện tượng này được đánh giá bằng quang phổ. Bên cạnh đó, liệu pháp testosterone giúp cải thiện rõ rệt về khả năng đi bộ và chứng đau cách hồi ở nam giới có bệnh mạch máu ngoại vi và bệnh viêm thuyên tắc mạch máu (thromboangiitis obliterans) (bệnh Buerger) [22]. Sau đó, một số nghiên cứu không đối chứng được thực hiện vào những năm 1940 đã ghi nhận việc sử dụng testosterone để điều trị chứng đau thắt ngực ở nam giới, với mức độ thành công thay đổi. Gần đây, phương pháp đưa testosterone vào động mạch vành ở nồng độ sinh lý hoặc cao hơn đã gây ra giãn mạch vành và làm tăng lưu lượng máu mạch vành cấp tính ở nam giới bị bệnh mạch vành [23]. Hơn nữa, trong một thử nghiệm có đối chứng placebo uống testosterone giúp cải thiện khả năng giãn mạch phụ thuộc và không phụ thuộc nội mô của động mạch cánh tay ở những người đàn ông bị bệnh mạch vành có chức năng tuyến sinh dục bình thường [24]. Những phát hiện tương tự đã được báo cáo ở phụ nữ mãn kinh sử dụng testosterone trong 6 tuần để đạt nồng độ testosterone toàn phần trong huyết tương khoảng 150ng/dL, cho thấy tác dụng giãn mạch của hormon sinh dục này có thể độc lập với giới tính [25].

Các nghiên cứu trên người được thiết kế để đánh giá tác động gây giãn mạch trực tiếp của testosterone trên động mạch dương vật chưa có nhiều, tuy nhiên, một số bằng chứng gián tiếp về vấn đề này đã được ghi nhận. Aversa và cộng sự đã chứng minh được mối tương quan trực tiếp (hệ số tương quan

$r = 0,37$) giữa nồng độ testosterone tự do trong huyết thanh và sự giãn mạch thể hang được đánh giá bằng siêu âm ở 52 nam giới bị rối loạn cương dương có chức năng tuyến sinh dục bình thường [26]. Trong một nghiên cứu khác của nhóm tác giả này được thiết kế là một thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng tiến hành trên 10 bệnh nhân bị rối loạn cương dương do nguyên nhân động mạch và có nồng độ testosterone huyết thanh ở mức bình thường thấp, kết quả cho thấy việc bổ sung testosterone trong 1 tháng có liên quan với tăng lưu lượng máu (khoảng 27%) tới động mạch thể hang [27]. Becker và cộng sự cũng đã quan sát thấy việc nồng độ testosterone huyết tương tăng lên trong suốt thời gian cương dương vật sau kích thích tình dục trong cả mạch máu hệ thống và mạch máu tại thể hang, hiện tượng này xuất hiện trên cả nam giới khỏe mạnh và những bệnh nhân rối loạn cương dương nồng độ testosterone toàn phần trong huyết tương ở mức bình thường thấp hoặc giảm nhẹ (300 ± 100 ng/dL, hoặc $10,4 \pm 3,5$ nmol/L). Tuy nhiên, phần trăm tăng nồng độ testosterone từ giai đoạn mềm xìu đến các giai đoạn cương cứng của dương vật là ít rõ rệt hơn ở nam giới có rối loạn cương dương so với các đối tượng không có rối loạn cương dương, 15% và 48%, tương ứng [28].

Chưa có nhiều hiểu biết về ảnh hưởng của testosterone lên chức năng tình dục thông qua tác động trên hệ thần kinh trung ương. Các nghiên cứu sơ bộ trên nam giới khỏe mạnh sử dụng chụp xạ hình cắt lớp positron (positron emission tomography – PET) đã cho thấy các vùng paralimbic có thể được kích hoạt khi có các kích thích tình dục thông qua thị giác. Sự hoạt hóa này có liên quan với nồng độ testosterone huyết thanh trong suốt giai đoạn hưng phấn tình dục [21]. Cần thực hiện thêm nhiều nghiên cứu để làm rõ những ảnh hưởng của testosterone trên chức năng cương dương ở mức độ mạch máu dương vật và các trung tâm cao hơn của hệ thần kinh.

2.3.2.3. Phối hợp testosterone và các chất ức chế phosphodiesterase 5

Dữ liệu từ hai thử nghiệm lâm sàng có đối chứng placebo cho thấy, sử dụng testosterone dạng hệ trị liệu qua da có thể cải thiện đáp ứng với chất ức chế phosphodiesterase 5 (PDE5) sildenafil citrat (Viagra) ở nam giới có nồng độ testosterone bình thường thấp [27], [29]. Trong một thử nghiệm không đối chứng placebo kéo dài 6 tuần trên bệnh nhân nam đái tháo đường bị suy tuyến sinh dục, thất bại điều trị với sildenafil citrat do giảm ham muốn tình dục (bệnh nhân thụ động chờ thuốc có tác dụng), việc bổ sung testosterone theo đường uống đã làm tăng rõ rệt các chỉ số về ham muốn và chức năng cương dương. Hai tuần sau khi ngừng testosterone, tình trạng rối loạn cương dương đã tái phát ở phần lớn bệnh nhân [30]. Kết quả một số nghiên cứu sơ bộ khác cũng chỉ ra rằng, sử dụng phối hợp sildenafil citrat và testosterone (tiêm bắp testosterone cypionat liều 250 mg/tháng) thể hiện tác dụng có lợi trên chức năng cương dương ở những quần thể bệnh nhân bao gồm cả nam giới suy tuyến sinh dục và chức năng tuyến sinh dục bình thường đang phải lọc máu [31] [23], và những nam giới có bệnh máu ác tính [32].

Cơ chế làm tăng đáp ứng với các chất ức chế PDE5 của testosterone vẫn chưa rõ ràng, nhưng việc tăng cường ham muốn tình dục bởi testosterone rất có thể là một yếu tố góp phần. Đối lại, điều trị rối loạn cương dương ở nam giới với các chất ức chế PDE5 có thể liên quan với sự gia tăng nồng độ testosterone toàn phần và testosterone tự do [21].

Dựa trên các dữ liệu nghiên cứu trên động vật cho thấy, testosterone có thể hoạt hóa NO synthase [33], từ đó làm tăng hiệu lực của NO và chất truyền tin thứ hai cGMP trong mô dương vật. Morelli và cộng sự tiến hành cô lập thể hang của thỏ bị suy tuyến sinh dục, các tác giả đã nhận thấy đáp ứng giãn bất thường của thể hang với sildenafil, nhưng đáp ứng này được cải thiện rõ rệt sau khi có mặt testosterone [34]. Điều này cho thấy, có thể cả testosterone và

các chất ức chế PDE5 đều tác động trên cùng một con đường tại dương vật, con đường NO-cGMP.

2.3.3. Giai đoạn xuất tinh

Testosteron, thông qua các androgen receptor trung ương và ngoại vi, đóng một vai trò quan trọng trong đáp ứng tình dục nam, trong đó có hoạt động xuất tinh. Nồng độ testosteron thấp có liên quan với tình trạng xuất tinh muộn, trong khi đó nồng độ cao hơn có thể liên quan đến xuất tinh sớm [35]. Điều này có thể được giải thích một phần thông qua một số bằng chứng về sự biểu hiện và hoạt tính của PDE5 phụ thuộc testosteron ở một số phần khác của đường sinh dục nam như ống dẫn tinh, một số cơ quan quan trọng tham gia vào giai đoạn xuất tiết tinh dịch của hoạt động xuất tinh [34], [36].

Cả hai cơ chế trung ương và ngoại vi đã được đưa ra để giải thích cho mối liên quan giữa testosteron và khả năng kiểm soát xuất tinh. Giả thuyết đầu tiên về cơ chế trung ương được xem xét dựa trên yếu tố tâm thần-nội tiết. Nồng độ testosteron, ngoài khả năng tác động đến đáp ứng tình dục, nó còn ảnh hưởng sâu sắc đến hành vi của nam giới. Suy tuyến sinh dục nam có thể liên quan đến giảm sự tự tin và chủ động trong tình dục, điều này đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát thời gian xuất tinh, làm giảm các tín hiệu nội bộ để đạt cực khoái và xuất tinh [37]. Giả thuyết trung ương thứ hai về ảnh hưởng của testosteron đến hoạt động xuất tinh là vai trò của yếu tố thần kinh. Điều này được quan sát thấy trong nghiên cứu của Keleta và cộng sự trên chuột cống được điều trị testosteron dài hạn, nhóm tác giả đã nhận thấy trong não có hiện tượng giảm rõ rệt nồng độ serotonin- chất ức chế hoạt động xuất tinh ở người [38].

Một số tác động ngoại vi của testosteron cũng có thể ảnh hưởng đến hoạt động xuất tinh. Liên quan đến khả năng điều chỉnh nhu động của đường sinh dục nam, các nhà khoa học nhận thấy có hiện tượng giảm sự biểu hiện và hoạt

tính của PDE5 trên ống dẫn tinh của thỏ bị suy tuyến sinh dục, và khi sử dụng testosterone có thể đảo ngược hoàn toàn tình trạng này [36]. Do đó, tình trạng xuất tinh muộn liên quan đến suy tuyến sinh dục có thể là do tăng trưởng lực nitrergic trên các tế bào cơ trơn ở đường sinh dục nam. Một vài cơ chế “cơ học” khác cũng có thể đóng vai trò trong mối liên quan giữa testosterone và khả năng xuất tinh. Nồng độ testosterone thấp có thể làm giảm thể tích tinh dịch, điều này có thể dẫn đến rối loạn hoạt động co thắt đẩy tinh dịch, giảm kích thích vào các tuyến sinh dục phụ như tuyến tiền liệt và túi tinh, đây cũng là những cơ quan đích của androgen [37]. Bên cạnh đó, các cơ sàn chậu tham gia vào hoạt động xuất tinh cũng là những cơ quan phụ thuộc androgen [39].

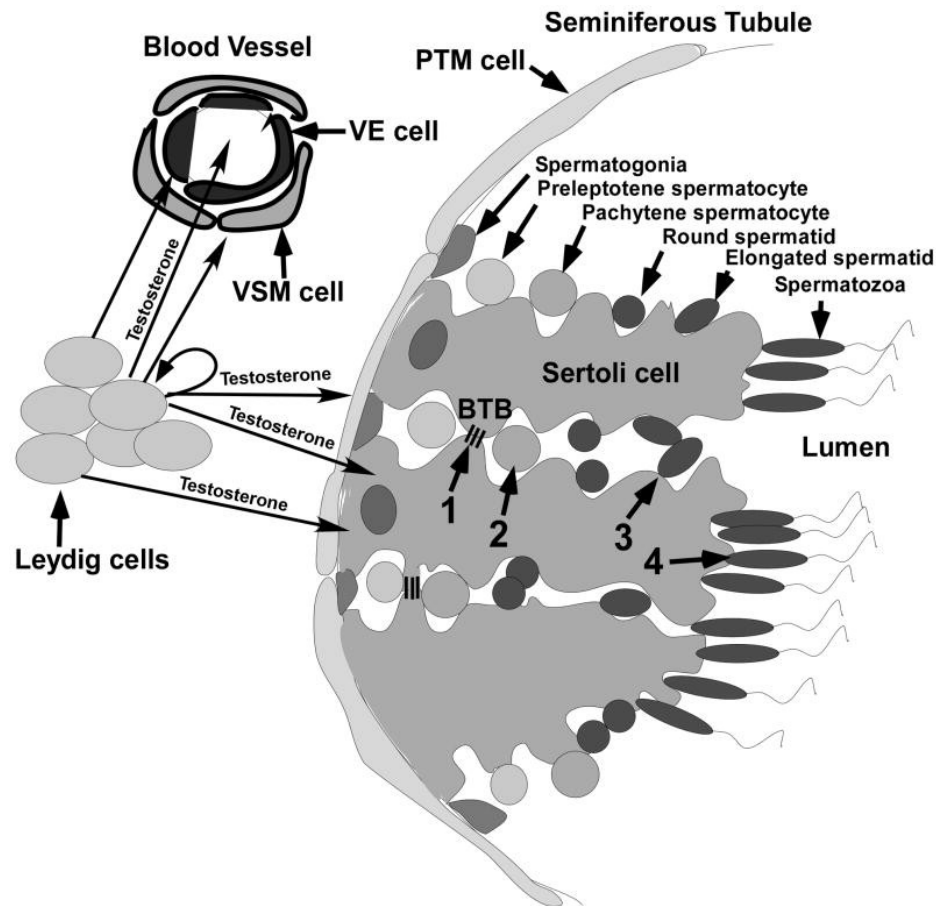
Tóm lại, có nhiều cơ chế có thể là yếu tố kết nối giữa nồng độ androgen với giai đoạn xuất tinh. Các nghiên cứu lâm sàng hiện đang được thực hiện tiến hành để tiếp tục xác định vai trò của testosterone trong rối loạn chức năng xuất tinh.

