

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

VŨ THỊ THU TRANG

**NGHIÊN CỨU HÌNH THÁI CẤU TRÚC
TINH TRÙNG, ỚNG SINH TINH
VÀ HIỆU QUẢ THU TINH TRÙNG Ở BỆNH NHÂN VÔ
TINH KHÔNG DO TẮC BẰNG MICRO TESE**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2020

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG
HỌC VIỆN QUÂN Y

VŨ THỊ THU TRANG

**NGHIÊN CỨU HÌNH THÁI CẤU TRÚC
TINH TRÙNG, ỚNG SINH TINH
VÀ HIỆU QUẢ THU TINH TRÙNG Ở BỆNH NHÂN VÔ
TINH KHÔNG DO TẮC BẰNG MICRO TESE**

Chuyên ngành: Khoa học y sinh

Mã số: 9 72 01 01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. GS.TS. Nguyễn Đình Tảo
2. PGS.TS. Trịnh Thế Sơn

HÀ NỘI - 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi với sự hướng dẫn khoa học của tập thể cán bộ hướng dẫn.

Các kết quả nêu trong luận án là trung thực và được công bố một phần trong các bài báo khoa học. Luận án chưa từng được công bố. Nếu có điều gì sai, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Tác giả

Vũ Thị Thu Trang

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Ban Giám đốc Học viện Quân y, phòng Sau đại học, Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội - Học viện Quân y, Sở Y tế tỉnh Hưng Yên, Bệnh viện Sản - Nhi tỉnh Hưng Yên đã tạo điều kiện cho tôi thực hiện thành công luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các Bộ môn, các thầy cô giáo đã nhiệt tình giảng dạy, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu. Đặc biệt, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn vô hạn tới GS.TS Nguyễn Đình Tảo, PGS.TS Trịnh Thế Sơn và PGS.TS Quán Hoàng Lâm, những người thầy trực tiếp chỉ bảo, truyền dạy những kinh nghiệm quý báu cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các nhà khoa học trong và ngoài Quân đội đã giúp đỡ, đóng góp ý kiến quý báu giúp tôi hoàn thành luận án này.

Xin chân thành cảm ơn bạn bè, đồng nghiệp và những người thân trong gia đình đã cho tôi nhiều thuận lợi, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Hà Nội, ngàytháng.....năm 2020

Tác giả

Vũ Thị Thu Trang

MỤC LỤC

Trang phụ bìa	
Lời cam đoan	
Mục lục	
Danh mục các chữ, ký hiệu viết tắt	
Danh mục các bảng	
Danh mục các biểu đồ	
Danh mục các hình	
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Hình thái cấu trúc tinh hoàn và quá trình sinh tinh trùng.....	3
1.1.1. Cấu trúc vi thể và siêu vi thể ống sinh tinh.....	3
1.1.2. Mô kẽ.....	13
1.2. Vô tinh.....	13
1.2.1. Một số khái niệm.....	13
1.2.2. Phân loại vô tinh.....	14
1.2.3. Các nguyên nhân gây vô tinh.....	15
1.3. Một số kỹ thuật thu tinh trùng ở bệnh nhân vô tinh.....	25
1.3.1. Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da (PESA).....	25
1.3.2. Vi phẫu thuật mào tinh hoàn thu tinh trùng (MESA).....	26
1.3.3. Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ (TEFNA).....	27
1.3.4. Phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (TESE).....	28
1.3.5. Vi phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (micro TESE).....	28
1.4. Các nghiên cứu về micro TESE trên thế giới và ở Việt Nam.....	30
1.4.1. Nghiên cứu về micro TESE trên thế giới.....	30
1.4.2. Nghiên cứu về micro TESE tại Việt Nam.....	33
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	35
2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	35
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	35
2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	35

2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	35
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	35
2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu	36
2.2.3. Các biến số, chỉ số nghiên cứu	37
2.2.4. Các thăm khám và kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu	38
2.2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu	55
2.2.7. Sơ đồ nghiên cứu	56
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	57
3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.....	57
3.1.1. Đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, loại vô sinh, thời gian vô sinh của đối tượng nghiên cứu.....	57
3.1.2. Tiền sử bệnh và thói quen của đối tượng nghiên cứu	58
3.1.3. Thể tích tinh hoàn của đối tượng nghiên cứu	59
3.1.4. Một số xét nghiệm của đối tượng nghiên cứu	60
3.2. Một số đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu thu được bằng kỹ thuật micro TESE	61
3.2.1. Hình thái cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu.....	61
3.2.2. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu	68
3.3. Đánh giá hiệu quả thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc	78
3.3.1. Tỷ lệ bệnh nhân thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	78
3.3.2. Liên quan của một số yếu tố với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	78
3.3.3. Tai biến, biến chứng sau phẫu thuật	85
3.3.4. Tỷ lệ có thai ở những trường hợp thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng thu được bằng kỹ thuật micro TESE.....	86
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	87
4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu	87
4.1.1. Tuổi, nghề nghiệp, loại vô sinh và thời gian vô sinh	87
4.1.2. Tiền sử bệnh và thói quen.....	90
4.1.3. Thể tích tinh hoàn	92
4.1.4. Xét nghiệm một số hormon	92

4.1.5. Bất thường gen AZF	94
4.2. Một số đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh ở bệnh nhân vô tinh không do tắc thu được bằng kỹ thuật micro TESE	94
4.2.1. Hình thái cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu.....	94
4.2.2. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu	99
4.2.3. Sự khác nhau về kết quả tìm thấy tinh trùng ở các vị trí sinh thiết....	109
4.3. Hiệu quả thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc	110
4.3.1. Tỷ lệ thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc	110
4.3.2. Liên quan của một số yếu tố với khả năng thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE.....	112
4.4. Hạn chế của đề tài	119
KẾT LUẬN	121
KIẾN NGHỊ	123
Công trình nghiên cứu của tác giả đã công bố liên quan đến luận án	124
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	125
PHỤ LỤC	138

DANH MỤC CÁC CHỮ, KÝ HIỆU VIẾT TẮT

Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
ASRM	American society for reproductive medicine <i>Hội y học sinh sản Hoa Kỳ</i>
AZF	Azoospermic factor <i>(Yếu tố không có tinh trùng)</i>
cs	Cộng sự
DNA	Deoxyribonucleic acid
FSH	Follicle stimulating hormone <i>(Hormon kích thích nang noãn)</i>
GnRH	Gonadotropin releasing hormone <i>(Hormon giải phóng Gonadotropin)</i>
hCG	Human chorionic gonadotropin <i>(Hormon hướng sinh dục rau thai)</i>
HE	Hematoxylin – Eosin
HS	Hypospermatogenesis <i>(Giảm sinh tinh)</i>
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection <i>(Tiêm tinh trùng vào bào tương của noãn)</i>
IM	Immotile <i>(Tinh trùng bất động)</i>
IMSI	Intracytoplasmic morphological sperm injection <i>(Tiêm tinh trùng có chọn lọc hình dạng vào bào tương noãn)</i>
LH	Luteinizing hormone <i>(Hormon hoàng thể hóa)</i>
MA	Maturation arrest <i>(Dừng sinh tinh nửa chừng)</i>
MESA	Microsurgical epididymal sperm aspiration <i>(Vi phẫu thuật mào tinh hoàn thu tinh trùng).</i>
Micro TESE	Microdissection testicular sperm extraction <i>(Vi phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng).</i>

