ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh nói chung và vô sinh nam giới nói riêng là một vấn đề sức khỏe sinh sản gây ảnh hưởng lớn tới chất lượng cuộc sống của nhiều cặp vợ chồng trên toàn thế giới. Vô sinh (infertility) là hiện tượng mất hay giảm khả năng sinh sản. Tỷ lệ vô sinh khoảng 12%-15% tương đương 50-80 triệu người trên thế giới [1]. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO, 1985), có khoảng 20% là vô sinh không rõ nguyên nhân, 80% có nguyên nhân, trong đó vô sinh do nữ chiếm 40%, do nam chiếm 40% và do cả vợ và chồng là 20% [2].

Để điều trị hiệu quả, có thái độ xử lý đúng với vô sinh cần phải có chẩn đoán chính xác. Chẩn đoán nguyên nhân gây vô sinh và vô sinh ở nam giới là hết sức cần thiết để điều trị và thực hiện tư vấn di truyền.

Xét nghiệm tinh dịch đồ là xét nghiệm quan trọng để xác định tình trạng vô sinh nam. Các chỉ số tinh dịch có rất nhiều nhưng hiện nay chỉ có một số ít chỉ số được ứng dụng cho chẩn đoán tình trạng vô sinh nam, đặc biệt các chỉ số về sự di động của tinh trùng, nhóm chỉ số cho biết mức độ khỏe và khả năng tìm trứng của tinh trùng chưa được nghiên cứu nhiều.

Trong những năm gần đây, di truyền y học phát triển nhanh, mạnh và có rất nhiều thành tựu. Với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học kỹ thuật, đồng thời nhu cầu cuộc sống của con người ngày càng hướng đến sự hoàn thiện thì nguyện vọng có được những đứa con càng trở nên tha thiết. Những thành công trong nhiều lĩnh vực lâm sàng và cận lâm sàng là những yếu tố quan trọng khẳng định khả năng điều trị. Một số phương pháp hỗ trợ sinh sản như thụ tinh trong ống nghiệm, tiêm tinh trùng vào bào tương trứng giúp con người can thiệp gần như tối đa vào quá trình thụ tinh và cũng đạt được những thành công nhất định. Tuy vậy, vẫn còn nhiều khó khăn trong công tác chẩn đoán nguyên nhân và điều trị. Xét nghiệm và tư vấn di truyền cũng ngày càng phát triển giúp

chúng ta xác định chính xác nguyên nhân vô sinh qua đó có hướng can thiệp thích hợp cho những trường hợp vô sinh nói chung và vô sinh nam nói riêng.

Di truyền y học nghiên cứu ở cả hai mức độ tế bào và phân tử đã giúp cho các thầy thuốc lâm sàng tìm hiểu được những nguyên nhân vô tinh hoặc thiểu tinh dẫn đến vô sinh nam giới là do biến đổi di truyền. Trong các nguyên nhân vô sinh do nam giới, có khoảng 10% - 15% trường hợp vô tinh và 5% thiểu tinh nặng có bất thường về di truyền [3]. Các tiến bộ trong phân tích nhiễm sắc thể (NST) ngày càng giúp cho các nhà di truyền y học phát hiện được các rối loạn số lượng và cấu trúc NST.

Ở mức độ phân tử, người ta phát hiện những mất đoạn nhỏ NST Y ở vùng AZFabcd (Azoospermia factor). Vùng AZFabcd chứa nhiều gen khác nhau, những mất đoạn gen trong vùng này được xác định là gây suy giảm hoặc không có tinh trùng [4]. Phát hiện được những mất đoạn nhỏ trên NST Y sẽ là căn cứ chẩn đoán và chọn hướng can thiệp cho những trường hợp vô sinh nam [5].

Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có các nghiên cứu có tính hệ thống cả đặc điểm của tinh hoàn, đặc điểm tinh dịch và sự liên quan giữa các chỉ số đó với yếu tố di truyền của nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng cũng như còn rất ít nghiên cứu về bất thường NST và mất đoạn nhỏ vùng AZFabcd trên NST Y. Xuất phát từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành đề tài**:** "**Nghiên cứu bất thường nhiễm sắc thể và phát hiện mất đoạn AZFabcd ở những nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng".**

Mục tiêu của đề tài là:

1. *Xác định tỷ lệ, phân bố các dạng bất thường nhiễm sắc thể và mất đoạn nhỏ nhiễm sắc thể Y vùng AZFabcd ở nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng.*
2. *Xác định mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền ở nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng.*

Chương 1
TỔNG QUAN

1.1. Tình hình nghiên cứu vô sinh, vô sinh nam trên thế giới và Việt Nam

1.1.1. Một số khái niệm về vô sinh và vô sinh nam giới

Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO) vô sinh là tình trạng một cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ, mong muốn có con nhưng không thể có thai sau 12 tháng có quan hệ tình dục mà không dùng biện pháp tránh thai nào [6],[7].

Có hai loại vô sinh: vô sinh nguyên phát (VSNP) (vô sinh I) là chưa có thai lần nào; vô sinh thứ phát (VSTP) (vô sinh II) là vô sinh mà người vợ trước đây đã từng có thai, đến nay không thể có thai được.

Vô sinh nam giới là vô sinh mà nguyên nhân do người chồng, vô sinh nữ giới là vô sinh mà nguyên nhân do người vợ.

Vô sinh không rõ nguyên nhân (KRNN) là các trường hợp vô sinh mà thăm khám lâm sàng và làm các xét nghiệm kinh điển ở cả vợ và chồng vẫn chưa phát hiện được nguyên nhân khả dĩ có thể giải thích được tình trạng không có thai [8].

Trong vô sinh do nam giới, nguyên nhân do bất thường số lượng tinh trùng là rất thường gặp, đó là những trường hợp vô sinh nam do vô tinh (VT) và thiểu tinh (TT).

Theo WHO, VT (azoospermia) là tình trạng không tìm thấy tinh trùng trong tinh dịch khi xuất tinh, thường do tinh hoàn không sản xuất được tinh trùng. TT (oligozoospermia) là tình trạng số lượng tinh trùng ít hơn 15×10^6 tinh trùng/ml tinh dịch. Thiểu tinh nặng (TTN), (severe oligozoospermia) là những trường hợp có số lượng tinh trùng $\leq 5 \times 10^6$ tinh trùng/ml tinh dịch [6],[7],[9].

Để khảo sát một cặp vợ chồng vô sinh, phải thực hiện xét nghiệm tinh dịch đồ cho người chồng. Dựa trên tiêu chuẩn của WHO năm 1999, nếu tinh dịch đồ bất thường phải xét nghiệm lại lần thứ hai cách lần thứ nhất ít nhất 6

ngày và xa nhất dưới ba tháng [6]. Để khẳng định một trường hợp không có tinh trùng cần xét nghiệm ít nhất 2 lần đồng thời phải ly tâm tinh dịch tìm tinh trùng [10].

1.1.2. Tình hình vô sinh và vô sinh nam trên thế giới

Theo Hội Y học sinh sản Hoa Kỳ, khoảng 6,1 triệu người Mỹ bị vô sinh, một phần ba là do nữ, một phần ba là do nam giới, phần còn lại là do cả hai hoặc KRNN [11]. Một nghiên cứu khác tại Hoa Kỳ cho thấy, có khoảng 10% số cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ bị vô sinh [12].

Ở Châu Phi, Larsen và cs (2000), khi nghiên cứu ở 10 trong số 28 quốc gia trong khu vực đã công bố tỷ lệ vô sinh nguyên phát chiếm 3% các cặp vợ chồng ở lứa tuổi sinh sản, còn tỷ lệ vô sinh thứ phát cao hơn nhiều [13].

Ở Châu Âu, vô sinh nam chiếm 20% [1]. Tại Pháp, tỷ lệ vô sinh chiếm 13,5% các cặp vợ chồng. Theo Thonneau (1991), có khoảng 15% các cặp vợ chồng không thể có con sau một năm, trong đó do nam giới chiếm 20% [14]. Ali Hellani cũng cho rằng khoảng 10%-15% cặp vợ chồng vô sinh, nguyên nhân do nam chiếm 50% và khoảng 30%-40% vô sinh nam KRNN [15].

Theo Irvine (2002), vô sinh chiếm 14%-17%, trong đó nguyên nhân do nam giới khó xác định [16]. Krauz và cs cũng cho rằng nguyên nhân gây vô sinh do nam khoảng 50%. Trong đó, khoảng 40% - 50% những người này là do có bất thường về số lượng và chất lượng tinh trùng [17].

Ở các nước Châu Á: Takahashi và cs (1990) nghiên cứu trên 173 mẫu tinh dịch của các bệnh nhân vô sinh nam giới tại Nhật Bản cho thấy có 35,8% VT, 19,6% có số lượng tinh trùng giảm nghiêm trọng, 9,8% giảm vừa và 34,7% có tinh dịch đồ bình thường [18]. Theo Aribarg (1995), vô sinh ở Thái Lan chiếm 12 % các cặp vợ chồng ở lứa tuổi sinh đẻ [19].

Nhìn chung, tỷ lệ vô sinh thay đổi từ 10% - 20%, trong đó nguyên nhân vô sinh do nam và nữ tương đương nhau, tỷ lệ này có xu hướng ngày càng tăng, tỷ lệ vô sinh KRNN còn nhiều.

1.1.3. Tình hình vô sinh và vô sinh nam ở Việt Nam

Ở Việt Nam, một số công trình nghiên cứu về vô sinh cho thấy tỷ lệ vô sinh có xu hướng tăng. Theo kết quả điều tra dân số năm 1980, tỷ lệ này là 7% - 10%, đến năm 1982, tỷ lệ vô sinh chung ở Việt Nam lên đến 13%, trong đó vô sinh nữ 54%, vô sinh nam 36%, vô sinh KRNN 10% [20].

Nghiên cứu của Nguyễn Khắc Liêu và cs tại Viện Bảo vệ Bà Mẹ và trẻ sơ sinh từ năm 1993 - 1997 trên 1.000 trường hợp vô sinh cho thấy tỷ lệ sinh vô nữ chiếm 54,5%, vô sinh nam chiếm 35,6%, vô sinh KRNN là 10% [21].

Ngô Gia Hy (2000) nhận định rằng trong số các cặp vợ chồng vô sinh thì nguyên nhân do người chồng là 40%, do người vợ là 50% và do cả hai vợ chồng là 10% [22].

Theo Phan Văn Quyền (2000) tỷ lệ vô sinh là 10%-15% [23]. Theo Trần Thị Trung Chiến và cs (2002) tỷ lệ vô sinh là 5%, trong đó vô sinh do nam giới chiếm 40,8% [20].

Theo Trần Quán Anh và Nguyễn Bửu Triều, cứ 100 cặp vợ chồng thì có khoảng 15 cặp vợ chồng không thể có con, trong đó trên 50% nguyên nhân là do nam giới và tỷ lệ này đang có chiều hướng gia tăng mạnh [24].

Theo Trần Thị Phương Mai (2001), vô sinh nguyên nhân do nữ giới khoảng 30% - 40%. Vô sinh nam giới khoảng 30% các trường hợp. Khoảng 20% các trường hợp tìm thấy nguyên nhân vô sinh ở cả hai vợ chồng. Bên cạnh đó, có khoảng 20% các cặp vợ chồng không tìm thấy nguyên nhân [25].

Báo cáo của Nguyễn Viết Tiến tại Hội thảo quốc tế "Cập nhật về hỗ trợ sinh sản" (2013) tại Hà Nội cho thấy kết quả điều tra ở Việt Nam thì tỷ lệ vô sinh là 7,7%. Trong đó, nguyên nhân do nam giới chiếm 25 - 40%, do nữ 40 - 55%, còn lại do cả hai vợ chồng và KRNN [26].

Nguyên nhân chủ yếu của vô sinh nam là do rối loạn sinh tinh. Ngoài ra, vô sinh nam còn do một số nguyên nhân khác như: rối loạn về tình dục và xuất tinh, rối loạn nội tiết, tắc ống dẫn tinh… Theo Trần Đức Phấn (2010) trong số các cặp vợ chồng vô sinh có 44% có tinh dịch đồ bất thường [27].

1.1.4. Nghiên cứu về vô sinh nguyên phát và thứ phát

Về tỷ lệ VSNP và VSTP, các tác giả nghiên cứu ở các đối tượng khác nhau cho kết quả khác nhau.

Bảng 1.1. Tỷ lệ % vô sinh nguyên phát và thứ phát.

Tác giả	Đối tượng điều tra	Loại vô sinh (%)	
		Nguyên phát	Thứ phát
Lee J. Y. [28]	Các cặp vô sinh	78,0	22,0
Hull M. G. [29]	Các cặp vô sinh	67 – 71	29 - 33
Phạm Văn Quý [30]	Các cặp vô sinh	84,5	15,5
Phan Hoài Trung [31]	Các cặp vô sinh	80,18	19,82
Trần Xuân Dung [32]	Quần thể	1,4	13,4
Trần Đức Phấn [33]	Quần thể (Thái Bình)	0,75	6,9
Trần Đức Phấn [33]	Quần thể (Phù Cát, Bình Định)	1,5	7,82
Nguyễn Viết Tiến [26]	Quần thể (Việt Nam)	3,8	3,9

Nghiên cứu của các tác giả cho thấy, nếu thống kê ở những bệnh nhân đi khám và điều trị vô sinh thì tỷ lệ VSNP chiếm tỷ lệ cao, còn nếu thống kê ở cộng đồng thì tỷ lệ VSTP cao hơn nhiều so với VSNP.

1.2. Nguyên nhân vô sinh nam

1.2.1. Phân loại nguyên nhân vô sinh nam giới theo WHO

Vô sinh nam có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau, hầu hết các nguyên nhân đều dẫn đến hậu quả là người nam giới VT, TT mức độ nhẹ hoặc nặng, bất thường về hình thái tinh trùng…

Tuy nhiên, việc chẩn đoán nguyên nhân rất phức tạp, do đó việc đề xuất phương pháp điều trị và tư vấn di truyền còn gặp nhiều khó khăn. Năm 1999, WHO đã đưa ra một bảng phân loại các nguyên nhân gây vô sinh nam giới một cách có hệ thống [6].

Bảng 1.2. Các nhóm nguyên nhân vô sinh nam (Theo WHO, 1999) [6]

Rối loạn về tình dục và phóng tinh	Nhiễm trùng tuyến sinh dục phụ
Miễn dịch	Nội tiết
Bất thường tinh dịch	Tinh trùng ít
Bệnh lý toàn thân	Tinh trùng di động yếu
Dị tật bẩm sinh	Tinh trùng dị dạng
Tổn thương tinh hoàn mắc phải	VT do tắc nghẽn
Giãn tĩnh mạch tinh	VT không rõ nguyên nhân
Nguyên nhân do khám và điều trị	

Cách phân loại trên đã giúp tiêu chuẩn hóa việc chẩn đoán các nguyên nhân vô sinh do nam giới trên thế giới và để so sánh các nghiên cứu. Tuy nhiên, với sự tiến bộ của y học, gần đây các tác giả đã phát hiện thêm các nguyên nhân vô sinh nam, đặc biệt các nguyên nhân liên quan đến di truyền, cách phân loại này cũng đang được tiếp tục cải thiện để phù hợp với sự phát triển của kỹ thuật chẩn đoán [34].

1.2.2. Nguyên nhân do bất thường di truyền

1.2.2.1. Các bất thường NST thường gặp trong vô sinh nam

*** Bất thường số lượng NST giới tính**

- Hội chứng Klinefelter:

Nguyên nhân vô sinh do bất thường NST giới tính thường gặp nhất là hội chứng Klinefelter. Tần số của bệnh khoảng 1/1000 trẻ sơ sinh nam [24],[35],[36].

Biểu hiện lâm sàng của hội chứng Klinefelter thường không đặc hiệu trong thời kỳ trẻ nhỏ. Ở giai đoạn sơ sinh và trẻ nhỏ rất khó nhận biết vì không có dị dạng quan trọng hoặc có những dị dạng nhưng không đặc hiệu như tinh hoàn lạc chỗ, lỗ đái lệch thấp, dương vật kém phát triển. Ở giai đoạn dậy thì có thể thấy người cao, chân tay dài nhưng nhiều trường hợp có hình thái nam bình thường. Thường thấy tinh hoàn không phát triển, mào tinh hoàn đôi khi lớn

hơn tinh hoàn, tinh hoàn teo nhỏ, dáng người giống nữ, chứng vú to, FSH tăng cao và thường vô sinh do VT. Bởi vậy, chẩn đoán hội chứng này thường ở giai đoạn dậy thì và trưởng thành. Theo Simpson, hội chứng Klinefelter thường là vô sinh do VT và TT [37]. Tuy nhiên Krausz và Forti (2000) thấy ở một số ít bệnh nhân Klinefelter thể khảm tinh hoàn vẫn có thể sinh tinh nên vẫn có khả năng sinh sản nhưng thường là TTN [17].

Nguồn gốc của NST bất thường: 53% NST X thừa có nguồn gốc từ bố, 34% do rối loạn giảm phân I ở mẹ, 9% do rối loạn giảm phân II ở mẹ, 3% do rối loạn phân cắt hợp tử. Tuổi mẹ cao làm tăng bất thường ở giảm phân I [36].

Về di truyền tế bào: 80% người Klinefelter thể thuần karyotyp 47,XXY. Một số thể khảm 47,XXY/46,XY; 45,X/46,XY/47,XXY... Theo các tác giả, Klinefelter thể khảm có thể sản xuất tinh trùng nhưng TTN. Ở dạng khảm, tế bào bất thường có thể chỉ có ở mô tinh hoàn, còn các mô khác có karyotyp bình thường [38].

Hội chứng Klinefelter thường có suy sinh dục, vô sinh do VT và TT nhưng biểu hiện lâm sàng có sự khác nhau. Số lượng và mức độ của các triệu chứng phụ thuộc vào số lượng và vị trí của các mô tế bào có thêm NST X [38].

Trường hợp hội chứng Klinefelter khảm có thể có con nhưng đều cần đến hỗ trợ sinh sản. Một số trường hợp có thể lấy tinh trùng từ tinh hoàn người nam 47,XXY để làm kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI).

- Nam có bộ NST 48,XXYY:

Bệnh nhân có biểu hiện gần giống hội chứng Klinefelter, thiểu năng tuyến sinh dục, tinh hoàn nhỏ, lông sinh dục thưa, thường gặp chứng vú to. Bệnh nhân thường chậm phát triển tâm thần mức độ trung bình. Các triệu chứng về hành vi tâm thần thường nặng hơn người mắc hội chứng Klinefelter.

Người ta cho rằng cơ chế của bệnh là do sự không phân ly của NST Y ở cả hai lần phân bào giảm phân của người bố. Tỷ lệ 1/50.000 trẻ sơ sinh nam [36].

- Nam có bộ NST 47,XYY:

Trong số nam giới có karyotyp 47,XYY, một số có khả năng sinh sản, tỷ lệ bệnh này nhiều hơn trong quần thể vô sinh nam. Có trường hợp dương vật nhỏ, tinh hoàn lạc chỗ và lỗ đái lệch thấp. Trên lâm sàng người bệnh có dáng vóc cao, xét nghiệm tinh dịch VT hoặc TTN. Trên mẫu sinh thiết, mô học tinh hoàn thấy tế bào dòng tinh thiểu sản và hầu như không trưởng thành, ngoài ra còn xơ hóa ống sinh tinh. Cơ chế bệnh sinh hầu hết do sự không phân ly của NST Y xảy ra trong phân bào giảm nhiễm lần thứ hai ở bố. Tần số người 47,XYY trong quần thể là 1/1000 nam giới [36].

Theo Speed (1989), khả năng sinh sản của những người 47,XYY khác nhau đáng kể, từ số lượng tinh trùng bình thường đến VT. Nhiều nam giới 47,XYY vẫn sinh con bình thường, tuy nhiên chưa có nghiên cứu hệ thống về con của những người này. Về mặt lý thuyết, 50% tinh trùng sẽ bình thường. Benet và Martin (1988) nghiên cứu NST của 75 tinh trùng từ người nam 47,XYY thấy tất cả những tinh trùng này đều có một NST giới tính. Tác giả cho rằng NST giới tính thêm vào đã bị đào thải trong quá trình sinh tinh [39].

Nghiên cứu của Gonzalez-Merino (2007) trên hai bệnh nhân karyotyp 47,XYY có TTN cho thấy tỷ lệ tinh trùng lệch bội NST là 37 - 38%, với khoảng một nửa bất thường là do lệch bội NST giới tính [40].

*** Bất thường số lượng NST thường**

- Hội chứng lệch bội NST (Hội chứng Down: karyotyp là 47,XY,+ 21)

Hầu hết thể đơn nhiễm và thể ba NST không sống được, chúng thường bị chết ở giai đoạn thai gây sẩy thai tự nhiên hoặc chết ở giai đoạn đầu sau khi sinh [41]. Những trường hợp bất thường NST thường có thể sống được là: thể ba NST 13 (tỷ lệ sống lúc sinh là 2,8%), thể ba NST 18 (tỷ lệ sống lúc sinh là 5,4%) và thể ba NST 21 (tỷ lệ sống lúc sinh là 22,1%). Ở thể 3 NST 21 có thể sống đến trưởng thành [41]. Hầu hết bất thường số lượng NST thường bắt nguồn từ giảm phân I ở mẹ và có khoảng 10% có nguồn gốc từ bố [42]. Nam giới thể 3 NST 21 thường là VT hoặc TTN (Speed, 1989).

Hầu hết bệnh nhân hội chứng Down bị vô sinh. Tuy nhiên, Zühlke cũng đã báo cáo trường hợp nữ bị Hội chứng Down đã sinh con [43]. Schröder và cs nghiên cứu quá trình giảm phân ở người nam có trisomy 21 thấy quá trình sinh tinh có thể diễn ra bình thường.

Theo Prahan và Sheridan thì những bệnh nhân Down 47,XY,+21 thể thuần và thể khảm ở nam giới vẫn có một số trường hợp có thể sinh con [44].

Ở thể khảm, các giao tử bình thường vẫn được tạo ra, tỷ lệ của nó phụ thuộc vào tỷ lệ tế bào mầm bình thường [45].

Với người Down thuần, một mặt do không tạo được tinh trùng, mặt khác do họ có biểu hiện kiểu hình rõ, nên họ rất ít có cơ hội lập gia đình, vì vậy những trường hợp Down thuần ở nam giới rất khó có con.

*** Bất thường cấu trúc NST giới tính**

Bất thường cấu trúc NST giới gặp chủ yếu là chuyển đoạn. Bất kỳ phần nào của NST giới tính cũng có thể chuyển đoạn với NST thường. Chuyển đoạn NST giới tính có ảnh hưởng trực tiếp đến những gen cần thiết cho sự biệt hóa tế bào mầm. Chuyển đoạn giữa NST Y và NST thường là rất hiếm và có thể liên quan đến bất kỳ phần nào của NST Y, thường dẫn đến bất thường sinh tinh và vô sinh [46]. Các chuyển đoạn giữa NST giới tính và NST thường có nhiều khả năng gây vô sinh hơn những chuyển đoạn giữa các NST thường với nhau.

*** Bất thường cấu trúc NST thường**

Các bất thường về cấu trúc NST thường có thể làm ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của nam giới, chiếm tỷ lệ 1 - 2 % các trường hợp vô sinh nam. Khi NST cấu trúc lại có thể gây trở ngại cho sự bắt cặp NST trong quá trình giảm phân và ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh. Theo Punam, Trieu Huynh, bất thường NST thường hay gặp là chuyển đoạn tương hỗ, chuyển đoạn hòa hợp tâm, đảo đoạn quanh tâm [47],[48].

Chuyển đoạn NST thường xảy ra với tần suất 1/500 trẻ em sống và là bất thường về cấu trúc NST thường phổ biến nhất ở bệnh nhân vô sinh nam giới.

Chuyển đoạn NST thường gây giảm sinh tinh do gây rối loạn quá trình giảm phân [49]. Chuyển đoạn NST thường ở bệnh nhân vô sinh nam cao hơn 4 đến 10 lần so với nhóm sinh sản bình thường [50]. Hầu hết chuyển đoạn không ảnh hưởng đến các mô khác nhưng có thể gây suy giảm sinh tinh trùng nặng. Điều này có thể là do bất thường các gen chịu trách nhiệm sinh tinh hoặc gây tiếp hợp bất thường trong quá trình giảm phân [51].

Chuyển đoạn hòa hợp tâm (chuyển đoạn Robertson): chuyển đoạn hòa hợp tâm có thể dẫn đến vô sinh và tần suất khoảng 1/1000 trẻ sơ sinh [52]. Mặc dù chuyển đoạn hòa hợp tâm chỉ khoảng 0,8% ở nam giới vô sinh nhưng cao hơn 9 lần so với tần số trong cộng đồng [24]. Người mang NST chuyển đoạn hòa hợp tâm có thể kiểu hình bình thường nhưng có thể vô sinh do bất thường hình thành giao tử [22]. Chuyển đoạn hòa hợp tâm thường gặp là chuyển đoạn giữa NST 13 và 14, ở người thiểu tinh gặp nhiều hơn là VT [53].

Người mang NST chuyển đoạn cân bằng có nguy cơ truyền cho con NST bất thường và tạo ra bộ NST mất cân bằng với tỷ lệ thấp, thường chỉ 1-2% nếu người bố bị chuyển đoạn cân bằng hòa hợp tâm (Boue và Gallano, 1984). Những bất thường này có thể truyền lại cho con cái họ. Veld và cộng sự báo cáo thể ba NST số 13 ở bào thai đã được phát hiện sau khi bơm tinh trùng vào bào tương trứng, sử dụng tinh trùng của một người cha có chuyển đoạn hòa hợp tâm [54]. Ngoài ra, chuyển đoạn hòa hợp tâm giữa hai NST tương đồng, ví dụ như hai NST số 13, sẽ chỉ cho phôi bất thường, thể ba NST số 13 hoặc thể đơn nhiễm NST số 13, không có hy vọng tồn tại lâu. Một trường hợp chuyển đoạn hòa hợp tâm giữa cặp NST tương đồng được phát hiện ở Hà Lan sau ba lần ICSI ban đầu không thành công [55].

Đảo đoạn: Đảo đoạn NST có thể gây vô sinh, sẩy thai và dị tật bẩm sinh. Trong quá trình giảm phân, các NST đảo đoạn tạo thành cấu trúc đặc biệt (inversion loops - vòng đảo ngược) để cho phép các alen của NST tương đồng ghép cặp. Sự hình thành của những vòng này có thể làm giảm khả năng sinh sản do việc ghép cặp của các gen tương đồng trên các nhiễm sắc thể đồng dạng

khác nguồn khó khăn, phải hình thành của các vòng lặp đảo ngược, khó khăn này cũng dễ dẫn đến trao đổi chéo không cân bằng tạo giao tử bất thường [56].

Đảo đoạn cũng thường gặp, thường là đảo đoạn quanh tâm NST số 1, 3, 5, 6, 9 và 10 có thể gây cản trở quá trình giảm phân là giảm khả năng sản xuất tinh trùng và vô sinh.

Mất đoạn: Punam Nagvenkar phát hiện thấy 1 trường hợp nam vô sinh có mất đoạn nhánh dài NST số 16 (16q12.2) [57].

Nguyễn Đức Nhự (2009) phát hiện thấy có 3 bệnh nhân VT có bất thường về cấu trúc NST thường có karyotyp là: 46,XY,del(9) (p13)/46,XY; 46,XY,del (3)(q12)/46,XY và 46,XY,del(7)(p11)/46,XY với tỷ lệ khảm lần lượt là 15%, 20% và 10%. Ba trường hợp này biểu hiện mất đoạn nhánh ngắn ở NST số 9 và 7, mất đoạn nhánh dài NST số 3 [58].

Một rối loạn di truyền khác là Hội chứng Prader-Willi do mất đoạn nhánh dài phần gần tâm của NST số 15 ở băng q11-q13. Biểu hiện béo phì, trương lực cơ nhẽo, chậm phát triển trí tuệ, cơ quan sinh dục teo nhỏ, tay chân ngắn, thân hình thấp… Nữ giới bị Hội chứng Prader-Willi thường vô kinh nguyên phát hoặc có kinh muộn. Nam giới bị hội chứng này thường vô sinh do không có quá trình sinh tinh [36].

*** Các bất thường NST khác**

- Nam có bộ NST 46,XX (Male 46,XX):

Trường hợp này người bệnh có hai tinh hoàn, bộ NST là 46,XX, không có NST Y. Hầu hết có cơ quan sinh dục ngoài giống nam bình thường, 10% - 15% có mơ hồ giới tính, tinh hoàn chưa xuống bìu, lỗ đái lệch thấp, những trẻ này thường được chẩn đoán phát hiện lúc còn nhỏ; số khác sẽ phát hiện được ở tuổi trưởng thành do triệu chứng vô sinh hoặc có chứng vú to. Hầu hết có tinh hoàn nhỏ và có một số dấu hiệu thiểu năng androgen tương tự như người mắc hội chứng Klinefelter. Xét nghiệm không thấy tinh trùng trong tinh dịch.

Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh: Hầu hết người nam có karyotyp 46,XX đều có gen SRY (Sex determining region Y chromosome) còn gọi là gen quyết định giới tính nam TDF (Testis Determining Factor), nguyên nhân chủ yếu do chuyển đoạn giữa NST X và NST Y, trong đó đoạn chứa gen SRY từ NST Y đã chuyển sang NST X; nhưng khoảng 1/4 các trường hợp có SRY âm tính [59]. Số này có thể giải thích do hiện tượng khảm của dòng tế bào 46,XX với dòng tế bào có NST Y ở các mô khác nhau mà chưa phát hiện được. Tần số bệnh trong quần thể khoảng 1/10.000 người [24],[36].

- Nam 45,X và tình trạng khảm ở người nam 45,X/46,XY; 45,X/47,XYY:

Hầu hết người nam có karyotyp 45,X có chuyển đoạn gen SRY với một NST thường hoặc NST X. Một số trường hợp khảm 45,X/46,XY: loại khảm này hiếm gặp, biểu hiện có hình thái nam hoặc mơ hồ giới tính. Hầu hết bệnh nhân có tỷ lệ dòng tế bào bất thường thấp dưới 10% [59],[60]. Nguyễn Đức Nhự (2009) phát hiện 1 bệnh nhân khảm không có biểu hiện bất thường về cơ quan sinh dục nam bên ngoài nhưng VT và vô sinh [58]. Marchina và cộng sự cũng phát hiện được một trường hợp thể khảm 45,X/46,XY, tỷ lệ khảm là 5% [61].

Thể khảm 45,X/47,XYY thường thấy ở nam giới suy sinh dục. Reddy và Sulcova đã sinh thiết tinh hoàn ở người nam 45,X/47,XYY và thấy không có sự sinh tinh; khoảng 1 nửa tế bào có tín hiệu Y bằng kỹ thuật FISH.

- NST marker:

Người mang NST marker có nguy cơ vô sinh. Các tác giả cho rằng sự xuất hiện thêm NST bất thường cấu trúc có thể dẫn tới giảm khả năng sinh sản ở nam giới do kìm hãm sự trưởng thành tinh trùng [62]. Theo De Braekeleer và cs (1991), tỷ lệ người mang marker NST trong số nam vô sinh cao gấp 8 lần so với ở trẻ trai lúc mới sinh [63]. Nguyễn Đức Nhự cũng phát hiện 1 người nam vô sinh có karyotyp là 47,XY,+marker/46,XY, tỷ lệ khảm 25% [58]. Punam Nagvenkar và cs cũng phát hiện được 1 trường hợp có NST marker [57].

*** Tình hình nghiên cứu về bất thường NST trong vô sinh nam**

Bảng 1.3. Tỷ lệ phát hiện bất thường NST ở những nam giới vô sinh

Tác giả	Cỡ mẫu nghiên cứu	% bất thường NST ở các đối tượng			% bất thường NST giới
		Vô sinh	VT	TT	
Stewart Irvine (2002) [16]	-	2,1-8,9%	15%	4%	-
Rima Dada (2003) [64]	125	23,2%	-	-	8,8%
Han-Sung Chiang (2004) [65]	334	15,9%	-	-	-
Lakshim Rao (2004) [66]	251	11,5%	-	-	3,18%
Nagvenkar (2005) [57]	88	10,2%	14,3%	6,5%	-
Nguyễn Bửu Triều (2002) [35]	-	-	13-20%	-	1%
Trung Thị Hằng (2007) [67]	37	-	24%	-	-
Nguyễn Đức Nhự (2009) [58]	100	-	20,8%		15,45%
Akgul (2009), Thổ Nhĩ Kỳ [68]	179	11,74%	17,44%	6,85%	10,06%

Như vậy, rối loạn NST là một trong những nguyên nhân vô sinh nam. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay nghiên cứu về rối loạn NST gây vô sinh nam giới còn rất hạn chế.

1.2.2.2. Các rối loạn di truyền ở mức độ phân tử trong vô sinh nam

*** Các gen liên quan đến sản xuất tinh trùng:**

Ước tính khoảng 2000 gen có liên quan đến sự sinh tinh, phần lớn chúng ở trên NST thường và khoảng 30 gen có mặt trên NST Y. Các nhà khoa học đã phát hiện mất đoạn nhỏ trên NST Y có liên quan đến quá trình sinh tinh [69].

Theo Fernandes và cs (2002), có một nhóm gen gọi là DAZ (Deleted in azoospermia) nằm ở đoạn xa nhánh dài NST Y (Yq11.23), các gen này liên quan với các yếu tố c gây VT (azospermia factor c). Phân tích ADN của các nam giới TT, người ta phát hiện được 8% có mất đoạn ở nơi có các gen DAZ, những người bình thường về tinh dịch không có các bất thường này [70].

Lahn và Page (1997) phân các gen trên vùng Yq11 thành 2 nhóm: Nhóm 1 bao gồm các gen có nhiều bản sao và chỉ có trên NST Y như: CDY, DAZ, RBM, TSPY, TTY1, TTY2; Nhóm 2 gồm các gen có trình tự tương đồng trên NST X như: DBY, DFFRY, EIF1AY, SMCY, UTY. Theo Brown và cs (1998), gen DFFRY thuộc vùng AZFa có liên quan tới duy trì dòng tế bào sinh dục, tương tự như gen tương đồng (cần cho sự phát triển của tế bào trứng) nằm trên NST X (DFFRX).

Ngoài ra, các gen không nằm trong vùng AZF trên NST Y nhưng cũng gây vô sinh nam giới như các gen: SRY hay TDF có vai trò trong việc hình thành giới tính; gen TSPY (Testes Specific Protein, Y- encoded Gene) nằm trong vùng không tái tổ hợp của NST Y (Non Recombining Region of Y chromosome - NRY), (Arvind, 2005). Một gen khác nằm trên vùng Yq là CDY. Gen này ở mô tinh hoàn có liên quan đến việc tạo điều kiện thay thế các histon trong quá trình sinh tinh.

Hội chứng Kallmann do đột biến gen KALIG-1 ở nhánh ngắn NST X (Xp22.3) dẫn đến suy hạ đồi và tuyến sinh dục, biểu hiện lâm sàng mất khứu giác và cơ quan sinh dục chậm phát triển [12].

Gen USP26 (Ubiquitin-specific protease 26 gene) là gen nằm trên nhánh dài NST X, được biểu hiện đặc hiệu ở mô tinh hoàn. Các nghiên cứu đã tìm thấy mối liên hệ giữa gen này với sự sinh tinh [71],[72].

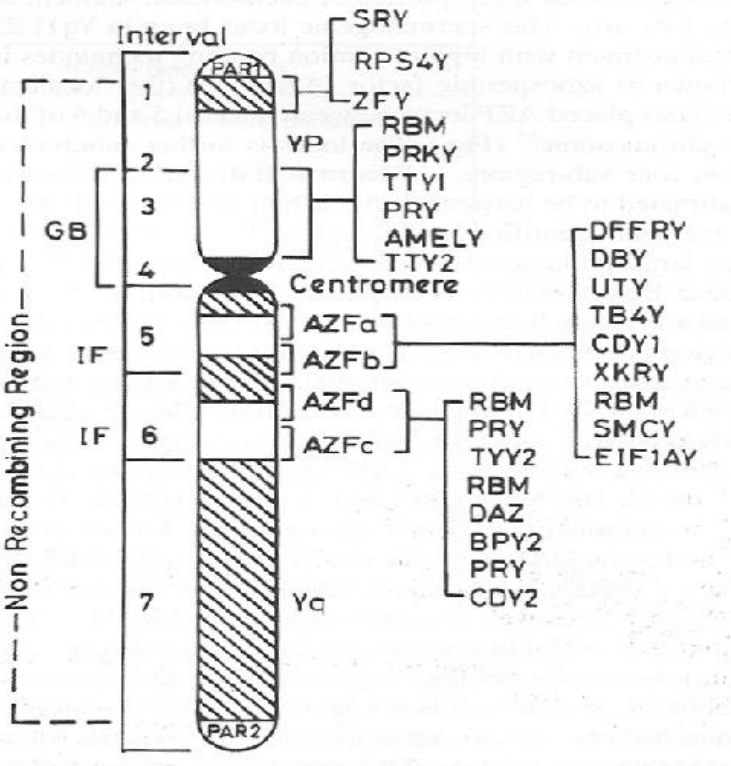
Nhiều gen liên kết X có liên quan đến sự hình thành giao tử [73],[74]. Gen thụ thể androgen (AR) nằm trên nhánh dài NST X, có vai trò quan trọng trong giảm phân và chuyển đổi tinh bào thành tinh tử trong quá trình sinh tinh [73],[75]. Một nghiên cứu đã xác định khoảng 2% nam giới vô sinh có đột biến gen AR, trong khi ở nhóm chứng không có. Đột biến gen AR có thể dẫn đến

hội chứng kháng androgen [76]. Biểu hiện khác của đột biến ở gen AR là hội chứng Kennedy có rối loạn thoái hóa thần kinh và có bất thường sinh tinh [77].

Các gen trên NST thường có liên quan đến vô sinh nam giới gồm: Xơ hóa u nang do đột biến gen CFRT trên nhánh dài NST số 7 (Kerem, 1989; Riordan, 1989) gây nên, bệnh thường gặp ở người da trắng. Nam giới bị bệnh này thường không có ống dẫn tinh hoặc tắc ống dẫn tinh gây VT. Sinh thiết tinh hoàn vẫn có tinh trùng. Theo Irvine (2002) thì đột biến gen CFRT chiếm khoảng 2% nam giới VT do tắc nghẽn [16].

*** Mất đoạn nhỏ trên NST Y:**

Năm 1976, Tiepolo và Zuffardi nghiên cứu 1.170 nam giới vô sinh bằng việc phân tích băng NST đã phát hiện 6 người VT có mất đoạn ở vị trí Yq11 và tác giả đã đưa ra khái niệm về đoạn AZF trên NST Y [79]]. Tuy nhiên, vào thời điểm đó tác giả chưa xác định được gen đột biến. Năm 1992, Vollrath và cs lần đầu tiên dùng kỹ thuật PCR xác định được 132 vị trí trình tự đích (STSs) trên NST Y [79].



Hình 1.1. Mô hình cấu trúc NST Y, vùng AZFabcd và các nhóm gen [80]

Với sự phát triển của các kỹ thuật di truyền phân tử, các tác giả đã chỉ rõ được mất những đoạn nhỏ trong vùng AZF liên quan đến VT hay TT mà trước đây cho là KRNN. Ba vùng AZF trên nhánh dài NST Y liên quan đến sinh tinh lần lượt là AZFa, AZFb và AZFc [80]. Vị trí của ba vùng AZF trên nhánh dài NST Y được minh họa ở hình 1.1.

Mất đoạn nhỏ xảy ra ở ba vùng AZFabc thường dẫn đến những rối loạn trong quá trình sinh tinh nhưng ở các mức độ khác nhau [79]].

- Vùng AZFa nằm ở khoảng 5, nhánh dài gần tâm NST Y, kích thước 1 đến 3 Mb. Hai gen liên quan đến quá trình sinh tinh nằm ở vùng AZFa có: USP9Y (trước đây gọi là DFFRY) và DDX3Y (trước đây gọi là DBY) [81]. Mất đoạn hoàn toàn AZFa dẫn đến VT. Do đó mất đoạn hoàn toàn AZFa đồng nghĩa không thể lấy được tinh trùng từ tinh hoàn để làm kỹ thuật ICSI [82]. Mất đoạn AZFa xuất hiện với tỷ lệ cao ở nam giới mắc hội chứng tế bào Sertoli đơn thuần [83].

- Vùng AZFb nằm ở giữa khoảng 5 và 6, kích thước 1 đến 3 Mb. Có 5 nhóm gen như CDY1, XKRY, SMCY, ElF-1AY và RBMY1 [84]. Vùng AZFb chứa nhiều gen mã hóa cho các protein tham gia vào quá trình tạo tinh như: EIF1AY, RPS4Y2, SMCY thuộc vùng tương đồng với NST X trên vùng nhiễm sắc thực và HSFY, XKRY, PRY, RBMY thuộc vùng ampliconic là vùng có mật độ gen rất cao và biểu hiện đặc hiệu ở tinh hoàn. Ferlin và cs đã tìm thấy mối liên quan giữa sự bất thường trong quá trình sinh tinh và mất đoạn một phần của vùng AZFb thuộc các gen SMCY, EIF1AY, HSFY. Theo Huynh và cs (2002) thì mất đoạn nhỏ trên vùng AZFb liên quan chủ yến đến gen ElF-1AY và RBM1Y [48]. Mất đoạn nhỏ ở vùng AZFb thường xảy ra hơn so với vùng AZFa nhưng cũng chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ ở những người VT [85],[86].

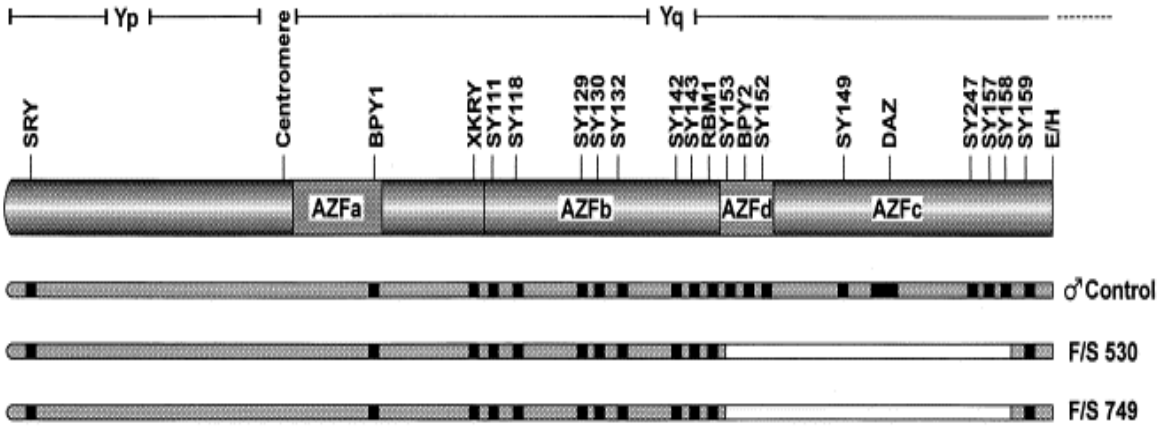
Vùng AZFc nằm ở gần vùng dị nhiễm sắc, kích thước khoảng 1,4 Mb. Các mất đoạn nhỏ trên vùng AZFc liên quan chủ yếu đến các nhóm gen DAZ, CDY1, PRY và TTY2 [82]. Vùng AZFc có chứa các họ gen: CDY, CSPG4LY, GOLGAZLY, TTY3.1, TTY4.1 và TTY7.1. Có 5 trong số các họ gen trên mã

hóa cho protein tham gia vào quá trình tạo tinh. 3 bản copy của gen BPY2, 2 bản sao của CDY1, 4 bản sao của DAZ, trong đó DAZ được tìm hiểu đầu tiên. Gen DAZ thuộc họ gen bao gồm gen BOULE và DAZL là những gen đơn bản trên NST thường, các gen này mã hóa cho loại RNA gắn protein được tìm thấy ở dòng tế bào sinh dục nguyên thủy. Mất đoạn ở những gen DAZ2, DAZ3, DAZ4 đều thấy ở cả những trường hợp vô sinh hay bình thường và có thể di truyền từ người cha cho con trai. Tuy nhiên, mất cặp DAZ1/DAZ2 chỉ phát hiện ở trường hợp vô sinh. DAZ1 đóng vai trò thiết yếu đối với quá trình tạo tinh.

Mất đoạn AZFc có thể tìm thấy ở những nam giới VT hoặc TT. Ở những nam giới VT do mất đoạn AZFc thì khoảng 70% vẫn có cơ hội để tìm thấy tinh trùng bằng kỹ thuật TESE và có thể sinh con bằng phương pháp ICSI. Những đứa trẻ là con trai cũng sẽ bị mất đoạn AZFc giống như người cha.

Mất đoạn hoàn toàn AZFb và AZFb+c dẫn đến SCOS hoặc ngăn chặn sinh tinh trùng dẫn đến VT. Một số báo cáo cho thấy, mất đoạn AZFb và AZFb+c không tìm thấy tinh trùng khi đã cố gắng lấy tinh trùng từ tinh hoàn. Vì vậy với những trường hợp mất đoạn hoàn toàn AZFa, mất đoạn hoàn toàn AZFb hoặc AZFb+c thì không nên khuyên bệnh nhân tìm tinh trùng để làm kỹ thuật ICSI. Mất đoạn nhỏ trên NST Y sẽ truyền từ cha sang con trai và làm tăng nguy cơ vô sinh cho thế hệ sau [87].