2.4. Vai trò của testosterone đối với chức năng sinh sản ở nam giới

Sinh sản là kết quả của quá trình kết hợp giữa tinh trùng và trứng. Androgen tham gia thúc đẩy và duy trì sinh tinh ở nam giới. Thiếu hụt androgen hoặc receptor chức năng của androgen sẽ dẫn đến tình trạng vô sinh nam.

Quá trình sinh tinh xảy ra ở ống dẫn tinh của tinh hoàn. Cấu tạo của ống sinh tinh bao gồm ba loại tế bào peritubular myoid (PMT), tế bào Sertoli và tế bào mầm. Các tế bào PMT bao quanh thành bên ngoài của ống sinh tinh và co lại để tạo cho tinh trùng đi vào trong lòng ống. Tế bào Sertoli chuyển tiếp tín hiệu bên ngoài và cung cấp các yếu tố cần thiết cho sự sinh trưởng và phân biệt hóa của tế bào mầm. Các tế bào PMT phối hợp với tế bào Sertoli tạo thành màng đáy của ống sinh tinh, cung cấp vị trí thích hợp cho tế bào gốc tinh nguyên bào (spermatogonial stem cells) tạo ra các tế bào mầm sẽ phát triển thành tinh trùng. Tế bào chất của tế bào Sertoli kéo dài từ màng đáy đến lòng ống sinh tinh và bao quanh các tế bào mầm đang phát triển. Các tế bào Leydig có mặt trong khoảng kẽ giữa các ống sinh tinh có chức năng sản xuất

testosteron, hormon này sẽ khuếch tán vào các ống sinh tinh, cũng như các mạch máu trong khoảng kẽ [40].



Hình 2.2 Cấu trúc của ống sinh tinh [40]

PTM: Peritubular myoid; VE: vascular endothelial; VSM: vascular smooth muscle; BTB: blood testis barrier

- 1) *Vai trò của testosteron trong duy trì hàng rào máu – tinh hoàn*
- 2) *Vai trò của testosteron trong quá trình phân chia tế bào giảm nhiễm*
- 3) *Vai trò của testosteron trong sự bám dính tế bào Sertoli-tiền tinh trùng*
- 4) *Vai trò của testosteron trong sự giải phóng tinh trùng*

Testosteron là androgen chính trong tinh hoàn điều hòa quá trình sinh tinh tác dụng của androgen được thực hiện thông qua các androgen receptor (AR), phân tử protein 110 kD có mặt trong nhân và bào tương tế bào. Không có các

receptor khuếch tán vào tế bào Sertoli, liên kết với AR có mặt ở tế bào chất và nhân tế bào để khởi động các đáp ứng chức năng cần thiết để hỗ trợ sinh tinh. Trong tinh hoàn, testosterone cũng tương tác với AR có mặt ở tế bào Leydig, tế bào PTM, cơ trơn tiểu động mạch và các tế bào nội mô mạch máu [40].

Do sự sản xuất testosterone tại chỗ bởi các tế bào Leydig, nồng độ testosterone trong tinh hoàn cao gấp 25-125 lần so với nồng độ trong huyết thanh. Vai trò sinh lý quan trọng của nồng độ testosterone cao trong tinh hoàn chưa được hiểu biết đầy đủ. Tuy nhiên, quá trình sản sinh tinh trùng sẽ giảm theo cấp số nhân khi nồng độ testosterone trong tinh hoàn giảm xuống 70 mM [41].

Testosterone là yếu tố cần thiết cho ít nhất bốn quá trình quan trọng của quá trình sinh sản tinh trùng: duy trì hàng rào máu-tinh hoàn, quá trình phân chia tế bào giảm nhiễm (meiosis), sự bám dính Sertoli-tiền tinh trùng, và sự giải phóng tinh trùng (tương ứng với vị trí mũi tên 1, 2, 3 và 4 trong hình 2.2)

- Duy trì hàng rào máu-tinh hoàn

Trong lớp biểu mô sinh tinh, các tế bào Sertoli liên kết với nhau một cách bền vững, theo kiểu liên kết tế bào (desmosome), tạo thành hàng rào máu-tinh hoàn (blood testis barrier). Hàng rào này ngăn cản không cho tinh trùng và các sản phẩm thoái hóa của nó tiếp xúc với máu cơ thể, tách biệt môi trường của ống sinh tinh và máu. Khi hàng rào máu-tinh hoàn bị tổn thương, tinh trùng và các sản phẩm thoái hóa của nó đi vào máu, tiếp xúc với các tế bào thẩm quyền miễn dịch, gây miễn cảm tế bào này tạo ra kháng thể chống tinh trùng. Đây là một trong các nguyên nhân dẫn đến vô sinh. Sự biểu hiện của ít nhất ba thành phần protein tạo liên kết chặt chẽ giữa các tế bào Sertoli để tạo thành hàng rào máu-tinh hoàn (occludin, claudin 11 và claudin 30 bị giảm trong trường hợp không có AR [41], điều này cho thấy tín hiệu testosterone thông qua AR là cần thiết cho việc sửa chữa hàng rào máu-tinh hoàn. Ngoài ra, testosterone còn thúc đẩy sự di chuyển của các tinh bào

preleptotene (preleptotene spermatocyte) từ màng đáy qua hàng rào máu-tinh hoàn để tiếp tục hình thành các tế bào dòng tinh tiếp theo nhờ khả năng làm tăng sự vận chuyển xuyên tiết tế bào (transcytosis) và tái tạo (recycling) protein [42].

- Quá trình phân chia tế bào giảm nhiễm

Khi không có các tín hiệu testosterone, quá trình sinh tinh sẽ bị dừng lại trong giai đoạn phân chia tế bào giảm nhiễm, vì vậy sẽ có ít tế bào mầm phát triển đến giai đoạn tiền tinh trùng đơn bội (haploid spermatid) và các tiền tinh trùng thuôn dài (elongated spermatid) không được hình thành [43]. Loại bỏ sự biểu hiện của AR, đặc biệt là trong các tế bào Sertoli, gây ra sự dừng lại của quá trình sinh tinh ở giai đoạn pachytene hoặc giai đoạn diplotene của phân chia giảm nhiễm [44]. Các thông tin liên quan đến tác động trực tiếp của testosterone đối với gen và protein cần thiết cho quá trình phân chia giảm nhiễm còn đầy đủ. Tuy nhiên, phân tích các nghiên cứu về proteome (proteomics) trên các mô hình chuột cống có các mức độ khác nhau về sự suy giảm và bổ sung testosterone trong các tế bào giảm nhiễm [45]. Cụ thể hơn, thiếu hụt testosterone có thể dẫn đến thay đổi sự biểu hiện và sửa chữa sau dịch mã của gần 25 protein tham gia vào quá trình chuyển hóa oxy hóa, sửa chữa DNA, xử lý RNA, apoptosis và phân chia giảm nhiễm.

- Sự bám dính Sertoli-tiền tinh trùng

Ở chuột cống bị ức chế testosterone, tinh trùng thuôn dài sẽ không có mặt vì các tinh trùng tròn đã bị tách sớm khỏi tế bào Sertoli. Các nghiên cứu trên chuột nhắt hypomorphic AR có hoạt tính AR giảm cũng đã chỉ ra sự liên kết của tế bào Sertoli và tinh trùng thuôn dài không được duy trì và các tế bào mầm sẽ bị giải phóng sớm [46]. Trong giai đoạn VII-VIII, các liên kết giữa tế bào Sertoli và các tiền tinh trùng được tái tạo khi các tinh trùng bắt đầu kéo dài. Ở giai đoạn phát triển này, các liên kết dựa trên desmosome giữa tế bào Sertoli

và các tế bào mầm chưa trưởng thành sẽ được thay thế bằng các phức hợp kết dính chuyên biệt ngoại bào tương (ectoplasmic specialization – ES) mạnh mẽ hơn, đặc biệt là kiên kết với các tinh trùng trưởng thành. Hai trong số các phức hợp protein hình thành các phức hợp kết dính ES giữa các tế bào Sertoli và tinh trùng trưởng thành (cadherin/cadherin và $\alpha 6\beta 1$ -integrin/laminin3) là các mục tiêu bị ảnh hưởng khi ức chế androgen. Ức chế testosterone dẫn đến những thay đổi về mức độ phosphoryl hóa protein của một số protein liên quan đến ES bao gồm kinase bám dính tập trung (focal adhesion kinase – FAK) và β -catenin dẫn đến sự tách rời [47]. Phosphoryl hóa tyrosin của β -catenin có liên quan với sự tăng phân ly của phức hợp cadherin/cadherin. Tăng liên kết với c-Src và các FAK kinase do giảm testosterone cũng làm giảm tính toàn vẹn của liên kết $\alpha 6\beta 1$ -integrin/laminin3 [47]. Bên cạnh đó, các nhà khoa học còn nhận thấy hiện tượng giảm biểu hiện của một trong tám gen mã hóa cho các phân tử protein liên quan đến ES trong trường hợp không có AR [40].

- Sự giải phóng tinh trùng

Khi không có tín hiệu testosterone, các tinh trùng trưởng thành thường được giải phóng ở giai đoạn VIII sẽ giữ lại và bị thực bào bởi các tế bào Sertoli [46]. Hoạt hóa Src đã được chứng minh là điều kiện cần thiết cho sự giải phóng tinh trùng. Src là cấu trúc liên quan với các protein tạo phức hợp kết dính ES. Src phosphoryl hóa β -catenin và N-cadherin trong tế bào Sertoli, đây là các phân tử protein góp phần hình thành các vị trí bám dính ES với tinh trùng trưởng thành [40]. Sau quá trình phosphoryl hóa β -catenin và N-cadherin qua trung gian Src, hai protein này khuếch tán ra xa nhau, liên kết tế bào bị mất và tinh trùng trưởng thành có thể được giải phóng [40]. Phân tích sự biểu hiện gen ngay sau khi ức chế cả testosterone và FSH trên chuột cống đã giúp xác định được các gen có liên quan đến sự kết dính được biểu hiện ở tế bào Sertoli. Các gen này bao gồm Sparc (osteonectin) điều hòa sự

bám dính tập trung, Ctgf điều hòa sự bám dính và tương tác với các integrin hình thành liên kết với các tế bào thuôn dài, Lgals (galectin 1) bao quanh các tiền tinh trùng (spermiation) và có thể điều hòa sự kết dính và tín hiệu qua trung gian integrin [40]. Hiện nay chưa rõ mức độ điều hòa của testosterone so với FSH trên các gen liên quan đến sự kết dính này.

2.5. Vai trò của testosterone trên các cơ quan đích

Bên cạnh các tác dụng truyền thống trên cấu trúc và chức năng của các cơ quan sinh dục, và sự phát triển cơ xương, gần đây người ta còn nói nhiều đến vai trò của androgen lên các cơ quan khác như mạch máu, hệ thần kinh trung ương, đường tiêu hóa, hệ miễn dịch, da, thận và phổi. Sự hiểu biết về các vai trò cụ thể của hormon sinh dục trên từng mô giúp dự đoán những lợi ích hoặc nguy cơ khi sử dụng liệu pháp thay thế hormon, hoặc khi sử dụng các chất đối kháng hormon sinh dục trên người. Các nghiên cứu gần đây cho thấy tầm quan trọng của hormon giới tính đối với hệ tim mạch trên cả hai giới. Các receptor androgen, estrogen và progesteron có mặt trên tế bào nội mô mạch máu, tế bào cơ trơn, và tế bào cơ tim có vai trò cải thiện đáp ứng của mạch máu, tăng sản xuất nitric oxid, giảm sự hình thành gốc tự do, và ngăn chặn quá trình chết tế bào theo chương trình trên các mạch máu bình thường. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định được mối quan hệ liều lượng-đáp ứng của các hormon giới tính trên các cơ quan đích khác nhau [48].