Phân viết tắt	Phân viết đầy đủ
MSOME	Motile sperm organellar morphology examination <i>(Tiêu chuẩn được áp dụng để lựa chọn tinh trùng trong IMSI)</i>
NP	Non progressive (motility) <i>(Di động không tiến tới)</i>
NST	Nhiễm sắc thể
PESA	Percutaneous epididymal sperm aspiration <i>(Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da)</i>
PR	Progressive (motility) <i>(Di động tiến tới)</i>
SCOS	Sertoli cell only syndrome <i>(Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli)</i>
SEM	Scanning electron microscopy <i>(Kính hiển vi điện tử quét)</i>
TEFNA	Testicular fine needle aspiration <i>(Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ)</i>
TEM	Transmission electron microscopy <i>(Kính hiển vi điện tử truyền qua)</i>
TESA	Testicular sperm aspiration <i>(Chọc hút tinh hoàn thu tinh trùng)</i>
TESE	Testicular sperm extraction <i>(Phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng)</i>
TT	Tinh trùng
WHO	World health organization <i>(Tổ chức Y tế Thế giới)</i>

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
3.1	Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu	57
3.2	Tiền sử bệnh và thói quen của đối tượng nghiên cứu	58
3.3	Thể tích tinh hoàn của đối tượng nghiên cứu	59
3.4	Thể tích tinh hoàn được mổ của đối tượng nghiên cứu	60
3.5	Nồng độ một số hormon của đối tượng nghiên cứu	60
3.6	Tỷ lệ di động và tỷ lệ sống chết của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	62
3.7	Tỷ lệ hình thái tinh trùng bình thường và bất thường ở nhóm nghiên cứu	63
3.8	Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường đầu của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	63
3.9	Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường đoạn giữa của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	64
3.10	Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường đoạn thân của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	64
3.11	Chiều dài trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	65
3.12	Kích thước đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	65
3.13	Tỷ lệ chiều dài đầu/chiều rộng đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	66
3.14	Chiều dài cổ và đoạn trung gian trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	66
3.15	Chiều dài đuôi trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	66
3.16	Tỷ lệ chiều dài đuôi/chiều dài đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	67
3.17	Điểm bán định lượng mức độ thoái hoá ống sinh tinh trung bình ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng	70
3.18	Độ dày lớp vỏ xơ trung bình và đường kính ống sinh tinh trung bình của bệnh nhân nghiên cứu	71

Bảng	Tên bảng	Trang
3.19	Độ dày lớp vỏ xơ trung bình và đường kính ống sinh tinh trung bình ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng	71
3.20	Số lượng trung bình từng loại tế bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu	72
3.21	Số lượng trung bình từng loại tế bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng	73
3.22	Các tế bào trong biểu mô tinh của nhóm nghiên cứu	76
3.23	Liên quan giữa phân nhóm tuổi với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	78
3.24	Liên quan giữa phân nhóm thời gian vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	79
3.25	Liên quan giữa phân loại vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	80
3.26	Liên quan giữa tiền sử mắc quai bị với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	80
3.27	Liên quan giữa nồng độ FSH, LH, Testosterone với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	82
3.28	Liên quan giữa nồng độ FSH, LH, Testosterone trong giới hạn bình thường với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	83
3.29	Liên quan giữa đặc điểm gen AZF với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	84
3.30	Liên quan giữa các loại bất thường gen AZF với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	84
4.1	So sánh kích thước của tinh trùng thu được trong nghiên cứu với tiêu chuẩn của WHO (2010)	98
4.2	So sánh tỷ lệ thu được tinh trùng bằng phương pháp micro TESE trong nghiên cứu với một số nghiên cứu khác	112

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Tên biểu đồ	Trang
3.1	Các loại bất thường gen AZF của đối tượng nghiên cứu	61
3.2	Mật độ tinh trùng ở nhóm nghiên cứu	62
3.3	Kết quả mô bệnh học của đối tượng nghiên cứu	68
3.4	Tỷ lệ bệnh nhân thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	78
3.5	Liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	81
3.6	Liên quan giữa kết quả mô bệnh học với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE	85

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1	Thiết đồ đứng ngang qua tinh hoàn, mào tinh và ống dẫn tinh	4
1.2	Các thành phần bên trong ống sinh tinh	4
1.3	Cấu trúc ống sinh tinh của người bình thường	5
1.4	Nhân tế bào Sertoli	6
1.5	Cấu trúc tinh trùng trưởng thành	12
1.6	Sơ đồ tóm tắt sự tạo tinh trùng	13
1.7	Kỹ thuật chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da	25
1.8	Vi phẫu thuật thu tinh trùng từ mào tinh	26
1.9	Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ	27
1.10	Phẫu thuật thu tinh trùng từ tinh hoàn	28
1.11	Kỹ thuật micro TESE	29
2.1	Thước Prader đo thể tích tinh hoàn	38
2.2	Đo thể tích tinh hoàn bằng thước Prader	38
2.3	Kính vi phẫu Carl Zeiss Meditec AG – Germany	40
2.4	Thu tinh trùng từ tinh hoàn bằng kỹ thuật micro TESE tại Viện Mô Phôi Lâm sàng Quân đội	42
2.5	Các ống sinh tinh được bộc lộ trên kính vi phẫu bằng kỹ thuật micro TESE	42
2.6	Kính hiển vi điện tử truyền qua JEOL – 1011	54
2.7	Sơ đồ nghiên cứu	56
3.1	Ống sinh tinh ở bệnh nhân giảm sinh tinh	68
3.2	Ống sinh tinh nhóm dừng sinh tinh nửa chừng	69
3.3	Ống sinh tinh chỉ có tế bào Sertoli	69
3.4	Hình ảnh siêu cấu trúc vỏ xơ ống sinh tinh	74
3.5	Hình ảnh siêu cấu trúc ống sinh tinh (lòng ống rộng, biểu mô tinh mỏng)	75
3.6	Hình ảnh siêu cấu trúc ống sinh tinh (lòng ống không rõ, biểu mô tinh dày)	75
3.7	Siêu cấu trúc tế bào Sertoli trưởng thành	77
3.8	Siêu cấu trúc tinh thể Charcot – Bottcher	77