Mất đoạn AZFd: Gần đây, một vùng NST Y chứa các trình tự đích (STSs) từ sY145 đến sY221 gồm (sY145, sY153, sY220, sY150, sY232, sY262, sY221) mà trước đây cho là thuộc vùng AZFc (Vogt,1996) được xếp vào vùng mới gọi là vùng AZFd. Vùng này có tỷ lệ đột biến mất đoạn cao hơn so với các vùng khác ở những bệnh nhân vô sinh do VT hoặc TTN có bất thường về hình thái tinh trùng. Ngoài ra, mất đoạn vùng AZFd còn có thể tìm thấy ở những bệnh nhân thiểu tinh mức độ vừa. Vùng AZFd nằm giữa vùng AZFc và AZFb, là vùng nhỏ nhất trong 4 vùng AZF và cho đến nay vẫn ít được biết đến nhất [88].



Hình 1.2. Sơ đồ NST Y và những marker ở những vùng AZFabcd.

Mất đoạn Yq ở hai trường hợp bố/con (F/S) và mẫu đối chứng nam. Vùng màu đen biểu hiện các trình tự đích STS, vùng màu trắng biểu hiện mất đoạn gen [88].

*** Tình hình nghiên cứu mất đoạn nhỏ NST Y ở thế giới và Việt Nam:**

Tiepolo và Zuffardi (1976) lần đầu tiên báo cáo 6 trường hợp nam vô sinh do VT bị mất đoạn ở nhánh dài của NST Y [79]]. Tuy nhiên, mãi đến năm 1992 Vollrath và cs mới phát hiện mất đoạn AZF trên NST Y có liên quan đến giảm sinh tinh trùng gây vô sinh. Năm 1996, Vogt và cs đã phát hiện 3 vùng mất đoạn định vị ở vị trí Yq11 liên quan đến vô sinh nam giới được đặt tên là AZF gồm: AZFa, AZFb và AZFc [89]. Cho đến nay, mất đoạn nhỏ trên NST Y cũng được tìm hiểu ngày càng chi tiết và đã có nhiều tác giả trên thế giới nghiên cứu về vấn đề này.

Theo các tác giả, ở những nam giới VT, tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y cao hơn so với những người TTN và tỷ lệ này khác nhau ở từng nghiên cứu, có thể thay đổi từ 1-10%, thậm chí cao hơn. Những nghiên cứu gần đây cho thấy 10-15 % nam giới VT và khoảng 5-10% TTN có đột biến mất đoạn nhỏ NST Y [3]. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y của một số tác giả được tổng hợp ở bảng 1.4 dưới đây:

Bảng 1.4. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở một số nghiên cứu

Tác giả (năm)	Nơi nghiên cứu	Đối tượng nghiên cứu	Số lượng bệnh nhân	Tỷ lệ mất đoạn NSTY
Vogt (1996) [89]	Đức	Bệnh nhân VT và TTN	19	10,52%
Jon L. Pryor (1997) [90]	Anh	Vô sinh nam	200	7%
		Nam giới	200	2%
Fadlalla Elfateh (2014) [91]	Trung Quốc	Bệnh nhân VT và TTN	1.050	12,95%
Felin A. (1999) [92]	Ý	Bệnh nhân SCOS	180	34,5%
		Bệnh nhân TTN	180	24,7%
Martinez (2000) [93]	Tây Ban Nha	Vô sinh nam	128	7%
Isabele (2004) [94]	Pháp	Sàng lọc tại các phòng xét nghiệm	-	1% -22%
Asbagh Akbari (2003) [95]	Iran	Vô sinh nam	40	5%
Chellat (2013) [96]	Algeri	Bệnh nhân VT và TT	80	1,3%
Mostafa (2004) [97]	Ai Cập	Vô sinh nam	33	12%
Han Sun Chiang (2004) [65]	Đài Loan	Vô sinh nam	30	9%
Yong Hoo Lee (2000) [98]	Hàn Quốc	Bệnh nhân VT nguyên phát	9	11,1%
Fu L. (2015) [99]	Trung Quốc	Bệnh nhân VT và TTN	1.333	12,1%
Mir D. Omrami (2006) [100]	Azarbaijan	Bệnh nhân VT và TTN	99	24,2%
Arruda (2007) [101]	Brazin	Vô sinh nam	63	43,5% VT 45% TTN
Ferlin (2007) [82]	Ý	Vô sinh nam	3.073	3,2% VS
				8,3% VT
				5,5% TTN
Ramaswamy Suganthi (2013) [102]	Ấn Độ	Bệnh nhân VT, TTN	75	36%
Purnali N. Barbhuiya (2012) [103]	Ấn Độ	Mẫu tinh dịch	500	20,8%
		Mẫu máu	500	18,6%

Mất đoạn nhỏ trên NST Y ở 3 vùng AZFa, AZFb, AZFc cũng xuất hiện với tần suất khác nhau.

Bảng 1.5. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở các vùng AZF

Tác giả (năm)	Đối tượng, nơi NC	Tỷ lệ mất đoạn nhỏ ở các vùng AZFabc				
		c	b	b+c	a	a+b+c
Manuela S. (2008) [103]	54/3179 BN ở Đức	59,27%	7,4%	3,7%	3,7%	25,92%
Li Fu (2012) [105]	111/1333 BN ở Trung Quốc	45,05%	11,71%	22,52%	11,71%	4,5%
Mohammad (2013) [106]	25 BN ICSI ở Iran	42%	23%	-	35%	-
Hopps (2003) [107]	78 BN ở Mỹ	53,85%	14,1%	20,51%	3,85%	7,69%
Mir Omrami (2006) [108]	99 BN West Azerbaijan	87,5%	29,2%	-	-	-
Ferlin A. (2007) [82]	3.073 BN ở Ý	65,7%	8,1%	13,1%	11,2%	2,0%
Sandra (2012) [81]	1.260 BN Israel	-	-	-	0,28%	-
Dai (2012) [109]	519 BN ở Trung Quốc	66,67%	3,92%	27,45%	1,96%	-
Zhu X.B. (2014) [110]	1.052 BN ở Trung Quốc	62,92%	5,62%	15,73%	6,74%	8,99%
Min Jee Kim (2012) [111]	1.306 BN ở Hàn Quốc	54,4%	7,9%	23,8%	5%	8,9%

Mất đoạn nhỏ vùng AZFd cũng đã được nhiều tác giả nghiên cứu trong những năm gần đây ở một số nước khác nhau.

Bảng 1.6. Tỷ lệ mất đoạn AZFd theo một số nghiên cứu

Tác giả (năm)	Nơi nghiên cứu	Marker	Số mẫu	Tỷ lệ mất đoạn AZFd
Muallem A. K. (1999) [88]	Mỹ	BPY2, sY153, sY152	514	6,22%
Cram (2000) [87]	Úc	BPY2, sY153, sY152	86	6,9%
Lin (2002) [112]	Đài Loan	BPY2, sY153, sY152	202	10,9%
Yao (2001) [113]	Trung Quốc	sY153	50	8%
Chung Man-kin (2004) [114]	Hongkong	BPY2, sY153, sY152	273	4,4%
Hussein (2015) [115]	Malaysia	sY152, sY153	54	7,4%
Mostafa (2013) [116]	Iran	sY145, sY152, sY153	94	6,38%

Ở Việt Nam, còn rất ít nghiên cứu về mất đoạn nhỏ NST Y. Năm 2009, Nguyễn Đức Nhự phát hiện 2/40 bệnh nhân có mất đoạn AZFc bằng kỹ thuật PCR đơn mồi [117]. Năm 2010, tại Học viện Quân y, Trần Văn Khoa và cộng sự nghiên cứu "Phát hiện đứt đoạn nhiễm sắc thể Y ở bệnh nhân vô sinh nam bằng kỹ thuật Multiplex PCR". Tuy nhiên, nghiên cứu bước đầu mới chỉ tiến hành ở 16 bệnh nhân vô sinh nam và đã phát hiện được 1 bệnh nhân có mất đoạn AZFb,c [118]. Năm 2011, Đỗ Thị Minh Phương phát hiện 3/70 bệnh nhân có mất đoạn nhỏ NST Y bằng kỹ thuật PCR đa mồi [119]. Năm 2011, Phòng xét nghiệm Bộ môn Hóa Sinh - Sinh học phân tử, Trường Đại Học Y khoa Phạm Ngọc Thạch đã tham gia ngoại kiểm tra xét nghiệm với 3 mẫu ADN bệnh nhân nam do Mạng lưới kiểm tra chất lượng di truyền phân tử Châu Âu (EMQN) gửi để tìm đột biến mất đoạn vùng AZFabc trên NST Y [120]. Nguyễn Thị Thục Anh và cộng sự (2013) nghiên cứu mất đoạn AZFabc ở 162 bệnh nhân vô tinh và thiểu tinh được điều trị vô sinh nam tại Trung tâm Công nghệ phôi, Học Viện quân y. Kết quả phát hiện mất đoạn ở 9,3% bệnh nhân, gồm mất đoạn AZFc (6,9%), AZFab, AZFabc và AZFbc đều là 0,6%. Mất đoạn nhỏ NST Y gặp ở nhóm vô tinh nhiều hơn nhóm thiểu tinh (14,1% và 2,9%). Đa số bệnh nhân vô tinh mất đoạn nhỏ (76,9%) có hình thái vi thể ống sinh tinh là Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli [121].

Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu sử dụng ít cặp mồi và mới chỉ ở mức hoàn chỉnh kỹ thuật, thực hiện trên số ít bệnh nhân. Đặc biệt chưa tác giả nào nghiên cứu mất đoạn nhỏ NST Y ở cả 4 vùng AZFabcd.

*** Đột biến ADN ty thể và vô sinh nam:**

Ngoài hệ gen trong nhân, hệ gen ty thể có các gen cần thiết cho chuỗi hô hấp tế bào và có ảnh hưởng nhiều đến khả năng di động của tinh trùng. Chất lượng và số lượng tinh trùng chịu ảnh hưởng lớn bởi yếu tố môi trường và di truyền. Ty thể của tinh trùng đóng một vai trò quan trọng quyết định chất lượng tinh trùng bởi tinh trùng đòi hỏi lượng ATP cao [122]. Tinh trùng cần

một lượng lớn năng lượng để di chuyển nhanh sau khi phóng tinh. Do vậy, ADN ty thể của tinh trùng dễ bị tấn công bởi tác nhân oxy hóa hay các gốc tự do gây đột biến hệ gen ty thể gây hậu quả bệnh lý, dẫn đến vô sinh nam [123].

Khoảng 85% mẫu tinh trùng chứa một lượng lớn mtDNA mất đoạn với kích thước khác nhau và hầu hết tinh trùng có 2-7 mất đoạn mtDNA. Người ta thấy có mối liên hệ giữa sự tăng của tuổi và sự oxy hóa phá hủy ADN ty thể liên quan đến vô sinh nam. ADN ty thể mất đoạn ở vị trí 4977 bp là thường thấy nhất gọi là "mất đoạn phổ biến". Một số đột biến điểm mới mtDNA phát hiện thấy ở nhiều tinh trùng di động kém hoặc ở tinh trùng người nam vô sinh. Thangaraj và cs (2003) quan sát thấy đột biến 2bp mới (Nucleotide 8195 và 8196) ở gen COII [124]. Holyoake và cs năm 2001 tìm thấy hai vị trí thay thế phổ biến nhất là 9055 và 11719 với tần suất cao hơn có ý nghĩa thống kê gây giảm độ di động tinh trùng [125]. Đột biến mtDNA cũng được một số tác giả nghiên cứu và cho rằng có vai trò nhất định trong vô sinh nam. Purnali Barbhuiya (2012) đã phát hiện thấy đột biến ở các vị trí nucleotid G9064A, A8925G, T8614G trên gen ATPase6 ở nhóm bệnh nhân vô sinh nam và không phát hiện thấy ở nhóm chứng [103].

Những đột biến mtDNA đã phát hiện mới chỉ là "Phần nổi của tảng băng" của tất cả các đột biến có thể có trong tinh trùng. Do tinh trùng đòi hỏi một lượng đáng kể năng lượng để bơi đủ nhanh đến ống dẫn trứng trong quá trình thụ tinh. Số lượng đột biến ngày càng được phát hiện chứng minh rằng mtDNA bất thường trong tinh trùng có thể dẫn đến vô sinh. Mặc dù đột biến mtDNA đã được xác định trong nhiều nghiên cứu, vai trò của mtDNA như là một dấu hiệu chẩn đoán ở vô sinh nam vẫn còn đang được tranh luận. Tuy nhiên, nam giới vô sinh do đột biến mtDNA có thể được điều trị thành công bằng ICSI, nhưng đột biến mtDNA không truyền cho thế hệ con cái vì loại đột biến ty thể chỉ truyền theo dòng mẹ [126].

1.2.3. Các nguyên nhân không do di truyền gây vô sinh nam

1.2.3.1. Một số bất thường cơ quan sinh dục ở bệnh nhân vô sinh nam

*** Giãn tĩnh mạch tinh (GTMT):**

Hệ thống tĩnh mạch tinh gồm: tĩnh mạch tinh trong, tĩnh mạch tinh sau và tĩnh mạch tinh bìu. GTMT (Varicocele) phải có liên quan tới tinh dịch đồ bất thường mới được xem là nguyên nhân gây nên vô sinh. Nếu bệnh nhân có tinh dịch đồ bình thường thì GTMT không được xem là nguyên nhân gây hiếm muộn vì rõ ràng là khi điều trị cũng không giúp cải thiện khả năng sinh sản của bệnh nhân. GTMT lâm sàng là tình trạng giãn xoắn của tĩnh mạch tinh có thể phát hiện bằng thăm khám, quan sát bằng mắt thường qua da bìu, hay dùng nghiệm pháp Valsalva. GTMT dưới lâm sàng (subclinical) chỉ có thể phát hiện bằng biện pháp cận lâm sàng (Comhaire, 2006) [127].

GTMT thường được chia làm 3 độ khi khám lâm sàng:

- Độ I: GTMT nhẹ (nhỏ, sờ thấy khi làm nghiệm pháp Valsava). Nhiều khi sờ nắn chỉ thấy thừng tinh dày hơn bình thường khi bệnh nhân đứng và mất đi khi bệnh nhân nằm. Độ II: GTMT ở mức độ trung bình, dễ phát hiện thấy khi sờ nắn thừng tinh, kích thước thường từ 1 - 2 cm. Sờ nắn thấy thừng tinh dày, nhiều tĩnh mạch dãn, dày, mềm (có thể sờ thấy mà không cần làm nghiệm pháp Valsava). Độ III: GTMT rộng (tĩnh mạch tinh giãn to, có thể quan sát rõ tĩnh mạch nổi ngoằn ngoèo qua da bìu, dễ phát hiện thấy).

GTMT có nhiều hậu quả, trong đó đáng chú ý tới nhiệt độ cao tại tinh hoàn. Người ta cho rằng sở dĩ GTMT có thể gây vô sinh vì bệnh nhân bị GTMT có nhiệt độ tại bìu cao hơn 0,6^{o}C so với nhiệt độ cơ thể và nhiệt độ ở trong tinh hoàn cao hơn 0,78^{o}C so với nhiệt độ ở bìu. Ngược lại, ở người bình thường nhiệt độ trong tinh hoàn lại thấp hơn ở bìu 0,5^{o}C. GTMT được cho là một trong những nguyên nhân phổ biến nhất của vô sinh nam, mặc dù GTMT vẫn xuất hiện ở các trường hợp có con hoặc tinh dịch đồ bình thường [128].

Theo Irvine (2002), thì GTMT gặp từ 5 đến 25% ở nam giới khỏe mạnh, nhưng GTMT tác động tới 11% ở nam giới có tinh trùng bình thường và ảnh

hưởng tới 25% nam giới có tinh trùng bất thường [16]. GTMT bên trái chiếm 90%, trong khi ở bên phải chỉ 10% [23]. Hơn 80% trường hợp GTMT không bị vô sinh nhưng 35% - 40% nam giới vô sinh nguyên phát bị GTMT, 69% - 81% nam giới vô sinh thứ phát bị bệnh này. Nhiều tác giả cho rằng GTMT có liên quan đến chất lượng tinh trùng không bình thường và phương pháp điều trị thích hợp sẽ cải thiện được chất lượng tinh trùng ở những bệnh nhân này [16]. GTMT ngoài việc liên quan đến ức chế quá trình sinh tinh trùng còn gây tổn thương ADN của tinh trùng như hiện tượng đứt gẫy ADN (halosperm),...

*** Tinh hoàn không xuống bìu, tinh hoàn lạc chỗ:**

Tinh hoàn không xuống bìu (THKXB) (Cryptorchidism), hay còn gọi là tinh hoàn ẩn, là do tinh hoàn không xuống được bìu mà có thể nằm dọc theo đường đi bình thường của nó (ẩn), chiếm 3% trẻ sơ sinh nam. Khi trẻ 1 tuổi, tỷ lệ bệnh giảm xuống 1% vì trong năm đầu tinh hoàn vẫn còn khả năng tiếp tục đi xuống bìu. Khi trẻ trên 2 tuổi mà tinh hoàn chưa xuống bìu thì có dấu hiệu tổn thương biểu mô mầm. Tinh hoàn càng ở sâu trong ổ bụng thì rối loạn mô học càng trầm trọng [23]. Tinh hoàn xuống một cách tự nhiên hiếm xảy ra sau một năm. Nếu phẫu thuật mở tinh hoàn sau hai tuổi sẽ không cải thiện được khả năng sinh sản. Ngoài tác dụng ức chế sinh tinh trùng, nhiệt độ cao có thể gây tổn thương ADN của tinh trùng. Thonneau và cs. (1998) phân tích trên nhiều báo cáo đã thấy tăng nhiệt độ làm giảm sinh tinh trùng và tăng tỷ lệ tinh trùng dị dạng. Đồng thời nguy cơ ung thư hóa tinh hoàn gặp trong THKXB có tỷ lệ cao gấp 35 - 48 lần so với tinh hoàn bình thường [14].

Tinh hoàn lạc chỗ (Ectopie testiculaire): Là tinh hoàn không nằm trong bìu, nó di chuyển không theo con đường đi thông thường của tinh hoàn ở thời kỳ bào thai. Có thể gặp tinh hoàn nằm ở phía trước khớp mu, tầng sinh môn, cung đùi. Tinh hoàn lạc chỗ ít gặp hơn tinh hoàn ẩn.

*** Tật không tinh hoàn:**

Tật không tinh hoàn hai bên (Bilateral Anorchia): Nam giới không có tinh hoàn hai bên, tỷ lệ khoảng 1/20.000 [129]. Bệnh nhân có bộ NST 46,XY, vẫn có đủ các đặc tính sinh dục phụ ở tuổi trưởng thành, có tổ chức nhu mô

tinh hoàn chế tiết androgen. Người ta cho rằng tinh hoàn thoái triển sau thụ thai khoảng 140 ngày kết hợp với kiểu hình nam. Các bệnh nhân này thường có LH, FSH cao [23]. Cần phân biệt tật không có tinh hoàn hai bên với tinh hoàn ẩn hai bên. Tật không tinh hoàn hai bên có suy giảm androgen, vô sinh, loãng xương… [130].

*** Viêm tinh hoàn:**

Viêm tinh hoàn (Orchitis): Bị quai bị sau tuổi dậy thì gây viêm tinh hoàn hai bên khoảng 30%. Nhiễm khuẩn sinh dục có thể là nguyên nhân gây vô sinh nam. Mắc các bệnh truyền qua đường tình dục, nhất là viêm mào tinh hoàn hay viêm tinh hoàn có thể dẫn đến vô sinh nam.

Viêm mào tinh hoàn là tình trạng viêm của các ống xoắn (mào tinh hoàn) ở mặt sau của tinh hoàn mà ở đó có tinh trùng [24]. Viêm mào tinh hoàn có thể gây tắc đường ra của tinh trùng, gây thay đổi hoạt động bình thường của tinh hoàn và gây tăng nhiệt độ. Tinh hoàn chỉ sản xuất tinh trùng tốt ở nhiệt độ 33^oC, các viêm nhiễm gây tăng nhiệt độ tại chỗ có thể có ảnh hưởng khá nhậy tới chất lượng tinh dịch.

Tràn dịch màng tinh hoàn là triệu chứng của nhiều bệnh khác nhau: Viêm tinh hoàn, viêm mào tinh hoàn, lao màng tinh hoàn, lao tinh hoàn, ung thư tinh hoàn,… có thể gây tổn thương ít nhiều đến cấu trúc và chức năng của tinh hoàn, gián tiếp ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh và sinh hormone giới tính nam. Do đó, tràn dịch màng tinh hoàn cũng là một nguyên nhân dẫn đến vô sinh.

*** Chấn thương tinh hoàn:**

Chấn thương tinh hoàn làm đứt các ống sinh tinh, có thể gây teo tinh hoàn về sau, các phẫu thuật vùng bẹn có thể làm tổn thương mạch máu nuôi tinh hoàn hoặc thừng tinh [30]. Những trường hợp tinh hoàn vỡ nát, có tụ máu mà không được phẫu thuật thì nguy cơ bị nhiễm trùng, hoại tử tinh hoàn dẫn đến phải cắt bỏ cả hai túi tinh. Các chấn thương nhẹ, làm rách túi tinh nếu

không được điều trị trong vòng 72 giờ, tỉ lệ tinh hoàn bị cắt bỏ từ 7,4 - 55,5%. Tất cả các trường hợp này đều để lại hậu quả vô sinh.

Các trường hợp chấn thương, vỡ tinh hoàn (kể cả vỡ 2 bên) nếu được phẫu thuật kịp thời, đúng cách thường tiến triển tốt, không cần phải cắt bỏ tinh hoàn, không có nguy cơ dẫn đến ung thư tinh hoàn và vô sinh. Sau chấn thương, nếu có 1 tinh hoàn bị cắt, số lượng tinh trùng sẽ bị giảm sút đáng kể.

Đồng thời chấn thương tinh hoàn có thể làm đứt ống sinh tinh, tinh trùng không ra ngoài được sẽ khởi động cơ chế sinh kháng thể kháng tinh trùng. Ngay cả khi chấn thương không đứt ống sinh tinh nhưng gây tụ máu, gây tắc ở các ống sinh tinh thì tinh trùng cũng bị ứ đọng cũng sẽ sinh kháng thể kháng tinh trùng. Trường hợp thắt ống dẫn tinh cơ chế sinh kháng thể kháng tinh trùng cũng tương tự.

*** Ung thư tinh hoàn:**

Hiện nay, người ta vẫn chưa biết rõ nguyên nhân chính xác gây ung thư tinh hoàn, tuy nhiên có một số yếu tố làm tăng nguy cơ bệnh là: Gia đình có tiền sử bị ung thư tinh hoàn; Chấn thương tinh hoàn; Viêm tinh hoàn do bị quai bị trong tuổi dậy thì; Tinh hoàn ẩn trong ổ bụng; Tinh hoàn nhỏ hay không có hình dạng bình thường; Có rối loạn NST giới tính; Người ít chơi thể thao, lười vận động. Ung thư tinh hoàn là nguyên nhân ảnh hưởng tới khả năng sinh sản và ảnh hưởng tới chất lượng phát triển đặc điểm giới tính nam.

*** Các bất thường khác:**

- Lỗ đái thấp (Hypospadias): dị tật này có thể kèm theo dị tật tinh hoàn không xuống bìu, thận lạc chỗ, niệu quản đôi, niệu quản phình to... Vị trí của lỗ đái thấp được phân loại như: Lỗ đái đổ trước; Lỗ đái đổ giữa; Lỗ đái đổ sau. Nguyên nhân của lỗ đái lệch thấp có thể là do rối loạn vật chất di truyền, các tế bào Leydig kém phát triển, bất thường của thụ thể androgen…

- Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli: Nguyên nhân chưa được rõ, bệnh nhân thường có tinh hoàn 2 bên teo nhỏ, mật độ mềm và không có tinh trùng. Các đặc tính sinh dục nam bình thường. Các ống sinh tinh được nối với nhau bởi

các tế bào Sertoli, hoàn toàn không thấy tế bào dòng tinh nhưng mô kẽ lại bình thường. Nồng độ FSH không tăng cao bởi vì không có mô mầm; LH, testosteron bình thường hoặc tăng nhẹ [23].

- Vô sinh do rối loạn trương lực cơ: Bệnh cản trở giãn cơ sau khi co thắt. Ngoài ra bệnh nhân còn hói sớm, đục nhân dưới màng bọc. Khoảng 80% có teo tinh hoàn, thương tổn tinh hoàn thường xuất hiện khi đã trưởng thành, hình dạng tế bào Leydig không điển hình, các ống sinh tinh xơ hóa nặng. Những trường hợp FSH trong máu cao thường kết hợp teo ống sinh tinh.

- Do bất thường hormone sinh dục: Là tình trạng mất cân bằng các hormone hướng sinh dục như LH, FSH, hormone sinh dục như testosteron… hoặc thụ cảm của androgen tại tinh hoàn gây rối loạn hoạt động tình dục và sinh tinh. Thiểu năng nội tiết hướng sinh dục gây giảm nồng độ LH và FSH trong máu, hậu quả làm giảm quá trình sinh tinh một phần hoặc hoàn toàn.

- Vô sinh do tắc nghẽn đường sinh dục: VT khi tinh hoàn và FSH bình thường là dấu hiệu tắc nghẽn đường sinh dục. Bệnh có thể do dị dạng hoặc không có đoạn ống dẫn tinh bẩm sinh hoặc mắc phải do hậu quả của nhiễm khuẩn, chít hẹp hay thắt ống dẫn tinh. Loại nhiễm khuẩn gây tắc nghẽn đường dẫn tinh hay gặp là lao, lậu…[16]. Tắc ống dẫn tinh có thể gặp ở bất kỳ vị trí nào của đường sinh dục, từ trong tinh hoàn qua mào tinh hoàn đến ống phóng tinh.

- Nguyên nhân miễn dịch: Vô sinh do nguyên nhân miễn dịch được phát hiện tới 3% các trường hợp [16]. Ở một số người, hệ miễn dịch của họ tấn công tinh trùng làm suy giảm khả năng sinh sản. Vô sinh do miễn dịch ở nam giới có thể phát sinh từ nhiều nguyên nhân, trong đó có phẫu thuật thắt ống dẫn tinh.

1.2.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch gây vô sinh nam

*** Tác động của nghề nghiệp và môi trường**:

Theo các tác giả, có nhiều tác nhân của môi trường, nghề nghiệp có thể ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch gây vô sinh nam và các tác động được đề cập nhiều là [11],[131]:

- Nhiệt độ: Tinh trùng được sinh ra ở nơi có nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ cơ thể. Cơ Dartos của bìu co giãn tùy thuộc vào nhiệt độ môi trường nhằm đảm bảo nhiệt độ tối thuận cho sự sản sinh tinh trùng. Nhiệt độ cao ở nơi ở, nơi làm việc, tắm nước nóng, xông hơi nhiều có thể ảnh hưởng tới chức năng sinh sản ở nam giới. Thí nghiệm với động vật sống ở nhiệt độ 38,5^{o}C trong 55 phút mỗi ngày có thể dẫn tới giảm khả năng sinh sản. Nhiệt độ cao dẫn tới việc ức chế sản xuất tinh trùng. Các nghiên cứu đã cho thấy nghề nghiệp hoặc môi trường có tiếp xúc với nhiệt độ cao ảnh hưởng tới sự sinh tinh [16].

- Tiếng ồn: tiếng ồn cường độ cao cũng ảnh hưởng xấu tới chất lượng tinh dịch.

- Các tia: Tinh nguyên bào rất nhạy cảm với tia xạ. Đặc biệt sóng ngắn (microwaves) có thể gây một số thay đổi ở tinh trùng. Thực tế chứng minh nếu trị xạ với liều 50 rad hoặc lớn hơn sẽ gây hậu quả VT hoặc TT [16].

- Các kim loại: các kim loại được đề cập có tác động tới chất lượng tinh dịch là chì, asen, cadmium (hoá chất được dùng trong công nghiệp) là các tác nhân có tác động làm giảm chất lượng tinh dịch [16],[131].

- Hoá chất: các hoá chất được lưu ý có tác động rõ tới tinh dịch gồm: dibromochloropropan có thể gây tổn thương NST, gây VT. Hoá chất trừ sâu, đặc biệt loại chlo hữu cơ có tác hại lâu dài, gây đột biến. Vinyl chloride, carbon disulphide gây đột biến, gây sảy thai và gây các bất thường sinh sản ở vợ của những công nhân bị phơi nhiễm.

*** Tuổi, tình trạng sức khỏe và lối sống:**

- Tuổi: Tuổi của người nam giới đã được chứng minh là có ảnh hưởng đến khả năng sinh sản và sức khỏe của thế hệ con [132]. Một nghiên cứu ở Anh đã chỉ ra rằng tuổi của người cha trên 35 thì cơ hội để thụ thai sẽ còn một nửa so với người dưới 25 tuổi [133]. Tuổi càng cao thì số lượng tinh trùng càng giảm, nên những người lớn tuổi thường TT hơn là VT. Tác động của tuổi trên

khả năng sinh sản nam rõ hơn sau tuổi 50, sự gia tăng tuổi đồng thời ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con [131],[133],[134]. Vì lý do này, ở một số nước, tuổi của người hiến tặng tinh trùng được giới hạn dưới 40 hoặc 45 tuổi [133].

- Béo phì: Béo phì đã được chứng minh có liên quan đến suy giảm chất lượng tinh dịch. Béo phì gây mất cân bằng hormone sinh dục, giảm hormone sinh dục gắn globulin và nồng độ estrogen cao. Chất độc môi trường thay đổi chuyển hóa, lối sống ít vận động làm tăng nguy cơ rối loạn chức năng tình dục cũng góp phần vào giảm khả năng sinh sản ở người đàn ông béo phì [135],[136]. Theo Hammoud và cs, khoảng 10-30% nam giới trưởng thành ở các nước Tây Âu mắc tình trạng béo phì và làm tăng nguy cơ vô sinh nam [135]. Nghiên cứu của Jensen trên 1.558 nam giới ở Đan Mạch cho thấy chỉ số MBI lớn hơn 25 có liên quan đến giảm trung bình 25% số lượng tinh trùng và tinh trùng di động [137]. Theo Richard (2010) lối sống ở người Châu Âu (béo phì, ít vận động) sẽ ảnh hưởng tiềm ẩn tới quá trình sinh tinh trùng [138].

- Bệnh toàn thân và thuốc điều trị: Sinh tinh có thể bị tác động trực tiếp hoặc gián tiếp do bệnh toàn thân như bệnh tiểu đường, hoặc do dùng thuốc trong quá trình điều trị (suy gan, suy thận, bệnh tuyến giáp, hội chứng Cushing, bệnh máu…). Sử dụng một số thuốc thông thường, nhất là sulfasalazin có thể làm giảm sinh tinh trùng [16]. Paul và cs (2011) lưu ý các thuốc có thể liên quan đến vô sinh nam gồm: thuốc chống trầm cảm, chống động kinh, thuốc chẹn kênh canci, thuốc chẹn Alapha adenergic và thuốc kháng virus [139].

Suy thận mạn dẫn đến rối loạn chức năng tinh hoàn. Suy gan mạn tính gây rối loạn nội tiết gây giảm sinh tinh, teo tinh hoàn, nữ hóa, giảm chức năng sinh hoạt tình dục. Theo Handelsman, các bệnh lý về đường tiêu hóa, huyết học, nội tiết đều có tác dụng giảm quá trình sinh tinh [140]. Sự sinh tinh bị giảm trong bệnh tiểu đường [16]. Vô sinh còn liên quan với bệnh xơ gan, chứng vú to ở đàn ông và tinh hoàn có thể teo ở những người mắc bệnh này.

- Yếu tố tinh thần: Làm việc trong môi trường gây stress kéo dài cũng có khả năng làm giảm sinh tinh [29]. Trần Đức Phấn (2010) cho rằng yếu tố tinh thần cũng có ảnh hưởng tới chất lượng của quá trình xuất tinh [10].

- Lối sống: Những người sử dụng nhiều chất kích thích mạnh như thuốc lá, rượu, ma túy gây giảm hormone sinh dục và giảm chất lượng tinh trùng. Duy và cs (2001) nghiên cứu tại bệnh viện Phụ sản Từ Dũ thấy chất lượng tinh trùng giảm ở những người hút thuốc lá và uống rượu [141].

Nghiên cứu của Mónica Ferreira ở Bồ Đào Nha (2012) cho thấy sử dụng rượu, thuốc lá, cafein có liên quan đến giảm mật độ và tổng số tinh trùng, giảm tỷ lệ tinh trùng di động nhanh và tăng bất thường hình thái tinh trùng [142].

1.3. Tinh dịch, tinh trùng và các xét nghiệm chẩn đoán vô sinh nam

1.3.1. Tinh dịch, tinh trùng

Tinh dịch là một hỗn dịch gồm tinh trùng và dịch tiết của các tuyến thuộc đường dẫn tinh, trong đó thể tích tinh trùng chiếm khoảng 1-5%, dịch túi tinh chiếm 50-70%, dịch tuyến tiền liệt khoảng 15-30%, dịch mào tinh chiếm từ 5-10%, dịch của tuyến hành niệu đạo và tuyến niệu đạo 3-5%. Một mẫu tinh dịch lỏng bình thường có màu đồng nhất là màu trắng đục hoặc trắng sữa.

Tinh trùng được sinh ra trong ống sinh tinh và được biệt hóa hoàn toàn trong đường dẫn tinh. Tinh trùng trưởng thành được sống và hoạt động bình thường ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố. Ngoài các yếu tố dinh dưỡng còn có các thành phần và các chất sinh hóa khác nhau. Tinh trùng thích hợp và hoạt động mạnh trong môi trường trung tính hoặc hơi kiềm (7,2 - 8). Môi trường acid nhẹ, hoạt động tinh trùng giảm. Môi trường acid mạnh, hoạt động tinh trùng bị tiêu diệt.

Số lượng tinh trùng phản ánh tình trạng sinh tinh của tinh hoàn và hệ thống ống dẫn tinh thông. Khối lượng dịch tiết từ các tuyến thuộc đường dẫn tinh phản ánh tình trạng hoạt động của các tuyến tiết dịch [143]. Tổng số lượng

tinh trùng trong một lần phóng tinh và mật độ tinh trùng có liên quan đến cả thời gian thụ thai và tỷ lệ thụ thai tiên lượng khả năng thụ thai. Mật độ tinh trùng là nói đến số lượng tinh trùng trong một đơn vị thể tích tinh dịch. Tổng số lượng tinh trùng là nói đến số lượng tinh trùng trong cả lần xuất tinh đạt được, tính bằng cách nhân mật độ tinh trùng với số thể tích tinh dịch.

1.3.2. Các xét nghiệm chẩn đoán đối với nam giới vô sinh

1.3.2.1. Xét nghiệm đánh giá tinh dịch

*** Một số tiêu chuẩn tinh dịch đồ:**

Xét nghiệm tinh dịch đồ là xét nghiệm cơ bản, cần thiết để chẩn đoán và điều trị vô sinh nam.

Bảng 1.7. Một số tiêu chuẩn tinh dịch đồ theo các tác giả [144],[145].

Tác giả / Tiêu chuẩn	Guerker (1956)	Lumbroso (1971)	Trần N. Can (1972)	Nguyễn T. Khánh (1990)
Thể tích tinh dịch (ml)	-	2 - 5	$\geq$ 2	2 - 6
Mật độ tinh trùng (10^6/ml)	60-100	40 - 50	$\geq$ 50	$\geq$ 40
Tỷ lệ tinh trùng di động (%)	70 - 80	60 - 70	> 50	-
Tỷ lệ tinh trùng di động nhanh (%)	-	-	> 40	$\geq$ 40
Tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường (%)	> 80	> 70	> 80	$\geq$ 60

Theo Nares Sukcharogen (1995) cách phổ biến nhất để đánh giá chức năng sinh sản nam giới nói chung và chức năng tinh trùng nói riêng là xét nghiệm tinh dịch đồ chuẩn [146]. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, các thông số được đánh giá là tính chất vật lý của tinh dịch, số lượng, mật độ, di động và hình thái tinh trùng.

Năm 1980, lần đầu tiên WHO đưa ra tiêu chuẩn tinh dịch đồ để tiêu chuẩn hóa quy trình xét nghiệm tinh dịch hướng dẫn cho các phòng xét nghiệm tinh dịch trên toàn thế giới. Hơn 30 năm qua, WHO liên tục chỉnh lại các tiêu chuẩn đánh giá để có thể chẩn đoán được tình trạng (mức độ) thực của vô sinh [7],[147],[143].

Bảng 1.8. Tiêu chuẩn bình thường của một mẫu tinh dịch theo WHO:

Chỉ số phân tích	Giá trị bình thường					
	1980	**1992**	**1995**	**1999**	**2000**	**2010**
Thể tích tinh dịch (ml)		≥ 2	≥ 2	≥ 2	≥ 2	≥ 1,5
pH		7,2 - 8	7,2 - 8	7,2 - 8	7,2 - 8	≥ 7,2
Thời gian hoá lỏng (phút)		< 30	< 30	< 30	< 30	< 30
Độ nhớt (cm)				< 2	< 2	< 2
Mật độ tinh trùng (x 10^6/ml)	20-200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 15
Tổng số tinh trùng (10^6)		≥ 40	≥ 40	≥ 40	≥ 40	≥ 39
Tỷ lệ tinh trùng sống		≥ 75	≥ 75	≥ 75	≥ 75	≥ 58
Tỷ lệ tinh trùng di động nhanh + tiến tới (%)	≥ 2^3	≥ 25	≥ 25	≥ 25 (loại a)	≥ 25 (loại a)	≥ 32 (loại a+b)
Tinh trùng di động nhanh + chậm (%)	≥ 60		≥ 50	≥ 50	≥ 50	≥ 40
Tinh trùng có hình thái bình thường (%)	80,5	≥ 50	≥30	≥30	≥ 15	≥ 4
Tỷ lệ bạch cầu (x 10^6/ml)	< 4,7	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Qua các tiêu chuẩn đánh giá tinh dịch đồ của WHO những năm gần đây cho thấy việc đánh giá chất lượng tinh dịch ngày càng chi tiết hơn so với những lần trước đó. Một số chỉ phân tích về tinh dịch nhất là các chỉ số về hình thái và độ di động liên tục được điều chỉnh lại. Qua phân tích sơ bộ ban đầu các tiêu chuẩn về tinh dịch đồ có thể kết luận rằng xu hướng ngày càng suy giảm khả năng sinh sản ở nam giới [143].

*** Độ di động của tinh trùng:**

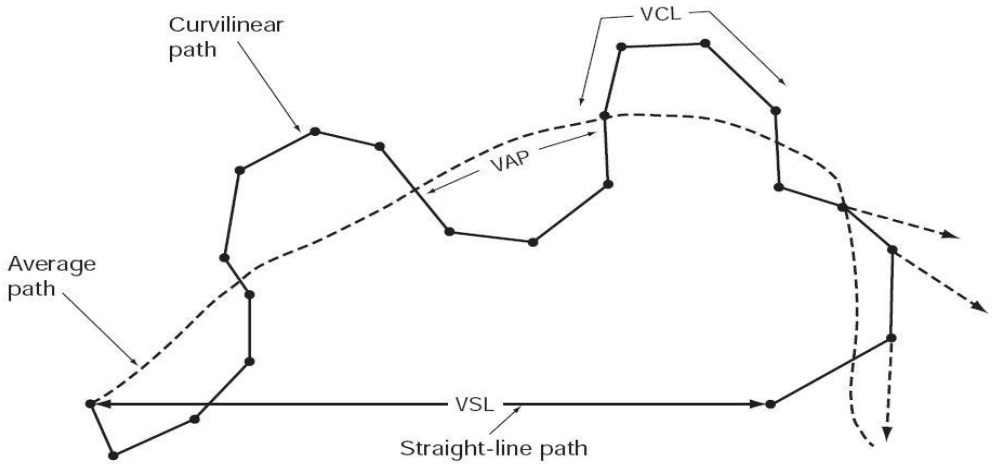
Độ di động của tinh trùng có liên quan tới tỷ lệ thụ thai [148],[149]. Hiện nay với sự hỗ trợ của máy CASA (Computer-Aided Sperm Analysis) ta có thể phân tích chi tiết nhiều chỉ số, đặc điểm của tinh dịch, đặc biệt máy có ưu thế trong việc đo tốc độ di chuyển của tinh trùng.

Độ di động của tinh trùng được đánh giá ở 4 mức độ: di chuyển tiến tới nhanh (a) là di chuyển ≥ 25 µm/s, di chuyển tiến tới chậm (b) là di chuyển với tốc độ 5 - 25 µm/s, di động không tiến tới (c) (< 5 µm/s), và không di động (d).

Theo hướng dẫn của WHO (1992), cách đánh giá khả năng di động của tinh trùng như sau: tinh trùng được coi là di động nhanh khi trong 1 giây nó di chuyển với khoảng cách bằng hoặc lớn hơn 1/2 chiều dài đuôi (a), tinh trùng di động chậm khi trong 1 giây có khoảng cách di chuyển lớn hơn chiều dài đầu tinh trùng nhưng nhỏ hơn 1/2 chiều dài đuôi (b), tinh trùng động đậy tại chỗ là tinh trùng không di chuyển, chỉ động đậy tại chỗ hoặc có di chuyển nhưng nhỏ hơn chiều dài đầu 1 tinh trùng trong 1 giây (c), loại thứ 4 là tinh trùng không di động (d).

Một mẫu tinh dịch được coi là bình thường khi có độ di động của tinh trùng loại a ≥ 25% hoặc loại a + b ≥ 50% (WHO, 1999). Người ta chỉ quan tâm đến loại a và b vì cũng chỉ có 2 loại này mới có khả năng đến với trứng [6],[147].

*** Các loại tốc độ di chuyển của tinh trùng** [6],[143]



Hình 1.3. Tốc độ di chuyển của tinh trùng [6],[143]

- Tốc độ đường cong (VCL - Curvilinear velocity) (µm/s): Tốc độ trung bình được tính từ tổng các đường thẳng nối liên tục vị trí của đầu tinh trùng trong quá trình chuyển động.

- Tốc độ con đường trung vị (VAP - Average path velocity) (μm/s): tốc độ trung bình của đầu tinh trùng dọc theo con đường trung vị của nó.

- Tốc độ tuyến tính (VSL - Straight line velocity) (μm/s): còn gọi là tốc độ thẳng, là tốc độ trung bình được tính theo đường thẳng là khoảng cách giữa điểm bắt đầu và điểm kết thúc của quá trình chuyển động của tinh trùng.

Kết quả nghiên cứu của một số tác giả cho thấy tốc độ đường cong, tốc độ con đường trung vị và tốc độ tuyến tính của nhóm sinh sản bình thường cao hơn rõ rệt so với nhóm thiểu năng sinh sản.

*** Các dạng di chuyển của tinh trùng:**

Phân tích tinh dịch trên máy CASA cũng cho phép nhận dạng các dạng di chuyển của tinh trùng. Tinh trùng có bốn dạng di chuyển là di chuyển dạng zigzag, dạng hình sin, dạng thẳng và dạng amip. Trong 4 dạng di chuyển của tinh trùng thì dạng di chuyển zigzag là khả năng tìm trứng tốt nhất.

- Dạng zigzag: là dạng di chuyển chủ yếu, ở dạng này đầu tinh trùng di chuyển với biên độ lớn, khi di chuyển góc tạo bởi đầu và đuôi nhỏ, thường $\leq 90^o$.

- Dạng hình sin: ở dạng này đầu tinh trùng di chuyển với biên độ nhỏ hơn, góc tạo bởi đầu và đuôi tinh trùng khi di chuyển lớn hơn, thường là $90^o \leq \alpha \leq 180^o$.

- Dạng thẳng: ở dạng này tinh trùng di chuyển theo đường thẳng, đầu và đuôi tinh trùng tạo thành góc 180^o, số lượng tinh trùng di chuyển theo dạng này thường ít.

- Dạng amip: ở dạng này tinh trùng di chuyển rất chậm.

Trong các dạng di chuyển này, di chuyển theo dạng zigzag có khả năng đến với trứng là dễ nhất vì tinh trùng dễ chuyển hướng hơn. Dạng di chuyển thẳng khả năng chuyển hướng để đến với trứng thường khó hơn.

*** Tính chất di chuyển của tinh trùng** [6].

Dựa vào các chỉ số vận tốc thu được, tiến hành tính toán theo các công thức người ta có thể xác định được tính chất di chuyển của tinh trùng. Tính chất di

chuyển của tinh trùng đặc trưng cho khả năng tìm trứng của tinh trùng, vì vậy tính chất di chuyển của tinh trùng được coi là chỉ số quan trọng để dự đoán khả năng sinh sản của người nam giới.

- Tính tuyến tính (Linearity): Tính tuyến tính của đường cong

LIN = VSL/VCL x 100

- Tính tiến thẳng (Straightess): Tính tuyến tính của đường trung vị

STR = VSL/VAP x 100

- Tính dao động (Wobble): đo độ dao động của tinh trùng so với đường trung vị.

WOB = VAP/VCL x 100

1.3.2.2. Các xét nghiệm khác

- Xét nghiệm sinh hóa tinh dịch: Fructose ở túi tinh, phosphatase acid và kẽm ở tuyến tiền liệt, mào tinh có cartinin. Dựa vào các đặc điểm này có thể chẩn đoán tắc hoặc nghẽn ở đoạn nào. Nếu tắc nghẽn ống dẫn tinh, xét nghiệm tinh dịch có thể không thấy fructose. Fructose giảm còn gặp trong một số viêm nhiễm đường sinh dục.