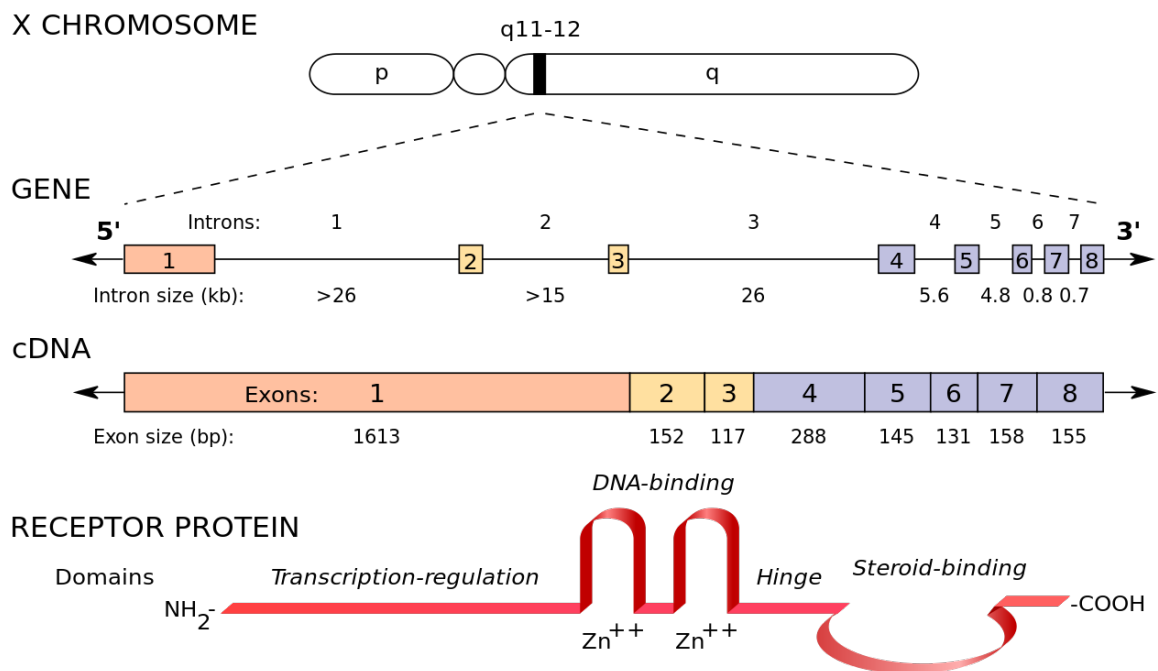
3. Cơ chế tác dụng của androgen

Các androgen như testosterone và DHT thể hiện tác dụng thông qua các androgen receptor (AR), một yếu tố phiên mã phụ thuộc chất gắn trong nhân tế bào và là thành viên của họ receptor nhân của steroid. Do sự có mặt rộng rãi ở nhiều tế bào và mô trong cơ thể, AR liên quan đến một loạt các tác dụng sinh học bao gồm các vai trò quan trọng trong sự phát triển và duy trì hoạt động của hệ sinh dục, cơ xương, miễn dịch, thần kinh và hệ tạo máu. Các tín

hiệu từ AR có thể theo cơ chế phụ thuộc gắn DNA (tác dụng thông qua hệ gen) để điều hòa sự phiên mã của các gen đích, hoặc theo cơ chế không phụ thuộc gắn DNA (tác dụng không thông qua hệ gen) để khởi động một loạt các hoạt động trong tế bào như sự phosphoryl hóa chuỗi tín hiệu truyền tin thứ 2.

3.1. Cấu trúc của *androgen receptor*

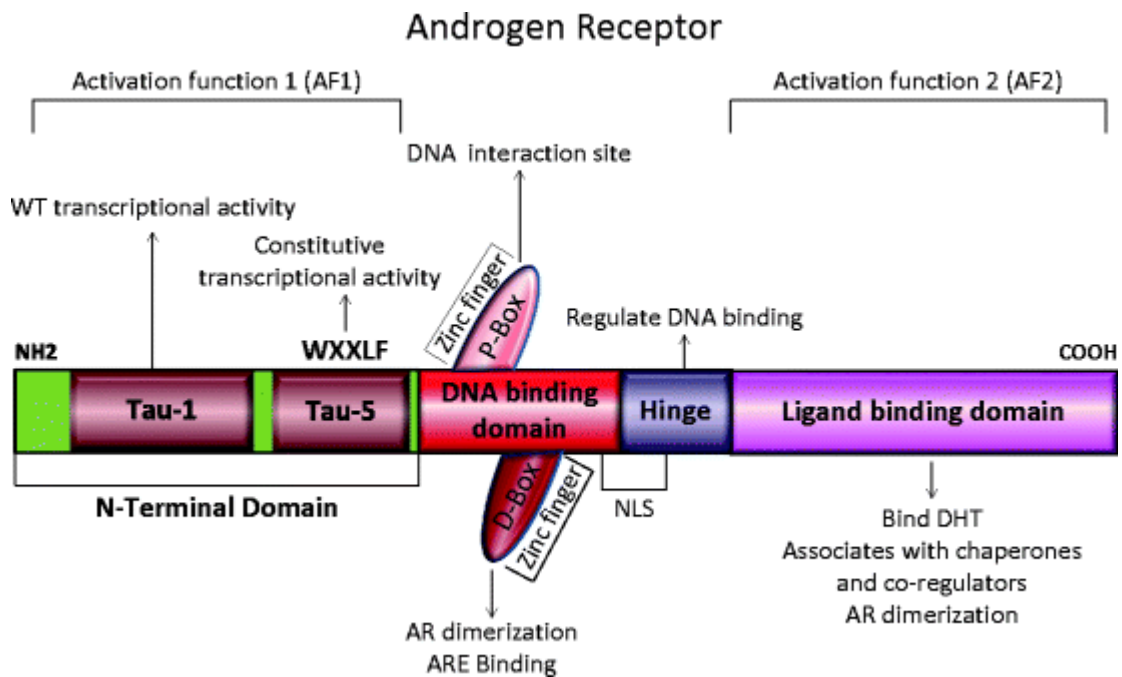
Gen AR nằm trên cánh tay dài của nhiễm sắc thể X (locus Xq11-Xq12). Vùng mã hóa protein có 2757 nucleotid nằm trong 8 exon, với các intron có kích thước dao động từ 0,7 đến 2,6 kb. Gen AR mã hóa cho phân tử protein AR có trọng lượng 110 kDa và có chứa 919 amino acid [41].



Hình 3.1 Cấu trúc gen mã hóa cho *androgen receptor* [49]

Giống như các thành viên khác của họ receptor nhân, AR bao gồm ba domain cấu trúc chính: (i) domain điều tiết việc sao chép tại đầu tận cùng N-terminal (NDT) đã được mã hóa bởi exon cuối cùng. Có một vùng bản lề nhỏ (vùng hinge) nằm giữa LBD và DBD. Cả ba domain đều có vai trò quan trọng đối với chức năng của receptor. So sánh giữa các thành viên khác nhau của họ receptor nhân, DBD là domain được bảo tồn nhất, trong khi đó NDT có sự

biến đổi lớn giữa các receptor khác nhau. Vùng DBD của tất cả các receptor nhân của hormon steroid đều có chứa hai “ngón tay” kẽm giúp nhận biết các trình tự cụ thể trên DNA. Các “ngón tay” kẽm tạo thuận lợi cho DBD gắn trực tiếp vào vùng promoter và enhancer của các gen được điều hòa bởi AR, từ đó kích hoạt chức năng của NTD và LBD để kích thích hoặc ức chế sự phiên mã của các gen này [49], [50], [51].



Hình 3.2. Các domain chức năng khác của androgen receptor [51]

DNA binding domain (DBD); H - hinge region; AF-1 transcriptional activating function 1; AF-2 transcriptional activating function 2; NLS- nuclear localization signal; NES-nuclear export signal

Đoạn chức năng hoạt hóa không phụ thuộc chất gắn AF-1 (activation function 1) nằm trên NTD là đoạn cần thiết cho hoạt động tối đa của AR. Đoạn chức năng hoạt hóa phụ thuộc chất gắn AF-2 (activation function 2) nằm trên LBD có vai trò trong sự hình thành vị trí gắn chất đồng điều hòa (coregulator) cũng như đóng vai trò trong sự hình thành vị trí gắn chất đồng điều hòa (coregulator) cũng như đóng vai trò trung gian trong sự tương tác

trực tiếp giữa đầu tận cùng N-terminal và C-terminal (tương tác N/C). Tín hiệu định vị nhân (nuclear localisation signal – NLS) nằm ở giữa DBD và vùng bản lề, chịu trách nhiệm tiếp nhận các thông tin từ receptor vào trong nhân; trong khi đó tín hiệu xuất ngoài nhân (nuclear export signal –NES), nằm ở LBD giúp đưa AR quay trở lại tế bào chất sau khi AR không còn gắn với chất gắn [51].

3.2. Tác dụng của androgen thông qua hệ gen (genomic)

Khi không có chất rắn, AR nằm trong tế bào chất, được liên kết với protein shock nhiệt và các protein chaperone. Các androgen gắn với AR dẫn đến thay đổi hình dạng AR, phân ly các protein chaperone và bộc lộ vị trí của NLS. Phức hợp androgen/AR di chuyển vào trong nhân tế bào, tại đây phức hợp này sẽ được dimer hóa và gắn với các yếu tố đáp ứng androgen (androgen response elements – AREs) trên các gen đích để điều hòa quá trình phiên mã gen. Hoạt động phiên mã liên quan đến phức hợp androgen/AR còn được điều hòa bởi các protein đặc hiệu được gọi là các chất đồng điều hòa. Các chất đồng điều hòa gắn với AR đã được hoạt hóa trên LBD nhằm mục đích cảm ứng (coactivator) hoặc ức chế (corepressor) sự phiên mã gen thông qua những biến đổi của chromatin và histone.

3.3. Tác dụng của androgen không thông qua hệ gen (non -genomic)

Phức hợp androgen/AR cũng có thể truyền tín hiệu thông qua con đường không phụ thuộc gắn DNA. Tác dụng của androgen thông qua cảm ứng nhanh chuỗi truyền tải tín hiệu với các chất truyền tin thứ hai, bao gồm ERK, Akt và MAPK đã được xác định ở một số dòng tế bào. Những tác dụng này thường xảy ra trong vài giây tới vài phút, quá nhanh để liên quan đến hoạt động của DBD để điều hòa quá trình phiên mã và dịch mã của các gen đích. Tác dụng ức chế gen gián tiếp cũng có thể xảy ra bằng cách AR gắn với cô lập các yếu tố phiên mã như AP-1 (activator protein-1), yếu tố cần thiết để làm tăng sự

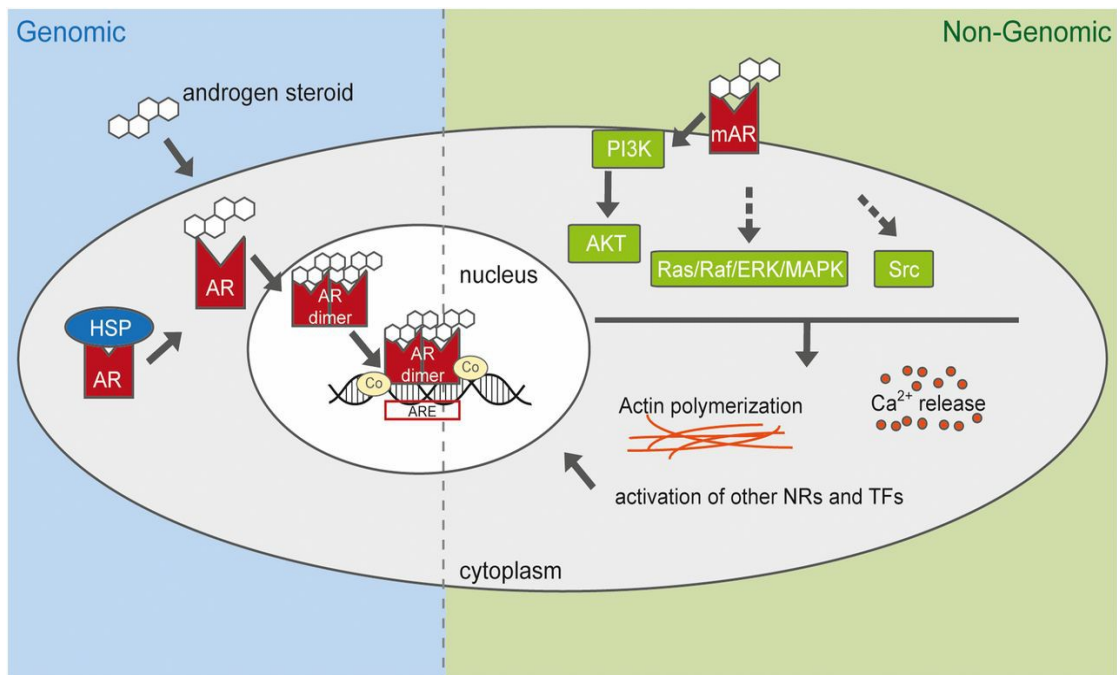
biểu hiện của gen đích (ví dụ như Ngfr^{20} và Mmp-13^{21}) khi không gắn với DNA [51].