Hình	Tên hình	Trang
PL2.1	Một số dạng bất thường của tinh trùng người	151
PL3.1	Tinh trùng có đầu to, cổ và đoạn trung gian gập	152
PL3.2	Tinh trùng có đầu bất định	152
PL3.3	Tinh trùng đầu hình lê	153
PL3.4	Tinh trùng có túi cực đầu bất thường	153
PL3.5	Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian gập	154
PL3.6	Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian dày	154
PL3.7	Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian dày, đuôi ngắn	155
PL3.8	Tinh trùng đầu bất định, cổ dày, đuôi cong	155
PL3.9	Siêu cấu trúc tinh trùng thu được từ tinh hoàn bệnh nhân nghiên cứu	156
PL3.10	Siêu cấu trúc đuôi (đoạn chính) tinh trùng thu được từ tinh hoàn bệnh nhân nghiên cứu (hình cắt ngang)	156
PL4.1	Ống sinh tinh thoái hóa không đều	157
PL4.2	Ống sinh tinh bị phá hủy, thay vào đó là mô liên kết	158
PL4.3	Thành ống sinh tinh chỉ bao gồm nguyên bào sợi và tế bào sợi	158
PL4.4	Ống sinh tinh có thoái hóa hóc	159
PL4.5	Lớp vỏ xơ ống sinh tinh rất dày	159
PL4.6	Ống sinh tinh với vỏ xơ dày, có đường kính 12,3 μ m	160
PL4.7	Siêu cấu trúc lớp vỏ xơ ống sinh tinh: tăng sinh nhiều lớp tế bào sợi	160
PL4.8	Siêu cấu trúc lớp vỏ xơ ống sinh tinh: tăng sinh bó sợi collagen	161
PL4.9	Siêu cấu trúc ống sinh tinh đường kính bình thường và ống sinh tinh đường kính nhỏ	161
PL4.10	Biểu mô sinh tinh hoạt động mạnh: ty thể và lưới nội bào phát triển	165
PL4.11	Biểu mô sinh tinh hoạt động kém: tế bào biểu mô sinh tinh không có lưới nội bào và ty thể phát triển	165
PL4.12	Tế bào Sertoli hoạt động kém: nhân không có nếp gập, bào quan thưa	163
PL4.13	Tế bào Sertoli trưởng thành với màng nhân gập nếp, nhiều ty thể, xuất hiện thể thực bào	163

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, tỷ lệ vô sinh nói chung, vô sinh nam nói riêng khá cao. Điều tra dân số quốc gia năm 1982, tỷ lệ vô sinh ở Việt Nam khoảng 13% [1]. Nghiên cứu trên toàn quốc năm 2015, tỷ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ (15 - 49) là 7,7% [2]. Trên thế giới, tỷ lệ vô sinh trung bình từ 6% - 12% [2]. Bắc Mỹ, tỷ lệ vô sinh là 15% [3]. Theo các nghiên cứu tại Việt Nam, trong các nguyên nhân gây vô sinh thì khoảng 40% nguyên nhân do người chồng [4]. Tại Bắc Mỹ, nguyên nhân do nam chiếm đến 50% trong đó có tới 10% - 20% là do vô tinh (azoospermia) [3].

Vô tinh thường được chia làm 2 loại là vô tinh do tắc (obstructive azoospermia) và vô tinh không do tắc (non-obstructive azoospermia) trong đó vô tinh không do tắc là nguyên nhân nặng nề nhất chiếm khoảng 10% số bệnh nhân vô sinh nam [5], [6] và chiếm khoảng 60% số bệnh nhân vô tinh [7]. Sự ra đời, phát triển của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản nói chung và các kỹ thuật thu tinh trùng nói riêng đã mang lại cơ hội làm cha cho những bệnh nhân vô tinh với những đứa con của chính mình, điều mà trước đây họ không thể có được.

Đối với các bệnh nhân vô tinh do tắc sẽ ưu tiên phẫu thuật tái tạo, nếu không thể tái tạo thì có thể thu tinh trùng bằng các phương pháp thu tinh trùng thông thường như chọc hút mào tinh qua da (Percutaneous epididymal sperm aspiration - PESA), vi phẫu thuật mào tinh để thu tinh trùng (Microsurgical epididymal sperm aspiration - MESA), chọc hút tinh hoàn thu tinh trùng (Testicular sperm aspiration - TESA) hay phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (Testicular sperm extraction - TESE) [8]... nhưng đối với những bệnh nhân vô tinh không do tắc thì vi phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (Microdissection testicular sperm extraction - micro TESE) là kỹ thuật thu tinh trùng tốt nhất [3], [9], [10]. Tinh trùng sẽ được lấy từ mẫu mô tinh hoàn thu được dưới kính hiển vi vi phẫu sau đó các tinh trùng này được sử dụng cho kỹ thuật thụ tinh

trong ống nghiệm với phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intracytoplasmic sperm injection - ICSI). Trên thế giới micro TESE đã được nghiên cứu ứng dụng nhiều. Đa số các nghiên cứu đều cho rằng đây là phương pháp thu được tinh trùng cao hơn so với phương pháp sinh thiết tinh hoàn kinh điển một hoặc nhiều chỗ thậm chí ở cả những bệnh nhân trước đây đã từng thất bại với các phương pháp thu tinh trùng khác. Ngoài ra micro TESE còn là phương pháp ít gây biến chứng, ít ảnh hưởng đến chức năng tinh hoàn sau phẫu thuật do dưới kính hiển vi vi phẫu có thể nhìn rõ các ống sinh tinh và tránh được các mạch máu đến tinh hoàn. Tuy nhiên tại Việt Nam, micro TESE là kỹ thuật mới được áp dụng, chưa có công trình nghiên cứu đầy đủ nào về hiệu quả thu tinh trùng của phương pháp cũng như nghiên cứu về hình thái cấu trúc của tinh trùng và các ống sinh tinh thu được. Nghiên cứu phát triển thành công kỹ thuật này ở Việt Nam sẽ giúp các thầy thuốc có thêm công cụ để thu tinh trùng hiệu quả ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc đồng thời đánh giá được hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh sẽ góp phần quan trọng trong chẩn đoán, tiên lượng, tư vấn và điều trị bệnh.

Chính vì vậy, tôi làm đề tài: ***“Nghiên cứu hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh và hiệu quả thu tinh trùng ở bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng micro TESE”*** với hai mục tiêu nghiên cứu:

- 1. Mô tả một số đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh thu được ở bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng kỹ thuật micro TESE.*
- 2. Đánh giá hiệu quả và mối liên quan của một số yếu tố với khả năng thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Hình thái cấu trúc tinh hoàn và quá trình sinh tinh trùng