- Xét nghiệm kháng thể kháng tinh trùng: Kháng thể kháng tinh trùng có thể tác động đến sinh sản bằng cách bất động tinh trùng hoặc kết dính tinh trùng. Khi nồng độ kháng thể kháng tinh trùng trong huyết tương của nam giới có hiệu giá cao thì hiện tượng vô sinh càng rõ ràng. Tỷ lệ vô sinh nam giới có kháng thể kháng tinh trùng 1 - 6%. Nhiều tác giả cho rằng, trong các xét nghiệm tìm nguyên nhân gây vô sinh nam thì xét nghiệm kháng thể kháng tinh trùng cần được tiến hành như một xét nghiệm thường quy để đánh giá mối tương quan nguyên nhân miễn dịch sinh sản nam [150].

- Xét nghiệm nội tiết tố máu: LH, FSH, prolactin, estradiol, testosteron là những xét nghiệm rất cần thiết để xác định chẩn đoán nguyên nhân. Theo Islam, định lượng hormone sinh dục FSH, LH, testosterone giúp phân biệt vô sinh trước, tại hay sau tinh hoàn và giúp tiên lượng khả năng phục hồi sinh tinh

của tinh hoàn. Khi FSH tăng cao chứng tỏ có bất thường về sinh tinh. Tuy nhiên, một số trường hợp bất thường sinh tinh nhưng nồng độ FSH vẫn bình thường, 96% trường hợp vô sinh do tắc nghẽn có FSH/máu ≤ 7,6 mIU/ml, và 89% trường hợp VT không do tắc nghẽn có FSH/máu > 7,6 mIU/ml.

- Xét nghiệm tìm tinh trùng trong nước tiểu để xác định hiện tượng xuất tinh ngược với các trường hợp thiểu tinh và VT, lượng tinh dịch thấp.

- Xét nghiệm NST: Nuôi cấy tế bào bạch cầu lympho máu ngoại vi để phát hiện xem có bất thường về số lượng hay cấu trúc NST có khả năng gây VT hoặc thiểu tinh.

- Xét nghiệm ADN: Kỹ thuật chẩn đoán phát hiện mất đoạn NST Y nhằm phát hiện những mất đoạn AZFabcd trên nhánh dài NST Y, từ đó tư vấn di truyền cho phù hợp.

- Xét nghiệm đứt gãy ADN (halosperm) với những trường hợp có bất thường hình thái cao, độ di động kém, sẩy thai, thai lưu nhiều và vô sinh KRNN.

- Xét nghiệm đo gốc tự do trong tinh dịch với những trường hợp tinh trùng di động kém và bất thường hình thái tinh trùng nhiều.

- Xét nghiệm mô học: Theo các tác giả, mô học tinh hoàn kết hợp hoặc không phẫu thuật bộc lộ ống dẫn tinh là tiêu chuẩn vàng để xác định khiếm khuyết sinh tinh do tắc là nguyên nhân VT.

Sinh thiết tinh hoàn. Hiện tại, sinh thiết tinh hoàn vẫn là cơ sở giúp phân biệt giữa hai nhóm VT do tắc nghẽn và VT không do tắc nghẽn. Với kỹ thuật ICSI, sinh thiết tinh hoàn hiện nay còn được dùng để lấy tinh trùng cho thụ tinh trong ống nghiệm. Kết quả mô học của sinh thiết tinh hoàn có tính dự đoán khả năng lấy được tinh trùng. Khả năng lấy được tinh trùng lần lượt là 70%, 47% và 24% trong giảm sinh tinh (hypospermatogenesis), ngừng sinh tinh nửa chừng (maturation arrest) và hội chứng chỉ có tế bào Sertoli.

1.3.3. Các chỉ định cận lâm sàng khác

- Siêu âm hệ sinh dục tiết niệu (Siêu âm bìu): Chỉ định chính của siêu âm bìu là chẩn đoán giãn tĩnh mạch tinh, u tinh hoàn, nang mào tinh và tràn dịch tinh mạc. Ngoài ra, siêu âm bìu còn giúp đo thể tích tinh hoàn, nhưng khó khảo sát được mào tinh.

- Chụp ống dẫn tinh: Tìm chỗ tắc trên đường dẫn tinh bằng bơm thuốc cản quang vào ống dẫn tinh và chụp X quang. Nếu ống dẫn tinh lưu thông không tốt thì thấy thuốc cản quang dừng lại trên đường đi chứng tỏ có bít tắc.

Chương 2
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Những nam giới được chẩn đoán vô sinh đã được xét nghiệm tinh dịch đồ, xác định là VT hoặc TTN tại Bộ môn Y sinh học - Di truyền, Đại học Y Hà Nội trong thời gian từ 1/2012 đến 6/2014.

2.1.1. Số bệnh nhân và cỡ mẫu

- Nhóm nghiên cứu: các nam giới trong độ tuổi sinh sản: tuổi 18 trở lên, có mật độ tinh trùng ≤ 5 triệu tinh trùng/ml tinh dịch.
- Nhóm chứng: nam giới đã có 2 con khỏe mạnh (tinh dịch đồ bình thường và được mặc định là NST bình thường).

Cỡ mẫu nghiên cứu:

*** Cỡ mẫu xét nghiệm NST, lập karyotyp và phân tích ADN xác định theo công thức:**

$$n = Z^2_{1-\alpha/2} \cdot \frac{p.(1-p)}{(\varepsilon.p)^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu cần thu thập.

$Z_{1-\alpha/2}$ là độ tin cậy 95% với α=0,05 thì $Z_{1-\alpha/2}$ = 1,96

p: Tỉ lệ bất thường NST và mất đoạn AZFabcd ở bệnh nhân vô sinh dựa trên các nghiên cứu trước (lấy p = 0,12).

ε là khoảng cách sai lệch mong muốn được tính = 30% của p = 0,3.

Thay các giá trị vào được $n = 1,96^2 . \frac{0,12.(1-0,12)}{(0,3.0,12)^2} = \mathbf{313}$

Trên thực tế chúng tôi nghiên cứu:

* **553** nam giới vừa được khai thác các chỉ số nghiên cứu về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử và xét nghiệm tinh dịch đồ (gồm 101 nam giới ở nhóm chứng

và 452 nam giới vô sinh). Trong số 553 người này, chúng tôi thăm khám lâm sàng được 484 người để ghi nhận các chỉ số về mật độ, thể tích tinh hoàn và bất thường bộ phận sinh dục ngoài (gồm 91 nam giới ở nhóm chứng và 393 nam giới vô sinh).

*** 469** nam giới vừa được xét nghiệm tinh dịch đồ, xét nghiệm NST lập karyotyp và phân tích ADN. Trong đó có 354 người VT và 115 người TTN. Trong số 469 nam giới này có 95 người VT và TTN nằm trong số 393 người được khám lâm sàng.

2.1.2. Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu

Đối tượng được chọn đưa vào nghiên cứu là những người vô sinh nam đã được xác định là:

- VT hoặc TTN (≤ 5 triệu tinh trùng/ml tinh dịch) không thuộc nhóm tắc nghẽn.
- Những người không có bệnh cấp tính (viêm nhiễm).
- Hợp tác trong nghiên cứu.

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ

Ở nhóm nghiên cứu: Những người có một trong các tiêu chuẩn sau sẽ bị loại trừ khỏi nghiên cứu:

- Tinh trùng < 5 triệu/ml.
- Vô sinh thuộc nhóm tắc nghẽn: Dựa vào kết quả xét nghiệm fructose để xác định có tắc nghẽn hay không.
- Người đang có bệnh cấp tính, bị tâm thần…
- Người không hợp tác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.2.1. Lập hồ sơ bệnh án

- Phần hành chính: Nam giới vô sinh được lập hồ sơ bệnh án theo mẫu để khai thác các thông tin về tuổi, địa chỉ...

- Phần khai thác tiền sử: Nam giới vô sinh được phỏng vấn trực tiếp và trả lời đầy đủ các câu hỏi về tiền sử bệnh lý bản thân, nghề nghiệp, môi trường làm việc, tiền sử mắc bệnh, nhiễm độc, quai bị, chấn thương bộ phận sinh dục, nghiện rượu, thuốc lá... liên quan đến việc tiếp xúc với hóa chất, tia phóng xạ, mắc một số bệnh tật liên quan đến vô sinh.

- Khai thác các kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ, nội tiết, siêu âm, chọc dò và các xét nghiệm khác đã có từ trước.

2.2.2.2. Thăm khám lâm sàng

- Thăm khám thực thể để xác định khả năng sinh sản của nam gồm: Xác định vị trí, kích thước tinh hoàn, dương vật, phát hiện các viêm nhiễm hay bất thường dương vật, tinh hoàn, bìu, tuyến tiền liệt, tĩnh mạch tinh…

- Đánh giá thể tích tinh hoàn bằng chuỗi hạt Prader, xác định mật độ của tinh hoàn. Vị trí, kích thước tinh hoàn được ước lượng theo thể tích tính (ml) bằng cách khi khám tinh hoàn sẽ so sánh với mẫu tinh hoàn có sẵn các thể tích từ 1ml đến 25 ml để ước lượng thể tích tinh hoàn.

Thước đo Prader gồm 12 hạt tương đương với thể tích là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25 ml. Do vậy chúng tôi chia thể tích thành 6 nhóm gồm: ≤ 5; 6-10; 10-15; 15-20; 20-25; > 25 ml.

- Phát hiện những bất thường khác ở bộ phận sinh dục ngoài bằng quan sát, thăm khám, sờ nắn tinh hoàn.

Việc thăm khám đánh giá tinh hoàn được thực hiện tại Bộ môn Y sinh học di truyền do thầy hướng dẫn trực tiếp hướng dẫn và do nghiên cứu sinh thực hiện qua việc hướng dẫn của thầy đã được đào tạo và có nhiều kinh nghiệm trong lĩnh vực này.

2.2.2.3. Xét nghiệm tinh dịch

Các thông số tinh dịch được phân tích là:

- Nhóm chứng và nhóm TT/TTN:

+ Thể tích, pH, độ nhớt.

+ Di động: vận tốc trung bình (μm/s), hình thái di động.

+ Hình thái, tỷ lệ sống của tinh trùng.

- Nhóm vô tinh:

+ Thể tích, pH, độ nhớt.

2.2.2.4. Phân tích NST ở các nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng

* Bước 1: Nuôi cấy bạch cầu lympho máu ngoại vi theo phương pháp của Hungerford D. A. [151].

- Lấy 5 ml máu tĩnh mạch cho vào tuýp vô trùng đã được tráng bằng heparin.

- Nhỏ 4 ml máu toàn phần vào tuýp nuôi cấy. Môi trường nuôi cấy là Karyotyping Medium của Gibco®.

- Đặt các tuýp nuôi cấy trong tủ ấm 37^0C thời gian 72 giờ. Trước khi thu hoạch 2 giờ, nhỏ dung dịch colcemid vào môi trường để dừng các tế bào ở kỳ giữa. Thu hoạch giờ thứ 72.

* Bước 2: Thu hoạch tế bào [152]

- Dịch treo tế bào từ tuýp nuôi cấy được chuyển sang ống ly tâm, ly tâm với tốc độ 800 - 1000 vòng/phút, thời gian 10 phút.

- Sau khi ly tâm loại bỏ dịch nổi ở phía trên, để lại phần cặn tế bào, nhược trương bằng dung dịch KCl, nồng độ 0,075 M. Để trong tủ ấm 37^0C, thời gian 45 phút để phá vỡ màng tế bào.

- Định hình NST bằng dung dịch Carnoy với tỷ lệ 3 methanol: 1 acid acetic, để vào tủ lạnh 30 phút, ly tâm 1000 vòng/phút, loại bỏ dịch nổi, giữ lại cặn tế bào. Bước định hình NST được lặp lại 3 lần.

- Lần cuối cùng sau khi ly tâm loại bỏ dịch nổi phía trên, dùng ống hút nhỏ giọt hút lấy phần cặn chứa nhân tế bào, trong đó có các cụm kỳ giữa rồi dàn đều lên phiến kính sạch đã được để lạnh.

* Bước 3: Nhuộm tiêu bản [152],[153]

- Dàn đều tế bào lên tiêu bản, để tiêu bản khô tự nhiên.

- Tiêu bản NST được nhuộm bằng phương pháp nhuộm băng G [153].

* Bước 4: Phương pháp phân tích NST và lập karyotyp theo tiêu chuẩn ISCN (2005) [154].

- Quan sát NST dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 1000 lần. Tìm các tế bào ở kỳ giữa có các NST dàn đều để đếm số lượng NST trong tế bào đó. Trung bình cho mỗi mẫu phải đánh giá ít nhất 30 cụm kỳ giữa, trong trường hợp cần thiết phải phân tích 100 cụm kỳ giữa (những trường hợp nghi là thể khảm).

- Phát hiện và phân tích các rối loạn cấu trúc NST khi đếm số lượng.

- Phân tích NST và lập karyotyp theo tiêu chuẩn ISCN với hệ thống karyotyping bằng phần mềm Ikaros.

Tổng hợp các số liệu đánh giá rồi kết luận về số lượng và hình thái cấu trúc NST sau khi đã lập karyotyp của đối tượng nghiên cứu.

2.2.2.5. Phát hiện mất đoạn AZFabcd trên NST Y ở các nam giới VT và TTN

- Thu thập mẫu bệnh phẩm: Mỗi mẫu lấy 2-5 ml máu chống đông bằng EDTA. Tách chiết ADN tổng số từ máu ngoại vi theo quy trình của kit AquaPure genomic DNA (Invitrogen).

- Kỹ thuật mutiplex PCR: Nhân đoạn gen bằng kỹ thuật mutiplex PCR, xác định mất đoạn AZF trên NST Y. Lựa chọn, tổ hợp các cặp mồi thích hợp, tối ưu hóa phản ứng PCR đa mồi.

Có khoảng 300 các trình tự đặc hiệu (STS) ở vùng AZF có thể dùng để chẩn đoán các mất đoạn nhỏ. Tuy nhiên, không thể xét nghiệm tất cả các STS để xác định mất đoạn nhỏ vùng AZF vì giá thành sẽ rất cao và thời gian xét nghiệm dài. Học viện nam học Châu Âu (EAA: European Academy of Andrology) khuyến cáo chỉ cần phân tích 2 STS cho mỗi phân vùng AZF có thể phát hiện trên 90% các mất đoạn nhỏ. Các cặp mồi để xác định các STS được khuyến cáo là: sY84 và sY86 cho AZFa, sY127 và sY134 cho AZFb, sY254 và sY255 cho AZFc. Về nguyên tắc, với các bệnh có nhiều STS chi phối thì ở các khu vực khác nhau, đột biến phổ biến có thể khác nhau. Tuy nhiên, các tác giả khác nhau nghiên cứu ở các nước thuộc các châu lục khác nhau, khi áp dụng các mồi khuyến cáo của EAA đều có kết quả phát hiện được mất đoạn AZFabc tốt [87],[88],[103],[107],[110],[112],[113],[114]. Vì vậy trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng dùng 6 cặp mồi theo khuyến cáo của EAA để phát hiện mất đoạn nhỏ AZFabc. Để phát hiện thêm mất đoạn nhỏ AZFd là loại mất đoạn gần đây được các tác giả đề cập và có tỷ lệ đột biến cao hơn các vùng AZF khác, chúng tôi dùng sY152 và BPY2 để phát hiện mất AZFd.

+ Theo Học viện Nam học Châu Âu (European Academy of Andrology - EAA) và Mạng lưới kiểm tra chất lượng di truyền phân tử Châu Âu (European Molecular Genetics Quality Network - EMQN) thiết kế, mỗi mẫu xét nghiệm thực hiện 2 phản ứng multiplex PCR với 8 cặp mồi để xác định 5 locus gen trên NST Y: 3 locus đặc hiệu trên nhánh dài là vùng AZFabc; 2 locus gen trên nhánh ngắn NST Y làm chứng nội tại: SRY và ZFY [155].

+ Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện 3 phản ứng multiplex PCR với 10 cặp mồi để xác định các locus gen trên NST Y. Trong đó có 8 cặp mồi xác định các locus gen đặc hiệu trên nhánh dài NST Y là vùng AZFabcd; 2 cặp mồi xác định các locus gen trên nhánh ngắn NST Y làm chứng nội tại là: SRY và ZFY.

Cặp mồi nhân đoạn đặc hiệu các vùng AZF lần lượt là AZFa: sY84-sY86; AZFb: sY127-sY134; AZFc: sY254-sY255; AZFd: sY152-BPY2.

Bảng 2.1. Các cặp mồi và trình tự mồi dùng cho xét nghiệm mất đoạn AZFabcd

Gen	Trình tự mồi	Vị trí đoạn gen trên NST Y	Kích thước sản phẩm PCR
sY84	F: 5′-AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT-3′ R: 5′-GCCTACTACCTGGAGGCTTC-3′	AZFa/Yq	326 bp
sY86	F: 5-GTGACACACAGACTATGCTTC-3′ R: 5′-ACACACAGAGGGACAACCCT-3	AZFa/Yq	320 bp
sY127	F: 5′-GGCTCACAAACGAAAAGAAA-3′ R: 5′-CTGCAGGCAGTAATAAGGGA-3′	AZFb/Yq	274 bp
sY134	F: 5′-GTCTGCCTCACCATAAAACG-3′ R: 5′-ACCACTGCCAAAACTTTCAA-3′	AZFb/Yq	301 bp
sY254	F: 5′-GGGTGTTACCAGAAGGCAAA-3′ R: 5′-GAACCGTATCTACCAAAGCAGC-3′	AZFc/Yq	400 bp
sY255	F: 5’- GTTACAGGATTCGGCGTGAT-3’ R: 5’- CTCGTCATGTGCAGCCAC -3’	AZFc/Yq	126 bp
sY152	F: 5'- AGACAGTCTGCCATGTTCA-3' R: 5 '- CAGGAGGTACTTAGCAGT-3'	AZFd/Yq	125 bp
BPY2	F: 5' - TAATTCCTCTTTACGCATGACC-3' R: 5'- ATATCTCTGAGCACATACC -3'	AZFd/Yq	202 bp
ZFY	F: 5′- ACCRCTGTACTGACTGTGATTACAC-3′ R: 5′-GCACYTCTTTGGTATCYGAGAAAGT-3′	ZFY/Yp	495 bp
SRY	F: 5’ - A TAT TCC CGC TCT CG GA - 3’ R: 5’ - GGT GCT CCA TTC TG AG - 3’	TDF/Yp	472 bp

Bảng 2.2. Bảng thiết kế các phản ứng multiplex PCR trong xét nghiệm mất đoạn AZFabcd

Phản ứng multiplex PCR	Mồi	Kích thước sản phẩm PCR	Vị trí đoạn gen trên NST Y
Multiplex PCR1 (4 cặp mồi)	SRY	472 bp	TDF
	sY134	301 bp	AZFb
	BPY2	202 bp	AZFd
	sY152	125 bp	AZFd
Multiplex PCR2 (3 cặp mồi)	ZFY	495 bp	ZFY
	sY84	326 bp	AZFa
	sY255	126 bp	AZFc
Multiplex PCR3 (4 cặp mồi)	ZFY	495 bp	ZFY
	sY254	400 bp	AZFc
	sY86	320 bp	AZFa
	sY127	274 bp	AZFb

Bảng 2.3. Các thành phần của phản ứng multiplex PCR

Thành phần phản ứng	Phản ứng 1	Phản ứng 2	Phản ứng 3
Mastermix PCR	6,25 µL	6,25 µL	6,25 µL
Mồi (2,5 pmol/µL)	SRY, sY134, BPY2, sY152 Mỗi cặp mồi (F: 0,1 µL, R: 0,1 µL)	ZFY, sY84, sY255 Mỗi cặp mồi (F: 0,1 µL, R: 0,1 µL)	ZFY, sY86, sY127, sY254 Mỗi cặp mồi (F: 0,1 µL, R: 0,1 µL)
ADN (30-45 ng/µL)	2 µL	2 µL	2 µL
Nước	Vừa đủ	Vừa đủ	Vừa đủ
Tổng	12,5 µL	12,5 µL	12,5 µL

Phản ứng được thực hiện trên máy PCR Mastercycler® ep Gradients - Eppendorf (Đức). Chu trình nhiệt như sau:

95^{o}C - 10 phút, 34 chu kỳ

[94^{o}C - 1 phút 10 giây, 56^{o}C - 1 phút 30 giây, 72^{o}C - 1 phút],

72^{o}C- 10 phút,

Giữ lạnh 4^{o}C.

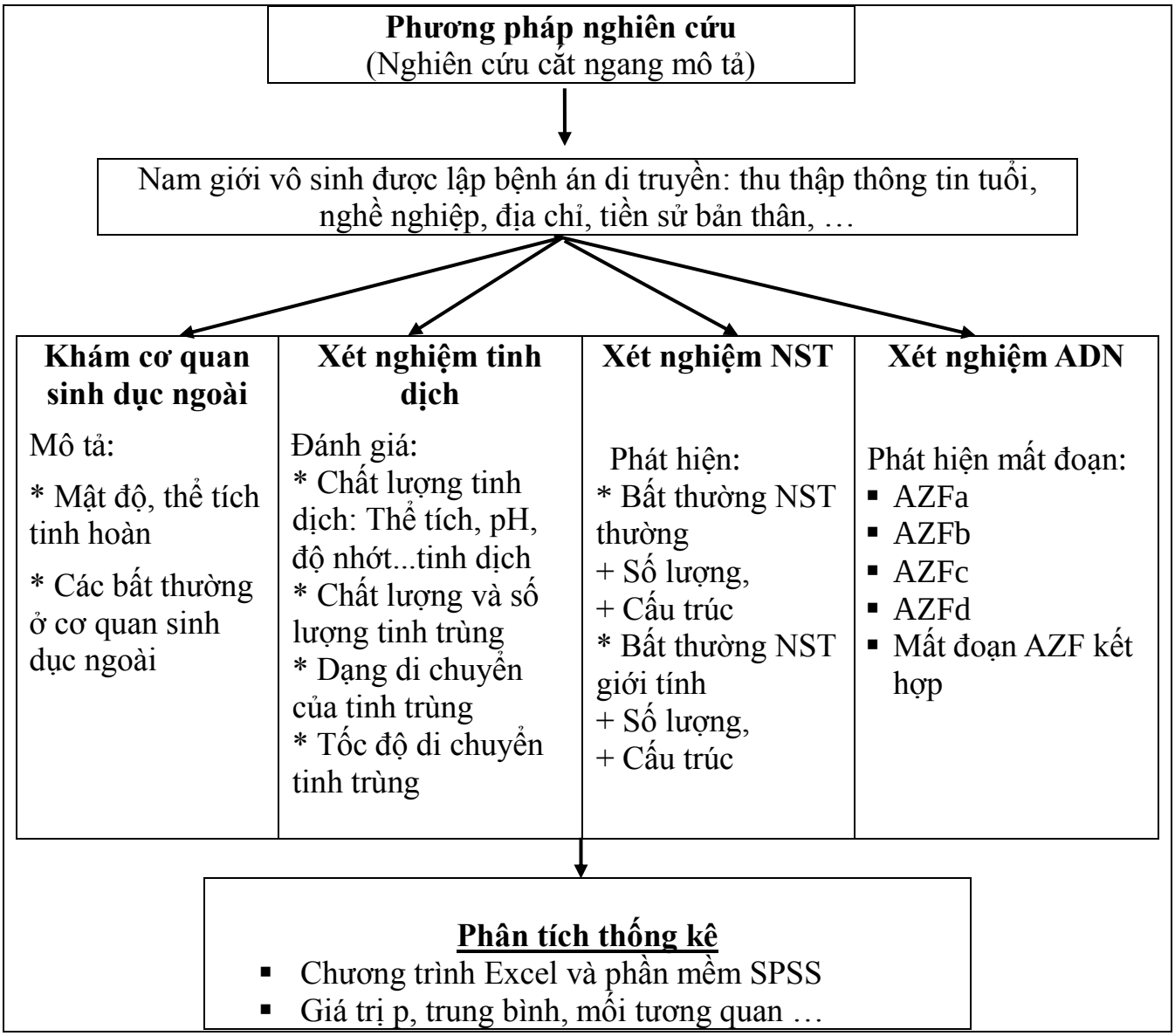
- Trong mỗi phản ứng PCR, đều có sử dụng đối chứng âm, chứng nữ và chứng dương. Chứng dương: sử dụng ADN của người nam giới khỏe mạnh đã có con dưới 2 tuổi, tinh dịch đồ bình thường. Chứng âm: sử dụng ADN của người phụ nữ khỏe mạnh đã có con. Nếu không xuất hiện sản phẩm PCR tại vị trí nào đó, chúng tôi tiến hành phản ứng PCR đơn mồi để khẳng định chắc chắn là có mất đoạn gen trên NST Y.

- Tiêu chuẩn đánh giá: các đoạn gen tương ứng phải được nhân lên với tất cả các mẫu chứng dương và không được nhân lên ở tất cả các chứng âm.

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% trong TBE 1X với điện thế 100V trong 70 phút. Đánh giá kết quả theo thang ADN 100 bp của hãng Invitrogen, nhuộm bằng Ethidium Bromide để phát hiện kết quả.

2.2.3. Các bước nghiên cứu

Quá trình nghiên cứu được tóm tắt trong sơ đồ 1.1.



Sơ đồ 1.1. Sơ đồ tóm tắt các bước thực hiện

2.2.4. Các chỉ số nghiên cứu

2.2.4.1. Một số đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử bản thân và gia đình

- Về độ tuổi, các đối tượng nghiên cứu được chia thành 5 nhóm tuổi:

+ 20-29 tuổi.

+ 30-39 tuổi.

+ 40-49 tuổi.

+ ≥ 50 tuổi.

Kết quả thống kê là để đánh giá tỷ lệ vô sinh hay gặp nhất ở nhóm tuổi nào.

- Nghề nghiệp: các đối tượng nghiên cứu được chia thành các nhóm: Lái xe, bộ đội, cán bộ viên chức, làm ruộng, công nhân, lao động tự do, kinh doanh, nghề khác. Kết quả thống kê nhằm đánh giá tỷ lệ vô sinh hay gặp nhất ở nhóm nghề nghiệp nào.

- Tiền sử của nam giới vô sinh được chia thành các nhóm: Quai bị, viêm tinh hoàn, GTMT, bệnh lý khác, tiếp xúc hóa chất hoặc không có tiền sử ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch.

2.2.4.2. Đặc điểm về thể tích và mật độ tinh hoàn

- Thể tích tinh hoàn được chia thành 6 nhóm:

+ ≤ 5 ml.

+ 6-10 ml.

+ 11-15 ml.

+ 16-20 ml.

+ 21-25 ml.

+ ≥ 26 ml.

- Mật độ tinh hoàn được chia làm 2 nhóm: Mật độ chắc, mềm.

2.2.4.3. Phân tích đặc điểm tinh dịch, tinh trùng và tốc độ di chuyển của tinh trùng

- Đánh giá chất lượng tinh dịch dựa trên các chỉ số: Thể tích, pH, độ nhớt.

- Đánh giá chất lượng tinh trùng dựa trên các chỉ số: Tỷ lệ tinh trùng di động, hình thái tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng sống.

- Tốc độ di chuyển trung bình của tinh trùng: Chia thành các nhóm tinh trùng có tốc độ khác nhau:

+ ≤ 30 µm/s.

+ > 30-40 µm/s.

+ > 40-50 µm/s.

+ > 50 µm/s.

- Các loại tốc độ di chuyển của tinh trùng:

+ Tốc độ đường cong (VCL - Curvilinear velocity) (µm/s)

+ Tốc độ con đường trung vị (VAP - Average path velocity) (µm/s)

+ Tốc độ tuyến tính (VSL - Straight line velocity) (µm/s)

- Tính chất di chuyển của tinh trùng:

+ Tính tuyến tính (Linearity): LIN = VSL/VCL (%)

+ Tính tiến thẳng (Straightess): STR = VSL/VAP (%)

+ Tính dao động (Wobble): WOB = VAP/VCL (%)

- Chỉ số về các loại di động của tinh trùng được chia thành 4 mức độ:

+ Di động tiến tới nhanh (a) là di động > 25 µm/s.

+ Di động tiến tới chậm (b) là di động 5 - 25 µm/s.

+ Di động tại chỗ + không tiến tới (c) là di động < 5 µm/s và không di động nhưng có lúc lắc tại chỗ.

+ Không di động (d).

- Tỷ lệ di động tiến tới nhanh được chia thành các loại:

+ Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới nhanh ≥ 25%.

+ Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới nhanh < 25%.

2.2.4.4. Đặc điểm bộ NST

Đặc điểm NST được phân tích các chỉ số:

- Về số lượng NST, phân tích các chỉ số:

+ Lệch bội: Đánh giá là có lệch bội khi cụm NST có số lượng tăng hoặc giảm 1 hoặc 2 NST so với bộ lưỡng bội.

+ Đa bội là những cụm NST có số lượng 69 hoặc 92: trên thực tế khi phân tích không gặp hiện tượng đa bội ở các trường hợp nghiên cứu.

- Về cấu trúc NST, phân tích các chỉ số:

+ Chuyển đoạn NST: là hiện tượng một đoạn nào đó của NST không ở vị trí bình thường mà bị đứt ra rồi gắn vào một NST khác hoặc chuyển sang vị trí khác trên NST đó. Trong hiện tượng chuyển đoạn, phân thành 2 loại chuyển đoạn là chuyển đoạn tương hỗ là chuyển đoạn mà 2 NST khác nhau cùng bị đứt rồi trao đổi đoạn đứt cho nhau. Chuyển đoạn không tương hỗ là 1 đoạn của 1 NST bị đứt ra rồi chuyển sang một NST khác.

+ Đảo đoạn NST là hiện tượng một đoạn nào đó của NST đứt ra rồi quay đi một góc 180^o.

+ Nhân đoạn NST là hiện tượng một đoạn nào đó của NST tăng gấp đôi.

+ Mất đoạn NST: là hiện tượng một NST nào đó bị mất đi một đoạn.

+ NST marker (marker chromosome): là hiện tượng NST có kích thước rất nhỏ, bất thường cấu trúc NST chưa xác định được.

Các đột biến NST cả đột biến số lượng và cấu trúc nếu là thể thuần thì được phân tích tối thiểu 30 cụm NST. Nếu là thể khảm thì phân tích ít nhất 50 cụm NST (nếu tỷ lệ khảm cao), nếu tỷ lệ khảm thấp thì phân tích đến 100 cụm.

NST sau khi phân tích được phân thành các loại sau:

- Karyotyp bình thường 46,XY.
- Karyotyp bất thường, trong đó:
    + Bất thường NST thường chia thành:
        Các dạng rối loạn số lượng NST thường.
        Các dạng rối loạn cấu trúc NST thường.
    + Bất thường NST giới tính chia thành:
        Các dạng rối loạn số lượng NST giới tính.
        Các dạng rối loạn cấu trúc NST giới tính.

2.2.4.5. Đặc điểm mất đoạn nhỏ NST Y

* Đặc điểm mất đoạn nhỏ NST Y được phân thành các loại sau:

- Không mất đoạn AZF.
- Mất đoạn AZF trên NST Y, trong đó:

+ Mất đoạn ở một vị trí AZFa, b, c hoặc d

+ Mất đoạn kết hợp ở hai, ba hay bốn vị trí AZFabcd

* Phân bố theo một hoặc nhiều locus gen bị mất: sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY152, BPY2.

* Phân bố các vị trí mất đoạn theo nhóm VT, TTN

2.2.4.6. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền

Chúng tôi lập các bảng thống kê để đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm, tinh dịch, mật độ tinh trùng với bất thường NST và mất đoạn gen những bệnh nhân VT và TTN.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập sẽ được xử lí theo chương trình Excel 2013 và phần mềm SPSS 16.0.

Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y học có sử dụng thuật toán Logistic Regression dạng mô tả liên quan giữa 2 biến số phụ thuộc và độc lập. Kết quả được biểu thị qua giá trị của tỷ suất chênh (Odds Ratio - OR) với khoảng tin cậy 95% của OR kèm giá trị so sánh biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê p.

- Các số liệu thu được trình bày dưới dạng tỉ lệ % và các bảng, biểu đồ, đồ thị, hình ảnh.

2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Trước khi tiến hành nghiên cứu, các đối tượng được đưa vào diện nghiên cứu được nghe thông báo về mục đích nghiên cứu, quyền lợi và trách nhiệm khi tham gia nghiên cứu.

- Các xét nghiệm được thực hiện liên quan trong đề tài đều được bệnh nhân tự nguyện tham gia.

- Các thông tin riêng liên quan tới đối tượng nghiên cứu được giữ kín.

- Những trường hợp vô tinh và thiểu tinh nặng được tư vấn biện pháp can thiệp thích hợp.

* Một phần của Đề tài được thực hiện gắn với Đề tài cấp cơ sở "Hoàn chỉnh kỹ thuật Multiplex PCR để phát hiện mất đoạn nhỏ trên NST Y ở các bệnh nhân vô sinh nam" do PGS.TS. Phan Thị Hoan – Nguyên Phó Chủ nhiệm phụ trách Bộ môn Y Sinh học - Di truyền Đại học Y Hà Nội làm Chủ nhiệm đề tài. Hội đồng duyệt đề cương Trường Đại học Y Hà Nội đã thông qua việc triển khai xét nghiệm mất đoạn AZF trên NST Y tại Bộ môn Y sinh học - Di truyền. Đề tài đã nghiệm thu năm 2013.

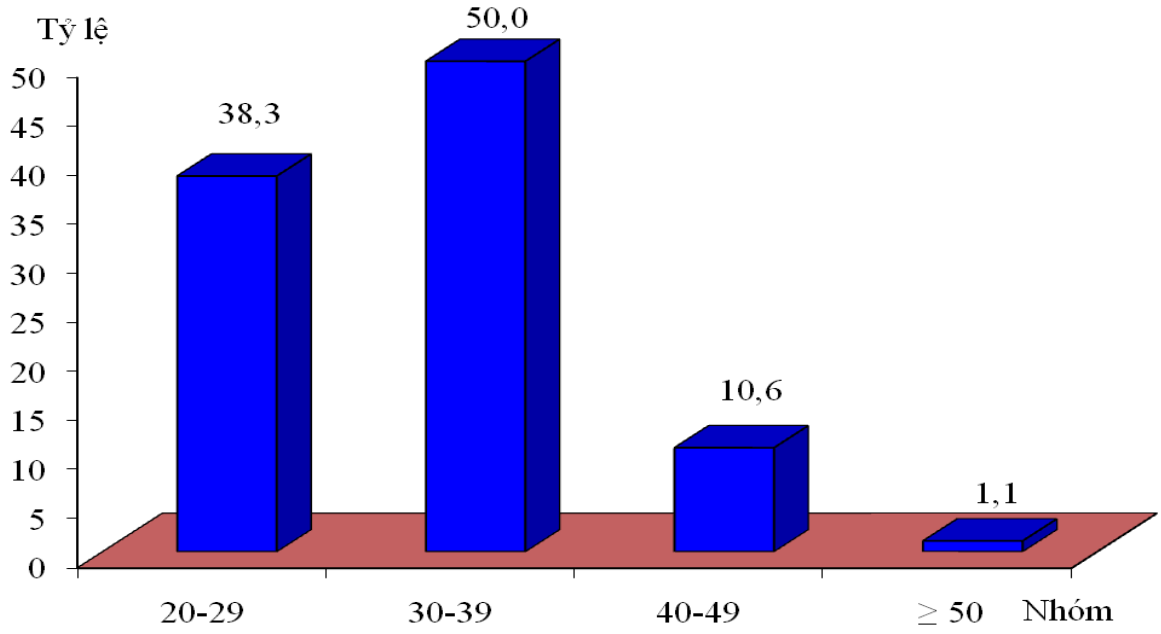
Chương 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử, lâm sàng, tinh dịch ở nam giới vô sinh

Tổng số 553 nam giới vừa được khai thác các chỉ số nghiên cứu về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử và xét nghiệm tinh dịch đồ (gồm 101 nam giới ở nhóm chứng và 452 nam giới vô sinh).

3.1.1. Phân bố tuổi ở nam giới vô sinh

Tổng số n = 452 nam giới vô sinh có tuổi thấp nhất là 20 và cao nhất là 55, tuổi trung bình là 31,98 ± 5,71. Phân bố theo từng nhóm tuổi như sau:



Biểu đồ 3.1. Phân bố đặc điểm tuổi ở người nam vô sinh

Kết quả thu được ở biểu đồ 3.1 cho thấy:

- Ở nhóm tuổi 30- 39 chiếm tỷ lệ cao nhất 50 %,
- Nhóm tuổi từ 20-29 chiếm tỷ lệ cao thứ hai là 38,3 %.
- Tiếp theo là nhóm tuổi 40-49 chiếm 10,6%, nhóm tuổi trên 50 chiếm tỷ lệ ít nhất là 1,1 %.

Bảng 3.1. Phân bố tuổi của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu

Nhóm tuổi	Nhóm chứng		Nhóm NC		p
	n	%	n	%	
20 - 29	21	20,8	173	38,3	< 0,001
30 - 39	57	56,4	226	50	
40 - 49	19	18,8	48	10,6	
≥ 50	4	4,0	5	1,1	
Tổng	101	100	452	100	
$\bar{x}$ ± SD	34,87 ± 6,84		31,98 ± 5,71		< 0,001

Kết quả trình bày ở bảng 3.1 cho thấy:

- Ở cả 2 nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, nam giới độ tuổi 30 - 39 đều chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp theo là độ tuổi 20 - 29, độ tuổi 40 - 49 và thấp nhất độ tuổi ≥ 50.

- Sự phân bố các nhóm tuổi ở các đối tượng nghiên cứu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,001.

- Cũng giống như sự phân bố các độ tuổi, độ tuổi trung bình của nhóm chứng là 34,87 ± 6,84 cao hơn ở nhóm nghiên cứu là 31,98 ± 5,71, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,001.

3.1.2. Phân bố nghề nghiệp

Bảng 3.2. Phân bố nghề nghiệp của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu

Nghề nghiệp \ Nhóm nghiên cứu		Nhóm chứng	Nhóm NC	Chung	p
Lái xe	n	4	31	35	> 0,05
	%	4,0	6,9	6,3	
Bộ đội	n	3	23	26	
	%	3,0	5,1	4,7	
Cán bộ, viên chức	n	40	183	233	
	%	39,6	40,5	40,3	
Làm ruộng	n	7	32	39	
	%	6,9	7,1	7,1	
Công nhân	n	5	52	57	
	%	5,0	11,5	10,3	
Lao động tự do	n	21	68	89	
	%	20,8	15,0	16,1	
Kinh doanh, khác	n	21	63	84	
	%	20,8	13,9	15,2	
Tổng	n	101	452	553	
	%	18,3	81,7	100	

Kết quả trình bày ở bảng 3.2 cho thấy:

- Nhóm nam giới là cán bộ, viên chức chiếm tỷ lệ cao nhất là 40,3 %, tiếp theo là nhóm lao động tự do 16,1%, nhóm kinh doanh là 15,2%, nhóm công nhân chiếm 10,3%, nhóm làm ruộng 7,1%, nhóm lái xe 6,3% cuối cùng là nhóm nam giới là bộ đội 4,7%. Sự khác biệt nghề nghiệp giữa nhóm vô sinh nam và nhóm chứng không có ý nghĩa thống kê, p> 0,05.

3.1.3. Tiền sử của nam giới vô sinh

Bảng 3.3. Tiền sử bản thân của nam giới vô sinh

Tiền sử	n	Tỷ lệ %
Viêm tinh hoàn, quai bị	17	3,76
GTMT	11	2,43
Bệnh lý khác	12	2,65
Tiếp xúc hóa chất	3	0,66
Không có tiền sử	409	90,49
Tổng	452	100

Về tiền sử bản thân, kết quả trình bày ở bảng 3.3 cho thấy: Tiền sử viêm tinh hoàn, quai bị chiếm tỷ lệ cao nhất (3,76%), bệnh lý khác (2,65%), GTMT (2,43%), tiếp xúc hóa chất chiếm tỷ lệ ít nhất (0,66%). Người không có tiền sử có ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch là 90,49%.

3.1.4. Đặc điểm cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh

Số nam giới được khám lâm sàng là 484. Những người này được đánh giá thể tích, mật độ tinh hoàn và những biểu hiện bất thường ở cơ quan sinh dục ngoài. Trong đó, nhóm nghiên cứu được khám cơ quan sinh dục ngoài là 393 người, nhóm chứng là 91 người.

Bảng 3.4. Thể tích trung bình tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC

V Trung bình (ml) / Nhóm	Số lượng (n = 484)	$\bar{x}$ ± SD	p
Nhóm chứng	91	19,03 ± 3,83	> 0,05
Nhóm NC	393	18,29 ± 5,48	

Kết quả trình bày ở bảng 3.4 cho thấy: Thể tích trung bình tinh hoàn ở nhóm chứng là 19,03 ± 3,83 lớn hơn so với ở nhóm vô sinh là 18,29 ± 5,48. Tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Bảng 3.5. Phân bố thể tích tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC

Thể tích tinh hoàn (ml)	**Nhóm chứng**		**Nhóm NC**		**Chung**		**p**
	n	%	n	%	n	%	
≥ 26	4	4,4	23	5,9	27	5,6	> 0,05
21-25	26	28,6	121	30,8	147	30,4	
16-20	45	49,5	150	38,2	195	40,3	
11-15	14	15,4	63	16,0	77	15,9	
6 -10	2	2,2	22	5,6	24	5	
≤ 5	0	0	14	3,6	14	2,9	
Tổng	91	100	393	100	484	100	

Về thể tích của tinh hoàn, kết quả trình bày ở bảng 3.5 cho thấy:

- Thể tích tinh hoàn ở nhóm 16-20 ml chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 40,3%, tiếp theo ở nhóm thể tích 21-25 ml chiếm tỷ lệ 30,4%. Các nhóm thể tích còn lại chiếm tỷ lệ ít dần: nhóm 11-15 ml; ≥ 26 ml; 6-10 ml và ≤ 5 ml, tương ứng với các tỷ lệ là: 15,9%; 5,6%; 5% và 2,9%.

- Ở các nhóm, thể tích tinh hoàn không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm chứng và nhóm NC, p > 0,05.

- Thể tích tinh hoàn ≤ 5 ml chỉ thấy ở nhóm NC mà không thấy ở nhóm chứng.

Bảng 3.6. Thể tích tinh hoàn của nhóm chứng theo từng độ tuổi

V Tinh hoàn (ml) / Tuổi	≤ 5	6-10	11-15	16-20	21-25	≥ 26	Tổng	$\bar{x}$ ± SD
20-29	0	1	3	10	5	1	20	18,83±4,18
30-39	0	1	7	23	15	2	48	19,11±3,76
40-49	0	0	2	10	6	1	19	19,60±3,75
≥ 50	0	0	2	2	0	0	4	16,25±3,34
Tổng	0	2	14	45	26	4	91	19,03±3,83
p	> 0,05							> 0,05

Kết quả trình bày ở bảng 3.6 cho thấy:

Ở nhóm chứng, nam giới có thể tích tinh hoàn 16-20 ml chiếm tỷ lệ nhiều nhất 45/91, tiếp theo thể tích 21-25 ml với tỷ lệ 26/91, các loại thể tích khác chiếm tỷ lệ ít.

Nam giới ở độ tuổi 20-29, 30-39 và 40-49 có thể tích trung bình của tinh hoàn là tương đương nhau, ở độ tuổi ≥ 50 có thể tích trung bình tinh hoàn nhỏ hơn, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Bảng 3.7. Thể tích tinh hoàn của nhóm nghiên cứu theo từng độ tuổi

$V_{Tinh\ hoàn}$ (ml) / Tuổi	≤5	6-10	11-15	16-20	21-25	≥ 26	Tổng	$\bar{x}$ ± SD
20-29	8	10	25	56	47	8	154	17,97 ± 5,91
30-39	6	10	34	76	57	12	195	18,22 ± 5,31
40-49	0	2	3	17	15	2	39	19,54 ± 4,23
≥ 50	0	0	1	1	2	1	5	21,20 ± 5,80
Tổng	14	22	63	150	121	23	393	18,29 ± 5,48
p	> 0,05							> 0,05

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy: Ở nhóm vô sinh, nam giới có thể tích tinh hoàn 16 -20 ml chiếm tỷ lệ nhiều nhất 150/393, tiếp theo ở loại thể tích 21-25ml với tỷ lệ 121/393, các loại thể tích còn lại chiếm tỷ lệ ít. Ở độ tuổi 20-29, 30-39, 40-49 và ≥ 50, sự khác biệt về thể tích trung bình của tinh hoàn không có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Bảng 3.8. Phân bố mật độ tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC

Mật độ tinh hoàn	Nhóm chứng		Nhóm NC		Chung		p
	n	%	n	%	n	%	
Chắc	87	95,6	345	87,8	432	89,3	< 0,05
Mềm	4	4,4	48	12,2	52	10,7	
Tổng	91	100	393	100	484	100	

Kết quả trình bày ở bảng 3.8 cho thấy: Mật độ tinh hoàn chắc ở nhóm chứng chiếm 95,6% cao hơn ở nhóm NC là 87,8%, ngược lại mật độ tinh hoàn mềm gặp ở nhóm NC là 12,2% cao hơn so với nhóm chứng là 4,4%, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê, với p < 0,05.