Nhiều bằng chứng cho thấy, có một số tác động không phụ thuộc gắn DNA của androgen được thực hiện qua trung gian kích hoạt các protein receptor trên màng tế bào để khởi động con đường truyền tín hiệu nội bào, và tác dụng này có thể xảy ra ngay cả khi nồng độ androgen thấp. Hiện nay đã xác định được sự có mặt của các receptor trên bề mặt tế bào liên quan đến tác dụng không phụ thuộc gắn DNA của oestrogen và các progestin trên nhiều mô và loại tế bào, tuy nhiên, các receptor AR trên chưa được nghiên cứu rộng rãi. Gần đây, phân tử protein ZIP9 (iron-regulated transporter-like protein 9) được xác định là đóng vai trò trung gian cho tác dụng của androgen gây apoptosis các tế bào nang buồng trứng [52], tế bào ung thư tuyến tiền liệt và ung thư vú [53]. Receptor GPRC6A ghép cặp với G-protein cũng được chứng minh là có liên quan với tác dụng không phụ thuộc gắn DNA của testosterone gây phosphoryl hóa ERK trong tế bào đệm tủy xương và tế bào ung thư tuyến tiền liệt trên in vitro [54]; nhưng đồng thời, một nghiên cứu gần đây đã báo cáo thêm rằng, hormon có nguồn gốc từ tủy xương, osteocalcin cũng liên kết với GPRC6A trên tế bào Leydig của tinh hoàn và kích thích sản xuất testosterone [55].

Các tác động không phụ thuộc gắn DNA của AR đã được ghi nhận trong nhiều loại tế bào khác nhau trên in vitro. Trong các tạo cốt bào và hủy cốt bào, LBD của AR nhanh chóng phosphoryl hóa Src và ERK nhằm gây ức chế apoptosis, do đó kéo dài đời sống của tế bào [56]. Sự có mặt của DHT làm tăng sự phát triển của các tế bào giống tạo cốt bào bằng cách hoạt hóa nhanh con đường tín hiệu Akt [57]. Kích hoạt các con đường không phụ thuộc gắn DNA còn được quan sát thấy trên các ống cơ (myotube) của chuột cống được điều trị với androgen, với sự gia tăng khối lượng inositol triphosphate (IP3)

và nồng độ calci nội bào sau khi bổ sung testosterone [58]. Các con đường tín hiệu AR không phụ thuộc gắn DNA cũng được xác định ở trên các tế bào cơ tim trên in vitro. Một nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng, tâm nhĩ trái cô lập của chuột cống được sử dụng DHT có sự gia tăng đáp ứng cardiotonic với tăng hoạt tính của ornithine decarboxylase [59]. Đối với nghiên cứu in vitro trên các tế bào ung thư tuyến tiền liệt, sự phosphoryl hóa Akt của AR dẫn đến ức chế các gen đích của AR, ví dụ như p21, và giảm apoptosis qua trung gian androgen/AR, có thể liên quan đến sự ức chế tương tác giữa AR và các chất đồng điều hòa AR [60].

Phần lớn các nhà nghiên cứu về tác động không phụ thuộc gắn DNA của AR là nghiên cứu in vitro, chưa có nhiều các nghiên cứu in vitro được thực hiện. Một số nghiên cứu đã ghi nhận các tác dụng không phụ thuộc gắn DNA của AR bao gồm giãn động mạch vành nhanh [23] và sự trưởng thành của noãn bào trên in vitro [61]. Tác dụng của androgen thông qua một AR trên màng tế bào thúc đẩy quá trình apoptosis và giảm kích thước khối u có nguồn gốc từ dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt LnCap cũng đã được mô tả trên in vitro [62]. Mặc dù ý nghĩa sinh lý của các tác dụng không phụ thuộc gắn DNA của AR chưa được xác định đầy đủ, có một số giả thuyết cho rằng các tác dụng này đối lập với tác dụng gắn DNA, và đóng vai trò như một “dây phanh” để điều chỉnh hoạt động của androgen trên các mô đích [51].



Hình 3.3. Cơ chế tác dụng thông qua hệ gen và không thông qua hệ gen của androgen [63]

AKT, serine/threonine-protein kinase; AR, androgen receptor; ARE, androgen response element; Co, cofactors of AR, either activators or repressors of transcription; HSP, heat shock protein; mAR, membrane-bound AR; NR, nuclear receptor; PI3K, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase; Ras/Raf/ERK/MAPK, kinase signaling pathway; Src, proto-oncogene tyrosine-protein kinase; TF, transcription factor

4. Lợi ích của điều trị testosterone

Sử dụng liệu pháp testosterone thay thế, để đưa nồng độ testosterone máu trở về bình thường có thể cải thiện được rất nhiều triệu chứng của suy sinh dục. Những lợi ích có thể kể đến là thay đổi thành phần cơ thể (tăng khối lượng cơ, giảm khối lượng mỡ nội tạng, giảm lượng mỡ tự do), tăng mật độ khoáng xương, cải thiện sung mãn (well-being), cải thiện nhận thức không gian (spatial cognition), cải thiện chất lượng sống, duy trì các đặc tính sinh

dục thứ phát, cải thiện tình dục và chức năng giới tính. Có một số bằng chứng về lợi ích của liệu pháp hormon đối với hội chứng chuyển hóa (béo phì, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, giảm dung nạp đường huyết và kháng insulin).

4.1 Trên ham muốn, hành vi và chức năng sinh dục

Các nghiên cứu hồi cứu và nghiên cứu trường hợp đã cho thấy lợi ích của liệu pháp bổ sung testosterone trên ham muốn tình dục, khả năng cương dương và xuất tinh. Một nghiên cứu đa trung tâm cho kết quả liệu pháp bổ sung testosterone làm tăng chỉ số IIEF, ham muốn tình dục, sự hài lòng khi giao hợp sau 6 tuần điều trị [64]. Hiệu quả cải thiện triệu chứng tình dục phụ thuộc nhiều vào nguyên nhân gây suy sinh dục: liệu pháp bổ sung testosterone không thật sự hiệu quả ở nam giới có nồng độ testosterone bình thường nhưng có thể cải thiện đáp ứng với thuốc ức chế PDE5 ở bệnh nhân nam suy tuyến sinh dục.

4.2. Trên cảm xúc, tâm thần

Rối loạn cảm xúc cũng là một triệu chứng của suy sinh dục. Các nghiên cứu dịch tễ cho thấy có mối liên hệ dương tính giữa nồng độ testosterone và cảm xúc. Một nghiên cứu của Barrett-Connor, Von Muhlen và cộng sự (1999) cho thấy nam giới cao tuổi bị trầm cảm có nồng độ testosterone thấp hơn so với nhóm chứng không trầm cảm. Hơn nữa, tình trạng suy sinh dục gây ra bởi liệu pháp thiếu hụt androgen ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt cũng làm tăng tỷ lệ trầm cảm ở nam giới. Mặc dù các kết quả về điều trị trầm cảm cho nam giới bằng testosterone cho những kết quả mâu thuẫn nhau nhưng có nhiều bằng chứng cho thấy điều trị bằng testosterone cho bệnh suy sinh dục muộn ở nam giới cải thiện đáng kể đến tâm trạng và cảm xúc.

Một số nghiên cứu cho thấy bệnh nhân nam điều trị bằng testosterone có thể cải thiện triệu chứng trầm cảm. Phân tích meta dữ liệu thu được từ các thử

nghiệm lâm sàng có đối chứng, ngẫu nhiên cho thấy testosterone có tác dụng tích cực trên tâm trạng của bệnh nhân [75].

4.3 Trên cơ, xương

Liệu pháp bổ sung testosterone không chỉ áp dụng phục hồi nồng độ testosterone, cải thiện ham muốn, hành vi và chức năng sinh dục mà còn có tác dụng tích cực lên một số cơ quan, chức năng khác của cơ thể.

Một số thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên cho thấy mối liên quan giữa nồng độ testosterone phục hồi với khối cơ và sức mạnh của cơ [65]. Kết quả tương tự cũng thu được từ phân tích meta-analysis đánh giá vai trò của testosterone ngoại sinh với mật độ khoáng của xương [66].

Mật độ xương ở nam giới cao tuổi gắn liền với sự giảm nồng độ androgen nội sinh. Ở người trẻ, nồng độ testosterone có liên quan đến kích thước xương. Như vậy, có thể thấy vai trò của testosterone trong việc xác định khối lượng xương đỉnh và bảo vệ nam giới khỏi bị loãng xương.

Nhiều thử nghiệm lâm sàng được thực hiện đã chứng minh hiệu quả của việc điều trị bằng testosterone lên mật độ khoáng xương và cấu trúc xương. Những tác dụng này thể hiện rõ ràng hơn trong các thử nghiệm lâm sàng kéo dài. Các kết quả nghiên cứu cho thấy liệu pháp bổ sung testosterone thích hợp sẽ làm cho mật độ khoáng xương trở nên bình thường, những tác dụng chỉ có được sau 2 năm hoặc hơn. Một nghiên cứu phân tích meta về tác dụng điều trị của testosterone trên mật độ khoáng xương cũng đưa ra kết luận rằng testosterone làm tăng rõ mật độ khoáng xương lên 2,7% ở vùng cột sống lưng (lumber spine) nhưng không thay đổi đáng kể ở vùng xương hông. Kết quả từ những thử nghiệm lâm sàng đối chứng ngẫu nhiên này cho thấy lợi ích khiêm tốn của liệu pháp điều trị bằng testosterone lên mật độ khoáng xương, điều đó có thể do các bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu chưa thực sự bị suy sinh dục và thời gian theo dõi quá ngắn, chưa đủ để đánh giá tác dụng đầy đủ của

testosteron. Nghiên cứu phân tích gộp cho thấy sự giảm rõ sự có mặt của yếu tố hủy xương, song các yếu tố tạo xương thì không thay đổi, gợi ý rằng cơ chế ban đầu của testosteron đối với mật độ khoáng xương có thể là do giảm các yếu tố hủy xương.

4.4. Lợi ích khác

Nhiều bệnh nhân người lớn suy tuyến sinh dục thường kèm theo tình trạng ốm yếu, béo phì, rối loạn chuyển hóa hoặc các bệnh kèm theo khác. Ở những bệnh nhân này, việc thay đổi lối sống, giảm cân, điều trị bệnh lý kèm theo cũng rất quan trọng. Liệu pháp bổ sung testosteron không chỉ cải thiện chức năng sinh dục mà còn cải thiện thành phần cơ thể, tình trạng chuyển hóa và toàn trạng của bệnh nhân [67].

Testosteron thay đổi thành phần cơ thể, giảm khối lượng mỡ (fat mass) và tăng khối lượng phần cơ thể không phải mỡ (lean body mas). Một số nghiên cứu cho thấy testosteron giảm đáng kể mỡ thân và mỡ eo của bệnh nhân. Sau 3 tháng điều trị, bệnh nhân cải thiện được cân nặng (đạt số cân nặng thích hợp) và chỉ số cơ thể (BMI) [66].

Testosteron đã làm tăng khối lượng cơ và giảm khối lượng mỡ, đặc biệt mỡ nội tạng, do đó làm giảm béo phì, đặc biệt là béo phì trung tâm trên quần thể nam giới khác nhau kể cả trên người cao tuổi. Điều này rất quan trọng bởi vai trò của mỡ nội tạng đã được biết đến như là nguy cơ của hội chứng chuyển hóa, đái tháo đường và các bệnh lý tim mạch.

Hội chứng chuyển hóa được đặc trưng bởi một loạt các yếu tố nguy cơ tim mạch như béo phì trung tâm, tăng triglycerid, giảm HDL, tăng huyết áp, tăng đường huyết lúc đói, tăng insulin máu. Gần đây, mối quan hệ giữa suy sinh dục với rối loạn chuyển hóa và bệnh tim mạch ngày càng được chú ý nhiều, đặt ra những vấn đề mới trong chẩn đoán và điều trị. Mặc dù các yếu tố về địa lý, đạo đức, lối sống, tuổi và giới đều ảnh hưởng đến hội chứng chuyển

hóa, song nồng độ testosterone thấp là nguy cơ đáng kể của hội chứng chuyển hóa ở nam giới.

Liệu pháp bổ sung testosterone có ảnh hưởng tích cực lên kiểm soát glucose máu và lipid máu, tình trạng kháng insulin, mỡ nội tạng ở bệnh nhân rối loạn dung nạp glucose, đái tháo đường hoặc rối loạn lipid máu [68]. Phân tích meta và các nghiên cứu hồi cứu cho thấy mối quan hệ giữa giảm nồng độ testosterone với tăng tỉ lệ tử vong do bệnh lý tim mạch.