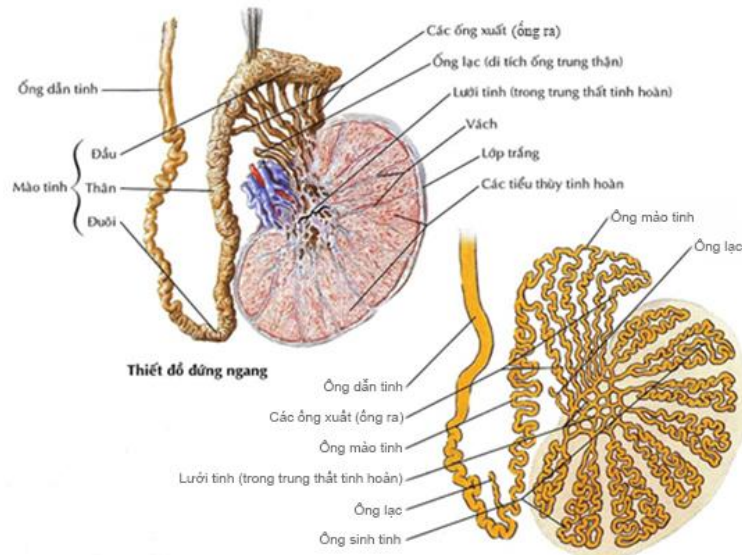
Ở người trưởng thành, tinh hoàn có kích thước dài 4 – 5cm, rộng 2,5cm. Cực trên tinh hoàn được phủ bởi mào tinh và tiến xuống phía dưới, theo bờ sau - bên của tinh hoàn để tạo ra phần thân và phần đuôi của mào tinh. Cực dưới mào tinh tiếp nối với ống dẫn tinh. Ngoài việc tạo ra tinh trùng tinh hoàn còn tiết vào máu những hormon sinh dục nam. Tinh hoàn được bọc bởi lớp mô liên kết xơ màu trắng gọi là màng trắng. Mặt ngoài màng trắng được bao phủ bởi lá tạng của tinh mạc, mặt trong dày lên ở phía sau trên tạo thành một vách liên kết dày gọi là thể Highmore. Các ống dẫn tinh, mạch máu và dây thần kinh đi vào hoặc đi ra khỏi tinh hoàn đều đi qua vách này. Từ màng trắng phát sinh những vách xơ tiến sâu vào tinh hoàn rồi quy tụ ở thể Highmore, ngăn tinh hoàn thành nhiều tiểu thùy (khoảng 150 - 200 tiểu thùy). Mỗi tiểu thùy chứa 3 - 4 ống cong queo, kín ở đầu gần (giáp với màng trắng) gọi là ống sinh tinh. Các ống sinh tinh ở cùng một thùy mở chung vào một ống ngắn gọi là ống thẳng. Các ống thẳng đi vào thể Highmore rồi phân chia thành một hệ thống ống dẫn nối với nhau trong thể Highmore gọi là ống lưới hay ống Hale. Ống thẳng là đoạn đầu của đường dẫn tinh và là đoạn nằm trong tinh hoàn.

1.1.1. Cấu trúc vi thể và siêu vi thể ống sinh tinh

Ống sinh tinh là nơi diễn ra sự sinh tinh và chiếm khoảng 60% thể tích tinh hoàn. Là loại ống hình quai xoắn không chia nhánh, hai đầu mở vào lưới tinh, mỗi ống có đường kính khoảng 150 – 200 μm và dài từ 30 – 150 cm [11]. Từ ngoài vào trong, thành ống sinh tinh được cấu tạo bởi: vỏ xơ, màng đáy và biểu mô tinh.

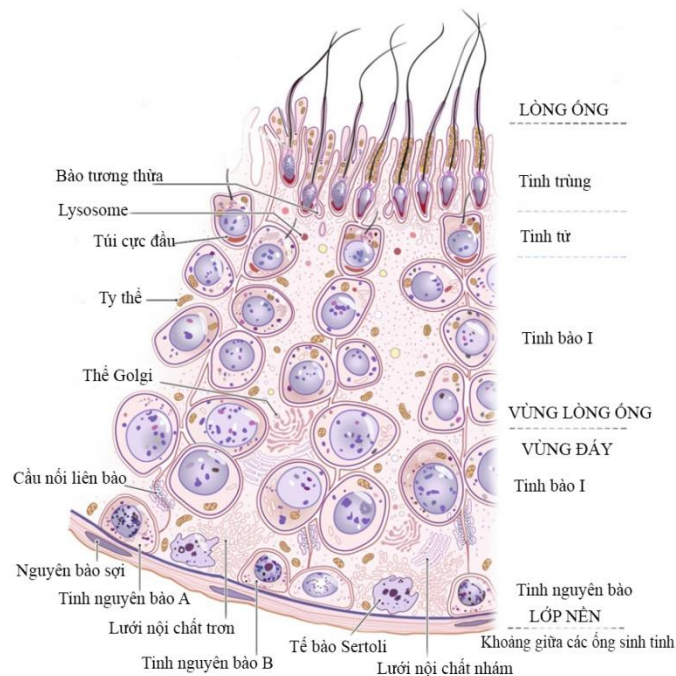
- Lớp vỏ xơ: gồm vài lớp nguyên bào sợi và nguyên bào sợi - cơ.

- Thành ống sinh tinh: tạo nên bởi tế bào Sertoli và các tế bào dòng tinh. Các tế bào dòng tinh xếp 4 - 8 lớp kể từ màng đáy cho đến lòng ống sinh tinh. Các tế bào sẽ biệt hoá qua các giai đoạn để tạo thành tinh trùng.



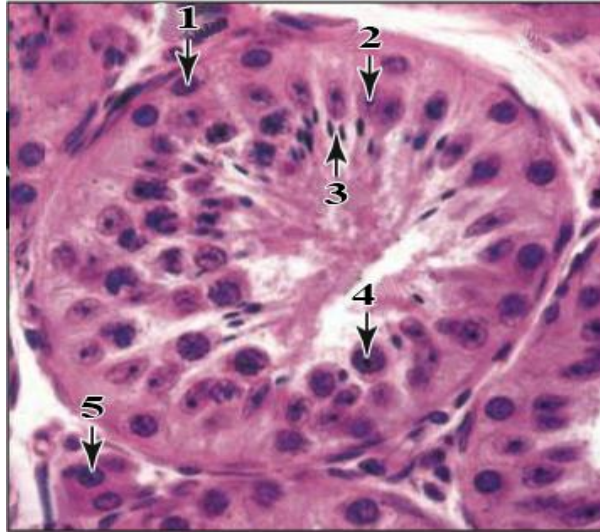
Hình 1.1. Thiết đồ đứng ngang qua tinh hoàn, mào tinh và ống dẫn tinh

* Nguồn: theo Netter F.H. (2004) [12]



Hình 1.2. Các thành phần bên trong ống sinh tinh

* Nguồn: theo Zini A.và cs (2011) [13]



Hình 1.3. Cấu trúc ống sinh tinh của người bình thường (HE, x400)

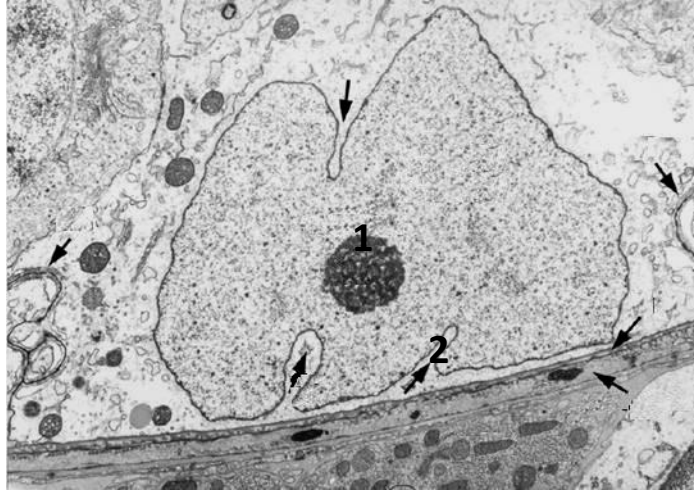
1. Tinh nguyên bào; 2. Tế bào Sertoli; 3. Tinh tử; 4. Tinh bào I; 5. Tế bào kẽ