Bảng 3.9. Mật độ tinh hoàn theo tuổi ở nhóm chứng (n=91)

Tuổi	Mật độ tinh hoàn chắc		Mật độ tinh hoàn mềm		p
	n	%	n	%	
20-29	18	90	2	10	> 0,05
30-39	46	95,83	2	4,17	
40-49	19	100	0	0	
≥ 50	4	100	0	0	
Tổng	87	95,60	4	4,40	

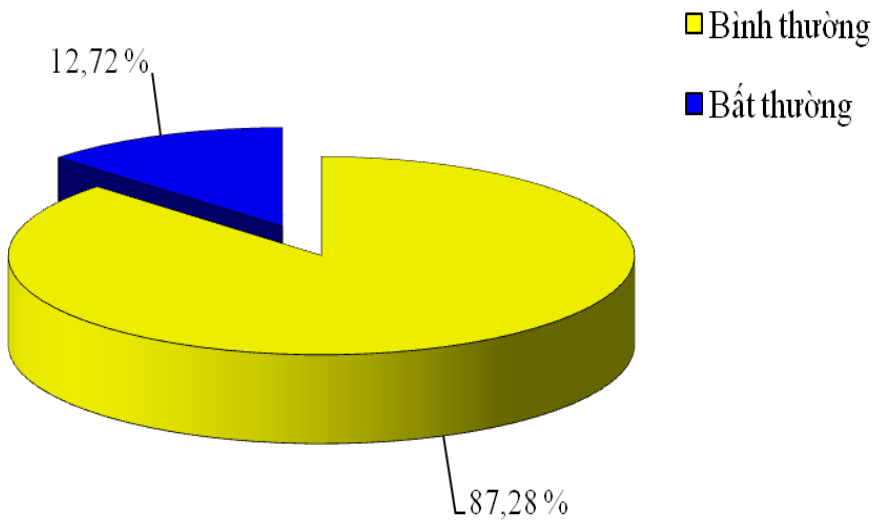
Kết quả trình bày ở bảng 3.9 cho thấy: Ở nhóm chứng, mật độ tinh hoàn ở các độ tuổi khác nhau không thấy có sự khác biệt, với p > 0,05.

Bảng 3.10. Mật độ tinh hoàn theo độ tuổi ở nhóm nghiên cứu (n=393)

Mật độ / Tuổi	Mật độ tinh hoàn chắc		Mật độ tinh hoàn mềm		p
	n	%	n	%	
20-29	133	83,36	21	16,64	>0,05
30-39	172	88,21	23	11,79	
40-49	36	92,31	3	7,69	
≥ 50	4	80	1	20	
Tổng	345	87,79	48	12,21	

Kết quả trình bày ở bảng 3.10 cho thấy: Ở nhóm NC, tỷ lệ tinh hoàn có mật độ chắc ở nhóm tuổi 20-29 và ≥ 50 thấp hơn ở các nhóm 30-39 và 40-49. Ngược lại, tỷ lệ tinh hoàn có mật độ mềm ở nhóm tuổi 30-39 và 40-49 lại thấp hơn ở nhóm 20-29 và trên 50 tuổi. Tuy nhiên, sự khác nhau này chưa có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Trong số 393 nam giới ở nhóm vô sinh được thăm khám, đánh giá cơ quan sinh dục ngoài. Kết quả trình bày ở biểu đồ sau:



Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh

Về biểu hiện bất thường của cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh, kết quả trình bày ở biểu đồ 3.2 cho thấy:

- Không có biểu hiện bất thường cơ quan sinh dục ngoài chiếm tỷ lệ 87,28%. Còn lại 12,72 % là có bất thường về cơ quan sinh dục ngoài.

- Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy có 50 trường hợp có bất thường cơ quan sinh dục ngoài. Phân loại bất thường cơ quan sinh dục ngoài được trình bày ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Phân loại bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh

Biểu hiện ở cơ quan sinh dục ngoài	Tổng (n=50)	Tỷ lệ %
Suy sinh dục (dương vật và tinh hoàn nhỏ)	12	24
Viêm, đau tức tinh hoàn	8	16
Thoát vị bẹn	5	10
Ẩn tinh hoàn, tinh hoàn chưa xuống bìu	4	8,0
Lỗ đái lệch thấp	5	10
Giãn tĩnh mạch tinh	8	16
Teo tinh hoàn 1 hoặc 2 bên	4	8,0
Bất thường khác (tinh hoàn 1 bên quá to)	4	8,0
Tổng số	**50**	**100**

Kết quả trình bày ở bảng 3.11 cho thấy:

- Về tỷ lệ từng loại bất thường cơ quan sinh dục ngoài, nam giới suy sinh dục (dương vật và tinh hoàn nhỏ) có tỷ lệ cao nhất chiếm 24% các bất thường.

- Tiếp theo là GTMT và viêm tinh hoàn đều chiếm 16 %.

- Thoát vị bẹn, lỗ đái lệch thấp đều chiếm 10 %, còn lại là teo tinh hoàn, tinh hoàn ẩn và bất thường khác đều là 8 %.

3.1.5. Đặc điểm tinh dịch của nhóm nghiên cứu và nhóm chứng

Tổng số nam giới xét nghiệm tinh dịch đồ là 553. Trong đó, nhóm nghiên cứu là 452 người, nhóm chứng là 101 người.

Bảng 3.12. So sánh thể tích tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng

Thể tích (ml) / Nhóm	≥ 1,5 ml		< 1,5 ml		OR (95% CI)	p
	n	%	n	%		
Nghiên cứu (n=452)	306	67,7	146	32,3	0,8 (0,5-1,29)	> 0,05
Chứng (n=101)	73	72,3	28	27,7		
Chung (n=553)	379	68,5	174	31,5		

Kết quả trình bày ở bảng 3.12 cho thấy:

Ở nhóm nghiên cứu: Mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5 ml chiếm tỷ lệ là 67,7 % , trong khi mẫu tinh dịch có thể tích < 1,5 ml chiếm 32,3%.

Tương tự ở nhóm chứng: Mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5 ml chiếm tỷ lệ là 72,3%, trong khi mẫu tinh dịch có thể tích < 1,5 ml chiếm 27,7%.

Tỷ lệ mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5ml và < 1,5 ml ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu là gần giống nhau, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Bảng 3.13. So sánh độ pH tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng

pH / Nhóm	≥ 7,2		< 7,2		p
	n	%	n	%	
Nghiên cứu (n=452)	448	99,1	4	0,9	> 0,05
Chứng (n=101)	101	100	0	0	
Chung (n=553)	549	99,3	4	0,7	

Kết quả trình bày ở bảng 3.13 cho thấy:

pH tinh dịch ≥ 7,2 ở nhóm nghiên cứu là 99,1% và nhóm chứng là 100%. Số mẫu có pH tinh dịch < 7,2 rất ít và chỉ có ở nhóm nghiên cứu, không gặp ở nhóm chứng.

Bảng 3.14. So sánh độ nhớt tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng

Độ nhớt / Nhóm	Bình thường		Cao		Giảm		p
	n	%	n	%	n	%	
Nghiên cứu (n=452)	304	67,3	45	10	103	22,8	> 0,05
Chứng (n=101)	74	73,37	7	6,9	20	19,8	
Chung (n=553)	378	68,4	52	9,4	123	22,2	
OR (95%CI)	1		0,66 (0,29-1,52)		0,82 (0,48-1,41)		

Kết quả trình bày ở bảng 3.14 cho thấy:

Ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, độ nhớt tinh dịch ở cả 3 loại bình thường, cao và giảm đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Trong số 452 nam giới ở nhóm vô sinh có 340 người VT, 112 người TT và TTN. Kết quả so sánh một số chỉ số về chất lượng tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN như sau:

Bảng 3.15. So sánh một số chỉ số về chất lượng tinh trùng của nhóm chứng và nhóm TT/TTN

Nhóm / Chất lượng tinh trùng		Nhóm TT/TTN (n=112)		Nhóm chứng (n=101)		Chung (n=213)		p
		n	%	n	%	n	%	
TT di động nhanh	≥25%	6	7,4	75	92,6	81	100	< 0,001
	<25%	106	80,3	26	19,7	132	100	
Hình thái bình thường	≥30%	1	3,1	31	96,9	32	100	< 0,001
	<30%	111	61,3	70	38,7	181	100	
Tinh trùng sống	≥75%	44	32,1	93	67,9	137	100	< 0,001
	<75%	68	89,5	8	10,5	76	100	

Kết quả trình bày ở bảng 3.15 cho thấy:

- Tinh trùng di động nhanh (≥ 25%), hình thái tinh trùng bình thường (≥ 30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (≥ 75%) ở nhóm TT/TTN đều thấp hơn so với nhóm chứng, với p < 0,001.

- Tinh trùng di động (<25%), hình thái tinh trùng bình thường (<30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (<75%) ở nhóm TT/TTN đều cao hơn rõ rệt so với ở nhóm chứng, với p < 0,001.

Bảng 3.16. Tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN

Tốc độ di chuyển tinh trùng / Nhóm	≤ 30 (µm/s)		>30-40 (µm/s)		>40-50 (µm/s)		> 50 (µm/s)		Chung		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Chứng	14	13,86	38	37,63	32	31,68	17	16,83	101	52,6	< 0,001
TT/TTN	87	77,68	19	16,96	4	3,57	2	1, 79	112	47,4	
Tổng	101	47,42	57	26,76	36	16,9	19	8,92	213	100	

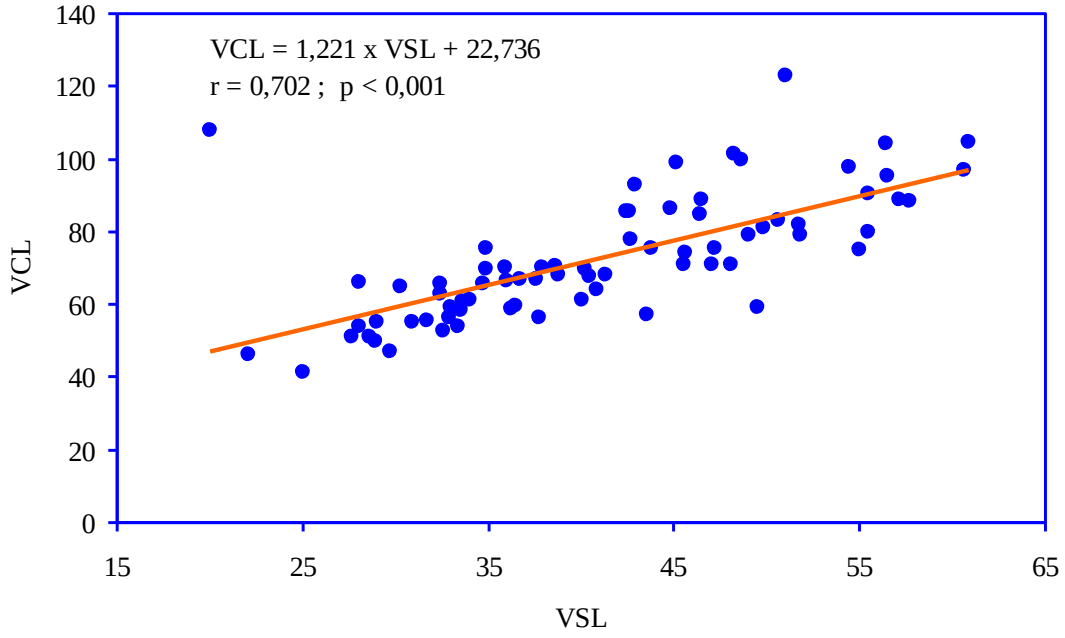
Kết quả ở bảng 3.16 cho thấy: Ở nhóm chứng: Tốc độ di chuyển của tinh trùng từ 30-40 µm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (37,63%), tiếp theo là tốc độ từ 40-45 µm/s (31,68%), tốc độ > 50 µm/s (16,83%), tốc độ ≤ 30 µm/s chiếm tỷ lệ thấp nhất (13,83%). Ở nhóm TT/TTN: Tốc độ di chuyển của tinh trùng ≤ 30 µm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (77,68%), tiếp theo lần lượt là tốc độ từ 30-40 µm/s (16,96%), tốc độ từ 40-50 µm/s (3,57%), thấp nhất là tốc độ > 50 µm/s (1,79%). Tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng cao hơn rõ rệt so với nhóm TT/TTN, với p< 0,001.

Bảng 3.17. Các dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN

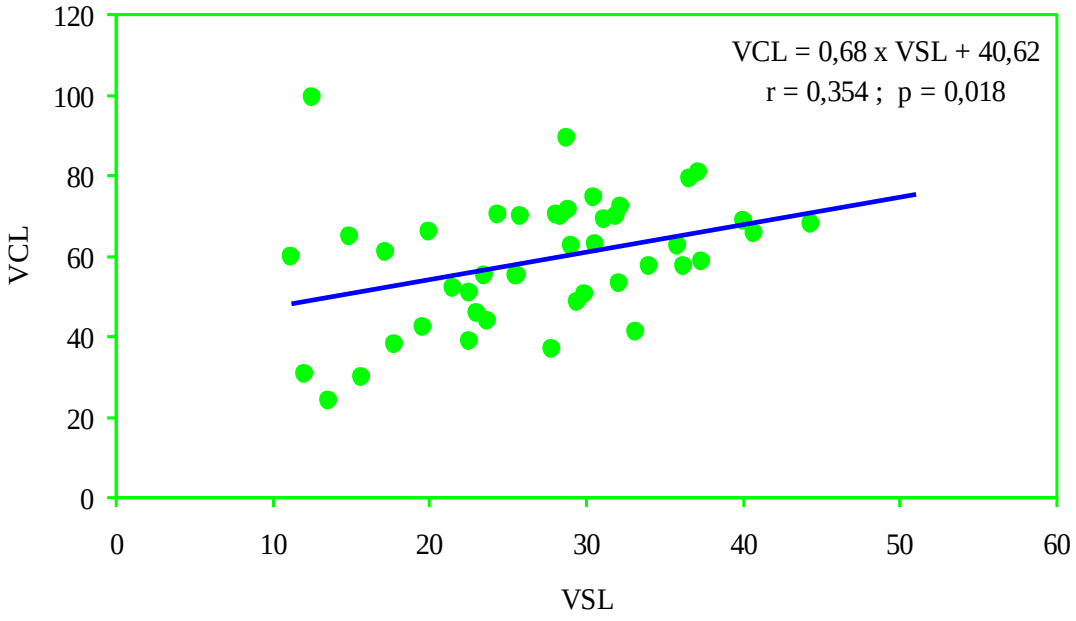
Dạng / Nhóm	Chứng (n=101)	TT/TTN (n=112)	p
	$\bar{x}$ ± SD	$\bar{x}$ ± SD	
VSL	40,36 ± 9,50	26,10 ± 8,71	< 0,001
VCL	72,73 ± 16,90	58,95 ± 15,76	< 0,001
VAP	50,19 ± 11,26	38,61 ± 12,63	< 0,001

Kết quả ở bảng 3.17 cho thấy: Tốc độ tuyến tính (VSL), tốc độ đường cong (VCL), tốc độ theo con đường trung vị (VAP) của nhóm chứng đều cao hơn rõ rệt so với nhóm TT/TTN, p < 0,001.

3.1.6. Tương quan tuyến tính giữa các dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng

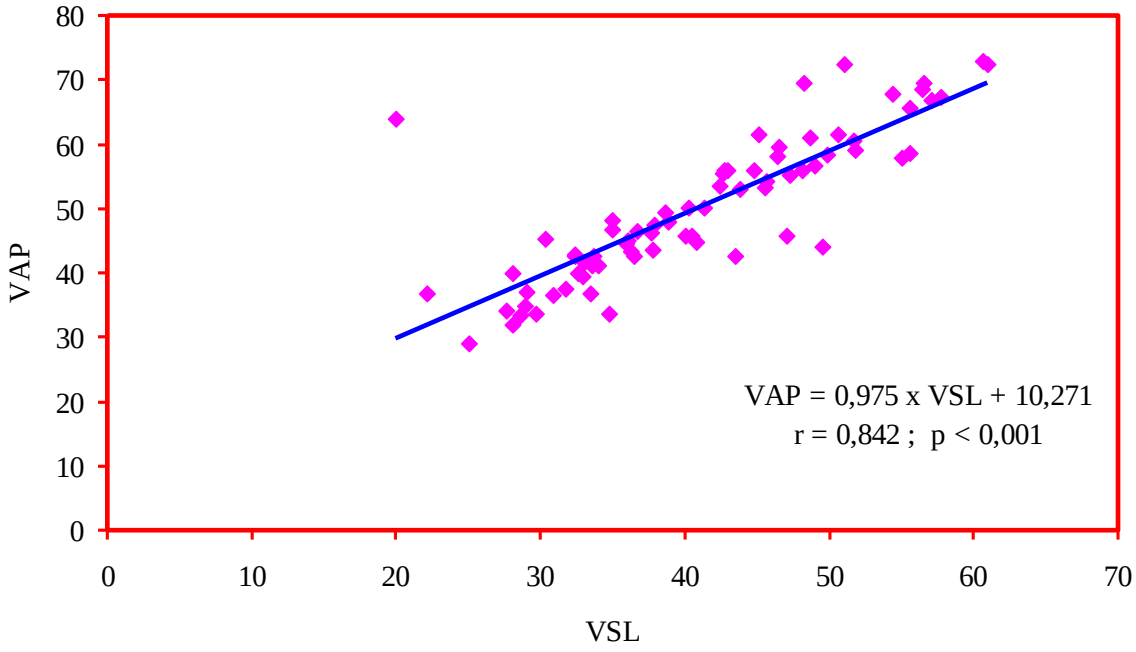


Đồ thị 3.1. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VCL nhóm chứng

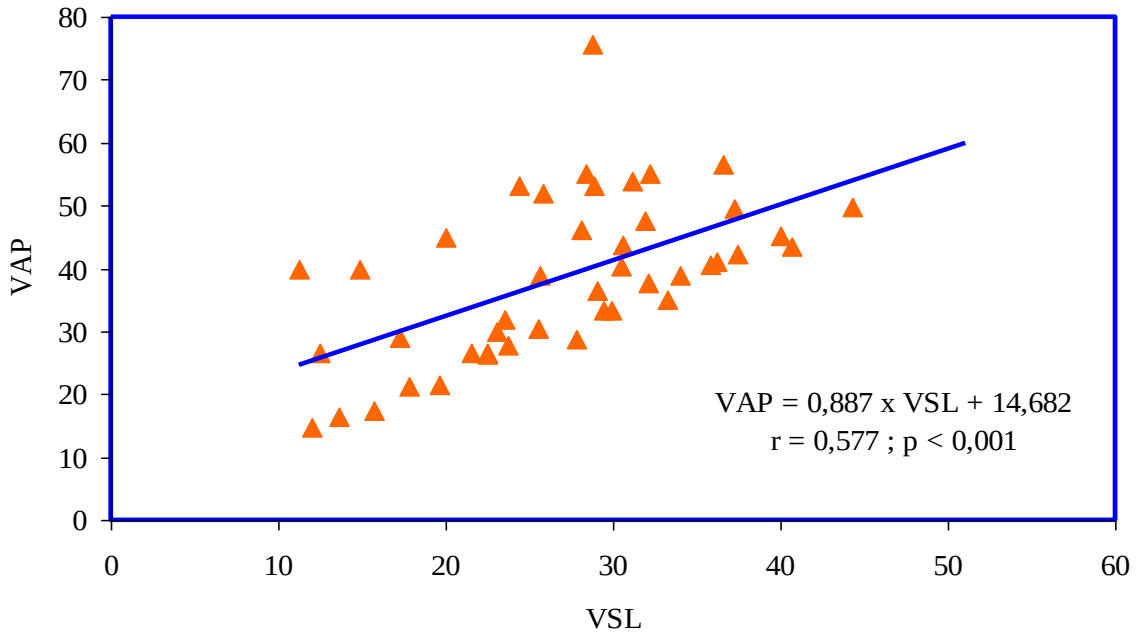


Đồ thị 3.2. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VCL nhóm TT/TTN

Kết quả ở đồ thị 3.1 và 3.2 cho thấy: VSL và VCL có tương quan tuyến tính thuận và rất chặt, có ý nghĩa với nhóm chứng r = 0,702 và p < 0,001, nhóm TT/TTN có r = 0,68 và p < 0,001.

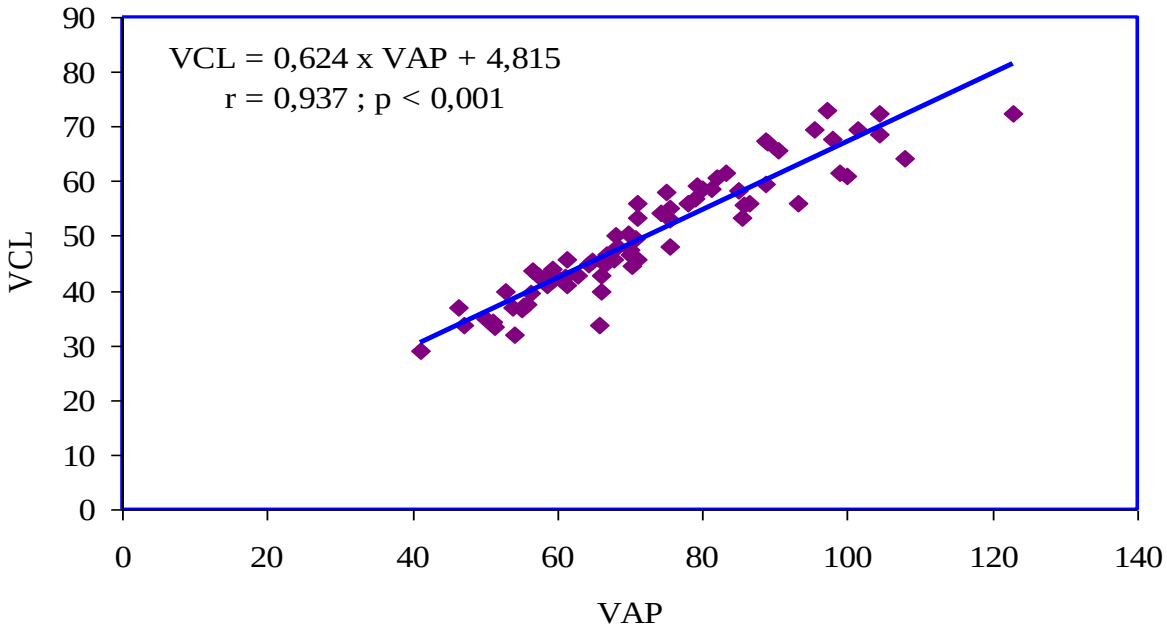


Đồ thị 3.3. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VAP nhóm chứng

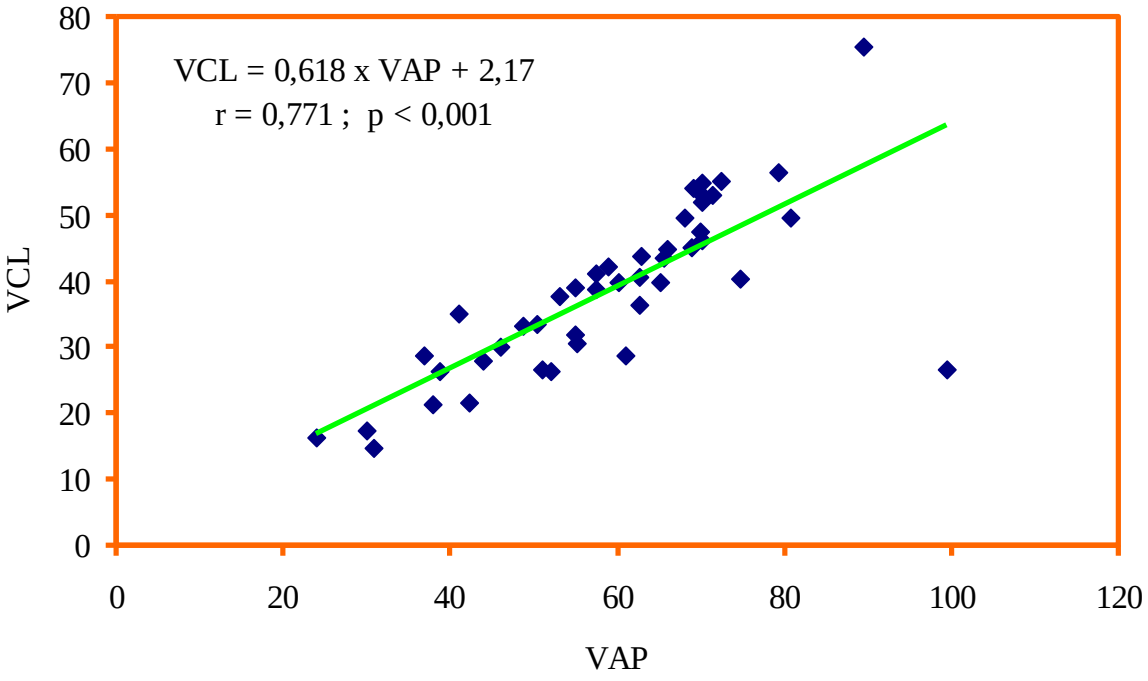


Đồ thị 3.4. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VAP nhóm TT/TTN

Kết quả ở đồ thị 3.3 và 3.4 cho thấy: VSL và VAP có tương quan tuyến tính thuận và rất chặt, có ý nghĩa với nhóm chứng r = 0,842 và p < 0,001, nhóm TT/TTN có r = 0,577 và p < 0,001.



Đồ thị 3.5. Tương quan tuyến tính giữa VCL và VAP nhóm chứng



Đồ thị 3.6. Tương quan tuyến tính giữa VCL và VAP nhóm TT/TTN

Kết quả ở đồ thị 3.5 và 3.6 cho thấy: VCL và VAP có tương quan tuyến tính thuận và rất chặt, có ý nghĩa với nhóm chứng r = 0,937 và p < 0,001, nhóm TT/TTN có r = 0,771 và p < 0,001.

Bảng 3.18. Tính chất di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN

Tính chất \ Nhóm	Chứng (n=101)	TT/TTN (n=112)	p
LIN $\bar{x} \pm$ SD (%)	57,70 ± 5,97	56,93 ± 11,23	p > 0,05
STR $\bar{x} \pm$ SD (%)	81,07 ± 4,68	83,80 ± 7,93	p > 0,05
WOB $\bar{x} \pm$ SD (%)	69,28 ± 5,23	65,43 ± 10,97	p > 0,05

Kết quả ở bảng 3.18 cho thấy: Tính tuyến tính (LIN), tính tiến thẳng (STR) ở nhóm chứng là 57,70 ± 5,97 và 81,07 ± 4,68 tương đương với ở nhóm TT/TTN là 56,93 ± 11,23 và 83,80 ± 7,93. Tính dao động (WOB) ở nhóm chứng là 69,28 ± 5,23 và ở nhóm TT/TTN là 65,43 ± 10,97. Sự khác biệt giữa các nhóm này chưa có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

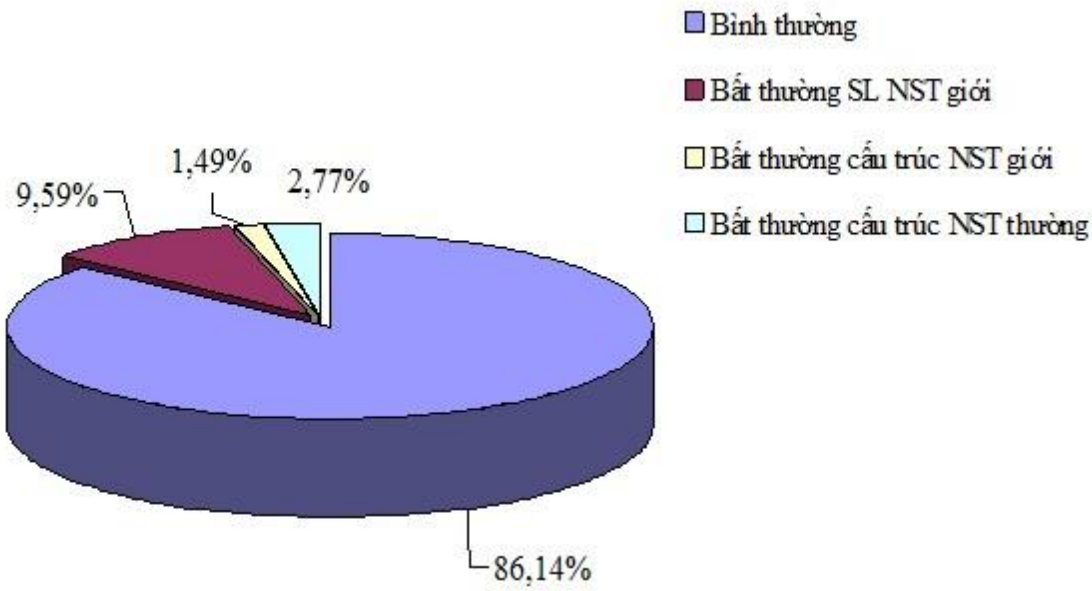
3.2. Kết quả phân tích NST ở nam giới VT và TTN

Tất cả **469** nam giới vô sinh do VT và TTN đã được xác định là không bị tắc nghẽn đường dẫn tinh đều được chỉ định xét nghiệm NST, lập karyotyp. Kết quả được trình bày ở các bảng, biểu đồ sau:

Bảng 3.19. Phân bố tỷ lệ karyotyp của những người VT và TTN

Karyotyp	Nhóm VT		Nhóm TTN		Chung		p
	n	%	n	%	n	%	
Bình thường	295	83,3	109	94,8	404	86,1	p < 0,01
Bất thường	59	16,7	6	5,2	65	13,9	
Tổng	354	75,5	115	24,5	469	100	

Kết quả ở bảng 3.19 cho thấy: Trong số 469 người, phát hiện 65/469 (13,9%) người VT, TTN có bất thường NST. Bất thường NST ở nhóm VT là 59/295 (16,7%) cao hơn ở nhóm TTN là 6/109 (5,2%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.



Biểu đồ 3.3. Phân bố nhóm karyotyp ở người nam vô sinh

Kết quả trình bày ở biểu đồ 3.3 cho thấy: Bất thường về số lượng NST giới tính chiếm tỷ lệ cao nhất là 9,59%, tiếp theo là bất thường cấu trúc NST thường 2,77%, bất thường về cấu trúc NST giới 1,49%, không có trường hợp bất thường số lượng NST thường.

Bảng 3.20. Phân bố các kiểu karyotyp bất thường ở nam giới VT và TTN

Kiểu bất thường		Karyotyp	Số lượng		
			VT	TTN	Tổng
Bất thường số lượng NST	NST giới tính	47,XXY	39	0	39
		47,XY,+i(Xq)	1	0	1
		47,XYY	1	1	2
		46,XX	2	0	2
		45,X	1	0	1
	NST thường		0	0	0
Bất thường cấu trúc NST	NST thường	46,XY,1qh+(q11q12)	1	1	2
		46,XY,inv(9)(p13;q13)	1	0	1
		46,XY,inv(9)(p11;q13)	1	1	2
		46,XY,inv(9)(p21;q21)	1	0	1
		46,XY,inv(9)	2	0	2
		46,XY(99%)/46,XY,inv(7)(p12;q32)(1%)	0	1	1
		46,XY,t(13q14q)	0	1	1
		46,XY,t(12q13q)	1	0	1
		46,XY,t(20p22p)	0	1	1
		46,XY,ins(2;3)(p11;q11.2q27)	1	0	1
	NST giới tính	46,XY,delY(80%)/45,X(20%)	1	0	1
		46,Y,t(X;2)(p22.3p13)	1	0	1
		46,X,del(Yq)	5	0	5
Tổng số			**59**	**6**	**65**

Kết quả ở bảng 3.20 cho thấy: Có 65 nam giới có bất thường về số lượng và cấu trúc NST. Trong đó:

- Các bất thường số lượng NST giới tính: Phát hiện được một số dạng, trong đó hội chứng Klinefelter 47,XXY chiếm tỷ lệ cao nhất 39/65 (60%). Tất cả nam giới hội chứng Klinefelter 47,XXY là thể thuần và đều VT.

- Các bất thường cấu trúc NST gặp nhiều dạng: chuyển đoạn, lặp đoạn, đảo đoạn và mất đoạn.

- Đảo đoạn NST chủ yếu là đảo đoạn NST số 9 chiếm tỷ lệ 6/65 (9,23%), xảy ra ở cả nam giới VT (5) và TTN (1).

- Mất đoạn nhánh dài NST Y chiếm tỷ lệ 5/65 (7,7%). Cả 5 trường hợp mất đoạn nhánh dài NST Y đều VT.

- Chuyển đoạn NST xảy ra ở cả nam giới VT và TTN.

3.3. Kết quả phát hiện mất đoạn AZFabcd trên NST Y

Tiến hành phân tích ADN nhằm phát hiện mất đoạn ở 4 vùng AZFabcd bằng kỹ thuật multiplex PCR với 10 cặp mồi trên **469** nam giới VT và TTN. Kết quả được trình bày trong các bảng biểu sau:

Bảng 3.21. Đột biến mất đoạn nhỏ NST Y ở nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm VT		Nhóm TTN		Chung		p
	n	%	n	%	n	%	
Bình thường	322	91,0	98	85,2	420	89,6	p > 0,05
Mất đoạn	32	9,0	17	14,8	49	10,4	
Tổng	354	75,5	115	24,5	469	100	

Kết quả ở bảng 3.21 cho thấy:

- Ở những nam giới VT, TTN có tỷ lệ mất đoạn gen NST Y là 10,4%; không có mất đoạn gen là 89,6%.

- Trong những nam giới có mất đoạn gen: Mất đoạn xảy ra ở nhóm VT là 32/354 (9%), ở nhóm TTN là 17/115 (14,8%). Sự khác biệt giữa nhóm TTN và nhóm VT chưa có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

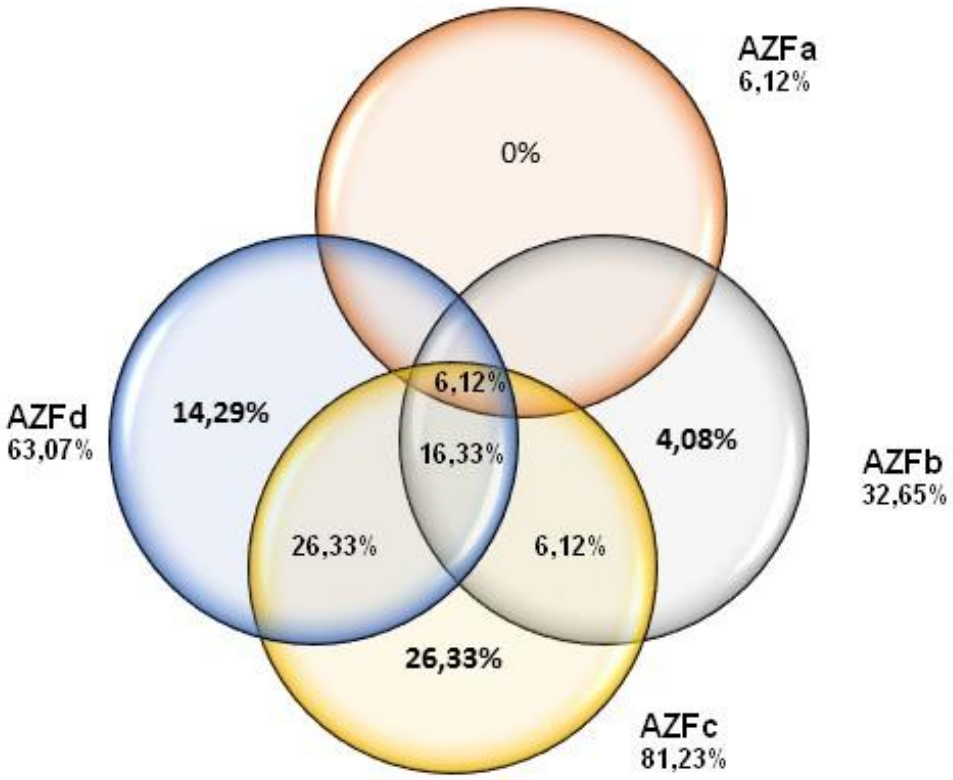
Bảng 3.22. Vị trí mất đoạn gen trên NST Y ở nam giới VT và TTN

Vị trí mất đoạn	Nhóm VT	Nhóm TTN	Tổng	
			n	%
AZFa	0	0	0	0
AZFb	2	0	2	4,08
AZFc	5	8	13	26,33
AZFd	2	5	7	14,29
AZFb+c	3	0	3	6,12
AZFc+d	9	4	13	26,33
AZFb+c+d	8	0	8	16,33
AZFa+b hoặc AZFa+b+d	0	0	0	0
AZFa+c hoặc AZFa+c+d	0	0	0	0
AZFa+b+c+d	3	0	3	6,12
Tổng n (%)	**32 (65,3%)**	**17 (34,7%)**	**49**	**100**

Kết quả ở bảng 3.22 cho thấy:

Trong số 49 nam giới bị mất đoạn gen AZFabcd trên NST Y, nhóm VT chiếm 32/49 (65,3%), nhóm TTN chiếm 17/49 (34,7%).

Trong đó: Mất đoạn AZFc và AZFc+d chiếm tỷ lệ cao nhất: đều là 13/49 (26,33%), tiếp theo là AZFb+c+d: 8/49 (16,33%), AZFd: 7/49 (14,29 %), AZFa+b+c+d và AZFb+c: 3/49 (6,12 %), AZFb: 2/49 (4,08%).



Biểu đồ 3.4. Sự phân bố các vùng AZFabcd bị mất đoạn

Kết quả ở biểu đồ 3.4 cho thấy: Các mất đoạn ở đây gồm có các dạng mất đoạn đơn thuần hoặc kết hợp. Trong đó:

- Đối với mất đoạn đơn thuần: Mất đoạn AZFc đơn thuần chiếm tỷ lệ cao nhất là 26,33%. Mất đoạn AZFd đơn thuần chiếm tỷ lệ cao thứ hai là 14,29%. Tiếp theo là mất đoạn AZFb đơn thuần là 4,08%. Không thấy mất đoạn AZFa đơn thuần.

- Đối với mất đoạn kết hợp: Mất đoạn kết hợp và AZFc+d chiếm tỷ lệ cao nhất là 26,33%. Mất đoạn AZFb+c chiếm tỷ lệ 6,12%. Mất đoạn AZFb+c+d là 16,33%. Cuối cùng là mất đoạn kết hợp AZFa+b+c+d là 6,12 %.

- Mất đoạn AZFd có liên quan đến mất đoạn ở tất cả các vùng AZFabc. Mất đoạn AZFd kèm theo mất đoạn AZFa+b+c là 6,12%; hoặc kèm theo mất đoạn AZFb+c là 16,33%; hoặc kèm theo mất đoạn AZFc là 26,33%.

Bảng 3.23. Phân bố mất đoạn AZF theo locus gen

AZF	Vị trí	Số lần gen bị mất (n=49)	Tỷ lệ (%)
AZFa	sY84	4/49	8,16
	sY86	3/49	6,12
AZFb	sY127	15/49	30,61
	sY134	16/49	32,65
AZFc	sY254	41/49	83,67
	sY255	40/49	81,63
AZFd	sY152	32/49	65,31
	BPY2	21/49	42,86

Kết quả ở bảng 3.23 cho thấy:

Trong các vị trí gen bị mất, mất gen sY254 và sY255 vùng AZFc chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 41/49 (83,67%) và 40/49 (81,63%); tiếp theo lần lượt và các gen vùng AZFd: sY152 là 32/49 (65,31%) và BPY2 là 21/49 (42,86%); các gen vùng AZFb: sY127 là 15/49 (30,61%), sY134 là 16/49 (32,65%), các gen vùng AZFa chiếm tỷ lệ thấp nhất: sY84 là 4/49 (8,16%) và sY86 là 3/49 (6,12%).

Bảng 3.24. Tỷ lệ mất đoạn của từng vị trí STS trên tổng số vị trí mất đoạn

Vị trí	Số lần mất đoạn (n=469)	Tỷ lệ % /(172 STS)
sY84	4	2,33
sY86	3	1,74
sY127	15	8,72
sY134	16	9,30
sY254	41	23,84
sY255	40	23,26
sY152	32	18,60
BPY2	21	12,21
Tổng	**172**	**100%**

Kết quả trình bày ở bảng 3.24 cho thấy:

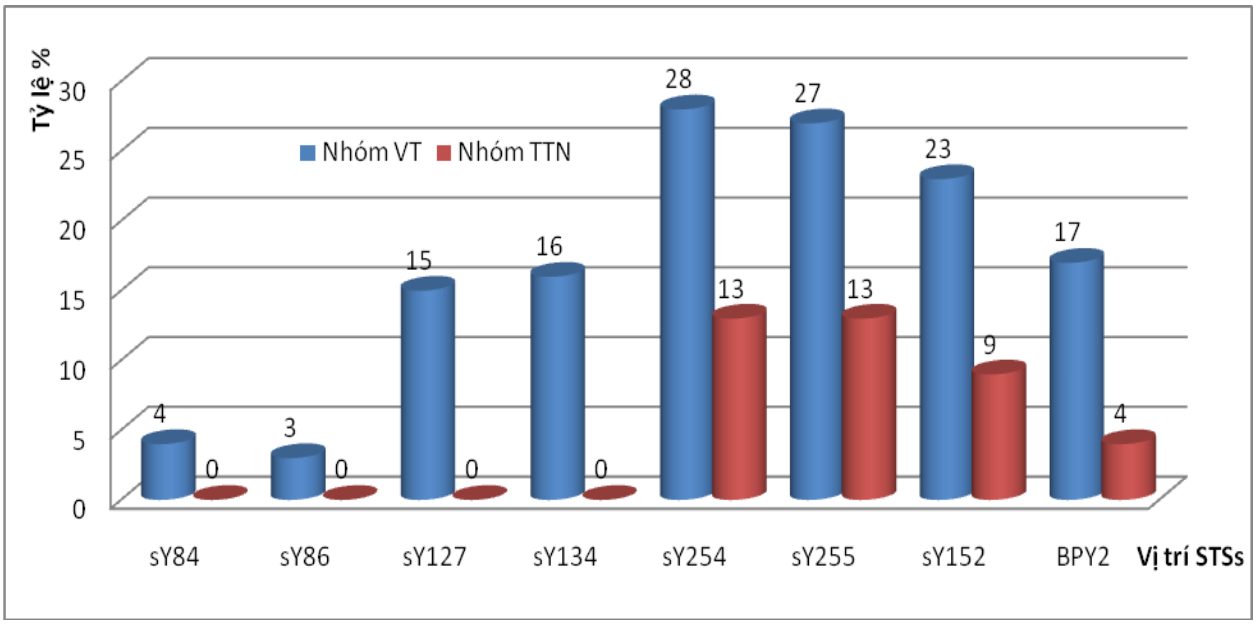
Trong số những người bị mất đoạn AZFabcd có tổng số 172 vị trí STS bị mất đoạn. Trong đó:

- Mất đoạn ở vị trí sY254, sY255 vùng AZFc chiếm tỷ lệ cao nhất là 23,84%, và 23,26%;

- Mất đoạn ở vị trí sY152 và BPY2 vùng AZFd chiếm tỷ lệ cao thứ hai là 18,6 % và 12,21%;

- Mất đoạn ở vị trí sY127 và sY134 vùng AZFb chiếm tỷ lệ cao thứ ba là 8,72% và 9,3%;

- Cuối cùng là các vị trí sY84, sY86 vùng AZFa chiếm tỷ lệ thấp nhất là 2,33% và 1,74%.



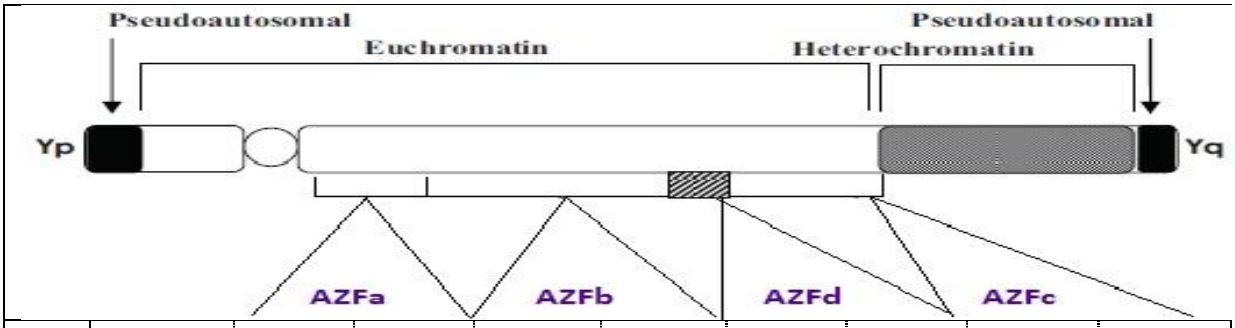
Biểu đồ 3.5. Tỷ lệ mất đoạn tại các vị trí STS ở hai nhóm VT và TTN

Kết quả trình bày ở biểu đồ 3.5 cho thấy:

- Ở nhóm VT, các vị trí mất đoạn xuất hiện ở tất cả các STS. Trong khi ở nhóm TTN, các vị trí mất đoạn không xuất hiện ở các STS như sY84, sY86, sY127 và sY134, mà chỉ xuất hiện mất đoạn ở vị trí sY254, sY255, sY152 và BPY2.

Tỷ lệ mất đoạn ở các vị trí sY254, sY255, sY152 và BPY2 giữa nhóm TTN/VT lần lượt là 13/28; 13/27; 9/23 và 4/17.