Có sự khác nhau rõ ràng về mối quan hệ giữa giới tính và bệnh lý tim mạch. Tỷ lệ tử vong và tai biến do bệnh mạch vành ở nam cao gấp 2,5 đến 4,5 lần so với nữ. Tuổi trung bình mà nam giới bắt đầu mắc nhồi máu cơ tim thấp hơn nữ 5 tuổi. Ngay cả khi đã điều chỉnh các yếu tố nguy cơ, tỷ lệ tử vong do bệnh mạch vành ở nam vẫn cao hơn ở nữ 2 lần [1], [69].

Nhiều nghiên cứu lâm sàng cho thấy có mối liên quan giữa nồng độ testosterone thấp với sự tăng tỉ lệ tai biến hay tử vong do tim mạch, hơn thế nữa, một số nghiên cứu còn cho thấy có mối liên quan giữa liệu pháp gây thiếu hụt androgen (trong điều trị ung thư tuyến liệt tuyến) với tỉ lệ cao mắc bệnh tim mạch, kể cả nhồi máu cơ tim và tử vong do tim mạch [19]. Như vậy, rõ ràng có mối quan hệ giữa nồng độ testosterone thấp với tỉ lệ mắc bệnh tim mạch cao ở nam giới. Nồng độ testosterone thấp cũng liên quan đến các tai biến mạch máu não [77].

Liệu pháp bổ sung testosterone cho nam giới mắc suy sinh dục kèm các bệnh tim mạch cho thấy testosterone cải thiện đáng kể các biến cố tim mạch như giảm cơn đau thắt ngực, giảm suy tim, cải thiện được các nghiệm pháp gắng sức trong tim mạch [19]. Tác dụng bảo vệ của testosterone có thể là do tác dụng giãn mạch thứ phát theo kiểu đối kháng kênh calci ở tế bào cơ tim, tác dụng này đã được chứng minh trên động vật thực nghiệm. Ngoài ra, nhiều tác giả cũng đề cập đến vai trò của testosterone tới sự giảm độ dày nội mạc

động mạch cảnh (CIMT: carotid intima –media thickness) và sự tăng tân tạo mạch [68], đây là những yếu tố góp phần đáng kể trong bệnh lý mạch vành.

Lợi ích của liệu pháp testosterone được thể hiện cả khi dùng ngắn ngày lẫn dài ngày, ở cả liều thấp lẫn liều cao. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đủ dài để đánh giá tác dụng của testosterone trên tỷ lệ tử vong do các biến cố tim mạch.

5. Các dạng bào chế

Bổ sung testosterone nên được dùng ở dạng tự nhiên. Một số tác dụng của testosterone thể hiện ngay sau khi biến đổi estrogen hoặc DHT dưới tác dụng của enzym aromatase hoặc 5 α -reductase tương ứng. Các tác dụng khác xuất hiện một cách độc lập với tác dụng kinh điển của AR của testosterone, chẳng hạn như tác dụng giãn mạch thông qua màng tế bào. Vì thế muốn có được tác dụng này, testosterone phải chịu sự chuyển hóa bởi những enzym trên và có thể tác dụng theo cơ chế không thông qua AR. Sử dụng các testosterone tự nhiên đảm bảo được điều này và làm giảm tác dụng không mong muốn không liên quan đến hormon.

Hiện nay có rất nhiều chế phẩm của testosterone (dưới một số dạng bào chế khác nhau về đường dùng, dược động học và tác dụng không mong muốn) được khuyến cáo điều trị, việc lựa chọn được chế phẩm nào là phụ thuộc vào bệnh nhân.

Tuy nhiên khi quyết định chọn liệu pháp bổ sung testosterone, bệnh nhân phải được yêu cầu kiểm tra đều đặn ít nhất 3 tháng một lần trong năm đầu tiên để đánh giá đáp ứng lâm sàng với điều trị, nồng độ testosterone và tác dụng không mong muốn của thuốc, đặc biệt nguy cơ gây ung thư tuyến tiền liệt.

Các chế phẩm testosterone có sẵn trên thị trường hiện nay bao gồm: dạng uống, dạng tiêm bắp, viên cấy dưới da, viên ngậm trong má, dạng gel hoặc dạng miếng dán trong da.

5.1. *Dạng uống*

Các chế phẩm testosterone đường uống không phổ biến lắm bởi sự chuyển hóa qua gan lần đầu cao làm thuốc mất tác dụng.

Mặc dù testosterone undecanoat được hấp thu vào hệ thống lympho nhiều hơn là vào máu và thủy phân tạo ra testosterone tự nhiên, những hiệu quả của testosterone undecanoat đường uống bị hạn chế bởi sinh khả dụng không ổn định, nồng độ hormon dao động trong máu và thời gian bán thải ngắn dẫn đến phải dùng nhiều liều trong một ngày [69], [70]. Các dạng testosterone đường uống khác nhau như 17α -methyltestosterone và fluoxymesterone lại gây độc cho gan, do đó thuốc này không có mặt trên thị trường Châu Âu. Mesterolone, mỗi lần xuất dihydrotestosterone lại chỉ có một phần tác dụng của androgen nên hiện nay ít dùng.

5.2. *Dạng tiêm bắp*

Dạng testosterone tiêm bắp lần đầu tiên được giới thiệu cách đây hơn 50 năm. Trong nhiều năm gần đây, đây là dạng dùng phổ biến nhất của testosterone có thể do giá thành rẻ và thuận tiện cho việc điều chỉnh liều. Các chế phẩm testosterone tiêm bắp thường ở dạng ester hóa. Ester hóa testosterone ở vị trí 17β hydroxyl làm tăng tính tan trong lipid của các phần tử này và kéo dài tác dụng của thuốc [1], [69].

Các dạng testosterone thường được dùng để tiêm bắp tác dụng ngắn bao gồm testosterone propionat, testosterone cypionat, testosterone enanthat.

Trên *in vivo*, các dạng ester này thủy phân giải phóng ra testosterone tự nhiên. Tác dụng testosterone phụ thuộc vào chiều dài chuỗi ester, vì vậy các testosterone ester khác nhau có thời gian bán thải và thời gian tác dụng khác nhau. Testosterone propionat cần phải dùng 2-3 ngày một lần, trong khi testosterone enanthat và testosterone cypionat chỉ cần tiêm cách nhau 2-3 tuần.

Testosteron là dung dịch tan trong dầu, được hấp thu, chuyển hóa và thải trừ nhanh kém tác dụng. Các ester của testosteron ít phân cực hơn, được hấp thu từ từ nên duy trì tác dụng dài [1], [70].

Các ester của testosteron thường được bào chế dưới dạng dung dịch dầu, dùng đường tiêm bắp để kéo dài tác dụng. Liều thường dùng như sau:

- Testosteron cipionat 50 đến 400mg mỗi 2 đến 4 tuần.
- Testosteron enantat 50 đến 400mg mỗi 3 đến 4 tuần, hoặc liều khởi đầu 250 mg mỗi 2 đến 3 tuần, sau đó dùng liều duy trì mỗi 3 đến 6 tuần.
- Testosteron propionat đến 50mg đến 2 đến 3 lần một tuần.
- Testosteron undecylat 1g mỗi 10 đến 14 tuần.

Nhược điểm của các dạng tiêm này là nồng độ testosteron trong máu thường tăng cao hơn ngưỡng sinh lý ở những ngày đầu sau tiêm và nồng độ đáy thấp hơn những ngày trước đợt tiêm tiếp theo, khiến cho các triệu chứng của suy sinh dục quay trở lại trong những ngày này. Kết hợp với các ester tác dụng ngắn và kéo dài như Sustanon khắc phục được những điểm này nhưng cho dù liều khởi đầu của các sản phẩm này là khá cao không gây bất cứ một sự tăng nồng độ hormon nào trong suốt thời gian điều trị.

Gần đây, testosteron undecanoat (trước kia dùng đường uống) và testosteron buciclat đã được phát triển dưới dạng tiêm bắp tác dụng kéo dài. Testosteron buciclat duy trì tác dụng với khoảng cách 12-16 tuần và testosteron undecanoat trong dầu thầu dầu được dùng với khoảng cách 12 tuần. Những dạng tác dụng kéo dài này tạo ra một nồng độ hormon sinh lý hơn trong mỗi chu trình điều trị. Nhược điểm của dạng testosteron kéo dài là không thể chấm dứt điều trị khi tác dụng không mong muốn xuất hiện (như ung thư tuyến tiền liệt).

5.3. *Dạng cấy dưới da*

Đây là dạng dùng từ khá lâu của liệu pháp bổ sung testosterone thay thế, được giới thiệu từ những năm 1940. Cứ 4-6 tháng một lần, có 3 đến 6 viên testosterone 200mg được cấy dưới da sẽ cho một nồng độ testosterone sinh lý ổn định trong máu trong một thời gian dài. Tuy nhiên phương pháp này cần sự can thiệp của phẫu thuật, có thể gây đau, nhiễm trùng và phản ứng đẩy thuốc ra khỏi vị trí cấy. Mặt khác, cũng giống như các dạng dùng kéo dài khác, tác dụng dài như vậy sẽ thuận lợi cho bệnh nhân nhưng không cho phép chấm dứt điều trị khi tác dụng không mong muốn xuất hiện, chẳng hạn như bệnh nhân bị ung thư tuyến tiền liệt [72], [73].

5.4. *Dạng dán dưới da*

Dạng bào chế testosterone qua da có 2 dạng là miếng dán trên da và gel bôi trên da.

Dạng dán qua da lợi dụng tính chất hấp thu hormon steroid ổn định của da được phát triển từ những năm 1990. Dạng này làm tăng nồng độ testosterone lên trong giới hạn bình thường và gần giống với giới hạn sinh lý. Lúc đầu, các miếng dán qua da bìa được sử dụng, với thuận lợi là hấp thu thuốc ở vùng này là tương đối nhanh. Những miếng dán này có diện tích từ 40 đến 60cm² và yêu cầu bệnh nhân phải thường xuyên cạo sạch lông vùng bìa. Hơn nữa, do hoạt tính của enzym 5 α -reductase ở vùng da bìa cao nên sự tạo thành DHT ở đây khá lớn, làm cho nồng độ DHT tăng cao hơn so với ngưỡng sinh lý. Sự tăng DHT lâu dài có thể ảnh hưởng không tốt tới tuyến tiền liệt, mặc dù trong nhiều năm không ghi nhận được tác dụng phụ nghiêm trọng của đường dùng này [79].

Ngoài ra, các miếng dán ở vùng da khác nhau cũng đã xuất hiện, chỉ cần dùng một lần một ngày. Các miếng dán da này cũng tạo ra một nồng độ testosterone sinh lý và không gây nồng độ cao DHT, tuy nhiên khả năng hấp

thu thấp hơn nhiều so với miếng dán da bìa truyền thống, do đó các tá dược cần phải được thêm vào để làm tăng hấp thu, điều này lại dẫn đến sự kích ứng tại chỗ, viêm da do tiếp xúc.

5.5. Gel bôi trên da

Bên cạnh dạng miếng dán qua da, các chế phẩm dạng gel dùng qua da cũng được sử dụng. Các chế phẩm này được dùng một lần một ngày, dùng ở nửa trên của cơ thể và liều có thể được điều chỉnh để tạo ra nồng độ tối ưu. Chế phẩm dạng gel cung cấp một nồng độ testosterone ổn định trong giới hạn sinh lý và không gây kích ứng da như các dạng dán qua da khác. Tuy nhiên, testosterone dạng gel cũng gây một nồng độ DHT cao hơn bình thường ở trong huyết tương, có thể là do nồng độ enzym 5 α - reductase cao ở da và cần yêu cầu miếng dán gel trên một bề mặt rộng hơn [72]. Thêm vào đó, các bệnh nhân này yêu cầu không tắm rửa trong vòng 6h sau khi dùng.

Cả dạng miếng dán và dạng gel dùng qua da đều cần thận trọng tránh nhiễm testosterone cho những người khác khi tiếp xúc với vùng da có thuốc.

5.6. Dạng hấp thu qua niêm mạc má

Bên cạnh các dạng đường uống, tiêm bắp, qua da, còn có tác dụng bào chế để hấp thu testosterone qua niêm mạc má. Hấp thu thuốc ở đường này tránh được chuyển hóa qua gan bước đầu vì thuốc được hấp thu qua tĩnh mạch để vào thẳng tuần hoàn chung và tạo ra testosterone sinh lý ổn định [67].