* Nguồn: theo Mescher A.L.(2016) [14]

1.1.1.1. Tế bào Sertoli

Tế bào Sertoli là những tế bào lớn, sáng màu. Dưới kính hiển vi quang học, ranh giới giữa tế bào Sertoli và các tế bào xung quanh không phân biệt rõ. Dưới kính hiển vi điện tử, tế bào Sertoli có hình trụ, giữa hai tế bào giáp nhau có khoảng gian bào hẹp 7 – 9nm; ở vùng này có thể liên kết, vòng dính hay dải bịt [11]. Ở mặt bên tế bào, màng tế bào có những chỗ lõm vào bào tương để tạo ra các khoảng trống chứa các tế bào dòng tinh. Thể tích tế bào Sertoli thay đổi từ 2000 – 7000 μm^3 . Ở vùng tiếp giáp giữa tế bào Sertoli và tế bào dòng tinh, khoảng gian bào rộng hơn và không có phức hợp liên kết [15], [16].

Nhân tế bào Sertoli lớn, nằm gần màng đáy, sáng màu vì chứa ít chất nhiễm sắc, kích thước từ 250 – 850 μm^3 [16], có nhiều hình dạng như hình tháp, hình thấu kính, phụ thuộc vào các giai đoạn của quá trình sinh tinh, cũng như tuổi đời. Bằng phương pháp nhuộm hematoxylin nhân bắt màu base đậm. Màng nhân tế bào Sertoli thường có nếp gấp lõm vào sâu trong chất nhân. Có một hạt nhân lớn, rất rõ rệt. Hạt nhân thường nằm giữa nhân và thường có hai khối dị nhiễm sắc hình cầu nằm ở 2 bên.



Hình 1.4. Nhân tế bào Sertoli

1. Hạt nhân; 2. Nếp gấp màng nhân.

* Nguồn: theo Hess R.A. và cs (2005) [16]

Bào tương tế bào Sertoli chứa nhiều bào quan như lysosome, bộ máy Golgi phát triển nhưng không có túi hay hạt chế tiết. Ty thể phong phú, dài và thường xếp theo trục dọc của tế bào, nằm xen kẽ giữa các bào quan. Kích thước ty thể thường lớn, có thể lên tới 2 – 3 μ m hoặc hơn. Lưới nội bào gồm lưới nội bào có hạt và lưới nội bào không hạt. Lưới nội bào không hạt rất phong phú, đặc biệt là phần đáy tế bào, những ống của lưới nội bào không hạt có thể xếp thành những vòng đồng tâm vây quanh những giọt mỡ. Lưới nội bào không hạt chiếm ưu thế ở người trưởng thành khi quá trình tổng hợp lipid hay steroid diễn ra mạnh mẽ.

Tế bào Sertoli có một khung chống đỡ rất phát triển, bao gồm: ống siêu vi (microtubule), các xơ actin, xơ trung gian (vimentin).

Trong bào tương còn có các thành phần khác như các giọt mỡ, glycogen và chất vùi, gọi là những tinh thể Charcot - Bottcher (chỉ thấy ở người). Đây là cấu trúc hình thoi có đường chéo lớn dài 10 – 25 μ m, cấu tạo bởi 1 bó sợi có đường kính 15nm, các tơ xếp song song với nhau và qui tụ vào các đầu hình thoi. Bản chất hoá học và chức năng đến nay chưa rõ.

Tế bào Sertoli tham gia cấu tạo hàng rào máu - tinh hoàn. Trong tinh hoàn, các mạch máu nằm trong mô kẽ, xen giữa các ống sinh tinh. Từ máu tới các tế bào dòng tinh, hàng rào máu - tinh hoàn gồm:

- Thành các mao mạch máu.
- Mô kẽ.
- Vỏ xơ bọc ngoài ống sinh tinh.
- Màng đáy lót ngoài biểu mô tinh.

- Những phức hợp liên kết gắn mặt bên các tế bào Sertoli nằm cạnh nhau ngăn những khoảng gian bào trong biểu mô tinh hoàn thành hai ngăn: Ngăn ngoài nằm giáp với màng đáy lót ngoài biểu mô tinh và chứa những tế bào dòng tinh chưa tiến triển (tinh nguyên bào). Ngăn bên trong gồm những khoảng gian bào xen giữa các tế bào Sertoli với nhau hay với các tế bào dòng tinh đang tiến triển.

Một chất có mặt trong máu, muốn tới tác động vào các tế bào dòng tinh phải vượt qua các thành phần cấu tạo kể trên của hàng rào máu - tinh hoàn.

Các mao mạch máu ở tinh hoàn thuộc loại mao mạch máu có cửa sổ, chúng cho phép các chất có phân tử lượng lớn đi qua và chỉ có thể tới được ngăn ngoài của biểu mô tinh, nhưng bị ngăn lại bởi các dải bịt giữa các tế bào Sertoli. Ý nghĩa quan trọng của hàng rào máu - mô này là bảo vệ cho các tế bào dòng tinh đang phát triển và biệt hóa thành tinh trùng ở ngăn bên trong hướng về lòng ống của biểu mô tinh.

Ngoài chức năng cấu tạo nên hàng rào máu - tinh hoàn, tế bào Sertoli còn có chức năng bảo vệ, vận chuyển và phóng thích các tế bào dòng tinh; tổng hợp và bài xuất một số chất tham gia vào điều tiết quá trình sinh tinh.

1.1.1.2. Các tế bào dòng tinh và quá trình sinh tinh

Vào tuần thứ 4 khi phôi đang phát triển, những tế bào mầm sinh dục (tế bào sinh dục nguyên thủy) từ thành túi noãn hoàng di cư đến mào sinh dục (nơi cặp tuyến sinh dục chưa biệt hóa), chúng được vây quanh bởi các tế bào

dây giới tủy (tế bào này sẽ trở thành tế bào Sertoli). Trong ống sinh tinh, tế bào mầm sinh dục tồn tại trong trạng thái ngủ tiềm sinh từ tuần thứ 6 của phôi đang phát triển cho đến tuổi dậy thì. Ở tuổi dậy thì, với sự kích thích của tế bào Sertoli, tế bào mầm nguyên thủy bắt đầu biệt hóa thành tinh nguyên bào.

Sự sinh tinh trùng là quá trình biến đổi tinh nguyên bào thành tinh trùng. Quá trình này bắt đầu từ tuổi dậy thì và liên tục cho tới cuối đời người nam giới.