Bảng 3.25. Sự phân bố vị trí mất đoạn AZF trên NST Y ở nhóm NC



TT	Mã BN	sY84	sY86	sY127	sY134	sY152	BPY2	sY254	sY255
1	05.12	+	+	+	+	+	+	-	-
2	27.12	+	+	+	+	-	+	-	-
3	30.12	+	+	+	+	-	-	+	+
4	31.12	+	+	+	+	+	+	-	-
5	44.12	+	+	-	+	+	+	+	+
6	62.12	+	+	-	-	-	+	-	-
7	71.12	-	-	-	-	-	-	-	-
8	87.12	+	+	+	+	-	+	-	-
9	109.12	+	+	+	+	-	-	-	-
10	113.12	+	+	+	+	-	+	+	+
11	116.12	+	+	+	+	-	-	-	-
12	125.12	+	+	-	-	+	+	+	+
13	126.12	+	+	-	-	-	-	-	-
14	129.12	+	+	+	+	-	+	+	+
15	140.12	+	+	+	+	-	+	+	+
16	143.12	+	+	-	-	-	-	-	-
17	145.12	-	+	-	-	-	-	-	-
18	148.12	+	+	+	+	-	-	-	-
19	193.12	+	+	-	-	-	+	-	-
20	204.12	-	-	-	-	-	-	-	-
21	220.12	+	+	-	-	-	-	-	-
22	226.12	+	+	+	+	-	+	+	+

23	228.12	+	+	+	+	+	+	-	-
24	21.13	+	+	+	+	-	+	+	+
25	42.13	+	+	+	+	+	+	-	-
26	61.13	+	+	+	+	-	-	-	-
27	70.13	-	-	-	-	-	-	-	-
28	73.13	+	+	+	+	-	+	+	+
29	81.13	+	+	+	+	-	-	-	-
30	85.13	+	+	-	-	-	-	-	-
31	113.13	+	+	+	+	-	+	-	-
32	117.13	+	+	+	+	+	+	-	-
33	134.13	+	+	+	+	+	+	-	-
34	149.13	+	+	+	+	-	+	-	-
35	151.13	+	+	+	+	+	+	-	-
36	172.13	+	+	+	+	+	+	-	-
37	173.13	+	+	+	+	+	+	-	-
38	184.13	+	+	+	+	+	+	-	-
39	188.13	+	+	-	-	+	+	-	-
40	189.13	+	+	-	-	+	+	-	-
41	06.14	+	+	-	-	+	+	-	-
42	20.14	+	+	+	+	+	+	-	-
43	39.14	+	+	+	+	-	-	-	-
44	47.14	+	+	-	-	-	-	-	-
45	52.14	+	+	+	+	+	+	-	-
46	54.14	+	+	+	+	-	-	-	-
47	59.14	+	+	+	+	-	+	-	-
48	72.14	+	+	+	+	+	+	-	+
49	75.14	+	+	+	+	-	-	-	-

Ghi chú:

+ Xuất hiện gen vùng AZF; - Không xuất hiện gen vùng AZF

3.4. Liên quan giữa bất thường NST và mất đoạn gen ở nam giới VT và TTN

Bảng 3.26. Phân bố đột biến NST và đột biến gen ở nam giới VT và TTN

Nhóm VT, TTN / Kiểu NST, ADN	VT	TTN	Tổng	p
Không đột biến NST, không đột biến gen	271	92	363	p < 0,05
Đột biến NST, không đột biến gen	51	6	57	
Đột biến NST và đột biến gen	8	0	8	
Không đột biến NST, đột biến gen	24	17	41	
Tổng	354	115	469	

Kết quả ở bảng 3.26 cho thấy: Số lượng nam giới VT đều nhiều hơn nam giới TTN ở tất cả các nhóm đột biến NST, đột biến gen hoặc vừa đột biến NST vừa đột biến gen, với p < 0,05.

Nhóm vừa đột biến NST và đột biến gen chỉ có ở nhóm VT, không thấy ở nhóm TTN.

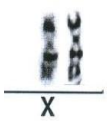
Bảng 3.27. Liên quan giữa mất đoạn AZF và bất thường NST

TT	Mã số BN	Đặc điểm TT	Bất thường NST	Gen trên NST Y
1	71.12	VT	46,XX	AZFa+b+c+d (-); SRY (+)
2	143.12	VT	46,X,del(Yq)	Mất AZFb+c+d
3	145.12	VT	46,X,del(Yq)	sY84, AZFb+c+d (-); sY86(+)
4	193.12	VT	46,X,del(Yq)	Mất AZFb+c+d
5	204.12	VT	46,X,del(Yq)	Mất AZFa+b+c+d
6	85.13	VT	46,XY,delY(80%),45,X(20%)	Mất AZFb+c+d
7	06.14	VT	46,X,del(Yq)	Mất AZFb+c
8	47.14	VT	45,X	AZFb+c+d (-); AZFa (+), SRY(+)

Kết quả trình bày ở bảng 3.27 cho thấy:

Có 8 trường hợp vừa có bất thường NST và mất đoạn AZF. Tất cả những người này đều VT và các bất thường ở đây đều là bất thường ở NST giới tính.

Bảng 3.28. Một số hình ảnh NST Y ở nam giới vô sinh và biểu hiện gen vùng trên NST Y

Mã số BN	**71.12**	**47.14**	**204.12**	**06.14**	**01.14**
Karyotyp	46,XX	45,X	46,X,del(Yq)	46,X,del(Yq)	46,XY
Cặp NST giới tính					
Gen vùng AZF	AZFabcd (-)	AZFa (+); AZFbcd (-)	AZFbcd (-)	AZFbc (-)	AZFabcd (+)
Gen SRY	SRY (+)	SRY (+)	SRY (+)	SRY (+)	SRY (+)

Kết quả trình bày ở bảng trên cho thấy:

- Nam giới có karyotyp 46,XX không có NST Y nhưng SRY (+), kết quả xét nghiệm ADN không phát hiện thấy AZFabcd.

- Nam giới có karyotyp 45,X không có thấy NST Y, kết quả xét nghiệm ADN không có mặt AZFbcd nhưng AZFa (+), SRY (+).

- Những nam giới có karyotyp 46,X,del(Yq) trên karyotyp hình ảnh NST Y rất nhỏ, mức độ nhỏ của NST Y thường tương ứng với kết quả xét nghiệm ADN có mất một hoặc nhiều vùng AZF trên nhánh dài NST Y.

3.5. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền

Tổng số 95 nam giới VT và TTN có bất thường NST và mất đoạn AZF nằm trong số 393 người được khám lâm sàng và xét nghiệm tinh dịch đồ. Do vậy, chúng tôi so sánh đặc điểm tinh dịch đồ của 95 người này với nhóm chứng ban đầu là 101 người.

Bảng 3.29. So sánh thể tích tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Thể tích / Nhóm	≥ 1,5 ml		< 1,5 ml		OR (95% CI)	p
	n	%	n	%		
Bất thường di truyền (n=95)	64	67,37	31	32,63	0,79 (0,41-1,53)	> 0,05
Chứng (n=101)	73	72,3	28	27,7		

Kết quả trình bày ở bảng 3.29 cho thấy:

Tỷ lệ mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5 ml ở nhóm nghiên cứu là 67,37% và nhóm chứng là 72,3%, đều cao hơn mức thể tích < 1,5 ml, tương ứng ở nhóm nghiên cứu là 32,63% và nhóm chứng là 27,7%. Tỷ lệ mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5ml ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu là gần giống nhau, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Bảng 3.30. So sánh độ pH tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

pH / Nhóm	≥ 7,2		< 7,2		p
	n	%	n	%	
Bất thường di truyền (n=95)	92	96,84	3	3,16	> 0,05
Chứng (n=101)	101	100	0	0	

Kết quả trình bày ở bảng 3.30 cho thấy: pH tinh dịch ≥ 7,2 ở nhóm nghiên cứu là 96,84% và nhóm chứng là 100%. Số mẫu có pH tinh dịch < 7,2 rất ít và chỉ có ở nhóm nghiên cứu (3,16%), không gặp ở nhóm chứng.

Bảng 3.31. So sánh độ nhớt tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Độ nhớt / Nhóm	Bình thường		Cao		Giảm		p
	n	%	n	%	n	%	
Bất thường di truyền (n=95)	60	63,16	10	10,52	25	26,32	> 0,05
Chứng (n=101)	74	73,3	7	6,9	20	19,8	
OR (95%CI)	1,76 (0,56 – 5,78)		1		1,14 (0,32 – 4,22)		

Kết quả trình bày ở bảng 3.31 cho thấy: Ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, độ nhớt tinh dịch ở cả 3 loại bình thường, cao và giảm đều không có sự khác biệt, p > 0,05.

Bảng 3.32. So sánh chất lượng tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Chất lượng tinh trùng / Nhóm		Nhóm bất thường di truyền (n=95)		Nhóm chứng (n=101)		p
		n	%	n	%	
TT di động nhanh	≥ 25%	5	8,3	75	92,6	< 0,001
	< 25%	55	91,7	26	19,7	
Hình thái bình thường	≥ 30%	1	1,7	31	96,9	< 0,001
	< 30%	59	98,3	70	38,7	
Tinh trùng sống	≥ 75%	34	56,7	93	67,9	< 0,001
	< 75%	26	43,3	8	10,5	

Kết quả trình bày ở bảng 3.32 cho thấy: Tinh trùng di động nhanh (≥ 25%), hình thái tinh trùng bình thường (≥ 30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (≥ 75%) ở nhóm TTN đều thấp hơn so với nhóm chứng với p < 0,001.

Bảng 3.33. Tốc độ di chuyển của tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Tốc độ di chuyển / Nhóm	≤ 30 (µm/s)		>30-40 (µm/s)		>40-50 (µm/s)		> 50 (µm/s)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Bất thường di truyền (n=95)	75	78,95	15	15,79	3	3,16	2	2,1	< 0,001
Chứng (n=101)	14	13,86	38	37,63	32	31,68	17	16,83	

Kết quả ở bảng 3.33 cho thấy:

- Ở nhóm chứng: Tốc độ di chuyển của tinh trùng từ 30-40 µm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (37,63%), tiếp theo là tốc độ từ 40-45 µm/s (31,68%), tốc độ trên 50 µm/s (16,83%), tốc độ ≤ 30 µm/s chiếm tỷ lệ thấp nhất (13,86%).

- Ở nhóm bất thường di truyền: Tốc độ di chuyển của tinh trùng ≤ 30 µm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (78,95%), tiếp theo lần lượt là tốc độ từ 30-40 µm/s (15,79%), tốc độ từ 40-50 µm/s (3,16%), cuối cùng là tốc độ > 50 µm/s (2,1%).

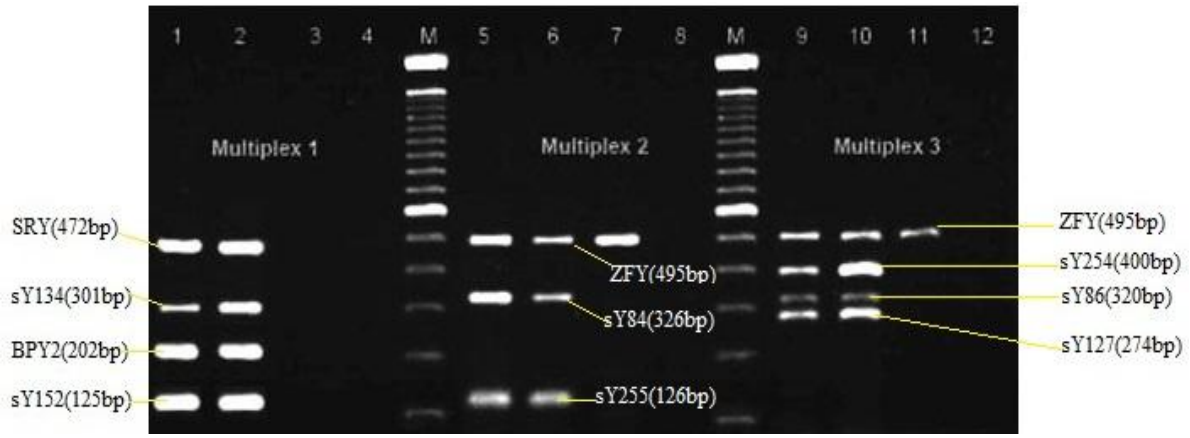
- Ở nhóm tinh trùng di động chậm ≤ 30 µm/s thì tỷ lệ ở nhóm chứng thấp hơn rõ rệt so với nhóm bất thường di truyền. Trong khi ở các nhóm tinh trùng di động nhanh 30-40 µm/s; 40-50 µm/s và > 50 µm/s thì tỷ lệ ở nhóm chứng lại cao hơn rõ rệt so với nhóm bất thường di truyền, sự khác biệt giữa các nhóm này có ý nghĩa thống kê, với p < 0,001.

Bảng 3.34. Liên quan giữa mật độ tinh trùng với bất thường NST và mất đoạn gen

NST, ADN / Tinh trùng	NST		ADN	
	Bất thường	Bình thường	Bất thường	Bình thường
Vô tinh	59	295	32	322
Thiểu tinh nặng	6	109	17	98
Tổng số	65	404	49	420
OR (95%CI)	3,63 (1,51 – 10,57)		0,57 (0,29 - 1,15)	

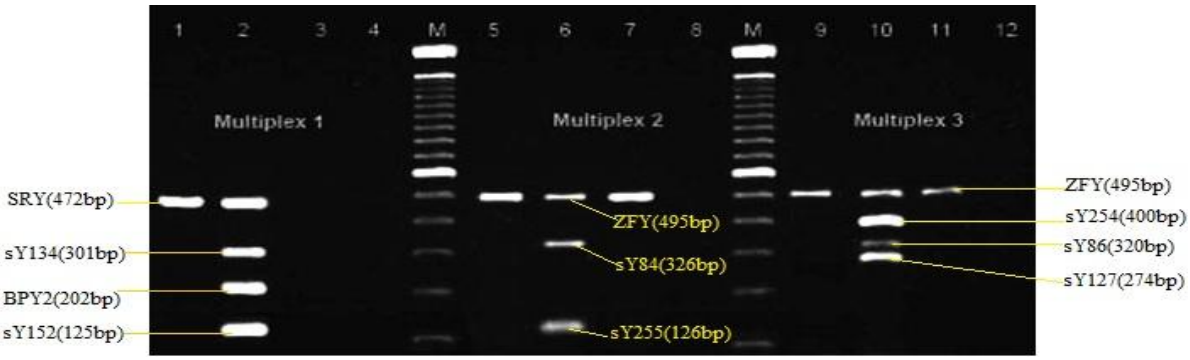
Kết quả trình bày ở bảng 3.34 cho thấy: Nam giới VT có nguy cơ bất thường NST cao gấp 3,63 lần và nguy cơ bất thường ADN bằng 0,57 lần so với người TTN.

MỘT SỐ HÌNH ẢNH ĐIỆN DI SẢN PHẨM PCR PHÁT HIỆN MẤT ĐOẠN GEN TRÊN NST Y



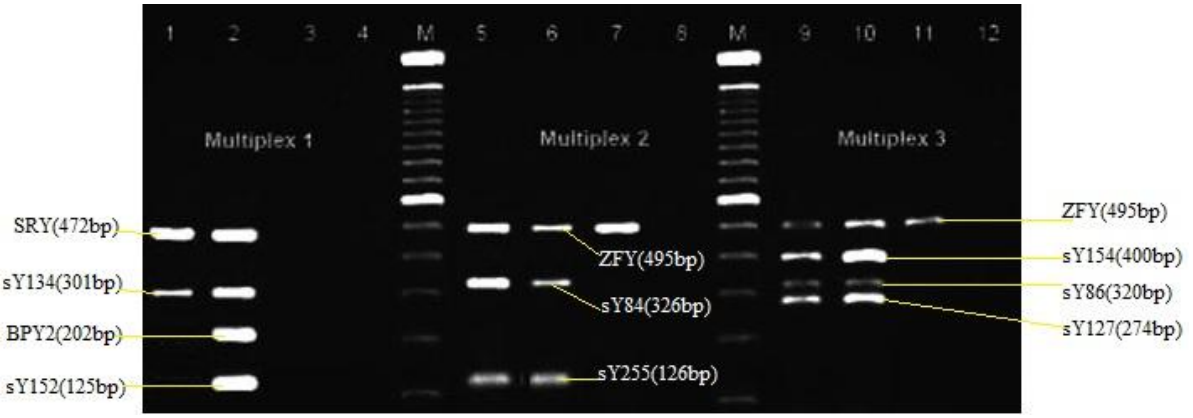
Ảnh 3.1. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam bình thường

Ghi chú: M: marker; giếng 1, 5, 9: bệnh nhân; giếng 2, 6, 10: chứng nam; giếng 3, 7, 11: chứng nữ; giếng 4, 8, 12: chứng âm.



Ảnh 3.2. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam mất đoạn AZFabcd

Ghi chú: M: marker; giếng 1, 5, 9: bệnh nhân mất đoạn AZFa+b+c+d; giếng 2, 6, 10: chứng nam; giếng 3, 7, 11: chứng nữ; giếng 4, 8, 12: chứng âm.



Ảnh 3.3. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam mất đoạn AZFd tại vị trí BPY2 và sY152

Ghi chú: M: marker; giếng 1, 5, 9: bệnh nhân (mất đoạn AZFd ở vị trí BPY2) và sY152; giếng 2, 6, 10: chứng nam; giếng 3, 7, 11: chứng nữ; giếng 4, 8, 12: chứng âm.

Chương 4
BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm tuổi, nghề nghiệp, tiền sử, lâm sàng, tinh dịch ở nam giới vô sinh

4.1.1. Đặc điểm tuổi ở các đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: Nam giới vô sinh có tuổi thấp nhất là 20 và cao nhất là 55, độ tuổi trung bình là 31,98 ± 5,71. Theo PNQ Duy và cs, tuổi càng cao thì số lượng tinh trùng càng giảm, nên những người lớn tuổi thường TTN hơn là VT [141].

Theo nghiên cứu của nhiều tác giả thì độ tuổi trung bình của nam giới vô sinh thường khoảng 30 - 35. Punam Nagvenkar nghiên cứu 88 bệnh nhân vô sinh có tuổi từ 26 đến 50, tuổi trung bình là 34,5 [57]. John Pryor và cs nghiên cứu trên 200 bệnh nhân nam vô sinh có tuổi từ 24 đến 52, tuổi trung bình là 34 [90]. Robert và cs nghiên cứu trên 42 bệnh nhân VT và TTN có tuổi từ 24 đến 53, tuổi trung bình là 34 [157]. Nghiên cứu của Comhair và cs lại cho thấy tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân vô sinh do VT và TTN là 31,1 [158].

Độ tuổi của đối tượng nghiên cứu của chúng tôi tương tự như của Comhair và cs nhưng thấp hơn các tác giả khác đã nghiên cứu trước có thể do tuổi kết hôn ở Việt Nam nhìn chung thấp hơn ở các nước, đặc biệt các nước châu Âu; đồng thời có lẽ ngày nay việc quan tâm đến sức khỏe người dân đã tốt hơn trước, vì vậy họ đã đi khám sớm hơn. Ở châu Âu độ tuổi xây dựng gia đình của nam giới thường cao hơn so với ở Việt Nam, do đó độ tuổi trung bình của nam giới đi khám và điều trị vô sinh cũng cao hơn.

Ở Việt Nam, nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phấn cho thấy tỷ lệ TNSS chiếm tỷ lệ cao ở nhóm tuổi 30-39 [33]. Trần Thị Trung Chiến và cs (2002) lại cho thấy tuổi trung bình của người

chồng là 35,74 ± 6,7 [8]. Mặc dù, ở Việt Nam cả nam và nữ xu hướng kết hôn càng ngày càng muộn. Tuy nhiên, độ tuổi thăm khám vô sinh trong nghiên cứu của chúng tôi đã giảm so với trong nghiên cứu của Trần Thị Trung Chiến chứng tỏ nhu cầu xã hội ngày càng phát triển, sức khỏe sinh sản ngày càng được quan tâm, nhận thức về chăm sóc sức khỏe sinh sản của các cặp vợ chồng đã được cải thiện rõ, vì thế họ đi khám và điều trị sớm hơn so với trước đây.

Như vậy, tuổi của nam giới vô sinh có liên quan đến độ tuổi xây dựng gia đình, tuổi càng cao có ảnh hưởng đến số lượng và chất lượng tinh trùng nên những nam giới vô sinh đi khám, xét nghiệm và được tư vấn di truyền càng sớm càng tốt.

4.1.2. Về nghề nghiệp

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện tại Bộ môn Y sinh học - Di truyền, Đại học Y Hà Nội, vì vậy các đối tượng đến khám và xét nghiệm chủ yếu là người khu vực Hà Nội và các tỉnh Miền Bắc xung quanh Hà Nội. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm nam giới là cán bộ viên chức chiếm nhiều nhất là 40,3 %, tiếp theo là nhóm lao động tự do (16,1%), nhóm kinh doanh (15,2%), nhóm công nhân chiếm (10,3%), nhóm làm ruộng (7,1%), nhóm lái xe (6,3%) cuối cùng là nhóm bộ đội (4,7%). Sự khác biệt nghề nghiệp giữa nhóm vô sinh nam và nhóm chứng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bái (2002): có 38,5% đối tượng xét nghiệm vô sinh nam là công chức, 23,2% là công nhân và lái xe, 10,6% là nông dân, 7,5% là lao động và 20,2% là nghề tự do [158]. Kết quả nghiên cứu của Hà Xuân Anh cũng cho thấy nhóm cán bộ viên chức chiếm tỷ lệ cao nhất (39,4%), lao động công nghiệp (35,5%), nông dân (9,2%), viên chức quân sự (9%) và nghề tự do (6,9%) [160]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy có 4,88% người là lái xe. Tỷ lệ này là không cao so với một số nghiên cứu khác. Nghiên cứu

của PNQ Duy và cs (2001) tại Bệnh viện Phụ sản Từ Dũ cho thấy nhóm tài xế đường dài có tỷ lệ bất thường về tinh trùng cao nhất [141]. Một số tác giả khác cũng thấy nhóm nguy cơ cao vô sinh là lái xe tải. Theo các tác giả này, xe tải có bộ phận xả nóng ở phía trước dễ tác động trực tiếp vào tinh hoàn gây tác động nhiệt độ cao và gây vô sinh nam. Tuy nhiên, rất có thể ngày nay xe tải cũng được thiết kế có điều hòa nhiệt độ, đồng thời có một số xe, bộ phận xả nóng đã được thiết kế không ở phía trước lái xe để đỡ ảnh hưởng đến lái xe hơn nên số lượng người làm nghề lái xe tải, lái xe đường dài có thể ngày càng tăng nhưng số lái xe bị vô sinh lại giảm hơn so với trước đây.

4.1.3. Tiền sử bệnh lý có liên quan đến vô sinh của nam giới

Về tiền sử bản thân liên quan đến chất lượng tinh dịch, kết quả nghiên cứu ở bảng 3.3 cho thấy nam giới vô sinh có tiền sử viêm tinh hoàn chiếm tỷ lệ cao nhất (3,76%), tiếp theo là một số bệnh lý khác (2,65%), GTMT (2,43%), tiếp xúc hóa chất (0,66%) và không có tiền sử (90,49%).

Trong nghiên cứu này, nam giới vô sinh có tiền sử viêm tinh hoàn đa số liên quan đến tiền sử đã từng mắc quai bị. Qua thăm khám trên lâm sàng những trường hợp có tiền sử quai bị, chúng tôi thấy nhiều trường hợp có teo tinh hoàn một bên hoặc hai bên.

Báo cáo của các tác giả trước đều cho rằng các trường hợp mắc quai bị từ nhỏ có tới 30% có biến chứng viêm tinh hoàn và teo tinh hoàn 1 hoặc 2 bên. Nghiên cứu của Lê Thế Vũ (2013) cũng nhận thấy những người nam có tiền sử quai bị sẽ có mật độ, tỷ lệ sống của tinh trùng giảm và không có tinh trùng. Trong đó, người có tiền sử quai bị có nguy cơ giảm mật độ tinh trùng 2,4 lần, nguy cơ không có tinh trùng 2,09 lần và nguy cơ làm giảm tỷ lệ tinh trùng sống 2,11 lần [161].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy trong tiền sử của những người nam vô sinh thì quai bị vẫn chiếm tỷ lệ cao nhất. Điều này chứng tỏ việc phòng chống viêm nhiễm, đặc biệt phòng chống quai bị và các biện pháp điều trị quai

bị để hạn chế biến chứng vẫn là vấn đề rất cần được quan tâm. Người có tiền sử GTMT cũng chiếm tỷ lệ cao thứ 2.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy tỷ lệ người có tiền sử tiếp xúc với hóa chất ít (0,66%). Có 3 trường hợp có tiền sử thường xuyên tiếp xúc hóa chất, qua hỏi bệnh chúng tôi xác định được là có liên quan đến nghề nghiệp làm công nhân tiếp xúc với sơn và xăng. Đây cũng là một trong những yếu tố nguy cơ đã được xác định có ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh trùng, gây vô sinh nam giới.

Theo nghiên cứu của Trần Đức Phấn, những người có tiền sử tiếp xúc hoặc sống trong môi trường có chất diệt cỏ trong chiến tranh có bất thường số lượng tinh trùng cao hơn ở những người khác [162]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, chúng tôi không gặp người có tiền sử tiếp xúc với chất độc hóa học trong chiến tranh. Điều này có thể do hầu hết những nam giới vô sinh trong nghiên cứu này sống chủ yếu ở khu vực Hà Nội và các tỉnh lân cận.

4.1.4. Đặc điểm cơ quan sinh dục ngoài ở những nam giới vô sinh

4.1.4.1. Về thể tích tinh hoàn

Thể tích tinh hoàn được tạo thành chủ yếu bởi các ống sinh tinh. Thể tích tinh hoàn là một thông số đặc biệt cho phép ước lượng số lượng và khả năng hoạt động của các ống sinh tinh. Các ống sinh tinh chiếm khoảng 70% đến 80% thể tích của tinh hoàn. Do vậy thể tích tinh hoàn được cho là có mối liên quan đến sự sinh tinh trùng [163]. Giảm số lượng tế bào dòng tinh sẽ gây giảm rõ rệt thể tích tinh hoàn hay teo tinh hoàn. Với người Châu Âu thể tích tinh hoàn được coi là giảm nếu dưới 15 ml, còn đối với người Châu Á thì con số này là dưới 13 ml.

Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá kích thước tinh hoàn bằng cách so sánh, ước lượng thể tích tinh hoàn với thước đo Prader có sẵn các thể tích chuẩn tính từ 1 đến 25ml. Đây là cách đo đơn giản và thuận tiện thường được

sử dụng nhiều trong khám và đo thể tích tinh hoàn. Thể tích trung bình tinh hoàn (bảng 3.4) ở nhóm chứng là 19,03 ± 3,83 ml, lớn hơn so với ở nhóm vô sinh nam là 18,29 ± 5,48 ml. Tuy nhiên, sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê với p > 0,05. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phấn cho thấy thể tích trung bình của tinh hoàn ở nhóm VT và TTN thấp hơn ở nhóm chứng [164].

Kết quả nghiên cứu của Aribarg (2008) trên 307 nam giới ở Thái Lan cho thấy, 90% các trường hợp có thể tích tinh hoàn trong khoảng 12 ml đến 25 ml, thể tích trung bình là 17,2 ml [165]. Tuy nhiên, nghiên cứu của Aribarg ở trên đối tượng là những người tình nguyện, sinh sản bình thường.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.6 cho thấy, ở nhóm chứng, số nam giới có thể tích tinh hoàn ở nhóm 16-20 ml chiếm tỷ lệ nhiều nhất 45/91, tiếp theo ở nhóm 21 - 25 ml với tỷ lệ 26/91, các nhóm còn lại chiếm tỷ lệ ít. Ở độ tuổi 20 - 29, 30 - 39 và 40 - 49 thể tích trung bình của tinh hoàn là tương đương nhau, ở độ tuổi ≥ 50 thể tích trung bình tinh hoàn nhỏ hơn. Tuy nhiên, sự khác biệt ở đây không có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Tương tự, ở nhóm vô sinh (bảng 3.7), số nam giới có thể tích tinh hoàn ở nhóm 16 -20 ml chiếm tỷ lệ nhiều nhất 150/393, tiếp theo là nhóm 21-25ml với tỷ lệ 121/393, các nhóm còn lại chiếm tỷ lệ ít. Ở độ tuổi 20-29, 30-39, 40-49 và ≥ 50 tuổi, thể tích trung bình của tinh hoàn không có sự khác biệt đáng kể, với p > 0,05.

Qua thăm khám, đo thể tích tinh hoàn, kết hợp với hỏi bệnh sử và các kết quả xét nghiệm, chúng tôi thấy, phần lớn những người có tinh hoàn nhỏ dưới 5ml thường là những người có tiền sử quai bị, tinh hoàn bị teo, kết quả xét nghiệm VT. Một số khác đối chiếu với kết quả xét nghiệm NST thấy mắc hội chứng Klinefelter, karyotyp 47,XXY. Những trường hợp còn lại chủ yếu là suy sinh dục (dương vật và tinh hoàn nhỏ).

4.1.4.2. Về mật độ tinh hoàn

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.8 cho thấy, phần lớn tinh hoàn của nam giới có mật độ chắc, chiếm tỷ lệ 89,3%, trong khi tinh hoàn có mật độ mềm chiếm 10,7%. Mật độ tinh hoàn chắc ở nhóm chứng có tỷ lệ cao hơn ở nhóm vô sinh nam, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phấn cho thấy ở nhóm VT và TTN có người có tinh hoàn mềm, thậm chí rất mềm, trong khi người có mật độ tinh trùng bình thường thì mật độ tinh hoàn chắc [164].

Với kết quả trên, chúng tôi cho rằng nếu tinh hoàn sản xuất tinh trùng bình thường thì mật độ tế bào ở tinh hoàn cao, sản xuất tinh trùng càng nhiều thì mật độ càng chắc. Ngược lại, nếu tinh hoàn không sản xuất được tinh trùng thì mô tinh hoàn sẽ nghèo tế bào, mật độ tinh hoàn sẽ mềm. Một số tinh hoàn rất mềm, teo hoặc chỉ còn dạng màng là những trường hợp không có tinh trùng.

Về mật độ tinh hoàn theo nhóm tuổi: Ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, mật độ tinh hoàn ở 4 nhóm tuổi không thấy có sự khác biệt, với $p > 0,05$.

4.1.4.3. Biểu hiện bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở những nam giới vô sinh

Để phân tích các bất thường lâm sàng cơ quan sinh dục ngoài ở những nam giới vô sinh, chúng tôi đã tiến hành thăm khám cơ quan sinh dục cho 484 trường hợp, kết quả ở biểu đồ 3.2 cho thấy: không có biểu hiện bất thường cơ quan sinh dục ngoài chiếm tỷ lệ 87,28%. Những nam giới vô sinh có bất thường cơ quan sinh dục ngoài chiếm tỷ lệ 12,72%.

Ở những người có bất thường cơ quan sinh dục, chúng tôi thấy: Người có dương vật và tinh hoàn nhỏ chiếm tỷ lệ cao nhất 24%, tiếp theo là GTMT và viêm tinh hoàn đều chiếm tỷ lệ 16 %. Thoát vị bẹn, lỗ đái lệch thấp đều chiếm tỷ lệ 10 %, còn lại là teo tinh hoàn, tinh hoàn ẩn và bất thường khác đều có tỷ lệ là 8 %.

Các trường hợp biểu hiện suy sinh dục chủ yếu nằm ở nhóm nam giới mắc hội chứng Klinefelter. Khi khám cơ quan sinh dục ngoài trên những trường hợp này chúng tôi đều thấy có dương vật và tinh hoàn nhỏ hơn bình thường. Như vậy, kết quả khám lâm sàng cho thấy đa số những nam giới vô sinh do Klinefelter thường có biểu hiện ra cơ quan sinh dục ngoài.

GTMT có nhiều hậu quả, trong đó nhiệt độ cao tại tinh hoàn là điều đáng chú ý [24]. Trong số các trường hợp bất thường cơ quan sinh dục ngoài, chúng tôi phát hiện có 8/50 người bị GTMT, chiếm tỷ lệ 16%. Đây là nhóm bất thường chiếm tỷ lệ cao thứ hai sau nhóm bị suy sinh dục. Theo kết quả của các nghiên cứu trước thì GTMT gặp từ 5 đến 25% ở nam giới khỏe mạnh, nhưng GTMT tác động tới 11% ở nam giới có tinh trùng bình thường và ảnh hưởng tới 25% nam giới có tinh trùng bất thường. Nhiều tác giả cho rằng GTMT có liên quan đến chất lượng tinh trùng không bình thường và phương pháp điều trị thích hợp sẽ cải thiện được chất lượng tinh trùng ở những người này [16]. Các nghiên cứu còn cho thấy những trường hợp GTMT có tỷ lệ tổn thương ADN của tinh trùng như hiện tượng đứt gẫy ADN cao hơn người bình thường.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhóm nam giới viêm tinh hoàn, viêm mào tinh hoàn cũng chiếm tỷ lệ tương đương với nhóm nam giới GTMT (16%). Những người này chủ yếu là viêm cấp, có biểu hiện đau, sưng ở 1 hoặc 2 bên tinh hoàn hoặc mào tinh hoàn. Theo các tác giả, các viêm nhiễm gây tăng nhiệt độ tại tinh hoàn có thể có ảnh hưởng khá nhậy tới chất lượng tinh dịch. Theo Irvine (2002), khoảng 27% -30% nam giới bị quai bị ở sau độ tuổi 10 - 11 tuổi có biến chứng viêm tinh hoàn, 17% các trường hợp viêm tinh hoàn 2 bên dẫn đến di chứng teo ống sinh tinh [16].

Trong số những người có biểu hiện bất thường cơ quan sinh dục ngoài, nhóm lỗ đái lệch thấp và thoát vị bẹn chiếm tỷ lệ cao thứ ba, đều là 10%. Lỗ đái lệch thấp là một dị tật bẩm sinh của dương vật làm cho niệu đạo, vật hang, vật xốp, qui đầu và da qui đầu phát triển không hoàn toàn. Lỗ niệu đạo có thể

nằm ở bất kỳ vị trí nào trên thân dương vật, thậm chí có thể nằm ở bìu hay tầng sinh môn. Nguyên nhân của lỗ đái lệch thấp là do di truyền, các tế bào leydig kém phát triển, đề kháng ở tế bào đích và bất thường của thụ thể androgen...

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy có 4/50 (8%) trường hợp có tinh hoàn ẩn. Ở người, nhiệt độ ở bìu thường thấp hơn thân nhiệt 2^{o}C. Nếu tinh hoàn không xuống bìu hoặc tinh hoàn ẩn, quá trình sinh tinh sẽ bị ảnh hưởng, thậm chí bị ngưng lại. Tinh hoàn không xuống bìu vào lúc 2 tuổi là có bất thường về mô học. Nếu sau 1 tuổi mà vẫn chưa xuống bìu thì khả năng nó tự xuống là rất hiếm. Nếu sau 2 tuổi mới phẫu thuật kéo tinh hoàn xuống cũng rất khó cải thiện khả năng sinh sản. Ngoài tác dụng ức chế sinh tinh, nhiệt độ cao có thể gây tổn thương ADN của tinh trùng. Thonneau và cs (1998) thực hiện phân tích trên nhiều báo cáo đã thấy tăng nhiệt độ làm giảm sinh tinh và tăng tỷ lệ tinh trùng dị dạng. Nếu tinh hoàn ẩn thì nhiệt độ trong ổ bụng cao sẽ cản trở việc sản xuất tinh trùng. Theo các tác giả, nhiệt độ thuận lợi cho sản xuất tinh trùng là nhiệt độ ở bìu bình thường thấp hơn nhiệt độ cơ thể 2 - 4^{o}C.

4.1.5. Đặc điểm tinh dịch của nam giới VT và TTN

4.1.5.1. Chất lượng tinh dịch của nhóm nghiên cứu và nhóm chứng

Theo WHO (1999) có đến 90% vô sinh là do bất thường tinh trùng và tinh dịch [6]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá một số chỉ số về tinh dịch như thể tích, độ pH và độ nhớt tinh dịch, là những thông số tinh dịch đồ và được cho là có thể ảnh hưởng đến chất lượng tinh dịch.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.12 cho thấy: Hầu hết các đối tượng ở cả nhóm nghiên cứu và nhóm chứng đều có thể tích tinh dịch ≥ 1,5 ml (nhóm chứng 72,3%, nhóm nghiên cứu 67,7%). Số người có thể tích tinh dịch < 1,5 ml ít hơn nhiều so với thể tích bình thường (≥ 1,5 ml). Theo tiêu chuẩn của WHO (1999) thì thể tích tinh dịch được cho là bình thường khi ≥ 2ml, nhưng đến năm 2010 thì WHO thay đổi chỉ số này là ≥ 1,5 ml được coi là bình thường

[7],[143]. Như vậy, theo thời gian thì chỉ số về thể tích của tinh dịch đã được điều chỉnh giảm xuống. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy có tới 27,7% trường hợp ở nhóm chứng có thể tích tinh dịch dưới tiêu chuẩn bình thường của WHO (≥ 1,5 ml). Như vậy, chỉ số về thể tích tinh dịch được cho là có thể ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch nhưng không mang nhiều tính chất quyết định và thực tế có thể tư vấn, điều trị để cải thiện được tình trạng thể tích tinh dịch thấp. Tuy nhiên, việc đánh giá thể tích tinh dịch là cần thiết vì nó cho phép tính toán tổng số tinh trùng và tế bào không phải tinh trùng trong mỗi lần xuất tinh. Nếu thể tích tinh dịch thấp có thể do tắc nghẽn hoặc tình trạng túi tinh kém phát triển.

Tinh trùng thích hợp và hoạt động mạnh trong môi trường trung tính hoặc hơi kiềm (7,2 - 8). Môi trường acid nhẹ, hoạt động tinh trùng giảm. Môi trường acid mạnh, tinh trùng bị tiêu diệt. Trong nghiên cứu này, pH tinh dịch ≥ 7,2 ở nhóm nghiên cứu và nhóm chứng đều chiếm đa số so với pH tinh dịch < 7,2. Mặc dù tỷ lệ pH <7,2 rất ít nhưng chúng tôi không gặp trường hợp nào ở nhóm chứng, tất cả những trường hợp pH giảm đều ở nhóm bệnh và hầu hết là VT (Bảng 3.13). Hiện tượng pH giảm chỉ gặp ở nhóm vô sinh mà hầu hết là ở những người VT cũng đã được Trần Đức Phấn và cs đề cập khi phân tích ở 896 mẫu tinh dịch của những người nam giới trong các cặp vô sinh năm 2002 [162]. Theo các tác giả, nếu pH của mẫu tinh dịch nhỏ hơn 7, với khối lượng thấp, số lượng tinh trùng thấp, có thể do tắc nghẽn ống dẫn tinh hoặc không có ống dẫn tinh hai bên bẩm sinh, hoặc tình trạng túi tinh kém phát triển. Như vậy, với những trường hợp pH acid mạnh kết hợp với VT sẽ là một gợi ý hữu ích để cho các bác sỹ lâm sàng chỉ định các xét nghiệm tiếp theo, tìm nguyên nhân chính xác gây vô sinh nam.

Độ nhớt tinh dịch cao có thể ảnh hưởng tới việc xác định độ di động của tinh trùng, mật độ tinh trùng. Theo WHO, độ nhớt của tinh dịch được coi là bình thường khi nhỏ giọt tinh dịch dính theo đầu pipet Pasteur ngắn hơn 2 cm.

Tiêu chuẩn này WHO không thay đổi suốt hơn 20 năm qua [6],[7],[143]. Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 3.14, ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, độ nhớt tinh dịch ở cả 3 loại độ nhớt bình thường, độ nhớt cao và độ nhớt giảm đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (nhóm chứng tỷ lệ có độ nhớt bình thường là 73,37%, nhóm VT/TTN là 67,3%).

4.1.5.2. Chất lượng tinh trùng của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu

Đánh giá tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường có ý nghĩa trong việc tiên lượng khả năng thụ thai. Tuy nhiên, tiêu chuẩn hình thái tinh trùng bình thường của WHO cũng được điều chỉnh nhiều lần và có xu hướng giảm [6],[7],[143].

Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy, tinh trùng di động nhanh (≥ 25%), hình thái tinh trùng bình thường (≥ 30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (≥ 75%) ở nhóm TTN đều thấp hơn so với nhóm chứng, với $p < 0,001$. Rõ ràng tỷ lệ di động của tinh trùng ảnh hưởng đến quá trình thụ thai. Để có quá trình thụ thai thì cần có nhiều tinh trùng cùng đến gặp trứng. Các tinh trùng này sẽ vỡ thể đầu để giải phóng enzym dung giải vỏ trứng giúp cho 1 tinh trùng duy nhất vào thụ tinh với trứng. Đây là lý do cần có nhiều tinh trùng di động nhanh thì khả năng thụ thai mới bình thường.

Khi phân tích về quá trình thụ tinh, các tác giả cũng nhận thấy, khi tinh trùng chết (hoặc tế bào khác chết), nó sẽ sinh ra các chất độc hại, cản trở quá trình thụ tinh. Vì vậy, về nguyên tắc chỉ cần 1 tinh trùng khỏe mạnh và một số tinh trùng để có thể có lượng enzym đủ lớn thì quá trình thụ tinh có thể diễn ra bình thường. Song, do tế bào chết giải phóng ra các chất độc hại cản trở quá trình thụ tinh nên khi tỷ lệ tinh trùng chết cao cũng không thể thụ thai bình thường. Tỷ lệ sống của tinh trùng ở nhóm TTN thấp hơn ở nhóm chứng cũng là lý do góp phần gây vô sinh ở các đối tượng này.

4.1.5.3. Tốc độ di chuyển của tinh trùng

Kết quả ở bảng 3.16 cho thấy: Ở nhóm chứng: Tốc độ di chuyển của tinh trùng từ 30-40 μm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (37,63%), trong khi ở nhóm TT/TTN

thì tốc độ di chuyển của tinh trùng ≤ 30 µm/s lại chiếm tỷ lệ cao nhất (77,68%). Nhìn chung, tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm nhóm TT/TTN thấp hơn ở nhóm chứng, sự khác biệt với p < 0,001.

Đối với TNSS ở nam giới, nguyên nhân phổ biến nhất là sự bất thường về tinh dịch, trong đó bất thường về độ di động của tinh trùng chiếm tỷ lệ cao nhất, có thể lên tới 47,8% [166]. Tốc độ di chuyển của tinh trùng có tính chất quyết định cho khả năng thụ thai vì trứng không di động, còn tinh trùng phải đi một quãng đường khá xa mới đến được trứng. Khi di chuyển, tinh trùng rất ít khi di động thẳng mà chủ yếu theo hình zigzag. Vì vậy người ta cũng có cách đo tốc độ di chuyển khác nhau: Đo từ điểm đầu đến điểm cuối, đo theo đường zigzag hay đo theo đạo trình di chuyển của tinh trùng.

Nghiên cứu được tiến hành với sự hỗ trợ của máy CASA. Máy CASA cung cấp 3 chỉ số tốc độ, đó là tốc độ tuyến tính, tốc độ đường cong, tốc độ con đường trung vị. Trong đó, chỉ số tốc độ tuyến tính là thấp nhất, tốc độ đường cong là tốc độ của tinh trùng chuyển động theo quỹ đạo thực của nó và là tốc độ cao nhất. Đánh giá tốc độ di chuyển của tinh trùng cho ta biết độ khỏe của tinh trùng.

Tốc độ tuyến tính: Tốc độ tuyến tính (VSL) còn gọi là tốc độ thẳng, là tốc độ được tính theo đường thẳng nối từ điểm bắt đầu đến điểm kết thúc của quá trình di chuyển của tinh trùng [143]. Đây là tốc độ được sử dụng cho xét nghiệm. Về nguyên tắc, tinh trùng di động nhanh có tốc độ ≥ 25 µ/s. Phân loại độ di động bằng mắt dưới kính hiển vi, người kỹ thuật viên phải ước lượng độ di động của tinh trùng. Máy CASA có thể phân tích rất nhanh ở toàn vi trường nên độ chính xác rất cao. Máy CASA có khả năng đo chính xác tốc độ của tinh trùng đến 0,1 µ/s, dựa vào đó dễ dàng phân độ di động của tinh trùng một cách chính xác, đồng thời biết được tinh trùng di động nhanh tới mức nào. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.17 cho thấy tốc độ tuyến tính của nhóm chứng là 40,36 ± 9,50 µ/s, cao hơn so với nhóm vô sinh 21,88 ± 7,72 µ/s (p < 0,001). Với kết

quả nghiên cứu của chúng tôi thì tinh trùng được coi là di động nhanh khi có tốc độ > 25 μ/s, nhưng để đánh giá là tinh trùng khỏe, tốc độ di chuyển của tinh trùng phải là 40 μ/s chứ không chỉ là 25 μ/s.

Tốc độ đường cong: Tốc độ đường cong (VCL) là tốc độ trung bình được tính từ tổng các đường thẳng nối liên tục vị trí của đầu tinh trùng trong quá trình di chuyển [143]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tốc độ đường cong của nhóm chứng cao hơn rõ rệt so với nhóm vô sinh. Tốc độ đường cong của nhóm chứng là 72,73 ± 16,90 μ/s, trong khi tốc độ đường cong của nhóm vô sinh nam là 58,71 ± 39,9, p < 0,001.

Tốc độ con đường trung vị (VAP): Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tốc độ theo con đường trung vị của nhóm chứng cao hơn rõ rệt so với nhóm vô sinh. Kết quả này cũng góp phần chứng minh tinh trùng nhóm chứng thực sự khỏe hơn tinh trùng nhóm vô sinh.

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy cả 3 dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng đều cao hơn so với ở nhóm TT/TTN, p <0,001. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phấn cho thấy nam giới sinh sản bình thường có tốc độ di chuyển của tinh trùng cao hơn so với nhóm VS nguyên phát và VS thứ phát [166].