Điều trị bằng dạng thuốc này phục hồi lại nồng độ testosterone máu trong vòng 4 giờ sau khi dùng và nồng độ ổn định trong vòng 24 giờ. Nồng độ testosterone trung bình duy trì trong giới hạn sinh lý [73]. Nhìn chung, viên testosterone dính trong má được dung nạp tốt với tác dụng không mong muốn lớn nhất là kích ứng tại chỗ, tuy nhiên tác dụng này cũng không thường xuyên, thường nhẹ hoặc trung bình nhưng cũng ít khi dẫn đến ngừng điều trị.

Bảng 5.6. So sánh ưu điểm, nhược điểm của các dạng chế phẩm testosterone dùng trong điều trị suy sinh dục nam

Dạng bào chế	Ưu điểm	Nhược điểm
Dạng uống (undecanoat)	-Thuận tiện -Tự dùng được	-Nồng độ không sinh lý -Thời gian tác dụng ngắn -Cần dùng nhiều lần trong ngày
Tiêm bắp (Liều chuẩn)	-Có thể ngừng thuốc khi gặp tác dụng không mong muốn	-Nồng độ không sinh lý, dao động; giữa 2 lần tiêm, nồng độ thấp
Tiêm bắp (Tác dụng kéo dài)	-Nồng độ sinh lý ổn định.	-Không thể đảo ngược điều trị, không ngừng thuốc được khi gặp tác nhân không mong muốn.
Viên cấy dưới da	-Không phải đưa liều thường xuyên -Nồng độ sinh lý, ổn định	-Nhiễm trùng quanh viên cấy -Phản ứng đối với viên cấy -Kỹ thuật đặt thuốc cần chuyên khoa -Không ngừng thuốc được khi gặp tác dụng không mong muốn.
Miếng dán / gel qua da	-Nồng độ sinh lý ổn định -Thuận tiện -Tự dùng được	-Thường gây kích ứng da, nguy cơ lây nhiễm người này sang người khác. -Phải dùng thường xuyên
Viên ngậm trong má	-Nồng độ sinh lý -Thuận tiện -Tự dùng được	-Có thể gây kích ứng tại chỗ -Phải dùng thường xuyên

6. Tác dụng không mong muốn của testosterone

6.1. Bệnh lý tuyến tiền liệt

Sự phát triển bình thường của tuyến tiền liệt phụ thuộc vào testosterone thông qua AR nên những bất thường trong sinh tổng hợp hormon hay những đột biến gây bất hoạt gen cấu trúc AR đều ảnh hưởng đến sự phát triển của tuyến tiền liệt. Chính vì vậy, trong liệu pháp bổ sung testosterone điều trị suy sinh dục nam giới cao tuổi, việc xem xét đến nguy cơ phát triển tuyến tiền liệt, kể cả lành tính và ác tính đều rất quan trọng.

Tuy nhiên, các nghiên cứu về tác dụng của testosterone trên tiền liệt tuyến khi điều trị cho những bệnh nhân suy sinh dục đều không cho thấy có sự tăng bất thường cả triệu chứng lâm sàng lẫn thụ thực thể liên quan đến tuyến tiền liệt, tuy nhiên trong một nghiên cứu, có sự tăng kích thước tuyến tiền liệt lên 12%. Trong đa số các nghiên cứu, không thấy có ảnh hưởng của testosterone lên nồng độ PSA, nhưng cũng có một số nghiên cứu cho thấy nồng độ PSA tăng nhẹ một cách có ý nghĩa so với nhóm chứng, mặc dù sự tăng này vẫn nằm trong giới hạn bình thường. Sự tăng nồng độ PSA này không phụ thuộc vào nồng độ testosterone ở thời điểm ban đầu [73].

Mặc dù thiếu dữ kiện lâm sàng về mối quan hệ giữa liệu pháp bổ sung testosterone với bệnh của tuyến tiền liệt, song tất cả những nguy cơ liên quan đến bệnh tiền liệt tuyến vẫn phải được cân nhắc và được giám sát rất cẩn thận trong khi điều trị bằng testosterone. Các khối u khác liên quan đến đáp ứng với androgen như ung thư vú, ung thư gan nguyên phát cũng cần được chống chỉ định với liệu pháp bổ sung testosterone [73].

6.2. Phì đại tuyến vú và ung thư vú ở nam giới

Phì đại tuyến vú (Gynaecomastia) là sự phát triển bất thường của tuyến vú ở nam giới dẫn đến phì đại tuyến vú. Nguyên nhân của hiện tượng này thường được cho là do sự mất cân bằng hormon giới tính. Thông thường trong liệu pháp bổ sung testosterone, tỷ lệ giữa estradiol và testosterone vẫn được duy

trì ở mức bình thường, do đó không gây quá sản tuyến vú, song một trường hợp phì đại tuyến vú có thể xảy ra, đặc biệt khi sử dụng testosterone enanthate hoặc cypionate. Trong những trường hợp đó cần phải giảm liều.

Ung thư vú ở nam giới là bệnh hiếm gặp ở nam với tỷ lệ 1% trong tất cả các bệnh ung thư ở nam giới. Tỷ lệ cao gặp ở nam giới bị hội chứng Klinefelter. Testosterone chống chỉ định ở nam giới có tiền sử hoặc đang bị ung thư vú. Mối quan hệ giữa liệu pháp testosterone và ung thư ở nam giới được báo cáo ở một số bệnh nhân [26], tuy nhiên, chưa có đủ bằng chứng để chứng minh mối liên quan này.

6.3. Bệnh lý tim mạch

Nhiều nghiên cứu cấp bằng chứng rằng tình trạng suy giảm testosterone cũng như rối loạn cương dương có thể là các dấu hiệu chỉ điểm của bệnh tim mạch. Do đó, bệnh nhân suy giảm testosterone cần được đánh giá để phát hiện và điều chỉnh các yếu tố nguy cơ tim mạch như lối sống, chế độ ăn, luyện tập, thuốc lá, tăng huyết áp, đái tháo đường, rối loạn lipid máu....

Một nghiên cứu có đối chứng với giả dược và hai nghiên cứu quan sát cho kết quả liệu pháp bổ sung testosterone tăng biến cố tim mạch nặng như nhồi máu cơ tim cấp, hội chứng mạch vành cấp, đột quỵ, suy tim, tử vong do tim mạch. Tuy nhiên, các nghiên cứu này còn có một hạn chế, chưa đủ để đi tới kết luận chắc chắn.

Trái lại, các nghiên cứu quan sát lại cho kết quả bệnh nhân có biến cố mạch vành có nồng độ testosterone thấp có tỷ lệ tử vong cao hơn; liệu pháp bổ sung testosterone giúp cải thiện tỷ lệ sống ở bệnh nhân so với nhóm không điều trị [82]. Kết quả tương tự cũng được khẳng định trong một nghiên cứu hồi cứu trên 6355 bệnh nhân nam điều trị liệu pháp bổ sung testosterone: liệu pháp bổ sung testosterone không tăng nguy cơ nhồi máu cơ tim so với bệnh nhân không sử dụng [75]. Một phân tích meta các thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên

có đối chứng đưa ra kết luận các dữ liệu không đủ để khẳng định liệu pháp bổ sung testosterone là nguyên nhân dẫn đến các biến cố tim mạch [76].

Tóm lại, hiện nay chưa có đầy đủ bằng chứng để kết luận mối quan hệ giữa testosterone làm tăng hay giảm biến cố tim mạch. Tuy nhiên, cần thận trọng khi sử dụng testosterone trên bệnh nhân có sẵn bệnh lý tim mạch. Liệu pháp bổ sung testosterone chống chỉ định ở bệnh nhân suy tim nặng do tác dụng gây ứ dịch có thể làm nặng thêm tình trạng suy tim. Các bệnh nhân suy tim bị suy tuyến sinh dục điều trị bằng testosterone phải được theo dõi chặt chẽ triệu chứng lâm sàng, nồng độ testosterone và hematocrit [67].

6.4. Tăng sản hồng cầu

Hầu hết các nghiên cứu về liệu pháp bổ sung testosterone trong điều trị bệnh suy sinh dục ở nam giới đều cho thấy có sự tăng hematocrit từ 2,5% đến 5% so với trước điều trị, gấp ở 6% đến 25% bệnh nhân [77].

Sự tăng hematocrit này có thể là do testosterone kích thích erythropoietin, làm tăng tạo hồng cầu và làm tăng độ nhớt của máu, đây có thể được coi là nguyên nhân gây nhồi máu não hoặc nhồi máu cơ tim dẫn đến đột quỵ trong khi điều trị testosterone [8],[14]. Khi sử dụng testosterone, cần theo dõi nồng độ testosterone không vượt quá giới hạn bình thường và hematocrit không được quá 54% [67]. Khi hematocrit > 54% thì cần cân nhắc giảm liều hoặc ngừng điều trị cho đến khi nồng độ hematocrit trở về bình thường.

6.5. Ngừng thở khi ngủ

Một số nghiên cứu cho kết quả điều trị bằng testosterone có thể làm phát triển hội chứng ngừng thở khi ngủ cho đến nay chưa có đủ bằng chứng để kết luận mối liên quan giữa liệu pháp bổ sung testosterone với hội chứng này. Tuy vậy, liệu pháp bổ sung testosterone chống chỉ định cho bệnh nhân ngừng thở khi ngủ nặng [67], [70].

6.6. Tăng lipid máu

Mặc dù có những báo cáo về tác dụng không mong muốn của liệu pháp testosterone đối với chuyển hóa lipid song các thử nghiệm lâm sàng lại cho những kết quả đối ngược. Nghiên cứu của Bagatell & Brener, 1996; Von Eckardstein và cộng sự (1997) cho thấy dùng testosterone có thể làm giảm nồng độ HDL- cholesterol và Lp(a) nhưng Wang và cộng sự (2000) lại nhận thấy rằng testosterone dạng gel (tương đương 5-10 mg một ngày) điều trị cho bệnh nhân suy sinh dục trong 6 tháng không gây ra những thay đổi rõ rệt về nồng độ LDL- hay HDL- cholesterol. Whitsel và cộng sự (2001) thực hiện một phân tích gộp dựa vào 19 nghiên cứu meta cho kết quả là điều trị bằng testosterone có thể gây giảm nhẹ cả nồng độ HDL và LDL-cholesterol. Hơn nữa, những lợi ích trên tim mạch của testosterone cũng được khẳng định trong nghiên cứu của Malkin et al (2004), khi ông nhận xét testosterone làm giảm nồng độ TNF- α , interleukin- 1 β và các cytokin gây viêm trong tuần hoàn , đây là những yếu tố bất lợi, thường tăng trong bệnh suy tim.

Như vậy, mặc dù chưa có bằng chứng rõ rệt về những bất lợi của liệu pháp bổ sung testosterone trên bệnh nhân suy sinh dục, song việc giám sát nồng độ HDL và các lipoprotein khác cũng cần đặt ra trong quá trình điều trị bằng testosterone.

6.7. Thay đổi về tâm thần

Những thay đổi về tâm thần bao gồm sự quá kích là một dấu hiệu được nhắc đến khi có sự lạm dụng hormon. Hành vi kích động, tự nói về bản thân cũng được đề cập đến trong một bài báo khi điều trị testosterone cho bệnh nhân suy sinh dục trẻ tuổi, song kết quả này không lặp lại trong một vài nghiên cứu khác. Mặc dù hành vi quá kích không phải là vấn đề nổi trội của liệu pháp bổ sung hormon song vẫn cần được kiểm soát trong điều trị [78].

Tóm lại, với những nguy cơ, tác dụng không mong muốn như trên, cần theo dõi chặt chẽ bệnh nhân sử dụng liệu pháp bổ sung testosterone để phát hiện sớm và xử trí kịp thời như trình bày ở bảng sau.