Những tế bào dòng tinh là những tế bào có khả năng sinh sản, biệt hóa và tiến triển, để cuối cùng tạo ra tinh trùng. Từ đầu đến cuối dòng gồm: Tinh nguyên bào, tinh bào I, tinh bào II, tinh tử (tiền tinh trùng) và tinh trùng.

Quá trình sinh tinh trùng được chia thành: thời kỳ tạo tinh bào, thời kỳ phân bào giảm nhiễm và thời kỳ tạo tinh trùng. Ở các thời kỳ này xảy ra một loạt các biến đổi để cuối cùng tạo thành tinh trùng trưởng thành. Các biến đổi bao gồm: phân bào nguyên nhiễm (mitotic), phân bào giảm nhiễm (meiotic), biệt hóa tinh tử thành tinh trùng (spermiogenesis) và tách tinh trùng ra khỏi biểu mô lòng ống sinh tinh (spermiation) (hình 1.6).

- Tinh nguyên bào:

Là những tế bào nhỏ (đường kính 9 – 15 μ m), nằm ở vùng ngoại vi biểu mô tinh, xen giữa màng đáy với tế bào Sertoli. Tinh nguyên bào có bộ nhiễm sắc lưỡng bội $2n=44A+XY$. Bào tương chứa ít bào quan.

Dựa vào đặc điểm của nhân, người ta phân biệt hai loại tinh nguyên bào: Loại A có nhân tròn hay hình trứng, chất nhiễm sắc mịn, có 1 hoặc 2 hạt nhân; loại B có nhân tròn, chất nhiễm sắc dạng hạt kích thước khác nhau, chỉ có 1 hạt nhân nằm ở trung tâm nhân. Tinh nguyên bào loại A là những tế bào gốc. Chúng gián phân nhiều lần, sinh ra tinh nguyên bào cùng loại; một số khác biệt hóa thành tinh nguyên bào loại B (những tế bào đang biệt hóa không còn khả năng tái biệt hóa). Tinh nguyên bào loại B biệt hóa ra tinh bào I.

- Tinh bào I:

Tinh bào I có bộ nhiễm sắc lưỡng bội $2n=44A+XY$. Sau khi sinh ra, nó lớn lên do tích lũy chất dinh dưỡng. Đó là tế bào lớn (đường kính khoảng $25\mu\text{m}$), nằm xa màng đáy và cách màng đáy bởi một hàng tinh nguyên bào. Nhân hình cầu, chất nhiễm sắc phân bố đều, hạt nhân thường thấy. Bào tương chứa nhiều bào quan như ty thể, bộ Golgi.

Tinh bào I tiến hành lần phân chia thứ nhất của quá trình giảm phân (giảm phân giảm nhiễm) để sinh ra tinh bào II.

- Tinh bào II:

Mỗi loại tinh bào II có bộ nhiễm sắc đơn bội $n=23$ và có hai loại tinh bào II: một loại mang thể nhiễm sắc X và một loại mang thể nhiễm sắc Y. Tỷ lệ giữa 2 loại là 1/1. Vừa sinh ra, tinh bào II tiến hành ngay lần phân chia thứ hai của quá trình giảm phân để sinh ra hai tinh tử.

- Tinh tử:

Tinh tử có bộ nhiễm sắc đơn bội $n=23$ và có hai loại: loại mang thể nhiễm sắc X và loại mang thể nhiễm sắc Y. Chúng xếp thành nhiều hàng gần lòng ống sinh tinh, hình hơi dài, nhân sáng, có một hạt nhân lớn, bào tương chứa nhiều bào quan. Tinh tử không có khả năng sinh sản mà qua quá trình biệt hóa rất phức tạp để thành tinh trùng, bao gồm:

- + Những biến đổi của bộ Golgi để tạo ra túi cực đầu.
- + Những biến đổi của tiểu thể trung tâm tạo ra đoạn cổ tinh trùng, dây trục.
- + Sự phân bố lại ty thể và sự tạo ra bao ty thể.
- + Những biến đổi cấu tạo của bào tương.

- Tinh trùng:

Tinh trùng nằm ở lòng ống sinh tinh và có hai loại: loại mang thể nhiễm sắc X và loại mang thể nhiễm sắc Y. Từ một tinh bào I qua hai lần phân chia của quá trình giảm phân sinh ra 4 tinh trùng.

Tinh trùng có cấu tạo bình thường dài khoảng $60\mu\text{m}$, gồm 3 phần: phần đầu, phần cổ và phần đuôi (phần đuôi bao gồm: đoạn trung gian, đoạn chính và đoạn cuối). Vì đoạn cuối khó quan sát được dưới kính hiển vi nền sáng nên tinh trùng có thể được xem như bao gồm: đầu (và cổ) và đuôi (đoạn trung gian, đoạn chính) (hình 1.5). Tinh trùng được xem là bình thường khi cả đầu và đuôi phải bình thường. Tất cả tinh trùng nghi ngờ đều được xem như bất thường [11], [17].

+ Đầu: hình bầu dục, hơi dẹt, dài $4 - 5\mu\text{m}$, rộng $2\mu\text{m}$. Nhân lớn chiếm gần hết đầu tinh trùng.

+ Cổ: là đoạn ngắn và hẹp, gắn thẳng trục với đầu

+ Đuôi: dài khoảng $55\mu\text{m}$, chia làm 3 đoạn:

- Đoạn trung gian (còn gọi là đoạn giữa): dài khoảng $4 - 5\mu\text{m}$. Giữa đoạn trung gian và đoạn chính, màng tế bào dày lên tạo thành vòng Zensen.

- Đoạn chính (còn gọi là đoạn thân): dài nhất, khoảng $45\mu\text{m}$, gồm một dây trục nằm ở trung tâm, vây quanh bởi một bao sợi xơ và bọc ngoài bởi màng tế bào.

- Đoạn cuối (còn gọi là đoạn chóp đuôi): dài khoảng $2 - 3\mu\text{m}$, tạo thành bởi dây trục được bọc bởi màng tế bào.

Quan sát tinh trùng dưới kính hiển vi điện tử:

+ Đầu tinh trùng: chứa nhân ở phần phình nằm về phía giáp với cổ. Đoạn 2/3 trước của nhân được chụm bởi túi cực đầu (túi acrosome) có hình cái mũ. Thành túi có cấu tạo màng kép gồm 2 lá ngoài và trong. Lòng túi chứa nhiều enzym thủy phân có tác dụng tiêu hủy các chướng ngại vật bao quanh noãn chín để tinh trùng tiến vào bào tương của noãn khi thụ tinh: hyaluronidase, neuramidase, acrosin, proacrosin, phospholipase C...

Ở lá ngoài của túi cực đầu và phần bào tương phía trước lá này có một loại protein đặc hiệu gọi là protein gắn vào noãn nguyên phát (primary egg binding protein), có tác dụng gây ra kết dính giữa đầu tinh trùng và màng trong suốt bọc noãn trong quá trình thụ tinh. Ở lá trong của túi cực đầu có một loại protein đặc hiệu khác gọi là protein gắn vào noãn thứ phát (secondary egg binding protein) có tác dụng gắn màng kép của túi cực đầu với màng trong suốt bọc noãn khi lớp bào tương mỏng ở phía trước túi cực đầu đã bị tiêu hủy và lá ngoài của túi cực đầu bị rách trong quá trình tiếp xúc với màng trong suốt. Những protein này mang tính đặc hiệu cho loài, do đó sự gắn kết giữa tinh trùng và màng trong suốt của noãn chỉ xảy ra ở động vật cùng loài.