4.1.5.4. Tương quan tuyến tính giữa các loại tốc độ

VSL và VCL: Kết quả cho thấy VSL và VCL ở cả nhóm chứng và nhóm vô sinh có tương quan tuyến tính thuận, rất chặt một cách có ý nghĩa (với nhóm chứng r = 0,702 và p <0,01, nhóm TT/TTN có r = 0,68 và p < 0,01). Từ kết quả thu được, xây dựng phương trình của nhóm chứng là VCL = 1,221 x VSL + 22,736 và của nhóm vô sinh là VCL = 0,68 x VSL + 40,62 (Đồ thị 3.1 và 3.2). Dựa vào loại phương trình này có thể đoán được độ khỏe tinh trùng của nam giới. Nếu biết kết quả VSL đo bằng máy CASA, có thể tính toán theo hai phương trình để suy ra VCL giả thuyết. So sánh với VCL thực tế, nếu VCL

thực tế gần với VCL nhóm chứng hoặc cao hơn thì tinh trùng khỏe. Nếu VCL thực tế gần với VCL nhóm vô sinh hoặc thấp hơn thì tinh trùng yếu. Từ đó dự đoán được độ khỏe của tinh trùng, góp phần tốt hơn cho việc tiên lượng mức độ TNSS [167].

VSL và VAP: Kết quả ở đồ thị 3.3 và 3.4 cho thấy VSL và VAP có tương quan tuyến tính thuận và rất chặt, có ý nghĩa với nhóm chứng r = 0,842 và p <0,01, nhóm TT/TTN có r = 0,577 và p < 0,01. Từ kết quả thu được xây dựng phương trình nhóm chứng có VAP = 0,975 x VSL + 10,271 và nhóm TN/TTN có VAP = 0,887 x VSL + 14,682. Tương tự như trên, dựa vào VSL đã có ta có thể đự đoán được VAP lý thuyết của bệnh nhân rồi so sánh với VAP thực tế để đưa ra kết luận về độ khỏe của tinh trùng [167].

VCL và VAP: Kết quả ở đồ thị 3.5 và 3.6 cho thấy VCL và VAP có tương quan tuyến tính thuận và rất chặt, có ý nghĩa với nhóm chứng r = 0,937 và p <0,01, nhóm TT/TTN có r = 0,771 và p <0,01. Từ kết quả thu được xây dựng phương trình nhóm chứng có VCL = 0,624 x VAP + 4,815 và nhóm TN/TTN có VCL = 0,618 x VAP + 2,17. Dựa vào VAP đã có ta có thể đự đoán được VCL lý thuyết của người nam rồi so sánh với VCLP thực tế có thể đưa ra kết luận về độ khỏe của tinh trùng [167].

4.1.5.5. Tính chất di chuyển của tinh trùng

Kết quả ở bảng 3.18 cho thấy: Tính tuyến tính (LIN), tính tiến thẳng (STR) ở nhóm chứng tương ứng là 57,70 ± 5,97 và 81,07 ± 4,68 so với ở nhóm TT/TTN là 56,93 ± 11,23 và 83,80 ± 7,93, p>0,05. Tính dao động ở nhóm chứng là 69,28 ± 5,23 cao hơn so với nhóm TT/TTN là 65,43 ± 10,97, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê, với p > 0,05.

Theo các tác giả, tính tuyến tính càng nhỏ chứng tỏ sự khác biệt giữa VSL và VCL càng lớn. VCL lớn hơn dự báo quãng đường di chuyển của tinh trùng phức tạp hơn [166]. Kết quả nghiên cứu cho thấy LIN của nhóm chứng thấp

hơn nhóm vô sinh, gián tiếp thấy rằng con đường đi thực của tinh trùng nhóm chứng phức tạp hơn nhóm vô sinh.

Tính tiến thẳng càng nhỏ chứng tỏ sự khác biệt giữa VAP và VSL càng lớn, tinh trùng đổi hướng phức tạp trong quá trình di chuyển [166]. Kết quả cho thấy STR của nhóm chứng nhỏ hơn nhóm vô sinh, gián tiếp đánh giá được rằng tinh trùng nhóm chứng có khả năng đổi hướng tốt hơn trong quá trình di chuyển so với nhóm vô sinh. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Đức Phấn và cộng sự [166].

Kết quả nghiên cứu về tính chất di chuyển của tinh trùng rất phù hợp với những nhận định về 4 loại hình thái di chuyển của tinh trùng là di chuyển theo đường zigzac, hình sin, di chuyển dạng thẳng và di chuyển dạng amip.

4.2. Về bất thường NST ở nam giới VT và TTN

4.2.1. Về tỷ lệ karyotyp ở nam giới VT và TTN

Theo báo cáo của một số tác giả trên thế giới, bất thường NST thường và NST giới tính ở nam giới VT cao gấp 6 lần và 15 lần so với tần số bất thường chung trong cộng đồng. Ở những nam giới vô sinh, tỷ lệ bất thường karyotyp phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có liên quan đến mức độ VT hay mức độ TT. Theo Stewart Irvine, bất thường NST ở những nam giới vô sinh chiếm tỷ lệ từ 2,1-8,9% tùy theo số lượng tinh trùng [16].

Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích karyotyp của 469 nam giới VT và TTN chúng tôi thấy có 65 trường hợp bất thường NST, chiếm tỷ lệ 13,9% (Bảng 3.19). Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của Mohamed ở Ấn Độ là 13,96% [60]. Tỷ lệ này cũng nằm trong khoảng tỷ lệ mà đa số các tác giả đã công bố. Mặc dù có một số tác giả công bố tỷ lệ bất thường NST ở nam giới vô sinh do VT hoặc TT chiếm tỷ lệ cao như Cyrus Azimi ở Iran (2012) là 20,86%, Rima Dada ở Ấn Độ (2003) là 23,3% [168],[64]. Tuy nhiên, tỷ lệ này

lại cao hơn nhiều so với kết quả nghiên cứu một số tác giả như Dul (3,1%), Pinar (4,3%), Fernanda (6,2%) và Dingyang (8,84%) [169],[170],[171],[172].

Nhìn chung, qua nghiên cứu của các tác giả trước cho thấy tỷ lệ bất thường NST ở những nam giới vô sinh ở từng nghiên cứu là khác nhau, tỷ lệ này thay đổi từ 2% đến trên 20%. Theo chúng tôi, tỷ lệ này thay đổi phụ thuộc vào nhiều yếu tố như khác nhau về địa điểm, thời gian nghiên cứu và tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng của từng tác giả nghiên cứu. Trong đó những nghiên cứu ở người VT hoặc phần lớn người là VT có tỷ lệ bất thường NST cao hơn [168], nghiên cứu mà số người TT chiếm phần lớn thì tỷ lệ bất thường NST ít hơn [169],[172].

Theo các dữ liệu thu thập từ các cuộc khảo sát về di truyền trên người VT và TTN ở nhiều nơi trong thời gian gần đây cũng cho thấy những trường hợp có bất thường về di truyền chiếm tỷ lệ 13,7% ở nhóm VT và 4,6% ở nhóm TT, và ở cả hai nhóm là 8,3% [173].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ bất thường NST ở nhóm VT là 16,7 % và ở nhóm TTN là 5,2% (sự khác biệt giữa nhóm VT và nhóm TTN có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$). Tỷ lệ phát hiện bất thường NST ở cả người VT và TTN của chúng tôi cao hơn như số liệu của một số tác giả đã công bố. Đây có lẽ cũng là xu thế chung của các nghiên cứu, trước đây các nghiên cứu hầu hết cho thấy bất thường số lượng NST nhiều hơn. Ngày nay, với sự phân tích ngày càng có điều kiện chi tiết hơn giúp chúng ta phát hiện được càng nhiều các dạng bất thường cấu trúc NST có liên quan đến vô sinh, do đó tỷ lệ bất thường NST cũng có xu hướng tăng.

4.2.2. Các kiểu karyotyp ở nam giới vô sinh

Có rất nhiều loại bất thường NST gây vô sinh nam giới, bao gồm cả bất thường NST giới tính và NST thường, bất thường về số lượng hay cấu trúc NST. Theo báo cáo của nhiều tác giả, bất thường về số lượng NST giới tính

chiếm tỷ lệ cao nhất trong nhóm có bất thường về số lượng NST có liên quan đến vô sinh nam, đặc biệt là Hội chứng Klinefelter thể thuần và thể khảm.

4.2.2.1. Bất thường NST giới tính

Cũng giống như các nghiên cứu của các tác giả khác, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy bất thường NST giới tính liên quan đến vô sinh nam xuất hiện nhiều hơn bất thường NST thường với tỷ lệ 11,08%, bất thường về số lượng và cấu trúc NST thường chiếm 2,77%.

Trong số những người có bất thường số lượng NST giới tính, người mắc hội chứng Klinefelter chiếm tỷ lệ nhiều nhất 39/46 (86,67%). Tiếp theo là những người có karyotyp 47,XYY; 46,XX; 45,X; 47,XY,+i(Xq) chiếm tỷ lệ ít.

* Hội chứng Klinefelter 47,XXY:

Trong tổng số 469 nam giới vô sinh được xét nghiệm NST, chúng tôi phát hiện 39/469 (8,32%) người mắc hội chứng Klinefelter thuần 47,XXY chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các kiểu karyotyp bất thường. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Rima Dada (8,8%), thấp hơn kết quả nghiên cứu của Cyrus Azimi (27,03%), Fadlalla Elfateh (13,24%) nhưng lại cao hơn nhiều so với kết quả của Lakshim Rao (3,18%) [64],[168],[174],[66].

Nhằm so sánh tỷ lệ mắc hội chứng Klinefelter, thể thuần, thể khảm và biến thể với kết quả nghiên cứu của một số tác giả, chúng tôi lập bảng sau:

Bảng 4.1. Tỷ lệ % hội chứng Klinefelter, thể thuần, khảm và biến thể

Tác giả (năm)	Nơi nghiên cứu	Tỷ lệ % HC Klinefelter trong số nam giới vô sinh	Tỷ lệ % Klinefelter thuần	Tỷ lệ % Klinefelter khảm và biến thể
Rima Dada (2003) [64]	Ấn Độ	20%	8,8%	11,2%
Mohammad (2012) [60]	Ấn Độ	12,15%	9,45%	2,7%
Fernanda (2011) [169]	Brazil	3,5%	2,8%	0,7%
Ebru Önalan (2009) [175]	Thổ Nhĩ Kỳ	8%	7,5%	0,5%
Akgul (2009) [68]	Thổ Nhĩ Kỳ	7,82%	7,26%	0,56%
Bernd R. (2010) [176]	Đức	-	0,5%	-
Cyrus Azimi (2012) [168]	Iran	27,03%	23,52%	3,51%
Dingyang Li (2012) [172]	Trung Quốc	5,04%	4,89%	0,15%
Nghiên cứu này (2014)	Việt Nam	8,32%	8,32%	0

Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả 39 nam giới mắc hội chứng Klinefelter thuần 47,XXY đều nằm ở nhóm VT mà không có ở nhóm TTN. Theo kết quả nghiên cứu của Trieu Huynh và cs thì karyotyp 47,XXY có tỷ lệ cao nhất là 11% ở nhóm VT và 0,7% ở nhóm TTN [177]. Tuy nhiên, nếu so sánh với kết quả nghiên cứu trên 470 nam giới vô sinh của Marchina tại Ý thì tác giả này lại không phát hiện thấy có trường hợp nào mắc hội chứng Klinefelter [55].

Phần lớn nam giới mắc hội chứng Klinefelter thường vô sinh do không có tinh trùng, mặc dù đã có một số báo cáo đã công bố về những trường hợp có thai tự nhiên. Tuy nhiên, sau khi kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm bằng bơm tinh trùng vào tế bào chất của trứng (ICSI) ra đời thì nam giới hội chứng Klinefelter có cơ hội được làm bố. Các báo cáo gần đây cho thấy có thể thu được tinh trùng từ tinh hoàn với tỷ lệ thành công khá cao, 30 - 40% bằng kỹ

thuật tách tinh trùng từ hoàn (TESE) để làm ICSI. Tuy nhiên, các nghiên cứu cũng cho thấy có tăng tỷ lệ bất thường NST giới tính và NST thường ở thế hệ con. Do vậy, cần nhấn mạnh nhu cầu tư vấn di truyền trước khi tiến hành kỹ thuật TESE, thảo luận kỹ và tiên lượng khả năng trước thụ tinh và trước sinh.

Theo nghiên cứu của Tuttelmann (2010), có khoảng 200 người mắc hội chứng Klinefelter đã sinh con nhờ hỗ trợ sinh sản bằng kỹ thuật ICSI. Trong số những đứa trẻ ra đời, tỷ lệ lệch bội NST giới tính cao hơn một chút so với bình thường [178]. Hiện tượng này có thể giải thích được là trong quá trình giảm phân ở người Klinefelter 1 NST X thừa bị mất đi nên tế bào chỉ còn 46,XY và dẫn đến giảm phân bình thường. Mặt khác tất cả những đứa con của người Klinefelter đều được sinh ra nhờ kỹ thuật ICSI nên cơ chế dẫn đến chỉ tăng nhẹ tỷ lệ lệch bội cả NST thường và NST giới tính ở những đứa trẻ này vẫn chưa sáng tỏ. Do ở người Klinefelter có sự thoái hóa của các ống sinh tinh và hiện tượng này tăng nhanh khi dậy thì nên có tác giả đề xuất việc lưu trữ mô tinh hoàn ở người Klinefelter ở giai đoạn chưa trưởng thành sẽ giúp cho việc sinh sản của người Klinefelter trong tương lai.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ thấy những người hội chứng Klinefelter thuần 47,XXY và 1 trường hợp 47,XY,+i(Xq) mà không thấy Klinefelter thể khảm như 47,XXY/46,XY hoặc 47,XXY/48,XXYY. Kết quả này khác với kết quả nghiên cứu trước của Nguyễn Đức Nhự (2009) phát hiện một số nam giới vô sinh mắc Klinefelter thể khảm [58].

* Nam có karyotyp 47,XYY:

Nam có karyotyp 47,XYY thường có khả năng sinh sản bình thường, nhưng có một số tác giả báo cáo nam 47,XYY vô sinh [168],[169],[175],[179]. Theo các tác giả này, sự sinh tinh suy giảm nghiêm trọng, cơ chế có thể là do quá trình sinh tinh bị kìm hãm bởi hầu hết các tế bào mầm XYY đều có sự ghép cặp bất thường trong quá trình giảm phân tạo tinh trùng. Trong nghiên

cứu này, chúng tôi cũng phát hiện có 2/469 trường hợp (0,43%) có karyotyp 47,XYY. Các tác giả khác như Dingyang Li (2012), Saeedeh Ghazaey (2013) cũng báo cáo phát hiện trường hợp karyotyp 47,XYY với tỷ lệ tương ứng là 0,11% và 0,65% [172],[180].

Theo y văn, nam giới 47,XYY có thể có chiều cao hơn bình thường, xu hướng kém phát triển cơ ngực, cơ vai, cơ thắt lưng. Có trường hợp sinh dục kém phát triển, dương vật nhỏ, tinh hoàn lạc chỗ và lỗ đái lệch thấp. Tuy nhiên, khi thăm khám lâm sàng chúng tôi thấy hai nam giới này có hình dáng bình thường, cơ quan sinh dục ngoài không có gì bất thường [36]. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ của hai trường hợp này thấy có 1 trường hợp vô sinh do VT và 1 trường hợp TTN (mật độ tinh trùng 3 triệu/ml tinh dịch).

* Nam có karyotyp 46,XX:

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện 2 trường hợp nam giới vô sinh có karyotyp là 46,XX, chiếm tỷ lệ 0,43%. Theo một số tác giả, karyotyp của những người này được phát hiện với tỷ lệ thường thấy từ 0,5% đến 0,8% trong số nam giới vô sinh. Hình thái trên lâm sàng có kiểu hình bình thường là nam giới, kết quả xét nghiệm tinh dịch là VT. Theo y văn, nam có karyotyp 46,XX xảy ra khi phần nhỏ của đầu xa nhất trên nhánh ngắn của NST Y nằm ở đâu đó trong bộ NST. Phần nhỏ này có thể chứa gen SRY. Do gen SRY tồn tại nên kiểu hình vẫn là nam. Tuy nhiên, ở người này không có sự hiện diện của toàn bộ đoạn MSY (Male Specific Y) là đoạn chiếm gần như toàn bộ chiều dài của Y trừ đi 2 đầu giống NST thường, nên không có khả năng sinh sản. Nghiên cứu của Qiu-Yue Wu (2014) ở Trung Quốc cũng phát hiện 5 trường hợp nam giới vô tinh có karyotyp 46,XX. Tác giả đã sử dụng kỹ thuật FISH phát hiện gen SRY dương tính và chuyển đoạn trên NST X (Xp) [181].

Cho đến nay, hội chứng nam 46,XX chắc chắn không có sự sinh tinh do đó một khi đã xác định là người nam bị hội chứng này bằng karyotyp thì việc

phẫu thuật tìm tinh trùng trong tinh hoàn là vô ích (Robert, 2004) [182]. Do vây, những trường hợp này không có chỉ định phân lập tinh trùng từ tinh hoàn hay nuôi cấy tinh tử để tạo tinh trùng.

* Nam có karyotyp 45,X:

Người nam có karyotyp 45,X là hiếm gặp. Hầu hết người nam có karyotyp 45,X có chuyển đoạn gen SRY với một NST thường hoặc NST X. Một số trường hợp khảm 45,X/46,XY đều có tỷ lệ dòng tế bào bất thường thấp dưới 10% [58],[60],[61].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phát hiện 1 trường hợp nam có karyotyp 45,X. Đây là trường hợp Lê Hồng D. (mã số 47.14), 32 tuổi, vô sinh, được xét nghiệm tinh dịch đồ cho kết quả VT. Trường hợp này được thăm khám lâm sàng thấy có dương vật bình thường nhưng tinh hoàn nhỏ (6 ml). Kết quả xét nghiệm NST không thấy NST Y . Kết quả xét nghiệm ADN cho thấy có mất đoạn nhỏ NST Y vùng AZFbcd nhưng AZFa (+) và SRY (+). Kết quả này cho thấy đây là một trường hợp nam 45,X có chuyển đoạn gen SRY và gen AZFa của NST Y với một NST thường hoặc NST Y mà bằng kỹ thuật phân tích NST không phát hiện được.

Người nam 45,X có gen SRY nên kiểu hình vẫn là nam nhưng không thể có tinh trùng. Do vậy, tư vấn di truyền là không thể hỗ trợ sinh sản bằng kỹ thuật TESE.

* Nam có karyotyp 46,X,del(Yq):

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện 5 trường hợp nam giới VT có karyotyp 46,X,del(Yq), chiếm tỷ lệ 1,06%. Tác giả Azimi (2012) cũng đã báo cáo 6 trường hợp karyotyp 46,X,del(Yq), và 2 trường hợp khảm del(Yq), chiếm tỷ lệ 0,96% [168].

Tỷ lệ bất thường NST giới trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với kết quả của một số tác giả trước, có thể do ngày nay các phương tiện phân tích ngày càng tốt hơn, vì vậy khả năng phát hiện những trường hợp khó cũng tốt hơn. Cũng tương tự như một số tác giả công bố gần đây, càng ngày càng phát hiện được nhiều trường hợp các bất thường cấu trúc NST đặc biệt.

4.2.2.2. Bất thường NST thường

Tỷ lệ bất thường về cấu trúc NST thường là 2,77%. Trong số 13 nam giới có bất thường NST thường, tỷ lệ bất ở nhóm VT là 8/13 (61,54%) và ở nhóm TT là 5/13 (38,46%).

Những rối loạn NST thường cũng có thể ảnh hưởng tới quá trình giảm phân sinh tinh trùng từ đó dẫn đến giảm sinh tinh, thường gặp là chuyển đoạn tương hỗ, chuyển đoạn hòa hợp tâm [44],[177]. Các bất thường về cấu trúc NST thường chiếm tỷ lệ các trường hợp vô sinh nam từ 1 - 2 %. Trong nghiên cứu này, có 13 trường hợp có bất thường NST thường. Trong đó, phần lớn bất thường NST thường là đảo đoạn (7/13), còn lại là chuyển đoạn (3/13), lặp đoạn (2/13) và chèn đoạn (1/13).

Các trường hợp bất thường cấu trúc NST thường liên quan đến vô sinh là do NST có bất thường cấu trúc (dù là bất thường cấu trúc dạng cân bằng hay không cân bằng) không thể ghép cặp một cách bình thường với NST tương đồng bình thường. Sự ghép cặp không bình thường này làm cho quá trình trao đổi chéo trong giảm phân dễ xuất hiện thêm các đột biến mới. Sự ghép cặp khó khăn đã cản trở quá trình phân bào giảm phân gây giảm số lượng tinh trùng. Sự ghép cặp không bình thường xuất hiện thêm đột biến tạo ra hậu quả là số lượng tinh trùng giảm và xuất hiện nhiều tinh trùng bất thường. Với hậu quả trên, có thể nói bất thường cấu trúc NST ở cả NST giới hay NST thường đều có thể là gây vô sinh, thậm chí gây bất thường phôi thai và bất thường ở thế hệ sau.

* Đảo đoạn NST số 9:

Trong số 13 nam giới có bất thường cấu trúc NST thường, chúng tôi thấy có 6 trường hợp (46,15%) đảo đoạn NST số 9, xảy ra ở cả nhóm VT (n=5) và

TTN (n=1). Capkova (2004) nghiên cứu bất thường NST ở các cặp vợ chồng có bất thường sinh sản đã thấy đảo đoạn NST số 9 thường gặp ở nam giới vô sinh, tác giả gợi ý rằng đảo đoạn này có thể có vai trò gây vô sinh nam, đặc biệt là những trường hợp có đảo đoạn mới [183]. Nghiên cứu của Phan Thị Hoan (2012) cũng đã phát hiện 3 cặp vợ chồng có một trong hai người bị đảo đoạn NST số 9 (2 trường hợp là người chồng và 1 là người vợ) và một trường hợp thai nhi bị đảo đoạn quanh tâm NST số 9. Trong đó: Ở một cặp vợ chồng vô sinh có người chồng VT bị đảo đoạn quanh tâm NST số 9; một cặp vợ chồng có vợ 2 lần thai lưu, 1 lần sẩy thai, người chồng tinh dịch đồ bình thường bị đảo đoạn quanh tâm NST số 9; một cặp vợ chồng phát hiện người vợ mang thai bị đảo đoạn quanh tâm NST số 9 [184]. Như vậy, đảo đoạn quanh tâm NST số 9 có thể gây ra các hậu quả bất thường về sinh sản và nguy cơ sinh con bất thường ở các mức độ khác nhau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có 6/469 nam giới vô sinh (1,28%) có đảo đoạn NST số 9, cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Azimi (0,36%) [168]. Mặc dù hậu quả của đảo đoạn quanh tâm NST số 9 trên lâm sàng còn chưa được sáng tỏ, nhưng kết quả này gợi ý có thể có một số gen phát sinh bất thường trên NST đảo đoạn này đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh tinh trùng nằm trên NST số 9. Tuy nhiên cơ chế như thế nào có liên quan đến bất thường NST số 9 cần được nghiên cứu thêm.

* Chuyển đoạn NST:

Nghiên cứu của các tác giả về mối quan hệ giữa chuyển đoạn NST và vô sinh nam đã được báo cáo. Chuyển đoạn rất đa dạng ở cả NST thường và NST giới tính. Trong đó, chuyển đoạn hòa hợp tâm là thường gặp hơn so với các chuyển đoạn khác. Một số tác giả cũng đã báo cáo về những nam giới vô sinh có chuyển đoạn cân bằng NST thường và chuyển đoạn hòa hợp tâm: 46,XY,t(14;21); 46,XY,t(15;15) [175],[176].

Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ bất thường NST do chuyển đoạn và đảo đoạn ở nam giới vô sinh trong một số nghiên cứu

Tác giả (năm), địa danh NC	% bất thường cấu trúc NST	Bất thường NST do chuyển đoạn		Bất thường NST do đảo đoạn	
		Tỷ lệ %	Karyotyp	Tỷ lệ %	Karyotyp
Akgul (2009), Thổ Nhĩ Kỳ [68]	2,24%	0,56%	46,XY,t(X;1)	1,68%	46,XY,inv(9)(p11q13)
Bernd Rosenbusch (2010), Đức [176]	2,1%	0,23% 0,23% 0,69% 0,23%	46,X,t(Y;18)(q11.2;q21.3) 46,XY,t(13;18)(q14;p11.2) 45,XY,der(13;14)(q10;q10) 45,XY,der(14;21)(q10;q10)	0,23% 0,23%	46,XY,inv(12)(p11.2q13) 46,X,inv(Y)(p11.2q11.2)
Ebru Ö. E. (2009), Thổ Nhĩ Kỳ [175]	2,5%	0,5% 0,5% 0,5% 0,5%	46,XY,der(1)t(1;5)(p33;qter) 46,XY,t(15;15) 46,XY,t(14;21) 46,XY,t(9;15)(q21.1:q11.1)	0,5%	46,XX,inv(Y)(p11q11)
Nagvenkar (2005), Ấn Độ [57]	6,8%	1,13%	45,XY,t(14;21)(q10;q10)	2,27% 1,13%	46,X,inv(Y) 46,XY,inv (9)
Foresta Carlo (2005), Ý [185]	3,2%	0,27% 0,13% 0,13% 0,4% 0,13%	46,XY,t(11;13)(q21;p12) 46,XY,t(9;22)(q31;q12) 46,XY,t(1;10)(q21;p13) 45,XY,der(13;14)(q10;q10) 45,XY,der(14;21)(q10;q10)	0,13%	46,XY,inv(Y)(p11q12.1)
Nghiên cứu này	4,26%	0,21% 0,21% 0,21% 0,21%	46,XY,t(13q14q) 46,XY,t(12q13q) 46,XY,t(20p22p) 46,Y,t(X;2)(p22.3p13)	0,21% 0,42% 0,21% 0,42% 0,21%	46,XY,inv(9)(p13;q13) 46,XY,inv(9)(p11;q13) 46,XY,inv(9)(p21;q21) 46,XY,inv(9) 46,XY(99%)/46,XY,inv(7)(p12;q32)(1%)

Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng gặp những trường hợp vô sinh nam có chuyển đoạn tương hỗ NST thường gồm: 46,XY,t(13q;14q); 46,XY,t(12q;13q); 46,XY,t(20p;22p) và một trường hợp chuyển đoạn tương hỗ giữa NST thường và NST giới tính có karyotyp là 46,Y,t(X,2)(p22.3;p13).

Ngoài ra, các trường hợp còn lại chúng tôi không phát hiện thấy có rối loạn về cấu trúc hay số lượng NST bằng phương pháp xét nghiệm NST, nhuộm băng G. Tuy nhiên những người này có bất thường di truyền ở mức độ đột biến gen hay không cần được xét nghiệm ADN. Ngày nay, những mất đoạn nhỏ nằm trong vùng AZFabcd trên nhánh dài NST Y đã được nghiên cứu và xác định là có liên quan đến suy giảm sinh tinh trùng hoặc VT. Do đó, nếu nam giới vô sinh mà karyotyp bình thường thì kết quả phân tích ADN sẽ là cơ sở tư vấn di truyền, chọn giải pháp thích hợp cho những trường hợp này.

4.3. Về mất đoạn nhỏ NST Y ở nam giới VT và TTN

4.3.1. Về quá trình hoàn chỉnh kỹ thuật multiplex PCR phát hiện mất đoạn AZF

Năm 2009, chúng tôi đã bước đầu tiến hành phân tích mất đoạn AZFc bằng kỹ thuật PCR đơn mồi và đã phát hiện 2 trường hợp mất đoạn AZFc trên NST Y [117]. Đây là cơ sở để chúng tôi tiếp tục phát triển và hoàn thiện kỹ thuật phân tích ADN để phát hiện mất đoạn AZF bằng kỹ thuật PCR đa mồi.

Theo hướng dẫn của EAA và EMQN, rất cần phát hiện mất đoạn nhỏ NST Y dùng trong chẩn đoán vô sinh nam. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng các marker giống như của EAA/EMQN. Các marker còn lại được chúng tôi lựa chọn bổ sung thêm vào theo các nghiên cứu trước đây đã được báo cáo và qua quá trình thử nghiệm. Khi xét nghiệm nếu thấy không xuất hiện một gen nào đó, chúng tôi đều tiến hành PCR lần 2 để khẳng định chắc chắn.

Theo nhiều tác giả thì sử dụng protocol của EAA/EMQN với 6 marker sY84, sY86 (AZFa); sY127, sY134 (AZFb); sY 254, sY255 (AZFc) để phân tích mất đoạn nhỏ NST Y có thể phát hiện được trên 90% các trường hợp mất đoạn và không đề cập đến mất đoạn AZFd [155]. Tuy nhiên, giá trị của nó cũng khác nhau ở từng nhóm dân cư. Nghiên cứu của Fadlalla Elfateh ở Trung

Quốc cũng đã dựa trên khuyến cáo của EAA/EMQN và bổ sung thêm một số cặp mồi khác là sY143, sY152 và sY157 [174].

Những nghiên cứu gần đây phát hiện những điều trái ngược về những marker này. Nghiên cứu ở Ấn Độ đã phát hiện chỉ có 6 người trên tổng số 200 nam giới có mất đoạn, chiếm tỷ lệ 3% khi phân tích bằng các marker của EAA, nhưng đã phát hiện tới 15 trường hợp (10,5%) có mất đoạn khi bổ sung thêm các marker khác cho 3 vùng AZFabc [186]. Ở một nghiên cứu khác của Sen và cs (2013) phân tích mất đoạn AZF trên cùng nhóm đối tượng nghiên cứu cho thấy khi sử dụng các marker của EAA, tỷ lệ phát hiện mất đoạn là 5,4%, nhưng khi sử dụng các marker khác không phải của EAA đã phát hiện thêm 3,1% mất đoạn, nâng tỷ lệ phát hiện mất đoạn AZF là 8,5% [187]. Tương tự, nghiên cứu của Fu và cs (2015) ở Trung Quốc cũng sử dụng 18 marker, tỷ lệ mất đoạn so với 6 marker của EAA tăng thêm tới 22,7%. Tác giả kết luận rằng, sử dụng thêm nhiều marker thì khả năng sàng lọc mất đoạn sẽ cao hơn [99].

Ngoài ra, Thangaraj và cộng sự chỉ sử dụng marker sY184 và sY186 phát hiện người có mất đoạn AZFa. Tác giả đã phát hiện mất đoạn ở vị trí sY746 ở 6 trường hợp và kết luận rằng một số mất đoạn có thể trội hơn ở từng nhóm dân cư [114].

Có tác giả cho rằng AZFd không tồn tại riêng mà đó chính là vùng AZFc. Tuy nhiên, Kent-First và cộng sự lại cho rằng AZFd nằm giữa AZFb và AZFc. Kent-First và cộng sự báo cáo 6 trường hợp có mất đoạn ở vị trí sY152 và 8 trường hợp có mất đoạn ở vị trí sY153. Tác giả cũng đã báo cáo mất đoạn ở những vị trí STSs trên hai trường hợp có liên quan đến AZFd nhưng nằm ngoài vị trí của AZFc hoặc vùng DAZ. Do vậy tác giả cho rằng có mối liên quan giữa mất đoạn vùng AZFd và nam giới vô sinh do TT hoặc TT kèm theo di động kém và di dạng hình thái tinh trùng [88].

Ngoài ra, bộ kít của hãng Promega cũng bao gồm các marker của đoạn AZFd sử dụng để phân tích mất đoạn nhỏ NST Y ở người vô sinh nam [188].

Müslümanoğlu và cs cũng như nhiều tác giả khác xem vùng AZFd là một vùng riêng biệt trong nghiên cứu của họ, mô tả những mẫu phân tích âm tính với sY254, sY255, trong khi lại dương tính với sY145 và sY153 [189]. Ở những nghiên cứu khác cũng phản ánh sự vắng mặt của sY255 và sY254 cho thấy mất đoạn hoàn toàn AZFc.

Một số tác giả cũng cho rằng, việc bổ sung các cặp mồi để phát hiện thêm mất đoạn vùng AZFd đã góp phần phát hiện thêm mất đoạn nhỏ NST Y và thay đổi tỷ lệ mất đoạn trong những vùng AZF. Chẳng hạn, nghiên cứu của Hussein trên nam giới vô sinh ở Malaysia cho thấy, tỷ lệ mất đoạn cả ba vùng AZFabc là 5,55%, trong khi mất đoạn AZFd là 7,7% [115]. Đặc biệt nhiều báo cáo ở Đông Nam Châu Á và Châu Phi cho thấy tỷ lệ mất đoạn NST Y thấp khi phân tích bằng những marker theo hướng dẫn của EAA [190],[191],[192]. Do vậy, có thể nói các marker theo khuyến cáo của EAA là chưa đủ để sàng lọc mất đoạn NST Y.

Ở một nghiên cứu khác của Barbhuiya ở Ấn Độ (2013), tác giả chỉ sử dụng 5 cặp mồi để phát hiện mất đoạn AZFa (DBY, UPS9Y) và AZFd (sY145, sY152, sY153) đã phát hiện được 25,3% trường hợp mất đoạn. Tác giả kết luận rằng như vậy là đủ hiệu quả để phát hiện mất đoạn AZF trong quần thể nghiên cứu, mặc dù không theo quy định, hướng dẫn của EAA/EMQN [193].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi có một số thay đổi so với hướng dẫn của EAA/EMQN để phù hợp với điều kiện ở Việt Nam nhưng vẫn tuân thủ nguyên tắc kỹ thuật, đảm bảo chẩn đoán chính xác.

Các thay đổi về kỹ thuật phân tích ADN trong nghiên cứu của chúng tôi như sau:

- Sử dụng 10 cặp mồi. Trong đó có 8 cặp mồi như của EAA/EMQN và bổ sung thêm 2 cặp mồi sY152 và BPY2 để xác định thêm locus gen trên NST Y thuộc vùng AZFd.

- Thực hiện 3 phản ứng multiplex PCR thay vì 2 phản ứng multiplex PCR. Mỗi phản ứng multiplex PCR có 3 hoặc 4 cặp mồi để phát hiện mất đoạn AZFabcd và được phân bố đều ở mỗi vùng khác nhau. Tuy số lượng multiplex PCR và số cặp mồi sử dụng có nhiều hơn nhưng lượng hóa chất không tốn kém hơn vì tổng lượng trong một tuýp phản ứng multiplex PCR là 12,5µl trong khi hướng dẫn của EAA/EMQN là 50 µl.

- Thời gian điện di 70 phút với hiệu điện thế 100 V thay vì điện di qua đêm với hiệu điện thế 25 V. Sự thay đổi này đã được tiến hành thí nghiệm nhiều lần, cho thấy ổn định và không ảnh hưởng tới kết quả điện di. Điều này phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm tránh phải theo dõi dài qua đêm.

- Các cặp mồi được bổ sung và hoàn thiện không ảnh hưởng đến sự thiết kế các thành phần của phản ứng PCR, thời gian và chu trình phản ứng PCR. Kết quả xác định mất đoạn nhỏ vùng AZFabcd trên NST Y vẫn chính xác, rõ ràng như khi sử dụng 2 phản ứng PCR của EAA/EMQN.

4.3.2. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y

Mất đoạn nhỏ NST Y là nguyên nhân di truyền thứ hai gây suy giảm sinh tinh trùng ở nam giới vô sinh [4],[155]. Tần suất mất đoạn NST Y tăng lên cùng với mức độ suy giảm sinh tinh trùng và khác nhau ở từng nhóm dân cư trên thế giới, đối tượng nghiên cứu, tỷ lệ dao động từ 1 - 55,5% [65],[194]. Kiểu mất đoạn và tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y được cho là có liên quan đến chủng tộc và từng nhóm dân cư khác nhau [195].

Kết quả phân tích ADN của chúng tôi trên 469 nam giới vô sinh do VT hoặc TTN đã phát hiện thấy 49 trường hợp có mất đoạn nhỏ ở vùng AZFabcd trên NST Y, chiếm tỷ lệ 10,4%. Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Lifu (2012) trên 1.333 nam giới vô sinh ở Trung Quốc là 10,8% và cao hơn kết quả nghiên cứu của Phan Thị Hoan là 6,9% [105],[156]. Tỷ lệ phát hiện mất đoạn AZF của chúng tôi cao hơn của Phan Thị Hoan và cs, rất có thể là

do trong nghiên cứu này, chúng tôi đã bổ sung thêm 2 cặp mồi, qua đó chúng tôi đã xác định cả mất đoạn AZFd mà trong nghiên cứu của Phan Thị Hoan chưa làm.

So sánh tỷ lệ mất đoạn nhỏ vùng AZF trên NST Y trong các nghiên cứu của một số tác giả đã công bố cũng khác nhau do sử dụng số lượng cặp mồi khác nhau và các vùng AZF cũng khác nhau.

Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ mất đoạn nhỏ vùng AZF trên NST Y trong một số nghiên cứu

Tác giả (năm)	Nơi nghiên cứu	Vùng AZF	Số lượng cặp mồi	Tỷ lệ mất đoạn AZF
Tse J.Y.M (2000) [196]	Hồng Kông	AZFabc	6	9%
Martínez (2000) [93]	Tây Ban Nha	AZFabc	9	7%
Akbari A. F. (2003) [95]	Iran	AZFabc	11	5%
Min Jee Kim (2012) [111]	Hàn Quốc	AZFabc	5	8,9%
Ramaswamy Suganthi (2013) [102]	Ấn Độ	AZFabc	15	36%
Omar F Khabour (2014) [192]	Jordan	AZFabc	16	8,3%
Fadlalla Elfateh (2014) [174]	Trung Quốc	AZFabc	10	12,95%
Reza M. (2010) [197]	Ấn Độ	AZFabcd	13	12%
Walid A. (2013) [198]	Syres	AZFabcd	28	28,4%
Phan T. Hoan (2013) [156]	Việt Nam	AZFabc	6	6,9%
Trần V. Khoa (2013) [199]	Việt Nam	AZFabc	6	5,77%
Nghiên cứu này (2014)	Việt Nam	AZFabcd	8	10,4%

Bảng 4.3 cho thấy, phần lớn các báo cáo của các tác giả nghiên cứu ở các nước Châu Á cho thấy tỷ lệ mất đoạn AZF trong khoảng trên dưới 10%. Kết

quả nghiên cứu của chúng tôi thấy tỷ lệ mất đoạn AZF là 10,4% cũng nằm ở giữa khoảng tỷ lệ này. Cũng qua bảng thống kê trên chúng ta cũng thấy nếu sử dụng càng nhiều cặp mồi thì khả năng phát hiện mất đoạn AZF cũng có vẻ tốt hơn. Tuy nhiên, vẫn có những nghiên cứu sử dụng nhiều cặp mồi nhưng tỷ lệ phát hiện mất đoạn nhỏ NST Y vẫn thấp [95]. Có thể do khi chọn mồi, tác giả đã sử dụng một số mồi cùng phát hiện một điểm đột biến. Việc lựa chọn mồi dùng cho xét nghiệm thực sự là cần thiết. Ở mỗi nước, kiểu mất đoạn nhỏ NST Y cũng có thể khác nhau nên việc lựa chọn cặp mồi dùng cho xét nghiệm ở các nước khác nhau cũng có thể khác nhau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, đột biến mất đoạn nhỏ NST Y ở nhóm VT chiếm 32/354 (9%), nhóm TTN chiếm 17/115 (14,8%). Kết quả này khác so với một số nghiên cứu khác với mất đoạn xảy ra ở nhóm VT từ 10 - 15% và nhóm TT là 5 - 10% [3],[194]. Sự khác nhau này có thể giải thích được do chúng tôi sử dụng thêm các cặp mồi để phát hiện mất đoạn AZFd, mà mất đoạn AZFd lại xảy ra chủ yếu ở những nam giới TTN. Do vậy, trong nghiên cứu này, tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở nhóm TTN lại cao hơn ở nhóm VT.

Trong số 49 nam giới bị mất đoạn nhỏ NST Y, ở nhóm VT 32/49 (65,3%), nhóm TTN 17/49 (34,7%). Mất đoạn giữa các vùng AZF khác nhau thường xuất hiện với tỷ lệ khác nhau. Nghiên cứu này cho thấy mất đoạn AZFc và AZFc+d chiếm tỷ lệ cao nhất: đều là 13/49 (26,53%), tiếp theo là AZFb+c+d: 8/49 (16,33%), AZFd: 7/49 (14,29 %), AZFa+b+c+d và AZFb+c: 3/49 (6,12 %), AZFb: 2/49 (4,08%), không phát hiện thấy mất đoạn đơn thuần AZFa.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện 3 phản ứng multiplex PCR với 8 cặp mồi để xác định mất đoạn gen ở các vùng AZFabcd. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của Viện sinh sản Munster-Đức sử dụng 6 cặp mồi ở 3 vùng AZFabc cho tỷ lệ mất đoạn như sau: mất đoạn

AZFc chiếm tỷ lệ cao nhất (79%), AZFb (9%), AZFb+c (6%), AZFa (3%) và AZFa+b+c (3%) [155]. Kết quả của chúng tôi cũng khác với kết quả nghiên cứu của Phan Thị Hoan sử dụng 6 cặp mồi ở 3 vùng AZFabc cho tỷ lệ mất đoạn AZFc cao nhất (45%), AZFb+c (36%), AZFb (9%) và AZFa+b+c (9%) [156].

Như vậy, việc bổ sung các cặp mồi để phát hiện thêm mất đoạn vùng AZFd trong nghiên cứu này đã góp phần phát hiện thêm mất đoạn nhỏ NST Y và thay đổi tỷ lệ mất đoạn giữa những vùng AZF. Trên nhánh dài của NST Y, vùng AZFd nằm giữa AZFb và AZFc nên mất đoạn ở vùng AZFd thường có mối liên quan đến hai vùng còn lại. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của các tác giả đều cho thấy mất đoạn AZFd thường kết hợp với mất đoạn AZFc. Tuy nhiên, không phải bao giờ mất đoạn AZFd cũng có mất đoạn AZFc.

Tóm lại, việc bổ sung thêm các cặp mồi sẽ làm tăng khả năng phát hiện thêm các mất đoạn ở mỗi vùng AZF và sẽ làm thay đổi tỷ lệ mất đoạn giữa các vùng này. Vấn đề ở chỗ cần lựa chọn những marker nào có khả năng tối ưu nhất, phát hiện được những mất đoạn thường gặp và bao trùm rộng nhất trên nhánh dài của NST Y.

4.3.3. Tỷ lệ mất đoạn ở từng vùng AZF và kết hợp

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện những trường hợp mất đoạn AZFb, AZFc, AZFd đơn thuần với tỷ lệ lần lượt là 4,29%, 26,33% và 14,29% nhưng chưa gặp loại mất đoạn AZFa đơn thuần. Kết quả này khác với kết quả nghiên cứu của Kuramasamy, mất đoạn AZFa đơn thuần gặp với tỷ lệ rất cao là 17,2% [114].

*** Mất đoạn AZFa:**

Tổng hợp các kết quả nghiên cứu hơn 10 năm qua của các tác giả báo cáo về mất đoạn nhỏ NST Y đã chứng tỏ rằng mỗi tiểu vùng AZF có một hoạt

động khác nhau nhất định trong quá trình sinh tinh trùng. Loại mất đoạn AZFa là loại tương đối khắc nghiệt vì theo các công bố trước đây thì không thể gặp tinh trùng trong tinh dịch hoặc tách chiết được tinh trùng từ tinh hoàn. Hầu hết các tác giả đều cho rằng mất đoạn hoàn toàn vùng AZFa dẫn đến VT. Do đó, chẩn đoán mất đoạn hoàn toàn vùng AZFa đồng nghĩa không thể lấy được tinh trùng từ tinh hoàn ở những trường hợp này để làm kỹ thuật ICSI [82].

Theo nhiều nghiên cứu, trong các vùng AZF thì tỷ lệ mất đoạn thấp nhất là AZFa và có thể xảy ra mất đoạn AZFa đơn thuần hoặc phối hợp. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở trên nam giới VT/TTN khi phân tích với 2 marker sY84 và sY86, không phát hiện thấy trường hợp nào có mất đoạn AZFa đơn thuần. Kết quả này cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Phan Thị Hoan tại Bộ môn Y Sinh học Di truyền - Đại học Y Hà Nội không phát hiện mất đoạn AZFa đơn thuần [156]. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu tại Trung tâm Công nghệ phôi - Học Viện Quân y thấy 1 trường hợp mất đoạn AZFa đơn thuần, chiếm tỷ lệ 1,45% [199].

*** Mất đoạn AZFb:**

Mất đoạn nhỏ trên vùng AZFb thường xảy ra hơn so với vùng AZFa, có kiểu hình sinh tinh nửa chừng (SGA) và thường VT. Mất đoạn AZFb là loại mất đoạn khắc nghiệt nhất vì cho tới nay chưa có nghiên cứu nào công bố mất đoạn hoàn toàn vùng AZFb có thể thấy tinh trùng trong tinh dịch hoặc chiết tách tinh trùng từ tinh hoàn.

Nghiên cứu của Phan Thị Hoan phát hiện mất đoạn AZFb đơn thuần với tỷ lệ 9%, nghiên cứu của Trần Văn Khoa tại Học Viện Quân y thì mất đoạn AZFb đơn thuần là 2,9%. Nghiên cứu của Phan Thị Hoan và Trần Văn Khoa đều cho thấy mất đoạn AZFb đơn thuần đều bị VT [156],[199].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phát hiện thấy 2 trường hợp mất đoạn AZFb đơn thuần chiếm tỷ lệ 4,08%, 2 bệnh nhân này đều VT. Akbari Asbagh

cũng cho thấy bệnh nhân mất đoạn AZFb đơn thuần đều bị VT. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu trên 40 bệnh nhân ở Iran của tác giả này thì có tới 66,67% mất đoạn ở AZFb đơn thuần [200]. Theo chúng tôi, có thể nghiên cứu cỡ mẫu nhỏ, đối tượng nghiên cứu và địa điểm nghiên cứu khác nhau có thể dẫn đến sự khác biệt về kết quả nghiên cứu giữa các tác giả. Tuy nhiên, dù ở tỷ lệ nào thì khi mất đoạn AZFb, các tác giả đều thấy bệnh nhân bị VT.