Bảng 6.7. Theo dõi khi điều trị bằng testosterone

Cơ quan đích	Thăm khám/ xét nghiệm	Năm đầu tiên	Năm tiếp theo
Tuyến tiền liệt	Thăm khám tuyến tiền liệt qua trực tràng bằng tay (DRE)	3 tháng một lần	1-2 lần/ năm
	PSA	3 tháng một lần	1-2 lần/năm
Độ nhớt máu	Hematocrit	3 tháng một lần	1-2 lần/ năm
Lipid	Cholesterol toàn phần, HDL, LDL, TG	6 tháng một lần	Hàng năm
Mật độ xương	Đo mật độ xương		2 năm một lần

7. Các nghiên cứu về bổ sung testosterone cho các bệnh nhân dự trữ buồng trứng giảm trong thụ tinh trong ống nghiệm

Balasch J. và cộng sự [79] nghiên cứu bổ sung testosterone qua da cho phụ nữ đáp ứng kém với kích thích buồng trứng. Tác giả đã sử dụng testosterone với liều 20µg/kg mỗi ngày trong 5 ngày trước khi kích thích buồng trứng. Trong số 25 bệnh nhân, 20% phải hủy chu kỳ và 80% đã chọc hút noãn. Số noãn thu được là $5,8 \pm 0,4$ so với $4,6 \pm 0,4$ noãn trưởng thành. Số phôi trung bình của mỗi bệnh nhân là $3,5 \pm 0,3$. Có 6 trường hợp có thai lâm sàng, chiếm tỷ lệ 24% trên số chu kỳ kích thích buồng trứng và 30% trên số chu kỳ chọc hút noãn. Tỷ lệ làm tổ là 16,6%. Không có trường hợp nào quá

kích buồng trứng và không phát hiện tác dụng phụ tại chỗ cũng như toàn thân liên quan đến miếng dán testosterone. Massin và cộng sự [80] so sánh kết quả bổ sung testosterone qua da 15 ngày trước kích thích buồng trứng với nhóm chứng. Kết quả cho thấy nồng độ testosterone tăng lên ở nhóm có sử dụng testosterone qua da ($1,55 \pm 0,89$ ng/ml) so với nhóm chứng ($0,58 \pm 0,16$ ng/ml). Không có sự khác biệt về số nang noãn thứ cấp và đáp ứng buồng trứng. Tuy nhiên, có khuynh hướng tăng số noãn, số phôi và tỷ lệ có thai ở nhóm sử dụng testosterone. Không phát hiện tác dụng phụ tại chỗ cũng như toàn thân ở nhóm sử dụng testosterone. Fabregues F. và cộng sự [81] nghiên cứu 62 phụ nữ ngừng chu kỳ trước do đáp ứng buồng trứng kém, được chia làm 2 nhóm. Nhóm sử dụng miếng dán testosterone 2,5mg mỗi ngày trong 5 ngày trước kích thích buồng trứng bằng phác đồ dài. Nhóm chứng sử dụng phác đồ agonist flare-up mini-dose GnRH FSH liều cao. Kết quả cho thấy số ngày kích thích buồng trứng giảm, tổng liều FSH giảm, tỷ lệ ngừng chu kỳ giảm ở nhóm điều trị với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Số noãn thu được không có sự khác biệt.

Kim và cộng sự [82] năm 2011 nghiên cứu 110 bệnh nhân đáp ứng kém với kích thích buồng trứng. Nhóm điều trị sử dụng testosterone dạng gel bôi trên da với liều 12,5mg mỗi ngày trong 21 ngày trước khi kích thích buồng trứng bằng phác đồ GnRH antagonist. Kết quả cho thấy nhóm điều trị có sự cải thiện số noãn, số phôi tốt, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ có thai lâm sàng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, không có tác dụng phụ của testosterone.

Năm 2014, Kim và cộng sự [83] nghiên cứu 120 bệnh nhân đáp ứng kém được chia làm 3 nhóm ngẫu nhiên sử dụng testosterone gel 12,5mg/ngày trong thời gian khác nhau: nhóm 1 trong 2 tuần, nhóm 2 trong 3 tuần, nhóm 3 trong 4 tuần. Kết quả là nhóm sử dụng trong 3 và 4 tuần có tăng AFC, tăng tưới máu buồng trứng, tăng số noãn với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ sơ sinh sống tăng ở nhóm sử dụng testosterone trong 4

tuần. Như vậy thời gian điều trị testosterone trong 3 hoặc 4 tuần làm tăng AFC và tuổi máu buồng trứng, giúp cải thiện đáp ứng buồng trứng và kết quả IVF ở bệnh nhân.

7.1. Thuốc Androgel sử dụng trong nghiên cứu

Androgen được dùng để điều trị thay thế cho nam giới bị giảm năng sinh dục do rối loạn chức năng của tuyến yên hoặc tinh hoàn. Ở người bệnh bị giảm năng tuyến yên, các androgen có thể làm phát triển bình thường chức năng sinh dục.

Androgen còn được dùng cho thiếu niên nam chậm dậy thì hoặc chậm lớn, song phải thận trọng. Thuốc cũng có tác dụng gây nam hóa tuy tác dụng này yếu.

Sau khi dùng dạng gel bôi, khoảng 9-14% liều dùng của thuốc được hấp thu qua da và được khuếch tán vào tuần hoàn chung với nồng độ tương ứng với chu kỳ 24 giờ.

Nồng độ thuốc trong huyết tương tăng sau khoảng 1 giờ sau khi dùng thuốc và đạt được nồng độ ổn định sau khoảng 2 ngày. Nồng độ testosterone thay đổi tương tự như biên độ dao động của testosterone nội sinh trong 24 giờ. Dùng thuốc theo đường bôi ngoài da cũng tránh được xảy ra việc thuốc đạt nồng độ đỉnh trong máu so với việc dùng thuốc theo đường tiêm và nồng độ thuốc cao của thuốc trong gan so với dùng thuốc qua đường uống.

Sau khi dùng liều 5g Androgel bôi qua da, nồng độ thuốc trong huyết tương tăng trung bình khoảng 2,5ng/ml (8,7nmol/l). Khi dùng điều trị, nồng độ testosterone bắt đầu giảm trong vòng 24 giờ và trở về mức cơ bản trong vòng 72-96 giờ kể từ khi dùng liều cuối cùng. Chất chuyển hóa chính có hoạt tính của testosterone là dihydrotestosterone và estradiol.

7.2. Tính an toàn của bổ sung testosterone qua da

Tất cả các nghiên cứu đều không ghi nhận tác dụng phụ đáng kể khi sử dụng testosterone liều thấp. Nghiên cứu của Goldstat và cộng sự năm 2003 sử dụng testosterone gel 10mg cho phụ nữ chưa mãn kinh trong 3 tháng để điều trị rối loạn tình dục, và không báo cáo trường hợp nào bị tác dụng phụ [84]. Một báo cáo tổng quan năm 1997 về tính an toàn khi dùng liệu pháp bổ sung androgen hay estrogen kết hợp với androgen khuyến cáo tác dụng phụ nam tính hóa có thể xảy ra khi dùng testosterone liều = 10mg/ngày với thời gian kéo dài trên 6 tháng. Nếu thời gian sử dụng ngắn hơn thì có thể giảm khả năng bị tác dụng phụ [85].

KẾT LUẬN

* Tế bào Leydig là nguồn testosterone chính và trải qua nhiều giai đoạn phát triển và chức năng khác nhau trong suốt quá trình phát triển.

* Việc tạo Steroids là sự chuyển cholesterol trong ty thể thành tiền chất progesterone. Sự biến đổi của tiền chất progesterone thành testosterone xảy ra enzym trong mạng lưới nội bào của các tế bào Leydig.

* Androgen là hormone sinh dục nam có vai trò trong việc hình thành và duy trì các đặc tính sinh dục nam thứ phát trong suốt thời kỳ dậy thì và trưởng thành, duy trì dục tính, duy trì khả năng sinh sản và chức năng tình dục. Bên cạnh các tác dụng truyền thống trên cấu trúc và chức năng của các cơ quan sinh dục, và sự phát triển cơ xương, gần đây người ta còn nói nhiều đến vai trò của androgen lên các cơ quan khác như mạch máu, hệ thần kinh trung ương, đường tiêu hóa, hệ miễn dịch, da, thận và phổi. Các androgen có thể thể hiện tác dụng thông qua hệ gen, hoặc theo cơ chế không thông qua hệ gen.

* Sự trưởng thành các nang trứng chính là đối tượng chịu tác động của androgen từ rất sớm có thể bao gồm sự lựa chọn, đạt cường độ đỉnh ở giai đoạn nang sơ cấp và nang thứ cấp, androgens chủ yếu ảnh hưởng đến tế bào hạt, kích thích hoạt hóa ligand - AR trong việc điều chỉnh FSH tác động lần lượt trong việc phát triển các tế bào hạt, điều chỉnh sự khác biệt do đó kích thích sự phát triển nang trứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Thị Minh Đức (2005). Chương VII. Sinh lý nội tiết. Sinh lý học. *Nhà xuất bản Y học, Hà Nội*, (1), 32-118.
2. Guyton and Hal (2006). Unit XIV. Endocrinology and production. *Textbook of Medical Physiology Elsevier Saunders, Philadelphia*, 828-1052.
3. Dankbar B, Brinkworth MH, Schlatt S, et al. (1995). Ubiquitous expression of the androgen receptor and testis-specific expression of the FSH receptor in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) revealed by a ribonuclease protection assay. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 55:35–41.
4. Palazzolo i, Gliozzi I, Gliozzi A, et al. (2008). The role of the polyglutamine tract in androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol*, (108), 245–253.
5. Jarow A, Luetjens CM, Wistuba J, et al. (2005). Norethisterone enanthate has neither a direct effect on the testis nor on the epididymis: a study in adult male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Eur J Endocrinol*, (152), 655–661.
6. Coviello AD, Matsumoto AM, Bremener WJ, et al. (2005). Low –does human chorionic gonadotropin maintains intratesticular testosterone-induced gonadotropin suppression. *J Clin Endocrinol Metab*, (90), 2595–2602.
7. Payne AH (2007). Steroidogenic enzymes in leydig cells. In: Payne A, Hardy MP (eds) *The Leydig Cell in Health and Disease. Humana press, Totowa, NJ*, 157–172.
8. Ge R and Hardy MP (2007). Regulation of Leydig cells during pubertal development. Payne A, Hardy MP (eds) *The Leydig Cell in Heath and Disease. Humana Press, Totowa, NJ*, 55–70.

9. Prince F (2007). The human Leydig cell: functional morphology and developmental history. In: Payne A, Hardy MP (eds) *The Leydig Cell in Health and Disease. Humana press, Totowa, NJ*, 71–90.
10. Lei ZM, Mishra S, Ponnuru P, et al. (2004). Testicular phenotype in luteinizing hormone receptor knockout animals and the effect of testosterone replacement therapy. *Biol Reprod*, (71), 1605–1613.
11. Sriraman V, Anbalagan M, and Rao AJ (2005). Hormonal regulation of Leydig cell proliferation and differentiation in rodent testis: a gonadotrophins and between gonadotrophins and between gonadotrophins and testicular factors. *Reprod Biomed Online*, (11), 507-54–18.
12. O’Shaughnessy PJ and Fowler PA (2011). Endocrinology of the mammalian fetal testis. *Reproduction*, (141), 37–46.
13. Rommerts FFG (2004). Testosterone: an overview of biosynthesis, transport, metabolism and non-genomic actions. In :Nieschlag E, Behre HM (eds) *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*, 3rd edn. *Cambridge University Press, Cambridge*, 1–38.
14. Bộ Y tế *Sinh lý học*, Nhà xuất bản y học.
15. Brunton LL C.B. Knollmann BC (2011), *Chapter 41: Androgens. Goodman & Gilman’s: The pharmacological basic of therapeutics*, McGraw-Hill.
16. Guyton AC H.J. (2006), *Chapter 80: Reproductive and Hormonal Functions of the Male (and Function of the Pineal Gland)*, Elsevier Inc.
17. Chung BC H.M. (2002). *Androgen Biosynthesis And Degradation. Androgens and androgen receptor: mechanisms, functions and clinical applications. Kluwer Academic Publishers*, 1–15.

18. Kandeel F.R., Koussa V.K.T., and Swerdloff R.S. (2001). Male Sexual Function and Its Disorders: Physiology, Pathophysiology, Clinical Investigation, and Treatment. *Endocrine Reviews*, **22**(3), 342–388.
19. Reilly C.M., Stopper V.S., and Mills T.M. (1997). Androgens modulate the alpha-adrenergic responsiveness of vascular smooth muscle in the corpus cavernosum. *J Androl*, **18**(1), 26–31.
20. Mills T.M., Lewis R.W., and Stopper V.S. (1998). Androgenic Maintenance of Inflow and Veno-Occlusion during Erection in the Rat. *Biology of Reproduction*, **59**(6), 1413–1418.
21. Mikhail N. (2006). Does Testosterone Have a Role in Erectile Function?. *The American Journal of Medicine*, **119**(5), 373–382.
22. Edwards E.A., Hamilton J.B., and Duntley S.Q. (1939). Testosterone Propionate as a Therapeutic Agent in Patients with Organic Disease of the Peripheral Vessels: Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*, **220**(21), 865–865.
23. Webb C.M., McNeill J.G., Hayward C.S., et al. (1999). Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation*, **100**(16), 1690–1696.
24. Kang S.M., Jang Y., Kim J. i-Young, et al. (2002). Effect of oral administration of testosterone on brachial arterial vasoreactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, **89**(7), 862–864.
25. Worboys S., Kotsopoulos D., Teede H., et al. (2001). Evidence That Parenteral Testosterone Therapy May Improve Endothelium-Dependent and -Independent Vasodilation in Postmenopausal Women Already Receiving Estrogen. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **86**(1), 158–161.