Các dạng bất thường ở đầu thường gặp bất thường hình dạng và kích thước (đầu to, nhỏ, dài, nhọn, bất định hình), có không bào lớn (> 20% thể tích đầu tinh trùng) hoặc nhiều không bào, có hai đầu hoặc tập hợp các dạng khiếm khuyết trên [17].

+ **Cổ:** có tám đáy, hố cắm, tiểu thể trung tâm và 9 cột chia đoạn xếp thành hình ống. Dây trục nằm chính giữa cổ chạy suốt từ cổ đến chỗ tận cùng của đuôi. Có 9 sợi đặc nối tiếp với 9 cột chia đoạn và tiến về phía đuôi tinh trùng. Những ty thể hình que dài, xếp thành một hàng nằm ở phía bên ngoài và song song với cột chia đoạn ở đoạn trên cổ và sợi đặc ở đoạn đuôi.

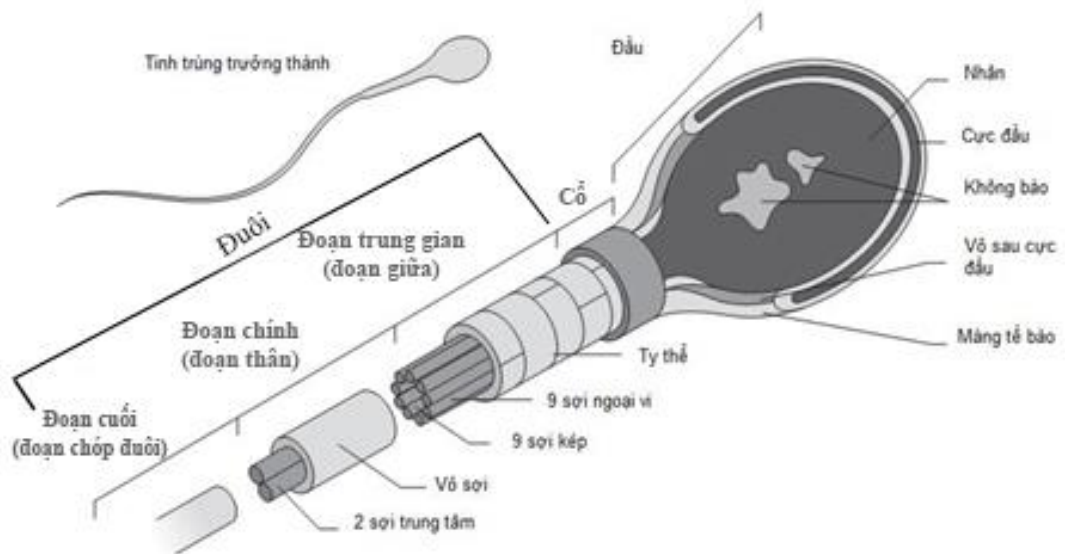
+ **Đuôi:**

- **Đoạn trung gian:** có dây trục nằm chính giữa, 9 sợi đặc bao xung quanh. Bao ty thể được cấu tạo bởi những ty thể xếp với nhau theo kiểu xoắn ốc, cuốn quanh dây trục được bọc bởi màng tế bào.
- **Đoạn chính:** từ trung tâm ra ngoài vì gồm: dây trục, 9 sợi đặc, bao xơ, màng tế bào.
- **Đoạn cuối:** cấu trúc rất đơn giản, chỉ gồm dây trục bọc ngoài bởi màng tế bào.

Bất thường cổ và đoạn trung gian bao gồm: cổ gập, lệch trục, cong, phồng to hoặc không đều, hoặc mỏng so với bình thường, không có phần cổ hoặc đoạn trung gian hoặc tổ hợp các bất thường này. Phần cổ hoặc đoạn trung gian có tế bào chất lớn hơn $1/3$ diện tích đầu tinh trùng cũng coi là bất thường.

Các khiếm khuyết về đuôi bao gồm: đuôi ngắn, gập, cuộn, chiều rộng không đều hoặc kết hợp các khiếm khuyết trên [17].

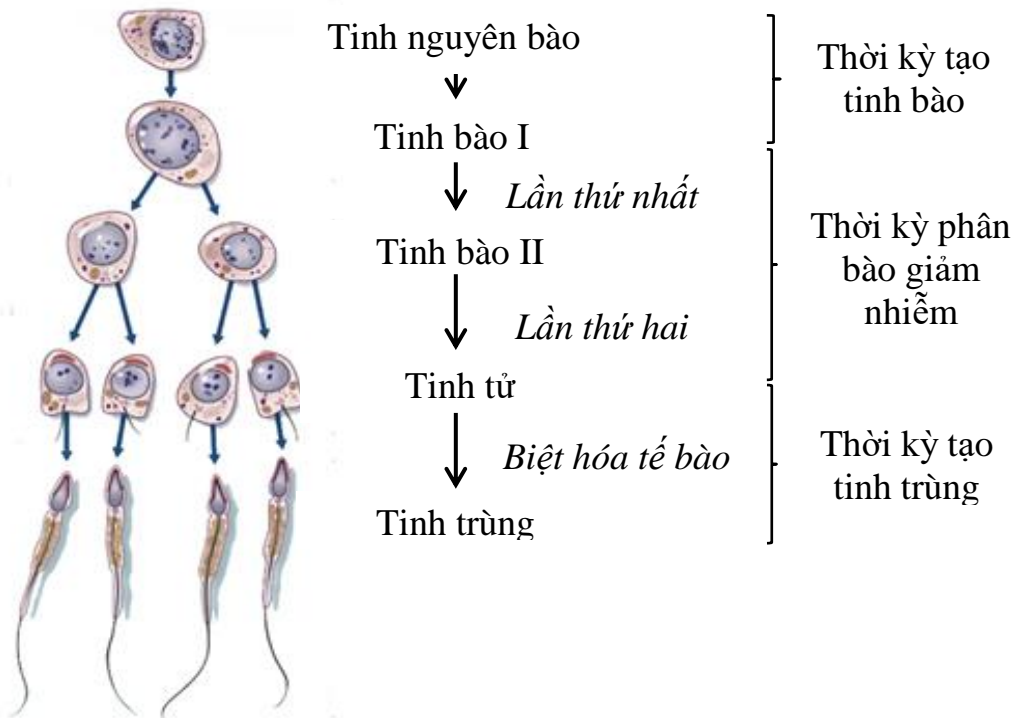
Tinh trùng được tạo ra bên trong tinh hoàn từ các ống sinh tinh nhưng sự trưởng thành của tinh trùng lại diễn ra bên ngoài tinh hoàn. Bên trong tinh hoàn tinh trùng di chuyển rất kém hoặc hầu như không di chuyển. Từ lòng ống sinh tinh tinh trùng di chuyển dọc theo các ống dẫn tinh đến mào tinh để trưởng thành hoàn toàn về mặt chức năng. Sự trưởng thành và khả năng hóa tinh trùng bên trong mào tinh rất cần thiết cho khả năng thụ tinh. Ở người, mỗi chu kỳ sinh tinh mất khoảng 64 ngày. Mỗi ngày có từ 100 đến 300 triệu tinh trùng được sinh ra. Quá trình sinh tinh xảy ra không đồng thời và không đồng bộ ở các ống sinh tinh [18], [19], chính vì vậy có thể gặp tinh trùng ở một số nơi của ống sinh tinh, trong khi đó lại gặp tinh tử ở chỗ khác.