*** Mất đoạn AZFc:**

Mất đoạn AZFc có thể thấy kiểu hình tương đối đa dạng, từ mức độ tinh trùng bình thường, TT, TTN hoặc VT [155]. Ở những nam giới VT do mất đoạn AZFc vẫn có cơ hội để tìm thấy tinh trùng bằng kỹ thuật tách tinh trùng từ tinh hoàn (TESE - Testicular sperm extraction) và có thể sinh con bằng phương pháp ICSI. Do vậy, mất đoạn AZFc được cho rằng mức độ ảnh hưởng đến sinh tinh trùng ít nghiêm trọng hơn mất đoạn AZFa hoặc AZFb.

Wettasinghe và cs báo cáo phần lớn các nghiên cứu mất đoạn ở khu vực Châu Á cho thấy tỷ lệ mất đoạn AZFc chiếm phần lớn so với mất đoạn AZF khác trên NST Y [201]. Các nghiên cứu khác cũng báo cáo mất đoạn hoàn toàn và không hoàn toàn ở AZFc chiếm tỷ lệ cao nhất so với mất đoạn vùng AZF khác như: Zhu X.B (62,92%); Ramaswamy Suganthi (66,67%); Phan Thị Hoan (45%); Prafulla S. Ambulkar (84,6%) [109,[102],[156],[202]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy mất đoạn hoàn toàn AZFc chiếm tỷ lệ cao nhất là 13/49 (26,33%), trong đó ở nhóm VT là 5/49 (10,2%), nhóm TT là 8/49 (16,33%). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác cho thấy mất đoạn AZFc thường cao nhất và ở nhóm TT cao hơn ở nhóm VT. Nếu tính tổng số mất đoạn AZFc đơn thuần và kết hợp thì có 40/49 trường hợp có mất đoạn AZFc (81,63%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của Kuramasary (2003) phát hiện 82,8% có mất đoạn AZFc (đơn thuần và kết hợp) trong tổng số bệnh nhân nghiên cứu và 24,1% mất đoạn AZFc đơn thuần [114]. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi khác với kết

quả nghiên cứu của Akbari Asbagh, chỉ thấy 5% mất đoạn AZFc trong số 40 nam giới vô sinh ở Iran [200].

Đối với loại mất đoạn AZFc, nếu cả hai marker sY54 và sY255 đều bị mất đoạn thì toàn bộ vùng AZFc được xác định là mất đoạn hoàn toàn và những bệnh nhân này có thể thấy tinh trùng trong tinh hoàn hoặc tinh dịch. Họ có thể lựa chọn hình thức hỗ trợ sinh sản như thụ tinh trong ống nghiệm với TESE/ICSI. Một số tác giả cho rằng trong số bệnh nhân mất đoạn AZFc mà VT thì khoảng 70% chiết tách được tinh trùng từ tinh hoàn để thực hiện kỹ thuật ICSI và người con trai của họ sẽ nhận NST Y cũng bị mất đoạn AZFc như người bố, còn người con gái của họ thì bình thường [203],[204]. Đây là một đặc điểm cần lưu ý trong khi thực hiện tư vấn di truyền đối với những người có mất đoạn AZFc.

Trong các nghiên cứu trên thì Kuramasary (2003) nghiên cứu ở những người nam giới VT [114], Ramaswamy Suganthi (2013) [102] nghiên cứu ở trường hợp TTN, các tác giả khác nghiên cứu ở cả trường hợp VT và TT đều phát hiện có mất đoạn AZFc, chứng tỏ các trường hợp mất AZFc vẫn có thể có tinh trùng trong tinh dịch. Tuy nhiên, các tác giả đều có chung một nhận xét là khi mất AZFc, trường hợp nếu có tinh trùng thì số lượng và cả chất lượng cũng đều rất thấp, thường là TTN [102],[155],[156],[200],[201],[203],[204]. Vì vậy, với những trường hợp mất đoạn AZFc đơn thuần thì chỉ nên điều trị đến khi đủ điều kiện làm hỗ trợ sinh sản, điều trị nội khoa đến mức có thể có thai tự nhiên không cần hỗ trợ sinh sản là không hiệu quả, rất khó thành công.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, số nam giới mất đoạn AZFc đơn thuần là 13 thì có 5 người là VT, 8 người là TTN, người TT có số lượng tinh trùng nhiều nhất là 4 triệu/ml, có đến 4 người có mật độ tinh trùng là 0,05 triệu/ml. Như vậy, người mất đoạn AZFc có thể VT hoặc TT nhưng số lượng tinh trùng rất ít. Với thực tế này thì mất AZFc vẫn có khả năng điều trị để có thể có tinh trùng. Tuy nhiên, nếu có tinh trùng cũng cần phải hỗ trợ sinh sản.

*** Mất đoạn AZFd:**

Sở dĩ vùng này được đề cập đến vì nó có tỷ lệ đột biến mất đoạn cao hơn so với các vùng khác ở những nam giới vô sinh do VT hoặc TTN có bất thường về hình thái tinh trùng. Ngoài ra, mất đoạn vùng AZFd còn có thể tìm thấy ở những trường hợp TT mức độ vừa [88]. Vì vậy, xác định mất đoạn AZFd cũng đồng nghĩa với việc nam giới ở trạng thái vô sinh không nặng, khả năng điều trị khả quan hơn so với mất đoạn AZFa, AZFb và AZFc.

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi thì mất đoạn AZFd đơn thuần chiếm 7/49 trường hợp bị mất đoạn (14,29 %), trong đó ở nhóm TTN là 5/49, cao hơn ở nhóm VT là 2/49. Kết quả này cũng giống như kết quả nghiên cứu về mất đoạn AZFd của một số tác giả khác như: Kent-First và cộng sự phát hiện 14 mất đoạn AZFd đơn thuần ở Mỹ, Muslumanoglu phát hiện 3 mất đoạn AZFd đơn thuần ở Thổ Nhĩ Kỳ, Yao xác định 4 trường hợp mất đoạn AZFd đơn thuần ở Trung Quốc [88],[188],[113]. Với kết quả này, theo chúng tôi không nên cho rằng mất đoạn AZFd chỉ như là 1 phần của AZFc, vì khi phân tích chúng ta có thể thấy không có đột biến AZFc nhưng vẫn có đột biến AZFd. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng giống như của các tác giả khác cho thấy mất đoạn AZFd thường kết hợp với mất đoạn AZFc. Tuy nhiên không phải bao giờ mất đoạn AZFd cũng có mất đoạn AZFc.

Kết quả của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của Abilash và cs nghiên cứu trên nam giới vô sinh thuộc Đông Nam Ấn Độ phát hiện mất đoạn nhỏ NST Y trên bốn vùng AZFabcd xảy ra ở cả nhóm nam giới VT và TT, trong đó mất đoạn AZFd chiếm 13% ở nhóm VT và 12 % ở nhóm TT [205]. Nghiên cứu của Barbhuiya cho thấy tỷ lệ mất đoạn AZFd là 14,6%, cao nhất so với các mất đoạn AZFa, AZFb và AZFc [103].

Tính tất cả các trường hợp có mất đoạn AZFd (BPY2, sY152) trên tổng số 469 nam giới VT và TTN thì tỷ lệ mất đoạn AZFd là 31/469 (6,6 %). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của các nghiên cứu

trước về mất đoạn AZFd ở Mỹ (Kent-first, 1999), ở Úc (Cram, 2000) và ở Đài Loan (Lin, 2002). Các nghiên cứu này cho tỷ lệ lần lượt là 6,2%; 6,9% và 6,8% [87],[88],[112].

Liên quan đến mất đoạn AZFd, các tác giả đều thấy gặp nhiều ở nam giới TT. Mức độ vô sinh ở những người nam giới mất đoạn AZFd là nhẹ nhất trong 4 loại mất đoạn nhỏ AZF trên NST Y. Tuy nhiên các tác giả đều cho rằng mất đoạn AZFd cần được hỗ trợ sinh sản [87],[88],[112],[188],[192].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, số nam giới mất đoạn AZFd đơn thuần là 7 thì chỉ có 2 người là VT, 5 người TTN, người TT có số lượng tinh trùng nhiều nhất là 5 triệu/ml, chỉ có 1 người có mật độ tinh trùng rất ít là 0,05 triệu/ml. Như vậy, người mất đoạn AZFd có mức độ vô sinh nhẹ hơn mất đoạn AZFc, phần lớn người mất AZFd là TT và số lượng tinh trùng cũng nhiều hơn ở người mất AZFc. Do mức độ vô sinh nhẹ hơn trường hợp mất AZFc nên những nam giới có mất đoạn AZFd điều trị dễ hơn ở người mất đoạn AZFc. Tuy nhiên, do mật độ tinh trùng có tốt hơn trường hợp mất đoạn AZFc nhưng vẫn là TTN nên nếu bệnh nhân có tinh trùng cũng hầu hết phải hỗ trợ sinh sản.

*** Mất đoạn kết hợp:**

Đối với những nam giới mất đoạn hoàn toàn vùng AZFa, AZFb, AZFb+c hoặc AZFa+b+c thì hầu như không có cơ hội để sinh con từ tinh trùng của chính mình và cần tư vấn để lựa chọn hình thức hỗ trợ sinh sản.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy trong số những trường hợp mất đoạn AZF thì có 16/49 trường hợp ở nhóm VT/TTN (32,65%) và 7/12 trường hợp ở nhóm VT (58,33%) có liên quan đến AZFb (AZFb, AZFb+c, AZFb+c+d, AZFa+b+c+d) đều là những nam giới VT. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Li Fu thấy rằng sự mất đoạn kết hợp các vùng AZFa+b+c hoặc AZFa+b hoặc mất đoạn không hoàn toàn AZFb chỉ ở nam giới VT [105].

Kết quả ở biểu đồ 3.4 cho thấy mất đoạn ở cả bốn vùng AZFabcd có liên quan đến nhau. Cụ thể, Mất đoạn AZFd có liên quan đến mất đoạn ở tất cả các vùng AZFabc. Trong đó: Mất đoạn AZFd kèm theo mất đoạn AZFa+b+c là 6,12%; hoặc kèm theo mất đoạn AZFb+c là 16,33%; hoặc kèm theo mất đoạn AZFc là 26,33%. Mất đoạn AZFb kèm theo mất đoạn AZFc là 6,12%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Mostafa (2013) ở vùng Tây Bắc Iran cho thấy mất đoạn AZFd thường đi kèm với mất đoạn AZFc, AZFb hoặc kết hợp cả hai [116]. Theo kết quả nghiên cứu của Reza Mirfakhraie thì mất đoạn AZFd kết hợp với mất đoạn AZFc chiếm tỷ lệ là 25%, cao hơn so với mất đoạn kết hợp AZFb+c+d (8,33%) [197].

Tuy nhiên, kết quả này cũng khác với kết quả nghiên cứu của Chung Man Kin (2004) chỉ thấy liên quan mất đoạn giữa AZFd và AZFc và không thấy kết hợp mất đoạn giữa AZFd với những vùng khác [206]. So với kết quả nghiên cứu về mất đoạn AZFabcd của Tse (2000) cho thấy không có sự liên quan giữa mất đoạn AZFd với mất đoạn AZFb [196]. Kết quả này cho thấy tỷ lệ mất đoạn AZFd có liên quan tới cả AZFc và AZFb. Thực tế cho thấy người có mất đoạn AZFc có thể cũng có mất đoạn AZFd và ngược lại vì các vùng định khu của AZFc và AZFd là gần nhau.

Chúng tôi phát hiện mất đoạn xảy ra vùng AZFc và AZFd đơn thuần có ở nhóm nam giới TTN và VT, xảy ra ở nhóm TTN lại cao hơn nhóm VT. Trong khi mất đoạn AZFc hoặc AZFd kết hợp mất đoạn vùng AZF khác như mất đoạn AZFb+c; AZFb+c+d; AZFa+b+c+d xảy ra ở chủ yếu ở nhóm nam giới VT. Kết quả này hoàn toàn phù hợp bởi vì mất đoạn liên quan đến AZFa và AZFb thường dẫn đến VT. Mặt khác, mất đoạn càng lớn, ở nhiều vị trí hơn liên quan đến suy giảm sinh tinh trùng càng nặng hơn. Do vậy, đối với những nam giới có mất đoạn AZFa, AZFb, AZFb+c, AZFa+b+c, AZFa+b+c+d sẽ có rất ít cơ hội để sinh con từ tinh trùng của mình và cần được tư vấn di truyền để hỗ trợ sinh sản.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Mostafa (2013) khi phát hiện các trường hợp mất đoạn AZFd đơn thuần và có liên quan đến mất đoạn AZFbc. Tác giả báo cáo mất đoạn AZFd phổ biến ở người vô sinh nam là 39,38% [116]. Nghiên cứu của Hussein ở Malaysia cũng cho thấy 4 trường hợp mất đoạn AZFd (7,4%), trong đó có 2 trường hợp mất đoạn AZFd có liên quan đến mất đoạn AZFc [115].

Việc triển khai xét nghiệm mất đoạn nhỏ NST Y đã góp phần xác định nguyên nhân của các trường hợp vô sinh, qua đó có giá trị định hướng cho các bác sĩ lâm sàng điều trị, tìm khắc phục thích hợp cho bệnh nhân, làm cơ sở cho tư vấn di truyền phòng ngừa, hạn chế việc truyền gen bệnh cho các thế hệ sau. Trong trường hợp người mất đoạn AZFa không có tế bào dòng tinh, các biện pháp điều trị làm kích thích sinh tinh không có hiệu quả. Đặc biệt, những người mất cả AZFa+b+c hoặc AZFa+b+c+d thì việc điều trị nội khoa không mang lại hiệu quả, chỉ gây tốn kém cho người bệnh. Do vậy, trong tư vấn di truyền, nếu gặp một trong những mất đoạn AZFa, AZFb, AZFa+b+c hoặc AZFa+b+c+d thì họ cần phải chọn biện pháp xin tinh trùng. Đối với trường hợp chỉ mất đoạn AZFc hoặc AZFd có tế bào dòng tinh thì có thể có hy vọng sinh con bằng tinh trùng của mình thông qua các biện pháp hỗ trợ sinh sản. Nhưng những người này nếu sinh con trai thì con trai sẽ có mất đoạn AZF giống như bố, con gái sẽ hoàn toàn bình thường. Tuy nhiên, các gen liên quan đến vô sinh còn nhiều, cần có sự triển khai thêm các xét nghiệm để xác định các đột biến khác liên quan đến vô sinh qua đó giảm tỷ lệ vô sinh KRNN, có hướng khắc phục, điều trị và tư vấn di truyền phòng ngừa việc truyền gen bệnh cho thế hệ sau.

4.3.4. Tỷ lệ mất đoạn tại các vị trí STS phát hiện được

Nghiên cứu này nhằm phát hiện mất đoạn cả bốn vùng AZFabcd. Kết quả ở bảng 3.23 cho thấy, trong số 49 người bị mất đoạn ở các vị trí, vị trí sY254 và sY255 vùng AZFc chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 41/49 (83,67%) và 40/49 (81,63%); tiếp theo lần lượt là các gen vùng AZFd: sY152 là 32/49 (65,31%)

và BPY2 là 21/49 (42,86%); các gen vùng AZFb: sY127 là 15/49 (30,61%), sY134 là 16/49 (32,65%), các gen vùng AZFa chiếm tỷ lệ thấp nhất: sY84 là 4/49 (8,16%) và sY86 là 3/49 (6,12%).

Kết quả trình bày ở bảng 3.24 cũng cho thấy, trong số các bệnh nhân bị mất đoạn AZFabcd có tổng số 172 vị trí STS bị mất đoạn. Trong đó: Mất đoạn ở vị trí sY254, sY255 vùng AZFc chiếm tỷ lệ cao nhất là 23,84%, và 23,26%; Mất đoạn ở vị trí sY152 và BPY2 vùng AZFd chiếm tỷ lệ cao thứ hai là 18,6 % và 12,21%; Mất đoạn ở vị trí sY127 và sY134 vùng AZFb chiếm tỷ lệ cao thứ ba là 8,72% và 9,3%; Cuối cùng là các vị trí sY84, sY86 chiếm tỷ lệ thấp nhất là 2,33% và 1,74%.

Với kết quả nêu trên và đối chiếu với nghiên cứu của nhiều tác giả, chúng tôi thấy các marker sY254, sY255, sY127, sY134, sY84, sY86, sY152 và BPY2 để phát hiện mất đoạn nhỏ NST Y vùng AZFabcd là thích hợp để triển khai và áp dụng đối với bệnh nhân vô sinh nam ở Việt Nam. Đặc biệt, việc bổ sung hai marker sY152 và BPY2 để phát hiện thêm mất đoạn vùng AZFd là hoàn toàn phù hợp và cần thiết nhằm phát hiện thêm những vị trí mất đoạn mà nếu chỉ sử dụng các marker theo khuyến cáo của EAA sẽ bỏ sót nhiều trường hợp bị mất đoạn. Do vậy, nếu không phân tích mất đoạn AZFd với hai cặp mồi như trên có thể một số người VT, đặc biệt là TTN không chẩn đoán được nguyên nhân để tư vấn di truyền và tìm hướng khắc phục cho phù hợp.

Kết quả ở biểu đồ 3.5 cho thấy, ở nhóm VT, các vị trí mất đoạn xuất hiện ở tất cả các STS. Trong khi ở nhóm TTN, các vị trí mất đoạn không xuất hiện ở các STS như sY84, sY86, sY127 và sY134, mà chỉ xuất hiện mất đoạn ở vị trí sY254, sY255, sY152 và BPY2. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của các tác giả [81],[82],[105],[106],[109],[111].

4.4. Liên quan giữa bất thường NST và mất đoạn gen ở nam giới VT và TTN

Kết quả ở bảng 3.26 cho thấy: Số lượng nam giới VT đều nhiều hơn nam giới TTN ở tất cả các nhóm đột biến NST, đột biến gen hoặc vừa đột biến NST vừa đột biến gen, với $p < 0,05$.

Ở nhóm không có đột biến NST, không có đột biến ADN: chúng tôi thấy nhóm nam giới VT nhiều hơn nhóm TTN. Không tìm thấy nguyên nhân, có thể do mất đoạn AZF ở vị trí nào đó không nằm trong những vị trí gen mà đã sử dụng các cặp mồi để phát hiện; hoặc cần phải tìm nguyên nhân khác.

Ở nhóm có đột biến NST, không có đột biến gen: Nhóm nam giới VT chiếm đa số do có tới 39/51 trường hợp Hội chứng Klinefelter thể thuần, còn lại là những người có karyotyp 47,XY,+i(Xq), 47,XYY, một số trường hợp có NST đảo đoạn, chuyển đoạn, chèn đoạn và mất đoạn. Nhóm nam giới TTN chiếm tỷ lệ ít (6 trường hợp) có karyotyp đảo đoạn, chuyển đoạn,… Điều này hoàn toàn phù hợp vì những nam giới có bất thường NST như đảo đoạn, chèn đoạn, chuyển đoạn có thể gây VT hoặc TTN nhưng vẫn có gen AZF trên NST Y hoặc NST Y nguyên vẹn nên khi xét nghiệm ADN vẫn phát hiện được những gen trên NST Y.

Đặc biệt đối với những người hội chứng Klinefelter, trước đây người ta cho rằng Klinefelter thuần không có cơ hội có tinh trùng nên khi xét nghiệm phát hiện thấy bệnh nhân là Klinefelter thuần thì sẽ chỉ định không làm các xét nghiệm multiplex PCR để xem có các đột biến mất đoạn AZFabcd vì xét nghiệm này là vô nghĩa vì chắc chắn bệnh nhân vẫn không có tinh trùng và không có cơ hội có con. Tuy nhiên, hiện nay người ta đã thấy có thể điều trị để người mắc Klinefelter có thể có con, vì vậy nếu xét nghiệm thấy có bất thường NST giới tính như bị mắc Klinefelter vẫn nên làm xét nghiệm multiplex PCR để xác định mất đoạn AZFabcd. Xét nghiệm này rất có ý nghĩa trong việc lựa chọn hướng can thiệp và tư vấn di truyền.

Ở nhóm vừa đột biến NST và vừa đột biến gen: Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy có tất cả 8 trường hợp nhưng đều ở nhóm nam giới VT và đều có là bất thường NST giới tính, chủ yếu là mất đoạn nhánh dài NST Y, còn lại là có karyotyp 46,XX và 45,X.

Ở nhóm không có đột biến NST nhưng có đột biến gen: Có tới 41 người bị mất đoạn AZF, trong đó có 24 nam giới ở nhóm VT và 17 nam giới ở nhóm TTN. Như vậy, nếu không xét nghiệm ADN thì sẽ không thể tìm ra nguyên nhân với số lượng khá nhiều trường hợp mà trước đây cho là không rõ nguyên nhân.

Một số nghiên cứu của các tác giả trước cho thấy có mối liên hệ giữa bất thường NST và mất đoạn AZF trên NST Y [109],[171]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy trong số 49 nam giới vô sinh có mất đoạn NST Y thì có 8 trường hợp vừa có bất thường NST và mất đoạn AZF, chiếm tỷ lệ 16,33%. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Cavkaytar ở Thổ Nhĩ Kỳ (2012) là 4/20 (20%) nhưng cao hơn kết quả nghiên cứu của Dai ở Trung Quốc (2012) là 4/51 (7,84%) và Dingyang Li (2012) là 19/412 (4,61%) [207],[109],[172].

Trong tổng số 469 nam giới vô sinh ở nghiên cứu này, số người có vừa bất thường NST và mất đoạn AZF trên NST Y là 8/469 (1,71%). Tỷ lệ này so với kết quả nghiên cứu của Cavkaytar là 4/322 (1,24%) và của Dingyang Li là 14/4,659 (0,3%) [207],[172]. Trong nghiên cứu này, tất cả những trường hợp vừa bất thường NST và mất đoạn AZF trên NST Y đều là những người VT và có liên quan đến bất thường NST giới tính. Trong đó có: 5 trường hợp 46,X,del(Yq); 1 trường hợp 46,XX; 1 trường hợp 45,X; và 1 trường hợp thể khảm 46,XY,delY(80%),45,X(20%).

Tất cả những trường hợp nam 46,XX và 45,X trong nghiên cứu này đều có gen SRY. Gen SRY được coi là gen xác định giới tính nam và sự phát triển giới tính nam. Thực tế cho thấy nam 46,XX hoặc 45,X là hiếm gặp. Tần suất gặp nam 46,XX là 1/20.000 trẻ sơ sinh nam và gen SRY xuất hiện xấp xỉ 90% ở những trường hợp này. Phần lớn nam 46,XX mang gen SRY do sự tái tổ hợp giữa NST X và NST Y.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Lifu khi phát hiện 34 trường hợp vừa bất thường NST giới tính vừa có mất

đoạn nhỏ NST Y trong tổng số 1.333 nam vô sinh do VT (2,55%). Các trường hợp bất thường NST giới tính đều có karyotyp là: 46,XX; 45,X,delY; 46,XY,Yq$^-$ [105]. Kết quả nghiên cứu khẳng định rằng ở một số người có bất thường NST cũng có thể phát hiện thấy mất đoạn AZF trên nhánh dài NST Y ở những người này.

Hầu hết những trường hợp vừa có bất thường NST giới tính vừa mất đoạn AZF trong nghiên cứu này là hoàn toàn phù hợp. Kết quả ở bảng 3.27 cho thấy, trong số 5 trường hợp có karyotyp là 46,X,del(Yq) thì có 1 trường hợp mất đoạn AZFb+c; 3 trường hợp mất đoạn AZFb+c+d và 1 trường hợp mất đoạn AZFa+b+c+d. Trong đó, có 1 trường hợp karyotyp 46,X,del(Yq), NST Y rất nhỏ, khi xét nghiệm ADN vẫn phát hiện có 1 gen ở vùng AZFa là sY86.

So sánh hình ảnh NST Y ở một số trường hợp mất đoạn AZF (Bảng 3.28) cho thấy: Những người có karyotyp 46,XX hoặc 45,X không có NST Y, tương ứng với kết quả xét nghiệm ADN không xuất hiện AZFabcd. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Qiu-Yue Wu (2014) cho thấy 5 trường hợp nam 46,XX có gen SRY dương tính nhưng kết quả xét nghiệm AZFabc lại âm tính [181]. Những người nam 46,X,del(Yq) trên karyotyp hình ảnh NST Y rất nhỏ, mức độ nhỏ của NST Y thường tương ứng với kết quả xét nghiệm ADN có mất một hoặc nhiều vùng AZF trên nhánh dài NST Y. Những người không có NST Y là 46,XX hoặc 45,X khi xét nghiệm ADN không thấy xuất hiện gen trên các vùng AZFabcd trên NST Y nhưng gen TDF dương tính. Kết quả trên khẳng định tính chính xác của xét nghiệm NST và xét nghiệm ADN và cho thấy mối liên quan chặt chẽ về sự bất thường di truyền liên quan đến vô sinh nam.

4.5. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền

4.5.1. Thể tích, độ pH, độ nhớt tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Kết quả trình bày ở bảng 3.29 cho thấy: Tỷ lệ mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5 ml ở nhóm nghiên cứu là 67,37 % và nhóm chứng là 72,3%, đều cao hơn mức thể tích < 1,5 ml, tương ứng ở nhóm nghiên cứu là 32,63% và nhóm chứng là 27,7%. Tỷ lệ mẫu tinh dịch có thể tích ≥ 1,5ml ở nhóm chứng và nhóm nghiên cứu là gần giống nhau, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Kết quả trình bày ở bảng 3.30 cho thấy: pH tinh dịch ≥ 7,2 ở nhóm nghiên cứu là 96,84% và nhóm chứng là 100%. Số mẫu có pH tinh dịch < 7,2 rất ít và chỉ có ở nhóm nghiên cứu (3,16%), không gặp ở nhóm chứng.

Kết quả trình bày ở bảng 3.31 cho thấy: Ở cả nhóm chứng và nhóm nghiên cứu, độ nhớt tinh dịch ở cả 3 loại bình thường, cao và giảm đều không có sự khác biệt, p > 0,05.

Với các kết quả trên chúng tôi thấy, không có nhiều mối liên quan về thể tích, độ pH, độ nhớt tinh dịch giữa nhóm bất thường di truyền (bất thường NST và mất đoạn AZF) và nhóm chứng.

4.5.2. Chất lượng tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng

Kết quả trình bày ở bảng 3.32 cho thấy: Tinh trùng di động nhanh (≥25%), hình thái tinh trùng bình thường (≥30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (≥75%) ở nhóm TTN đều thấp hơn so với nhóm chứng, với p < 0,001.

Về tốc độ di chuyển của tinh trùng, kết quả ở bảng 3.30 cho thấy:

Ở nhóm chứng: Tốc độ di chuyển của tinh trùng từ 30-40 μm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (37,63%), tiếp theo là tốc độ từ 40-45 μm/s (31,68%), tốc độ trên 50 μm/s (16,83%), tốc độ ≤ 30 μm/s chiếm tỷ lệ thấp nhất (13,86%).

Ở nhóm TT có bất thường di truyền: Tốc độ di chuyển của tinh trùng ≤ 30 µm/s chiếm tỷ lệ cao nhất (78,95%), tiếp theo lần lượt là tốc độ từ 30-40 µm/s (15,79%), tốc độ từ 40-50 µm/s (3,16%), cuối cùng là tốc độ > 50 µm/s (2,1%).

Tinh trùng di động chậm ≤ 30 µm/s thì tỷ lệ ở nhóm chứng thấp hơn rõ rệt so với nhóm TT có bất thường di truyền. Trong khi ở các nhóm tinh trùng di động nhanh 30-40 µm/s; 40-50 µm/s và > 50 µm/s thì tỷ lệ ở nhóm chứng lại cao hơn rõ rệt so với nhóm TT có bất thường di truyền, p< 0,001.

Về mật độ tinh trùng, kết quả trình bày ở bảng 3.34 cho thấy: Nam giới VT có nguy cơ bất thường NST cao gấp 3,63 lần và nguy cơ bất thường ADN bằng 0,57 lần so với người TTN. Trong số 469 nam giới vô sinh, phát hiện 65/469 (13,9%) trường hợp VT, TTN có bất thường NST. Bất thường NST ở nhóm VT là 59/295 (16,7%) cao hơn ở nhóm TTN là 6/109 (5,2%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

Kết quả của chúng tôi cho thấy trong số 65 trường hợp có bất thường NST thì có tới 39/65 người mắc hội chứng Klinefelter, chiếm 60%. Những người mắc hội chứng Klinefelter này 100% là ở nhóm VT. Các bất thường NST khác như: 46,XX; 45,X; 46,del(Yq), nam giới cũng bị VT. Chỉ có một số ít các trường hợp đảo đoạn và chuyển đoạn thì có thể VT hoặc TTN.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở nam giới VT, TTN là 49/469 (10,4%). Trong số 49 người có mất đoạn AZFabcd thì mất đoạn xảy ra ở cả nam giới VT và TTN, trong đó 32 người VT (65,3%), và 17 người TTN (34,7%).

Đột biến mất đoạn nhỏ NST Y ở nhóm VT chiếm 32/354 (9%), nhóm TTN chiếm 17/115 (14,8%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mất đoạn ở nhóm TTN lại cao hơn ở nhóm VT. Kết quả này cũng phù hợp, vì trong nghiên cứu này mất đoạn xảy ra chủ yếu ở vùng AZFc, AZFc+d và AZFd. Ở

nhóm nam giới TTN thì mất đoạn chỉ thấy ở vùng AZFc, AZFd và AZFc+d mà không thấy mất AZFa và AZFb.

Lý thuyết và thực tiễn đã chứng minh rằng mất đoạn AZFc hoặc AZFd thì có thể thấy tinh trùng trong tinh dịch và lâm sàng có thể thấy từ mức độ TT vừa đến TTN. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả của một số tác giả khác có thể do đối tượng nghiên cứu (một số tác giả nghiên cứu ở những người VT và TT, chúng tôi nghiên cứu ở những người VT và TTN), có thể do sự khác biệt về số lượng cặp mồi, vị trí STSs cần phân tích trên NST Y. Đồng thời cũng có thể còn có sự khác về dân tộc, vùng địa lý, cỡ mẫu được nghiên cứu.

Về độ di động, hình thái và tỷ lệ tinh trùng sống: Kết quả trình bày ở bảng 3.33 cho thấy: Tinh trùng di động nhanh (≥ 25%), hình thái tinh trùng bình thường (≥ 30%) và tỷ lệ tinh trùng sống (≥ 75%) ở nhóm TTN đều thấp hơn so với nhóm chứng, với $p < 0,001$.

KẾT LUẬN

1. Tỷ lệ, phân bố các dạng bất thường NST và mất đoạn nhỏ NST Y

- Bất thường NST:

+ Trong số các nam giới VT và TTN, bất thường NST chiếm tỷ lệ 13,9%, bao gồm cả những bất thường về số lượng và cấu trúc NST thường cũng như NST giới tính.

+ Trong các dạng bất thường NST thì bất thường số lượng NST giới tính kiểu 47,XXY có tỷ lệ cao nhất, chiếm 60%.

+ Bất thường cấu trúc NST thường gặp là chuyển đoạn, đảo đoạn và mất đoạn. Đảo đoạn NST số 9 chiếm tỷ lệ cao nhất 9,23%. Mất đoạn nhánh dài NST Y chiếm 7,7%.

- Mất đoạn nhỏ NST Y:

+ Bằng việc hoàn thiện kỹ thuật multiple PCR, đã phát hiện được 10,4% nam giới VT và TTN có mất đoạn nhỏ ở các vùng AZFabcd trên NST Y.

+ Mất đoạn AZFabcd xảy ra ở cả nam giới VT và TTN, trong đó ở nhóm VT là 9%, nhóm TTN 14,8%. Mất đoạn AZFc và AZFd ở nhóm nam giới TTN cao hơn ở nhóm VT, trong khi mất đoạn AZFc hoặc AZFd kết hợp như mất đoạn AZFb+c; AZFb+c+d; AZFa+b+c+d xảy ra chủ yếu ở nhóm nam giới VT.

+ Mất đoạn AZFc và AZFc+d chiếm tỷ lệ cao nhất: đều là 26,53%. Các mất đoạn khác là: AZFb+c+d (16,33%), AZFd (14,29%), AZFa+b+c+d (6,12%), AZFb+c (6,12 %) và AZFb (4,08%), không phát hiện thấy mất đoạn đơn thuần AZFa.

- Bất thường NST và mất đoạn nhỏ NST Y:

Số nam giới vô sinh vừa có bất thường NST vừa mất đoạn nhỏ NST Y chiếm 1,71% và tất cả đều ở nhóm VT. Những người này có karyotyp là:

46,XX hoặc 45,X hoặc 46,X,del(Yq) phù hợp với kết quả xét nghiệm có nhiều vị trí mất đoạn AZF trên NST Y.

2. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền

- Không có mối liên quan giữa đặc điểm thể tích, độ pH, độ nhớt tinh dịch và bất thường di truyền.

- Tốc độ di chuyển, mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng sống ở những người có bất thường di truyền luôn thấp hơn ở những người bình thường.

- Bất thường NST ở những nam giới VT cao hơn ở nhóm TTN, trong khi mất đoạn nhỏ AZFabcd thì ngược lại (nam giới VT có bất thường NST cao gấp 3,63 lần và nguy cơ bất thường ADN bằng 0,57 lần so với người TTN).

- Có mối liên quan giữa bất thường NST giới tính và mất đoạn nhỏ NST Y. NST Y có mất đoạn nhánh dài càng lớn thì mất đoạn AZFabcd càng nặng.

KIẾN NGHỊ

1. Xét nghiệm NST và phân tích ADN để phát hiện mất đoạn AZFabcd cần được tiến hành thường quy đối với những trường hợp vô sinh nam để tìm nguyên nhân vô sinh và đưa ra những lời khuyên tư vấn điều trị cho phù hợp.

2. Những người nam giới có bất thường NST vẫn cần được xét nghiệm phát hiện mất đoạn AZFabcd.

3. Nên đưa các chỉ số VSL, VCL, VAP vào xét nghiệm tinh dịch thường quy.

NHỮNG CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyễn Đức Nhự, Lương Thị Lan Anh, Phan Thị Hoan, Trần Đức Phấn, Nguyễn Xuân Tùng, Hoàng Huyền Nga (2013).** Phát hiện mất đoạn AZFd trên nhiễm sắc thể Y ở những bệnh nhân vô tinh và thiểu tinh bằng kỹ thuật multiplex PCR. *Tạp chí Y học Việt Nam, tập 408, tháng 7 số 1/* 2013, 54-58.
2. **Nguyễn Đức Nhự, Lương Thị Lan Anh, Phan Thị Hoan, Trần Đức Phấn (2013)**. Phát hiện mất đoạn AZFa,b,c,d trên nhiễm sắc thể Y ở những bệnh nhân vô tinh và thiểu tinh bằng kỹ thuật multiplex PCR. *Tạp chí Y học Việt Nam, số 1, 10/*2013**,** 29-34.
3. **Nguyễn Đức Nhự, Lương Thị Lan Anh, Phan Thị Hoan, Trần Đức Phấn (2014).** Phân tích đặc điểm di truyền tế bào và phân tử ở những bệnh nhân vô tinh và thiểu tinh nặng. *Tạp chí Y học Việt Nam,* số 424, 103 - 109.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **World Health Organization (1987).** Toward more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int. J. Androl*, (Suppl.7), 1-35.
2. **World Health Organization (1985).** Comparison among different methods for the diagnosis of varicocele. *Fertil Steril*, 43(4), 575–582.
3. **Dohle G.R, Halley D.J, Van Hemel J.O et al (2002).** Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermi. *Hum. Reprod*, 17, 13 - 16.
4. **Sarah K.G, Mielnik A. and Schlegel P.N (1997).** Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Human Reproduction*, 12(8), 1635-1641.
5. **Arvind R.S, Vrtel R, Vodicka R et al (2006).** Genetic factors in male infertility and their implications. *Int. J. Hum Genet*, 6(2), 163-169.
6. **World Health Organization (1999)**. *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus*, 4th edition, Cambridge University Press.
7. **World Health Organization (2000)**. *WHO manual for the standardilized investigation, diagnosis and management of the infertile male*, Cambridge University Press.
8. **Trần Thị Trung Chiến, Trần Văn Hanh, Phạm Gia Khánh và cộng sự (2002).** *Nghiên cứu một số vấn đề vô sinh nam giới và lựa chọn kỹ thuật lọc rửa, lưu trữ tinh trùng để điều trị vô sinh*. Đề tài cấp Nhà nước.
9. **World Health Organization (1991).** *Infertility: a tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility*. Geneva, WHO, Programme on Maternal and Child Health and Family Planning, Division of Family Health.
10. **Trần Đức Phấn, Phan Thị Hoan, Lã Đình Trung (2010).** Một số điểm cần lưu ý khi đánh giá một bệnh nhân không có tinh trùng trong tinh dịch. *Tạp chí Y học thực hành,* 727(7), 56 - 61.
11. **American Urological Association (2001)**. Infertility, *Report on optimal evaluation of the infertile male.* ISBN 0-9649702-7-9 (Volume 1).

12. **Ballabio A, Bardoni B, Carrozzo R et al (1989).** Contiguous gene syndromes due to deletions in the distal short arm of the human X chromosome. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 10001-10005.
13. **Larsen U (2000).** Primary and secondary infertility in sub-Saharan Africa, *International Journal of epidemiology*, 29(2), 285-291.
14. **Thonneau P, Marchand S, Tallec A et al *(*1991).** Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988–1989). *Hum. Reprod, 6, 811*–816.
15. **Ali Hellani, Saad Al Hassan (2006).** Y chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic oligo - or azoospermia. *Journal of Experimental & Clinical assisted reproduction,* 3:1 doi: 10.1186/1743-1050-3-1.
16. **Irvine D.S (2002).** *Male infertility*: Causes and management, Medical progress.
17. **Krausz C, Forti G (2000).** *Clinical Aspects of Male Infertility*. The Genetic Basis of Male Infertility, 28, 1-21.
18. **Takahashi K, Uchida A and Kitao M (1990).** Hypoosmotic Swelling Test of Sperm. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 25(3), 225-242.
19. **Aribarg A (1995).** *Primary health care for male infertility*. Workshop in Andrology, 50-54.
20. **Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Thị Ngọc Phượng, Nguyễn Song Nguyên và cộng sự (2002)**. *Hiếm muộn - vô sinh và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản,* Nhà xuất bản Y học.
21. **Nguyễn Khắc Liêu (2003**). *Chẩn đoán và điều trị vô sinh, Viện BVSKBMVTSS*, Nhà xuất bản Y học.
22. **Ngô Gia Hy (2000).** *Hiếm muộn và vô sinh nam.* Nhà xuất bản Thuận Hóa.
23. **Phan Văn Quyền (2000).** *Khám và làm bệnh án một cặp vợ chồng vô sinh,* Lớp vô sinh và hỗ trợ sinh sản khóa 4, 1-13.
24. **Trần Quán Anh, Nguyễn Bửu Triều (2009).** *Bệnh học giới tính nam,* Nhà xuất bản Y học.
25. **Trần Thị Phương Mai (2001).** *Tình hình điều trị vô sinh bằng kỹ thuật cao*. *Báo cáo tại Hội thảo "Tình hình điều trị vô sinh và TTTON.* Bộ Y tế và UNFPA, Đà Nẵng.

26. **Nguyễn Viết Tiến (2013)**. Cập nhật về hỗ trợ sinh sản. *Báo cáo tại Hội thảo quốc tế,* Hà Nội ngày 6/11/2013.
27. **Tran Duc Phan (2010)**. Health status and reproductive health surveillance in Viet Nam. *9th annual scientific congress of Asia Pacific association of medical toxicology collaboration against poisoning from regional experience to global vision, 45*.
28. **Lee J.Y, Dada R, Sabanegh E et al (2011).** Role of genetics in azoospermia. *Urology*, 77(3), 598 - 601.
29. **Hull M.G, Kelly N.J and Hinton R.A (1985).** Population study of causes, treatment and outcome of infertility. *British Medical Journal*, 291, 1693-1698.
30. **Phan Văn Quý (1997).** *Một số nhận xét về vô sinh nam tại Viện BVSKBMVTSS.* Công trình nghiên cứu khoa học, 14-20.
31. **Phan Hoài Trung (2004).** Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng của bài thuốc "Sinh tinh thang" đến số lượng và chất lượng tinh trùng. *Luận văn tiến sỹ y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
32. **Trần Xuân Dung (2000).** Chẩn đoán và điều trị nguyên nhân tinh trùng ít và chết nhiều trong vô sinh nam giới. *Y học thực hành*, 392(12), 10-12.
33. **Trần Đức Phấn, Phan Thị Hoan, Lã Đình Trung (2009).** Tình hình thiểu năng sinh sản ở 18 phường xã của Thái Bình. *Y học thực hành*, 6(664), 45-48.
34. **Hồ Mạnh Tường (2004).** Vô sinh nam và phương pháp điều trị. *Thời sự Y dược học*, Bộ IX, số 2, 77-80.
35. **Nguyễn Bửu Triều, Trần Quán Anh (2002).** *Bệnh học giới tính nam*, Nhà xuất bản Y học, 240, 257, 259-271.
36. **Trịnh Văn Bảo, Phan Thị Hoan, Nguyễn Viết Nhân, Trần Đức Phấn (2004).** *Dị dạng bẩm sinh,* Nhà xuất bản Y học.
37. **Simpson J.L, Graham J.M, Samango-Sprouse C et al (2005).** Klinefelter syndrome. *Management of genetic syndromes*. 2nd, Hoboken N. J, Wiley & Sons, 323-333.
38. **Lanfraco F, Kamischke A, Zitzman M, Nieschlag E (2004).** Klinefelter's Syndrome. *The Lacet*, 364(9430), 273-283.

39. **Benet J, Martin R (1988).** Sperm chromosome complements in a 47,XYY man. *Hum Genet,* 78, 313-315.
40. **Gonzalez-Merino E, Hans C, Abramowicz M et al (2007**). Aneuploidy study in sperm and preimplantation embryos from nonmosaic 47,XYY men. *Fertil Steril*, 88, 600-606.
41. **Jacobs Patricia A, Hassold Terry J (1995).** The Origin of Numerical Chromosome Abnormalities. *Advances in Genetics*, 33, 101-133.
42. **Nicolaidis P, Petersen M.B (1998).** Origin and mechanisms of non-disjunction In human autosomal trisomyes. *Hum. Reprod,13(2), 313-319.*
43. **Zühlke C, Thies U, Braulke I, Reis A, Schirren C (2008).** Down syndrome and male fertility: PCR-derived fingerprinting, serological and andrological investigations. *Clinical genetics*, 46(4), 324-326.
44. **Pradhan M, Dalal A, Khan F, Agrawal S (2006).** Fertility in men with Down syndrome: a case report. *Fertil. Steril*, 86(6), 1765.
45. **Mckinlay Gardner R.J, Grant R. Sutherland (2004).** Chromosome abnormanlities and genetic counseling. *Oxford monograghs on medical genetics* 46, 199-297.
46. **Gunel M, Cavkaytar S, Ceylaner G, Batioglu S (2008).** Azoospermia and cryptorchidism in a male with a de novo reciprocal t(Y;16) translocation. *Genet. Couns,* 19(3), 277-280.
47. **Punam Nagvenkar, Kundan Desai, Indira Hinduja & Kusum Zaveri (2005).** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J. Med,* Res 122, 34-42.
48. **Trieu H, Richard M and Trounson A (2002).** Selected genetic factors associated with male infertility. *Human Reproduction Update*, 8(2), 183-198.
49. **Martin R.H, Spriggs E.L (1995).** Sperm chromosome complements in a man heterozygous for a reciprocal translocation 46,XY,t(9;13)(q21.1;q21.2) and a review of the literature. *Clin Genet*, 47(1), 42-46.
50. **Chandley A.C, Seuanez H, Fletcher J.M (1976).** Meiotic behavior of five human reciprocal translocations. *Cytogenet Cell Genet,* 17(2), 98-111.

51. **Ferguson K.A, Chow V, Ma S (2008).** Silencing of unpaired meiotic chromosomes and altered recombination patterns in an azoospermic carrier of a t(8;13) reciprocal translocation. *Hum Reprod,* 23(4), 988-995.
52. **Therman E, Susman B, Denniston C (1989).** The nonrandom participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations. *Ann Hum Genet,* 53(1), 49-65.
53. **Mau U.A, Backert I.T, Kaiser P and Kiesel L (1997).** Chromosomal findings in 150 couples referred forgenetic counselling prior to intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction,* 12(5), 930–937.
54. **Peter A.I.V, Frank J.M.B, Henny F et al (1997).** Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and chromosomally abnormal spermatozoa. *Human Reproduction,* 12(4), 752–754.
55. **Therman E, Susman B, Denniston C (1989).** The nonrandom participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations. *Ann Hum Genet,* 53(1), 49-65.
56. **Shah Kavita, Gayathri Sivapalan, Nicola Gibbons et al (2003).** The genetic basis of infertility. *Reproduction,* 126, 13-25.
57. **Punam Nagvenkar, Kundan Desai, Indira Hinduja & Kusum Zaveri (2005).** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J. Med,* Res 122, 34-42.
58. **Nguyễn Đức Nhự, Nguyễn Văn Rực, Lê Thúy Hằng (2009).** Phân tích đặc điểm nhiễm sắc thể ở những bệnh nhân nam vô sinh. *Tạp chí Nghiên cứu y học,* 62(3), 1-5.
59. **Meschede D, Lemcke B, Exeler J.R et al (1998).** Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection-prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. *Hum. Reprod,* 13, 576-582.
60. **Mohammad T.F, Behjati F, Pourmand G.R et al (2012).** Cytogenetic abnormalities in 222 infertile men with azoospermia and oligospermia in Iran: Report and review**.** *Indian J. Hum. Genet,* 18(2), 198–203.