26. Aversa A., Isidori A.M., De Martino M.U., et al. (2000). Androgens and penile erection: evidence for a direct relationship between free testosterone and cavernous vasodilation in men with erectile dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **53**(4), 517–522.
27. Aversa A., Isidori A.M., Spera G., et al. (2003). Androgens improve cavernous vasodilation and response to sildenafil in patients with erectile dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **58**(5), 632–638.
28. Becker A.J., Uckert S., Stief C.G., et al. (2001). Cavernous and systemic testosterone plasma levels during different penile conditions in healthy males and patients with erectile dysfunction. *Urology*, **58**(3), 435–440.
29. Shabsigh R., Kaufman J.M., Steidle C., et al. (2004). RANDOMIZED STUDY OF TESTOSTERONE GEL AS ADJUNCTIVE THERAPY TO SILDENAFIL IN HYPOGONADAL MEN WITH ERECTILE DYSFUNCTION WHO DO NOT RESPOND TO SILDENAFIL ALONE. *Journal of Urology*, **172**(2), 658–663.
30. Kalinchenko S.Y., Kozlov G.I., Gontcharov N.P., et al. (2003). Oral testosterone undecanoate reverses erectile dysfunction associated with diabetes mellitus in patients failing on sildenafil citrate therapy alone. *Aging Male*, **6**(2), 94–99.
31. Chatterjee R., Wood S., McGarrigle H.H., et al. (2004). A novel therapy with testosterone and sildenafil for erectile dysfunction in patients on renal dialysis or after renal transplantation. *J Fam Plann Reprod Health Care*, **30**(2), 88–90.
32. Chatterjee R., Kottaridis P., McGarrigle H., et al. (2002). Management of erectile dysfunction by combination therapy with testosterone and sildenafil in recipients of high-dose therapy for haematological malignancies. *Bone Marrow Transplantation*, **29**(7), 607–610.

33. Chamness S.L., Ricker D.D., Crone J.K., et al. (1995). The effect of androgen on nitric oxide synthase in the male reproductive tract of the rat. *Fertil Steril*, **63**(5), 1101–1107.
34. Morelli A., Filippi S., Mancina R., et al. (2004). Androgens Regulate Phosphodiesterase Type 5 Expression and Functional Activity in Corpora Cavernosa. *Endocrinology*, **145**(5), 2253–2263.
35. Corona G., Jannini E.A., Vignozzi L., et al. (2012). The hormonal control of ejaculation. *Nature Reviews Urology*, **9**(9), 508–519.
36. Mancina R., Filippi S., Marini M., et al. (2005). Expression and functional activity of phosphodiesterase type 5 in human and rabbit vas deferens. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, **11**(2), 107–115.
37. McMahon C.G., Jannini E.A., Serefoglu E.C., et al. (2016). The pathophysiology of acquired premature ejaculation. *Translational Andrology and Urology*, **5**(4), 434–449.
38. Keleta Y.B., Lumia A.R., Anderson G.M., et al. (2007). Behavioral effects of pubertal anabolic androgenic steroid exposure in male rats with low serotonin. *Brain Research*, **1132**, 129–138.
39. Kicman A.T. (2008). Pharmacology of anabolic steroids. *British Journal of Pharmacology*, **154**(3), 502–521.
40. Smith L.B. and Walker W.H. (2014). The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **30**, 2–13.
41. Wang R.-S., Yeh S., Tzeng C.-R., et al. (2009). Androgen Receptor Roles in Spermatogenesis and Fertility: Lessons from Testicular Cell-Specific Androgen Receptor Knockout Mice. *Endocrine Reviews*, **30**(2), 119–132.
42. Yan H.H.N., Mruk D.D., Lee W.M., et al. (2008). Blood-testis barrier dynamics are regulated by testosterone and cytokines via their differential effects on the kinetics of protein endocytosis and recycling in Sertoli cells. *The FASEB Journal*, **22**(6), 1945–1959.

43. Yeh S., Tsai M.-Y., Xu Q., et al. (2002). Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: An in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**(21), 13498–13503.
44. De Gendt K., Swinnen J.V., Saunders P.T.K., et al. (2004). A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**(5), 1327–1332.
45. Stanton P.G., Sluka P., Foo C.F.H., et al. (2012). Proteomic Changes in Rat Spermatogenesis in Response to In Vivo Androgen Manipulation; Impact on Meiotic Cells. *PLoS ONE*, **7**(7), e41718.
46. Holdcraft R.W. (2003). Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development*, **131**(2), 459–467.
47. Wong C.-H., Xia W., Lee N.P.Y., et al. (2005). Regulation of Ectoplasmic Specialization Dynamics in the Seminiferous Epithelium by Focal Adhesion-Associated Proteins in Testosterone-Suppressed Rat Testes. *Endocrinology*, **146**(3), 1192–1204.
48. Wierman ME (2007). Sex steroid effects at target tissues: mechanisms of action. *Adv Physiol Educ*, (**31**), 26–33.
49. Gelmann E.P. (2002). Molecular Biology of the Androgen Receptor. *Journal of Clinical Oncology*, **20**(13), 3001–3015.
50. McEwan I.J. and Brinkmann A.O. (2000). Androgen Physiology: Receptor and Metabolic Disorders. *Endotext*. MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA).

51. Davey R.A. and Grossmann M. (2016). Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Bedside. *Clin Biochem Rev*, **37**(1), 3–15.
52. Berg A.H., Rice C.D., Rahman M.S., et al. (2014). Identification and Characterization of Membrane Androgen Receptors in the ZIP9 Zinc Transporter Subfamily: I. Discovery in Female Atlantic Croaker and Evidence ZIP9 Mediates Testosterone-Induced Apoptosis of Ovarian Follicle Cells. *Endocrinology*, **155**(11), 4237–4249.
53. Thomas P., Pang Y., Dong J., et al. (2014). Identification and Characterization of Membrane Androgen Receptors in the ZIP9 Zinc Transporter Subfamily: II. Role of Human ZIP9 in Testosterone-Induced Prostate and Breast Cancer Cell Apoptosis. *Endocrinology*, **155**(11), 4250–4265.
54. Pi M, Parrill AL, and Qurles LD (2011). GPRC6A mediates the nongenomic effects of steroids. *J Bio; Chem*, (**285**), 39953–39964.
55. Oury F., Sumara G., Sumara O., et al. (2011). Endocrine Regulation of Male Fertility by the Skeleton. *Cell*, **144**(5), 796–809.
56. Kousteni S., Bellido T., Plotkin L.I., et al. (2001). Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell*, **104**(5), 719–730.
57. Kang H.-Y., Cho C.-L., Huang K.-L., et al. (2004). Nongenomic Androgen Activation of Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Signaling Pathway in MC3T3-E1 Osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research*, **19**(7), 1181–1190.
58. Estrada M., Liberona J.L., Miranda M., et al. (2000). Aldosterone- and testosterone-mediated intracellular calcium response in skeletal muscle cell cultures. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **279**(1), E132–E139.

59. Bordallo J., Secades L., Bordallo C., et al. (2009). Influence of gender and sex hormones on 5 α -dihydrotestosterone elicited effect in isolated left atria of rats: Role of β -adrenoceptors and ornithine decarboxylase activity. *European Journal of Pharmacology*, **604**(1–3), 103–110.
60. Lin H.-K., Yeh S., Kang H.-Y., et al. (2001). Akt suppresses androgen-induced apoptosis by phosphorylating and inhibiting androgen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**(13), 7200–7205.
61. Haas D., White S.N., Lutz L.B., et al. (2005). The Modulator of Nongenomic Actions of the Estrogen Receptor (MNAR) Regulates Transcription-Independent Androgen Receptor-Mediated Signaling: Evidence that MNAR Participates in G Protein-Regulated Meiosis in *Xenopus laevis* Oocytes. *Molecular Endocrinology*, **19**(8), 2035–2046.
62. Unni E., Sun S., Nan B., et al. (2004). Changes in Androgen Receptor Nongenotropic Signaling Correlate with Transition of LNCaP Cells to Androgen Independence. *Cancer Research*, **64**(19), 7156–7168.
63. Lorin T., Salzburger W., and Böhne A. (2015). Evolutionary Fate of the Androgen Receptor–Signaling Pathway in Ray-Finned Fishes with a Special Focus on Cichlids. *Genes|Genomes|Genetics*, **5**(11), 2275–2283.
64. Haider A., Yassin A., Doros G., et al. (2014). Effects of Long-Term Testosterone Therapy on Patients with “Diabesity”: Results of Observational Studies of Pooled Analyses in Obese Hypogonadal Men with Type 2 Diabetes. *International Journal of Endocrinology*, **2014**, 1–15.
65. Caminiti G (2009). Effect of long-acting testosterone treatment on functional exercise capacity, skeletal muscle performance, insulin resistance, and baroreflex sensitivity in elderly patients with chronic heart failure a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Am Coll Cardiol*, **54**(10), 919–927.

66. Isidori Am (2005). Effects of testosterone on body composition, bone metabolism and serum lipid profile in middle-aged men: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **63**(3), 280–293.
67. G. R.Dohle, S. Arver, C. Bettocchi, et al. (2015). Guidelines on Male Hypogonadism, European Association of Urology. .
68. Kapoor D (2006). Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol*, **154**(6), 899-906.
69. Andre T. G, Richard F, and Spark et al (2003). America Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the Evaluation and Treatment of Male Sexual Dysfunction: A Couple's problems. *Endocrine Practice*, **9**(1), 7-95.
70. Laurens L. Brunton (2010). Chapter 41. Androgens. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basic of Therapeutics, 12th edition. *McGraw-Hill*, 1573–1583.
71. Swerdloff RS (2005). Transdermal androgens: pharmacology and applicability to hypogonadal elderly men. *J Endocrinol Invest*, **28**(3), 112-116.
72. Lakshman KM (2009). Safety and efficacy of testosterone gel in the treatment of male hypogonadism. *Clin Interv Aging*, (4), 397-412.
73. Wang C (2004). New testosterone buccal system (Striant) delivers physiological testosterone levels: pharmacokinetics study in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*, **89**(8), 3821-3829.
74. Shores MM (2012). Testosterone treatment and mortality in men with low testosterone levels. *J Clin Endocrinol Metab*, **97**(6), 2050-2058.
75. Baillargeon J (2014). Risk of Myocardial Infarction in Older men

- Receiving Testosterone Therapy. *Ann Pharmacother*, **48**(9), 1138-1144.
76. Corona G et al (2014). Cardiovascular risk associated with testosterone-boosting medications: a systematic review and meta-analysis. *Expert Opin Drug Saf*, **13**(10), 1327-1351.
 77. Gruenewald DA and Matsumoto AM (2003). Testosterone Supplementation therapy for older men: potential benefits and risks. *JAGS*, **(51)**, 101-115.
 78. Stanworth RD and Jones TH (2008). Testosterone for the aging male; current evidence and recommended practice. *Clinical Interventions in Aging*, **3**(1), 25-44.
 79. Balasch J, Fabreque F, Penarubia J, et al. (2006). Pretreatment with transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in poor-responder IVF patients with normal baseline concentration of FSH. **21**, 1884–1893.
 80. Massin N, Cedrin-Durmerin I, Coussieu C, et al. (2006). Effects of transdermal testosterone application on the ovarian response to FSH in poor responder undergoing assisted reproductive technique—a prospective randomized, double blind study. **21**, 1204–1211.
 81. Fabreque F, Penarubia J, Creus M, et al. (2009). Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotropins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. **22**, 1380–1383.
 82. Kim C-H, Howles CM, and Lee H-A (2011). The effects of transdermal testosterone gel pretreatment on controlled ovarian stimulation and IVF outcome in low responders. **95**, 679–683.
 83. Kim C.-H., Ahn J.-W., Moon J.-W., et al. (2014). Ovarian Features after 2 Weeks, 3 Weeks and 4 Weeks Transdermal Testosterone Gel Treatment and Their Associated Effect on IVF Outcomes in Poor Responders. *Development & Reproduction*, **18**(3), 145–152.

84. Goldstat R., Briganti E., Tran J., et al. (2003). Transdermal testosterone therapy improves well-being, mood, and sexual function in premenopausal women:. *Menopause*, **10**(5), 390–398.
85. Gelfand M.M. and Wiita B. (1997). Androgen and estrogen-androgen hormone replacement therapy: a review of the safety literature, 1941 to 1996. *Clin Ther*, **19**(3), 383–404; discussion 367-368.