61. **Marchina E, Imperadori L, Speziani M et al (2007).** Chromosome Abnormalities and Yq Microdeletions in Infertile Italian Couples Referred for Assisted Reproductive Technique. *Sex Dev,* 1, 347-352.

62. **Steinbach P, Djalali M, Hansmann I et al (1983).** The genetic significance of accessory bisatellited marker chromosomes. *Hum Genet, 65,* 155-164.

63. **De Braekeleer M, Dao T.N (1991).** Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum. Reprod,* 6, 245–250.

64. **Rima D, Gupta N.P and Kucheria K (2003).** Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia. *J. Biosci,* 28(2), 163-168.

65. **Han-Sun Chiang, Shauh Der Yeh, Chien Chih Wu et al (2004).** Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia. *Asian J. Androl,* 6, 369-375.

66. **Lakshim Rao, Arvind B, Murthy K et al (2004).** Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele and idiopathic infertility of South Indian origin. *Journal of Andrology*, 25(1), 147-153.

67. **Trung Thị Hằng (2007).** *Nghiên cứu đặc điểm karyotyp của những người nam không có tinh trùng.* Khóa luận tốt nghiệp bác sĩ Y khoa, Đại học Y Hà Nội.

68. **Akgul M, Ozkinay F, Ercal D et al (2009).** Cytogenetic abnormalities in 179 cases with male infertility in Western Region of Turkey: Report and review. *J. Assist Reprod. Genet,* 26(2-3), 119-122.

69. **Kun Ma, Mallidis C and Bhasin S (2000).** The role of Y chromosome deletions in male infertility. *European Journal of Endocrinology,* 142, 418-430.

70. **Fernandes S. et al (2002).** High frequency of DAZ1/DAZ2 gene deletions in patients with severe oligozoospermia. *Molecular human reproduction*, 8(3), 286 - 298.

71. **Stouffs K, Lissens W, Tournaye H et al (2005).** Possible role of USP26 in patients with severely impaired spermatogenesis. *Eur. J. Hum Genet,* 13, 336–340.

72. **Paduch D.A, Mielnik A, Schlegel P.N (2005).** Novel mutations in testis-specific ubiquitin protease 26 gene may cause male infertility and hypogonadism. *Reprod Biomed Online,* 10, 747–754.

73. **Nuti F, Krausz C (2008).** Gene polymorphisms/mutations relevant to abnormal spermatogenesis. *Reprod Biomed Online,*16, 504-513.

74. **Wang P.J, McCarrey J.R, Yang F, Page D.C (2001).** An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia. *Nat. Genet,* 27, 422–426.

75. **De Gendt K, Swinnen J.V, Saunders P.T et al (2004).** A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 101, 1327-1332.

76. **Mckinlay Gardner R.J, Grant R. Sutherland (2004).** Chromosome abnormanlities and genetic counseling. *Oxford monograghs on medical genetics* 46, 199-297.

77. **Mifsud A, Sim C.K, Boettger-Tong H et al (2001).** Trinucleotide (CAG) repeat polymorphisms in the androgen receptor gene: molecular markers of risk for male infertility. *Fertil. Steril,* 75, 275-281.

78. **Tiepolo L. and Zuffardi O (1976).** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the Human Y chromosome long arm". *Hum. Genet,* 34, 119 -124.

79. **Vollrath, Foote D, Hilton S et al (1992).** The human Y chromosome: A 43-interval map based on naturally occurring deletions. *Science,* 258, 52-59.

80. **Kesari A, Srivastava A, MTTal R.D (2003).** Y chromosome microdeletion and male infertility. *Indian J. Urol,*19, 103-108.

81. **Sandra E.K, Ronit Almog, Leah Yogev et al (2012).** Screening for partial AZFa microdeletion in the Y chromosome of infertile men: is it of clinician relevance? *Fertility and Sterility,* 98(1), 43-47.

82. **Ferlin A, Barbara A, Elena S. et al (2007).** Molecular and clinical characterization of Y chromosome Microdeletions in infertile men: A 10-year experience in Italy. *J. Clin Endocrinol Metab,* 92(3), 762-770.

83. **Kamp C, Huellen K, Fernandes S. et al** (**2001).** High deletion frequency of the complete AZFa sequence in men with Sertoli cell only syndrome. *Mol. Hum. Reprod*, 7, 987-994.

84. **Kitpramuk T (1995).** Male fertility and male infertility assessment. *Workshop in Andrology*, 42-49.

85. **De G.K, Swinnen J.V, Saunders P.T et al (2004).** A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 1327-1332.

86. **Ferlin A, Vinanzi C, Garolla A et al (2006).** Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. *Clin. Endocrinol*, 65, 606-610.

87. **Cram D.S, Ma K, Bhasin S, Arias J et al (2000).** Y chromosome analysis of infertile men and their sons conceived through intracytoplasmic sperm injection: vertical transmission of deletions and rarity of de novo deletions. *Fertil. Steril*, 74(5), 909-915.

88. **Muallem A. Kent -First, Shultz J. Pryor J et al (1999).** Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection. *Mot. Reprod. Dev*, 53, 27-41.

89. **Vogt P.H, Edelmann A, Kirsch S et al (1996).** Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Human Molecular Genetics*, 5, 933-943.

90. **Pryor J.L et al (1997).** Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N. Engl. J. Med*, 336, 534-539.

91. **Fadlalla Elfateh, Ruixue Wang, Zhihong Zhang et al (2014).** Influence of genetic abnormalities on semen quality and male fertility: A four-year prospective study. *Iran J. Reprod Med*, 12(2), 95–102.

92. **Ferlin A, Moro E, Garolla A and Foresta C (1999).** Human male infertility and Y chromosome deletions: role of the AZF-candidate genes DAZ, RBM and DFFRY. *Human Reproduction*, 14(7), 1710-1716.

93. **Martínez M.C et al (2000).** Screening for AZF deletion in a large series of severely impaired spermatogenesis patients. *Journal of Andrology*, 21(5), 651-655.
94. **Isabelle Esther Aknin-Seifer, Hervé Lejeune (2004).** Y chromosome microdeletion screening in infertile men in France: a survey of French practice based on 88 IVF centres. *Human Reproduction*, 19(4), 788-793.
95. **Asbagh F.A, Sina A, Najmabadi H et al (2003).** Prevalence of Y chromosome microdeletions in Iranian infertility men. *Acta. Medica. Iranica*, 41(3), 164-170.
96. **Chellat D, Rezgoune M.L, McElreavey K (2013).** First study of microdeletions in the Y chromosome of Algerian infertile men with idiopathic oligo-or azoospermia. *Urol. Int*, 90(4), 455-459.
97. **Mostafa K. E.A, Sohair F, El S et al (2004)**. Molecular study on Y chromosome microdeletions in Egyptian males with idiopathic infertility. *Asian J Androl*, 6, 53-57.
98. **Yong Ho Lee, Tak Kim, Mee Hye Kim et al (2000).** Y chromosome microdeletions in idiopathic azoospermia and non-mosaic type of Klinefelter syndrome. *Experimental and Molecular medicine*, 32(4), 231-234.
99. **Fu L, Mao X, Chen S, Zhang H, Wang M, Huang G. and Wang F (2015).** Analysis of microdeletions of azoospermia factor genes on Y chromosome in infertile males. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 32(1), 85-88.
100. **Mir D. O, Saied S, Mortaza B, Kiarash A (2006).** Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from West Azerbaijan. *Urology Journal UNRC/IUA*, 3(1), 38-43.
101. **Arruda J.T, Bordin B.M, Santos P.R et al (2007).** Y chromosome microdeletions in Brazilian fertility clinic patients. *Genet. Mol. Res*, 6(2), 461-469.
102. **Ramaswamy Suganthi et al (2013).** Multiplex PCR based screening for microdeletions in azoospermia factor region of Y chromosome in azoospermic and serve oligozoospermic south Indian men. *Iran J. Reprod, Med*, 11(3), 219-226.

103. **Purnali N. Barbhuiya et al (2012).** A study of genetic aspects of male infertility in North East India population, India. *BMC proceedings*, 6(suppl 6), 31.

104. **Manuela Simoni, Frank T, Gromoll J, Eberhard Nieschlag (2008).** Clinical consequences of microdeletions of the Y chromosome: the extended Münster experience. *Reproductive BioMedicine Online*, 16(2), 289-303.

105. **Li Fu, Da-Ke Xiong et al (2012)** Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. *J. Assist Reprod Genet*, 29, 521–527.

106. **Mohammad Hasan Sheikhha, Mohammad Ali Zaimy, Saeede Soleimanian (2013).** Multiplex PCR Screening of Y-chromosome microdeletions in azoospermic ICSI candidate men. *Iran J. Reprod. Med,*11(4), 335-338.

107. **Hopps C.V, Mielnik A, Goldstein M. et al (2003).** Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Human Reproduction*, 18(8), 1660-1665.

108. **Mir D.O, Saied S, Mortaza B, Kiarash A (2006).** Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from West Azerbaijan. *Urology Journal UNRC/IUA*, 3(1), 38-43.

109. **Dai R.L, Wang R.X, Lin J.L et al (2012).** Correlation of Y-chromosome multiple segmental deletions and chromosomal anomalies in non-obstructive azoospermic males from northeastern China. *Genetics and Molecular Research*, 11(3), 2422-2431.

110. **Zhu X.B, Feng Y, Zhi E.L et al (2014).** Y chromosome microdeletions: detection in 1.052 infertile men and analysis of 14 of their families. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 20(7), 637-640.

111. **Min Jee Kim, Hye Won Choi, So Yeon Park et al (2012).** Molecular and cytogenetic studies of 101 infertile men with microdeletions of Y chromosome in 1.306 infertile Korean men. *J. Assist Reprod Genet,* 29, 539–546.

112. **Lin Y.M, Lin Y.H, Teng Y.N et al (2002).** Gene-based screening for Y chromosome deletions in Taiwanese men presenting with spermatogenic failure. *Fertil. Steril*, 5, 897-903.

113. **Yao G, Chen G, Pan T (2001).** Study of microdeletions in the Y chromosome of infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *J. Assist. Reprod. Genet*, 18(11), 612-616.

114. **Kumarasamy Thangaraj, Nalini J. Gupta, Kadupu Pavani et al (2003).** Y Chromosome Deletions in Azoospermic Men in India. *Journal of Andrology*, 24(4), 588–597.

115. **Hussein A.A, Vasudevan R, Patimah I, Prashant N, Nora F.A (2015).** Association of azoospermia factor region deletions in infertile male subjects among Malaysians. *Andrologia*, 47(2),168-177.

116. **Mostafa Akbarzadeh Khiavi, Seyyed Ali Rahmani, Azam Safary et al (2013).** Y chromosome microdeletion analysis in nonobstructive azoospermia patients from North West of Iran. *Jokull Journal*, 63(10), 44-50.

117. **Nguyễn Đức Nhự, Nguyễn Văn Rực (2010).** Phát hiện mất đoạn AZFc trên nhiễm sắc thể Y ở những bệnh nhân vô sinh nam giới bằng kỹ thuật PCR. *Tạp chí Nghiên cứu y học,* 67(2), 94-98.

118. **Trần Văn Khoa, Trần Thị Thu Huyền, Quản Hoàng Lâm (2010).** Phát hiện đứt đoạn nhiễm sắc thể Y ở bệnh nhân vô sinh nam bằng kỹ thuật Multiplex PCR. *Tạp chí Y Dược học quân sự,,* 8(6), 110-115.

119. **Đỗ Thị Minh Phương (2011).** *Phát hiện mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể Y ở bệnh nhân vô sinh nam bằng kỹ thuật multiplex PCR*. Khóa luận tốt nghiệp bác sĩ y khoa, tháng 5/2011.

120. **Nguyễn Minh Hà (2011).** Tham gia chương trình ngoại kiểm tra xét nghiệm tìm đột biến mất đoạn vùng AZFa, b và c của NST Y. *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh. Tập 15, Phụ bản của Số 1*, 27-30

121. **Nguyễn Thị Thục Anh, Nguyễn Đình Tảo, Quản Hoàng Lâm (2013).** Mất đoạn nhỏ AZF trên nhiễm sắc thể Y và mối liên quan với tinh dịch đồ và hình thái vi thể ống sinh tinh ở bệnh nhân vô sinh nam. *Tạp chí Y Dược học quân sự, số chuyên đề Mô phôi*, 13-17.

122. **Díez Sanchez C, Ruiz Pesini E, Lapeña A.C et al (2003)**. Mitochondrial DNA content of human spermatozoa. *Biol Reprod,* 68,180–185.

123. **Wei Y.H, Kao S.H (2000).** Mitochondrial DNA Mutation and Depletion are associated with the decline of fertility and motility of human sperm. *Zoological Studies*, 39, 1-12.
124. **Kumarasamy Thangaraj et al (2003).** Sperm Mitochondrial Mutations as a Cause of Low Sperm Motility. *Journal of Andrology*, 24(3), 338-392.
125. **Holyoake A.J, McHugh P, Wu M et al (2001).** High incidence of single nucleotide substitutions in the mitochondrial genome is associated with poor semen parameters in men. *Int. J. Androl,* 24(3), 175-182.
126. **Rima Dada, Jayapalraja Thilagavathi, Sundararajan Venkatesh et al (2011).** Genetic Testing in Male Infertility. *The Open Reproductive Science Journal,* 3, 42-56.
127. **Frank Comhaire and Ahmed Mahmoud (2006).** Male factor fertility problems: Cause: *Varicocele. Andrology for the Clinician, 68-71.*
128. **Lund L and Larsen S.B (1998).** A follow-up study of semen quality and fertility in men with varicocele testis and in control subjects. *British Journal of Urology*, 82, 682-686.
129. **Redman J.F (1980).** Impalpable testes: observations based on 208 consecutive operations for undescended testes. *J. Urol*, 124(3), 379-381.
130. **Valea A, Muntean V, Domsa I et al (2009).** Bilateral anorchia, Case report. *Acta Endocrinologica* (Buc), 5(4), 519-524.
131. **Redman J.F (1980).** Impalpable testes: observations based on 208 consecutive operations for undescended testes. *J. Urol*, 124(3), 379-381.
132. **Baird D.T, Collins J, Egozcue J et al (2005).** Fertility and ageing. *Human Reprod*, 11, 261-276.
133. **Association of Biomedical Andrologists, Association of Clinical Embryologists, British Andrology Society, British Fertility Society, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (2008).** UK guidelines for the medical and laboratory screening of sperm, egg and embryo donors. *Hum Fertil*, 11, 201-210.
134. **Eskenazi B, Wyrobek A.J, Sloter E et al (2003).** The association of age and semen quality in healthy men. *Human Reprod,* 18, 447-454.

135. **Sharpe R.M, Franks S (2002).** Environment, lifestyle and infertility-an intergenerational issue. *Nat Cell Biol*, 4(Suppl), 33-40.
136. **Hammoud A.O, Gibson M, Peterson C.M et al (2008).** Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertil. Steril*, 90, 897-904.
137. **Jensen T.K, Andersson A.M, Jørgensen N et al (2004).** Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1558 Danish men. *Fertil. Steril*, 82, 863–870.
138. **Richard M. Sharpe (2010).** Environmental/lifestyle effects on spermatogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. B,* 365, 1697–1712.
139. **Paul R.B, Fahd N.Y, Yulian Zhao (2012).** Effects of Pharmaceutical Medications on Male Fertility. *J. Reprod Infertil*, 13(1), 3-11.
140. **Handelsman D.J (1997).** Sperm output of health men in Australia: magnitude of bias due to self-selected volunteers. *Human Reproduction*, 12, 2701-2705.
141. **PNQ Duy, NX Quý, HM Tường, NTN Phượng (2001).** *Khảo sát tinh dịch đồ ở 400 cặp vợ chồng hiếm muộn tại Bệnh viện phụ Sản Từ Dũ*. Luận văn tốt nghiệp bác sĩ y khoa. Trung tâm Đào tạo và Bồi dưỡng cán bộ y tế TPHCM.
142. **Mónica Ferreira, Joana Vieira Silva, Vladimiro Silva (2012)**. Lifestyle influences human sperm functional quality. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 1-8.
143. **World Health Organization (2010).** *Laboratory manual for the Examination and processing of human semen*, 5th ed. Cambridge University Press.
144. **Trần Ngọc Can (1972).** Điều tra cơ bản tinh dịch đồ của người đã có con và vợ đang mang thai. *Tạp chí Sản phụ khoa*, 2, 45-53.
145. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (1992).** Xét nghiệm tinh dịch. *Hoá sinh trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 489-495.
146. **Nares Sukcharoen (1995).** Semen analysis. *Workshop in andrology*, 55-74.
147. **World Health Organization (1992).** *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction*, 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press.

148. **Zinaman M.J et al (2000).** Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples. *Journal of Andrology*, 21, 145-153.

149. **Trần Đức Phấn, Vũ Thị Hồng Luyến, Nguyễn Đức Nhự, Vũ Thị Huyền (2014).** Nghiên cứu đặc điểm hình thái đầu tinh trùng ở những người nam giới trong các cặp vợ chồng thiểu năng sinh sản. *Y học Thực hành*, 902(1), 57-60.

150. **Khan A.N, Rabbani (2012)**. Antisperm antibody as a cause of immunological infertility in males. *JARBS*, 4(1), 1-4.

151. **Hungerford D.A (1965).** Leukocytes cultured from small inocular of whole blood and the preparation of metaphase chromosome by treatment with hypotonic KCl. *Stain technol*, 40(6), 333-338.

152. **Bộ môn Y sinh học - Di truyền, Đại học Y Hà Nội (2011).** *Di truyền Y học.* Nhà xuất bản giáo dục.

153. **Seabright M (1971).** A rapid banding technique for human chromosome. *The Lacet, 2*, 971-972.

154. **Lisa G.S, Niels T (2005).** *An International system for human cytogenetic nomenclature*, 1-12.

155. **Simoni M, Bakker E, Krausze C (2004).** EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *International Journal of Andrology*, 27, 240–249.

156. **Phan Thị Hoan, Trần Đức Phấn, Lương Thị Lan Anh và cộng sự (2013).** Phát hiện mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể Y ở các bệnh nhân vô sinh nam không có tinh trùng hoặc ít tinh trùng. *Y học Việt Nam tháng 3 – Số đặc biệt/2013,* 623-629.

157. **Robert D. Oates, Sherman Silber et al (2002).** Clinical characterization of 42 oligospermic or azoospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Human Reproduction*, 17(11), 2813-2824.

158. **Comhaire F.H, de Kretser D, Farley T.M.M and Rowe P.J (1987).** Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. In *WHO Taskforce on the Diagnosis and Treatment of Infertility*, 1-33. Ed. NE Skakkebaek. Geneva: WHO, 1987.

159. **Nguyễn Xuân Bái (2002).** *Nghiên cứu đặc điểm tinh dịch đồ của 1000 cặp vợ chồng vô sinh.* Luận văn Thạc sĩ y học chuyên ngành Mô học – Phôi thai học, 10-11.

160. **Hà Xuân Anh (2004).** *Tình hình vô sinh ở một số xã của tỉnh Thái Bình và đặc điểm nước tiểu của một số nam giới vô sinh*. Luận văn Thạc sỹ y học, Đại học Y Hà Nội.

161. **Lê Thế Vũ, Trần Quán Anh, Nguyễn Đức Hinh (2013).** Nhân 110 trường hợp điều trị vô sinh nam giới. *Y học Việt Nam, tháng 3, số đặc biệt 2013.*

162. **Trần Đức Phấn, Trịnh Văn Bảo, Hoàng Thu Lan (2002).** Đặc điểm tinh dịch của những người nam giới trong các cặp vợ chồng thiểu năng sinh sản. *Y học thực hành,* 407(1), 38-41.

163. **Setchell B.P, Brooks D.E (1988).** Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract, in Knobil E, and Neill JD (Eds): *The Physiology of Reproduction.* New York, Raven Press, 753–836.

164. **Trần Đức Phấn, Lã Đình Trung, Nguyễn Xuân Tùng (2012).** Phân tích đặc điểm tinh hoàn và tinh trùng ở các bệnh nhân thiểu tinh nặng và vô tinh. *Y học thực hành, 7(834), 15-17.*

165. **Aribarg A, Kenkeerati W, Vorapaiboonsak V et al (1986).** Testicular volume, semen profile and serum hormone levels in fertile Thai males. *International Journal of Andrology*, 9(3), 170-180.

166. **Trần Đức Phấn, Đoàn Minh Thụy, Nguyễn Anh Thư (2013).** Nghiên cứu tốc độ di chuyển của tinh trùng trong các cặp vợ chồng thiểu năng sinh sản. *Y học Việt Nam, tháng 3, số đặc biệt 2013.*

167. **Trần Đức Phấn, Lã Đình Trung, Nguyễn Xuân Tùng (2013).** Các dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng của các nam giới trong các cặp thiểu năng sinh sản. *Y học thực hành, 6(874), 43-47.*

168. **Cyrus Azimi, Malihea Khaleghian, Farideh Farzanfar (2012).** Cytogenetic studies among Iranian infertile men: The first 20-year long-term report. *African Journal of Biotechnology*, 11(37), 8973-8978.

169. **Dul E.C, Groen H, Van Ravenswaaij Arts C.M.A et al (2012).** The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men. *Human Reproduction,* 27(1), 36–43.

170. **Pinar Aslan Koşar, Nurten Özçelik, Alim Koşar (2010).** Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *J. Assist Reprod Genet,* 27(1), 17–21.

171. **Fernanda A. Mafra, Denise M. Christofolini et al (2011).** Chromosomal and Molecular Abnormalities in a Group of Brazilian Infertile Men with Severe Oligozoospermia or Non-Obstructive Azoospermia Attending an Infertility Service. *Int. Braz. J. Urol,* 37, 244-51.

172. **Dingyang Li, Hongguo Zhang, Ruixue Wang et al (2012).** Chromosomal abnormalities in men with pregestational and gestational infertility in northeast China. *J. Assist. Reprod. Genet,* 29, 829–836.

173. **Foresta C, Ferlin A, Garolla A et al (1998).** High frequency of well-defined Y-chromosome deletions in idiopathic Sertoli cell-only syndrome. *Hum Reprod,* 13, 302-307.

174. **Fadlalla Elfateh, Dai Rulin, Yun Xin et al (2014).** Prevalence and patterns of Y chromosome microdeletion in infertile men with azoospermia and oligzoospermia in Northeast China. *Iran J. Reprod. Med,* 12(6), 383-388.

175. **Ebru Önalan Etem, Hüseyin Yüce, Deniz Erol et al** (**2009).** Cytogenetic Analysis in infertile male with sperm anomalies**.** *Marmara Medical Journal,* 22(3), 217-224.

176. **Bernd Rosenbusch (2010).** Somatic chromosomal abnormalities in couples undergoing infertility treatment by intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Genetics,* 89(1), 105-108.

177. **Trieu Huynh, Richard Mollard and Alan Trounson (2002).** Selected genetic factors associated with male infertility. *Human Reproduction Update,* 8(2), 183-198.

178. **Tüttelmann F, Gromoll J (2010).** Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. *Mol Hum Reprod,* 16(6), 386-395.

179. **Faeza El Dahtory and Hany M. Elsheikha (2009).** Male infertility related to an aberrant karyotype, 47,XYY: four case reports. *Cases Journal,* 2, 28.
180. **Saeedeh Ghazaey, Farzaneh Mirzaei, Mitra Ahadian et al (2013).** Pattern of Chromosomal Aberrations in Patients from North East Iran. *Cell J,* 15(3), 258–265.
181. **Qiu-Yue Wu, Na Li, Wei-Wei Li et al (2014).** Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with *SRY*-positive. *BMC Urol,* 14, 70.
182. **Robert D (2004).** The genetics of male reproductive failure: What every clinician needs to know**.** *Sexuality, Reproduction & Menopause,* 2(4), 213-218.
183. **Capkova P, Adamova K, Santava A et al (2004).** Importance of genetic testing in couples with reproductive disorders. *Ceska. Gynekol,* 69(1), 66-71.
184. **Phan Thị Hoan, Hoàng Thị Ngọc Lan, Nguyễn Ngân Hà (2012).** Phát hiện đảo đoạn quanh tâm nhiễm sắc thể số 9 ở các cặp vợ chồng bất thường sinh sản hoặc nguy cơ cao sinh con dị tật bẩm sinh. *Tạp chí Nghiên cứu y học, phụ trương 80 (3B),* 55-60.
185. **Foresta Carlo, Garolla Andrea, Bartoloni Lucia et al (2005)**. Genetic Abnormalities among Severely Oligospermic Men Who Are Candidates for Intracytoplasmic Sperm Injection. *J. Clin. Endocrinol. Metab,* 90(1), 152 - 156.
186. **Sachdeva K, Saxena R, Majumdar A et al (2011)**. Use of ethnicity-specific sequence tag site markers for Y chromosome microdeletion studies. *Genet Test Mol. Biomarkers,* 15, 451-459.
187. **Sen S, Pasi A.R, Dada R et al (2013).** Y chromosome microdeletions in infertile men: prevalence, phenotypes and screening markers for the Indian population. *J. Assist Reprod Genet,* 30, 413–422.
188. **Susan Frackman, Marijo Kent, Angela Ryan.** *The Y Chromosome Deletion Detection System, Version 1.1.* www.promega.com/moldx.
189. **Muslumanoglu M.H, Turgut M, Cilingir O et al (2005).** Role of the AZFd locus in spermatogenesis. *Fertil and Steril,* 84, 519-522.
190. **Abobakr K, Mostafa R, Mahmoud S et al (2009).** Detection of azoospermia factor (AZF) microdeletion on Y chromosome in infertile men with azoospermia and severely oligospermia. *J. Derm Androl,* 29,100-104.

191. **Sheikh M, Nower S, Rasol H et al (2009).** Prevalence of Y chromosome microdeletions in males with azoospermia and severe oligospermia in Egypt. *Kasr Aini Med J,* 12, 47-50.

192. **Omar F. Khabour, AbdulFattah S. Fararjeh, Almuthana A.A (2014).** Genetic screening for AZF Y chromosome microdeletions in Jordanian azoospermic infertile men. *Int. J. Mol. Epidemiol Genet,* 5(1), 47-50.

193. **Purnali N. B, Gogoi A, Goenka et al (2013).** Specific genetic marker based molecular study of the AZFa & AZFd region microdeletion in infertile cases of Northeast India. *Int. J. Biol. Med. Res,* 4(2), 3121-3127.

194. **Foresta C, Moro E, Ferlin A (2001).** Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev*, 22, 226-239.

195. **Krausz C, Forti G, McElreavey K (2003).** The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J. Androl, 26,70-75.*

196. **Tse J.Y.M, Yeung W.S.B, Lau E.Y.L et al (2000).** Deletions within the azoospermia factor subregions of the Y chromosome in Hong Kong Chinese men with severe male-factor infertility: controlled clinical study. *HongKong Medical Journal,* 6(2), 143-146.

197. **Reza Mirfakhraie, Farzaneh Mirzajani, Sayed Mahdi Kalantar et al (2010).** High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with idiopathic non -obstructive azoospermia. *Indian J. Med. Res,* 132, 265-270.

198. **Walid Al-Achkar, Abdulsamad Wafa, Faten Moassass (2013).** Cytogenetic abnormalities and Y-chromosome microdeletions in infertile Syrian males. *Biomedical reports, 1,* 275-279.

199. **Trần Văn Khoa, Ngô Trường Giang, Quản Hoàng Lâm, Lê Văn Vệ, Đặng Đức Tâm, Nguyễn Đức Nhự (2013)**. Mất đoạn nhỏ nhiễm sắc thể Y ở bệnh nhân vô sinh nam do vô tinh và thiểu tinh. *Tạp chí Y-Dược học quân sự, số 4(38),* 7-12.

200. **Akbari A.F, Sina A, Najmabadi H et al (2003).** Prevalence of Y chromosome microdeletions in Iranian infertility men. *Acta. Medica. Iranica*, 41(3), 164-170.

201. **Wettasinghe T.K, Jayasekara R.W, Dissanayake V.H.W (2012).** The low frequency of Y chromosome microdeletions in subfertile males in a sinhalese populations of Srilanka. *Ind J Hum Genet,* 18(3), 320-325.

202. **Prafulla S. Ambulkar, Ramji Sigh, Reddy M. et al (2014)**. Genetic Risk of Azoospermia Factor (AZF) Microdeletions in Idiopathic Cases of Azoospermia and Oligozoospermia in Central Indian Population. *Journal of Clinical and Diagnostic Research,* 8(3), 88-91.

203. **Patsalis P.C, Sismani C, Quintana-Murci L et al (2002).** Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet,* 360, 1222-1224.

204. **Van Golde R.J, Wetzels A.M, de Graaf R et al (2001**). Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region of the Y chromosome, *Hum Reprod*, 16, 289-292.

205. **Abilash V.G, Saraswathy Radha and Marimuthu K.M (2010).** The frequency of Y chromosome microdeletions in infertile men from Chennai. *International Journal of Genetics and Molecular Biology,* 2(7), 147-157.

206. **Man Kin Chung (2004)**. *A study on the prevalence of AZFd Y-chromosome microdeletion in Hong Kong Chinese men with severe male factor infertility*. Master of Medical sciences dissertation. University of Hong Kong.

207. **Cavkaytar S, Batioglu S, Gunel M, Ceylaner S, Karaer A (2012).** Genetic evaluation of severe male factor infertility in Turkey: a cross-sectional study. *Hum Fertil (Camb)*,15(2),100-106.

LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc đến PGS.TS Trần Đức Phấn, Chủ nhiệm Bộ môn Y sinh học – Di truyền, Đại học Y Hà Nội, người thầy trực tiếp hướng dẫn, động viên và giúp đỡ tôi tận tình trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành bản luận án này.

Tôi xin chân thành bày tỏ lòng biết ơn đối với PGS.TS Trần Văn Khoa - Chủ nhiệm Bộ môn Sinh học - Di truyền Y học, Học Viện Quân y, người thầy đã hướng dẫn và giúp đỡ tôi rất nhiều trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành bản luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS Trần Thị Thanh Hương - Nguyên Chủ nhiệm Bộ môn, PGS.TS. Phan Thị Hoan – Nguyên Phó Chủ nhiệm phụ trách Bộ môn, TS. Lương Thị Lan Anh - Phó Chủ nhiệm Bộ môn và các thầy, cô giáo, các bạn đồng nghiệp tại Bộ môn Y sinh học – Di truyền, Đại học Y Hà Nội đã chỉ bảo, động viên, tạo điều kiện tốt và giúp đỡ tôi hoàn thành bản luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo và các đồng nghiệp tại Viện Pháp y Quốc gia đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi để tôi có thể hoàn thành bản luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn tới Đảng ủy, Ban Giám hiệu Nhà trường, phòng Đào tạo sau đại học, Trường Đại học Y Hà Nội đã giúp đỡ và tạo điều kiện tốt cho tôi trong việc học tập, nghiên cứu và hoàn thành bản luận án này.

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn đối với bố, mẹ, vợ, gia đình, cùng bạn bè, những người đã luôn động viên, khuyến khích tôi trong suốt quá trình học tập để tôi có thể hoàn thành được bản luận án này.

Hà Nội, ngày ... tháng ... năm 2015

Nguyễn Đức Nhự

LỜI CAM ĐOAN

Tên tôi là: Nguyễn Đức Nhự, nghiên cứu sinh khóa 30, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Y Sinh học – Di truyền, xin cam đoan :

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS Trần Đức Phấn và PGS.TS Trần Văn Khoa.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nghiên cứu.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm trước pháp luận về những cam kết này.

Hà Nội, ngày...tháng....năm 2015

Người cam đoan

Nguyễn Đức Nhự

DANH MỤC THUẬT NGỮ VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADN:	Acide deoxyribonucleic
AZF:	Azoospermia factor
BN:	Bệnh nhân
CASA	Computer-aided sperm analysis (Máy vi tính phân tích tinh dịch)
CS:	Cộng sự
CFTR:	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (Gen điều hòa vận chuyển màng xơ nang)
DAZ:	Deleted in azoospermia (Mất đoạn gen trong vô tinh)
EAA:	European Academy of Andrology (Học viện Nam học Châu Âu)
EMQN:	European Molecular Genetics Quality Network (Hệ thống chất lượng di truyền phân tử Châu Âu)
GTMT:	Giãn tĩnh mạch tinh
ICSI:	Intra-Cytoplasmic Sperm Injection (Tiêm tinh trùng vào bào tương)
IUI:	Intrauterine Insemination (Bơm tinh trùng vào buồng tử cung)
IVF:	In Vitro Fertilisation (Thụ tinh trong ống nghiệm)
KRNN:	Không rõ nguyên nhân
mtDNA:	ADN ty thể
NC:	Nghiên cứu
NST:	Nhiễm sắc thể
NRY:	Non Recombining Region of Y chromosome (Vùng không tái tổ hợp của NST Y)
PCR:	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi polymerase)
VAP:	Average path velocity (Tốc độ con đường trung vị)

VCL: Curvilinear velocity (Tốc độ đường cong)

VSL: Straight line velocity (Tốc độ tuyến tính)

VT: Vô tinh

VSNP: Vô sinh nguyên phát

VSTP: Vô sinh thứ phát

SRY: Sex determining region on Y chromosome (Vùng xác định giới tính trên NST Y)

STS: Sequence Tagged Sites (Vị trí trình tự đích)

TESE: Testicular sperm extraction (Tách chiết tinh trùng từ tinh hoàn)

THKXB: Tinh hoàn không xuống bìu

TNSS: Thiểu năng sinh sản

TT : Thiểu tinh

TTN: Thiểu tinh nặng

WHO: World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ 1
Chương 1. TỔNG QUAN 3
1.1. Tình hình nghiên cứu vô sinh, vô sinh nam trên thế giới và Việt Nam ... 3
1.1.1. Một số khái niệm về vô sinh và vô sinh nam giới 3
1.1.2. Tình hình vô sinh và vô sinh nam trên thế giới 4
1.1.3. Tình hình vô sinh và vô sinh nam ở Việt Nam 5
1.1.4. Nghiên cứu về vô sinh nguyên phát và thứ phát 6
1.2. Nguyên nhân vô sinh nam 6
1.2.1. Phân loại nguyên nhân vô sinh nam giới theo WHO 6
1.2.2. Nguyên nhân do bất thường di truyền 7
1.2.2.1. Các bất thường NST thường gặp trong vô sinh nam 7
1.2.2.2. Các rối loạn di truyền ở mức độ phân tử trong vô sinh nam 14
1.2.3. Các nguyên nhân không do di truyền gây vô sinh nam 24
1.2.3.1. Một số bất thường cơ quan sinh dục ở bệnh nhân vô sinh nam. 24
1.2.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng tinh dịch gây vô sinh nam 28
1.3. Tinh dịch, tinh trùng và các xét nghiệm chẩn đoán vô sinh nam 31
1.3.1. Tinh dịch, tinh trùng 31
1.3.2. Các xét nghiệm chẩn đoán đối với nam giới vô sinh 32
1.3.2.1. Xét nghiệm đánh giá tinh dịch 32
1.3.2.2. Các xét nghiệm khác 36
1.3.3. Các chỉ định cận lâm sàng khác 38
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 39
2.1. Đối tượng nghiên cứu 39
2.1.1. Số bệnh nhân và cỡ mẫu 39
2.1.2. Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu 40
2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ 40
2.2. Phương pháp nghiên cứu 40

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu 40
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu 41
2.2.2.1. Lập hồ sơ bệnh án 41
2.2.2.2. Thăm khám lâm sàng 41
2.2.2.3. Xét nghiệm tinh dịch 42
2.2.2.4. Phân tích NST ở các nam giới vô tinh và thiểu tinh nặng ... 42
2.2.2.5. Phát hiện mất đoạn AZFabcd trên NST Y ở các nam giới VT và TTN 43
2.2.3. Các bước nghiên cứu 47
2.2.4. Các chỉ số nghiên cứu 48
2.2.4.1. Một số đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử bản thân và gia đình 48
2.2.4.2. Đặc điểm về thể tích và mật độ tinh hoàn 49
2.2.4.3. Phân tích đặc điểm tinh dịch, tinh trùng và tốc độ di chuyển của tinh trùng 49
2.2.4.4. Đặc điểm bộ NST 50
2.2.4.5. Đặc điểm mất đoạn nhỏ NST Y 51
2.2.4.6. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền 52
2.3. Xử lý số liệu 52
2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu 52
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 54
3.1. Đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, tiền sử, lâm sàng, tinh dịch ở nam giới vô sinh 54
3.1.1. Phân bố tuổi ở nam giới vô sinh 54
3.1.2. Phân bố nghề nghiệp 56
3.1.3. Tiền sử của nam giới vô sinh 57
3.1.4. Đặc điểm cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh 57
3.1.5. Đặc điểm tinh dịch của nhóm nghiên cứu và nhóm chứng 64

3.1.6. Tương quan tuyến tính giữa các dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng... 68
3.2. Kết quả phân tích NST ở nam giới VT và TTN 71
3.3. Kết quả phát hiện mất đoạn AZFabcd trên NST Y 74
3.4. Liên quan giữa bất thường NST và mất đoạn gen ở nam giới VT và TTN.. 82
3.5. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền 84
Chương 4. BÀN LUẬN 89
4.1. Đặc điểm tuổi, nghề nghiệp, tiền sử, lâm sàng, tinh dịch ở nam giới vô sinh 89
4.1.1. Đặc điểm tuổi ở các đối tượng nghiên cứu 89
4.1.2. Về nghề nghiệp..... 90
4.1.3. Tiền sử bệnh lý có liên quan đến vô sinh của nam giới..... 91
4.1.4. Đặc điểm cơ quan sinh dục ngoài ở những nam giới vô sinh..... 92
4.1.4.1. Về thể tích tinh hoàn..... 92
4.1.4.2. Về mật độ tinh hoàn..... 94
4.1.4.3. Biểu hiện bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở những nam giới vô sinh..... 94
4.1.5. Đặc điểm tinh dịch của nam giới VT và TTN 96
4.1.5.1. Chất lượng tinh dịch của nhóm nghiên cứu và nhóm chứng ... 96
4.1.5.2. Chất lượng tinh trùng của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu.. 98
4.1.5.3. Tốc độ di chuyển của tinh trùng 98
4.1.5.4. Tương quan tuyến tính giữa các loại tốc độ 100
4.1.5.5. Tính chất di chuyển của tinh trùng 101
4.2. Về bất thường NST ở nam giới VT và TTN..... 102
4.2.1. Về tỷ lệ karyotyp ở nam giới VT và TTN..... 102
4.2.2. Các kiểu karyotyp ở nam giới vô sinh 103
4.2.2.1. Bất thường NST giới tính 104
4.2.2.2. Bất thường NST thường..... 109
4.3. Về mất đoạn nhỏ NST Y ở nam giới VT và TTN..... 112

4.3.1. Về quá trình hoàn chỉnh kỹ thuật multiplex PCR phát hiện mất đoạn AZF 112
4.3.2. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y 115
4.3.3. Tỷ lệ mất đoạn ở từng vùng AZF và kết hợp 118
4.3.4. Tỷ lệ mất đoạn tại các vị trí STS phát hiện được 125
4.4. Liên quan giữa bất thường NST và mất đoạn gen ở nam giới VT và TTN .. 126
4.5. Mối liên quan giữa đặc điểm tinh dịch và bất thường di truyền 130
4.5.1. Thể tích, độ pH, độ nhớt tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng 130
4.5.2. Chất lượng tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng . 130
KẾT LUẬN 133
KIẾN NGHỊ 135
NHỮNG CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Tỷ lệ % vô sinh nguyên phát và thứ phát. 6
Bảng 1.2. Các nhóm nguyên nhân vô sinh nam 7
Bảng 1.3. Tỷ lệ phát hiện bất thường NST ở những nam giới vô sinh 14
Bảng 1.4. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở một số nghiên cứu 20
Bảng 1.5. Tỷ lệ mất đoạn nhỏ NST Y ở các vùng AZF 21
Bảng 1.6. Tỷ lệ mất đoạn AZFd theo một số nghiên cứu 21
Bảng 1.7. Một số tiêu chuẩn tinh dịch đồ theo các tác giả 32
Bảng 1.8. Tiêu chuẩn bình thường của một mẫu tinh dịch theo WHO 33
Bảng 2.1. Các cặp mồi và trình tự mồi dùng cho xét nghiệm mất đoạn AZFabcd. 45
Bảng 2.2. Bảng thiết kế các phản ứng multiplex PCR trong xét nghiệm 46
Bảng 2.3. Các thành phần của phản ứng multiplex PCR 46
Bảng 3.1. Phân bố tuổi của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu 55
Bảng 3.2. Phân bố nghề nghiệp của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu 56
Bảng 3.3. Tiền sử bản thân của nam giới vô sinh 57
Bảng 3.4. Thể tích trung bình tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC 57
Bảng 3.5. Phân bố thể tích tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC 58
Bảng 3.6. Thể tích tinh hoàn của nhóm chứng theo từng độ tuổi 59
Bảng 3.7. Thể tích tinh hoàn của nhóm nghiên cứu theo từng độ tuổi 60
Bảng 3.8. Phân bố mật độ tinh hoàn ở nhóm chứng và nhóm NC 60
Bảng 3.9. Mật độ tinh hoàn theo tuổi ở nhóm chứng 61
Bảng 3.10. Mật độ tinh hoàn theo độ tuổi ở nhóm nghiên cứu 61
Bảng 3.11. Phân loại bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh.. 63
Bảng 3.12. So sánh thể tích tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng 64
Bảng 3.13. So sánh độ pH tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng 65
Bảng 3.14. So sánh độ nhớt tinh dịch của nhóm NC và nhóm chứng 65
Bảng 3.15. So sánh một số chỉ số về chất lượng tinh trùng của nhóm chứng và nhóm TT/TTN 66
Bảng 3.16. Tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN 67

Bảng 3.17. Các dạng tốc độ di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN 67
Bảng 3.18. Tính chất di chuyển của tinh trùng ở nhóm chứng và nhóm TT/TTN.. 71
Bảng 3.19. Phân bố tỷ lệ karyotyp của những người VT và TTN 71
Bảng 3.20. Phân bố các kiểu karyotyp bất thường ở nam giới VT và TTN 73
Bảng 3.21. Đột biến mất đoạn nhỏ NST Y ở nhóm nghiên cứu 74
Bảng 3.22. Vị trí mất đoạn gen trên NST Y ở nam giới VT và TTN 75
Bảng 3.23. Phân bố mất đoạn AZF theo locus gen 77
Bảng 3.24. Tỷ lệ mất đoạn của từng vị trí STS trên tổng số vị trí mất đoạn 78
Bảng 3.25. Sự phân bố vị trí mất đoạn AZF trên NST Y ở nhóm NC 80
Bảng 3.26. Phân bố đột biến NST và đột biến gen ở nam giới VT và TTN 82
Bảng 3.27. Liên quan giữa mất đoạn AZF và bất thường NST 82
Bảng 3.28. Một số hình ảnh NST Y ở nam giới vô sinh và biểu hiện gen vùng trên NST Y 83
Bảng 3.29. So sánh thể tích tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng..... 84
Bảng 3.30. So sánh độ pH tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng..... 84
Bảng 3.31. So sánh độ nhớt tinh dịch của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng..... 85
Bảng 3.32. So sánh chất lượng tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng..... 85
Bảng 3.33. Tốc độ di chuyển của tinh trùng của nhóm bất thường di truyền và nhóm chứng..... 86
Bảng 3.34. Liên quan giữa mật độ tinh trùng với bất thường NST và mất đoạn gen 87
Bảng 4.1. Tỷ lệ % hội chứng Klinefelter, thể thuần, khảm và biến thể..... 105
Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ bất thường NST do chuyển đoạn và đảo đoạn ở nam giới vô sinh trong một số nghiên cứu 111
Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ mất đoạn nhỏ vùng AZF trên NST Y trong một số nghiên cứu..... 116

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Phân bố đặc điểm tuổi ở người nam vô sinh 54
Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ bất thường cơ quan sinh dục ngoài ở nam giới vô sinh 62
Biểu đồ 3.3. Phân bố nhóm karyotyp ở người nam vô sinh..... 72
Biểu đồ 3.4. Sự phân bố các vùng AZFabcd bị mất đoạn..... 76
Biểu đồ 3.5. Tỷ lệ mất đoạn tại các vị trí STS ở hai nhóm VT và TTN 79

DANH MỤC ĐỒ THỊ

Đồ thị 3.1. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VCL nhóm chứng 68
Đồ thị 3.2. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VCL nhóm TT/TTN 68
Đồ thị 3.3. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VAP nhóm chứng 69
Đồ thị 3.4. Tương quan tuyến tính giữa VSL và VAP nhóm TT/TTN 69
Đồ thị 3.5. Tương quan tuyến tính giữa VCL và VAP nhóm chứng..... 70
Đồ thị 3.6. Tương quan tuyến tính giữa VCL và VAP nhóm TT/TTN 70

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Mô hình cấu trúc NST Y, vùng AZFabcd và các nhóm gen 16
Hình 1.2. Sơ đồ NST Y và những marker ở những vùng AZFabcd. 19
Hình 1.3. Tốc độ di chuyển của tinh trùng..... 34

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 3.1. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam bình thường..... 88
Ảnh 3.2. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam mất đoạn AZFabcd 88
Ảnh 3.3. Điện di sản phẩm Multiplex PCR của người nam mất đoạn AZFd tại vị trí BPY2 và sY152 88

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1. Sơ đồ tóm tắt các bước thực hiện 48