Hình 1.5. Cấu trúc tinh trùng trưởng thành

* Nguồn: theo Hoogendijk C.F. và cs (2007) [20]

- Sơ đồ tóm tắt quá trình sinh tinh:



Hình 1.6. Sơ đồ tóm tắt sự tạo tinh trùng

* Nguồn: theo Zini A. và cs (2011) [13]

1.1.1.3. Một số hình dạng bất thường của tinh trùng người: phụ lục 2 (hình PL2.1)

1.1.2. Mô kẽ

Xen kẽ với các ống sinh tinh là mô liên kết thưa, có tác dụng đệm đỡ nuôi dưỡng. Ở đây có những tế bào liên kết, những sợi liên kết, những mạch máu nhỏ, những dây thần kinh vận mạch và cảm giác. Ngoài ra còn có những tế bào làm nhiệm vụ tiết hormon sinh dục nam gọi là tế bào kẽ hay tế bào Leydig tổng hợp và chế tiết testosterone. Những tế bào này nằm rải rác từng đám quanh các mao mạch tạo nên một tuyến nội tiết kiểu tản mát gọi là tuyến kẽ tinh hoàn.

1.2. Vô tinh (azoospermia)

1.2.1. Một số khái niệm

- Vô sinh là tình trạng cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ sau 1 năm quan hệ vợ chồng thường xuyên, không dùng các biện pháp tránh thai mà vẫn không có thai [2], [21], [22].

- Vô tinh là trường hợp không có tinh trùng trong tinh dịch, không phải xuất tinh ngược dòng. Trước đó, mẫu tinh dịch phải được ly tâm 3000 vòng/phút, trong 15 phút. Vô tinh chiếm khoảng 10% - 15% bệnh nhân vô sinh nam [23],[24], [25]. Chẩn đoán vô tinh được thực hiện sau hai lần khẳng định không có tinh trùng ở các mẫu ly tâm. Khoảng thời gian giữa 2 lần làm xét nghiệm cách nhau ít nhất 3 tuần [26].

Xét nghiệm tinh dịch là xét nghiệm đầu tiên để đánh giá bệnh nhân vô sinh nam. Bên cạnh xét nghiệm tinh dịch đồ, xét nghiệm hormon là một trong những xét nghiệm quan trọng cần phối hợp. Các xét nghiệm hormon tối thiểu bao gồm: FSH (Follicle stimulating hormone), LH (Luteinizing hormone), testosterone [27].

1.2.2. Phân loại vô tinh

Cách phân loại phổ biến nhất hiện nay là chia vô tinh làm 2 loại: vô tinh do tắc và vô tinh không do tắc [3], [7], [25], [28].

Đối với vô tinh do tắc, tinh trùng vẫn được sản sinh bình thường từ tinh hoàn nhưng không thấy trong tinh dịch do sự tắc nghẽn xảy ra ở đoạn nào đó của đường dẫn tinh ở nam giới (như tắc ở mào tinh, tắc trong tinh hoàn, tắc ở ống dẫn tinh hay tắc ở đường xuất tinh). Còn vô tinh không do tắc, việc sản xuất tinh trùng từ tinh hoàn bị suy giảm, thường liên quan đến rối loạn chức năng của trục hạ đồi - tuyến yên - tinh hoàn. Rối loạn chức năng vùng trung tâm có thể xảy ra do bất thường của vùng dưới đồi hoặc tuyến yên trong khi rối loạn chức năng tuyến sinh dục là do bất thường tinh hoàn do nhiều nguyên nhân khác nhau [3].

Cho đến nay chưa có bất kỳ chỉ tiêu nào đánh giá chính xác vô tinh do tắc hay không do tắc. Theo các tác giả, tắc là hậu quả của một số trạng thái bệnh lý, với biểu hiện kích thước tinh hoàn bình thường, cấu trúc ống sinh tinh tương đối bình thường, nồng độ FSH bình thường. Tuy nhiên, thực tế có những bệnh nhân vô tinh do tắc nhưng lại có quá trình sinh tinh không bình

thường; một số bệnh nhân vô tinh không do tắc vẫn có kích thước tinh hoàn và nồng độ FSH bình thường; hoặc có những bệnh nhân vô tinh do tắc ở bên trong tinh hoàn như tắc lưới tinh, khi chụp đường dẫn tinh không thể phát hiện được vị trí tắc. Những yếu tố có tính gợi ý cao của vô tinh không do tắc bao gồm: kích thước tinh hoàn nhỏ, nồng độ FSH bình thường hoặc tăng, nhiễm sắc thể (NST) đồ bất thường và sự hiện diện các bất thường trên nhiễm sắc thể Y [3]. Schoor R.A. và cs (2002) cũng đưa ra điểm cắt để phân loại vô tinh do tắc và không do tắc đó là dựa vào nồng độ FSH và kích thước tinh hoàn với điểm cắt của FSH 7,6 mIU/mL và điểm cắt của chiều dài tinh hoàn 4,6 cm. Nồng độ FSH $\leq 7,6$ mIU/mL và trục dài tinh hoàn $> 4,6$ cm dự đoán vô tinh do tắc trong 96% trường hợp. Ngược lại, nồng độ FSH $> 7,6$ mIU/mL và trục dài tinh hoàn $\leq 4,6$ cm dự đoán vô tinh không do tắc trong 89% trường hợp [29].

Theo Janosek-Albright K.J.C. và cs (2015), bệnh nhân vô tinh không do tắc thường có tinh hoàn nhỏ, mềm tinh mề, FSH $> 7,0$ mIU/mL [30].

1.2.3. Các nguyên nhân gây vô tinh

1.2.3.1. Vô tinh không do tắc

Đây là nhóm nguyên nhân chiếm chủ yếu trong vô sinh nam [31].

- Vô tinh do các bệnh của vùng dưới đồi - tuyến yên:

Các bệnh của vùng dưới đồi hay tuyến yên có thể là nguyên nhân làm rối loạn sự giải phóng các hormon giải phóng Gonadotropin (Gonadotropin releasing hormone - GnRH), từ đó dẫn đến tình trạng vô sinh.

+ Nguyên nhân tiên phát: bệnh nhân thường có triệu chứng như cơ quan sinh dục nhi tính, vài trường hợp suy giảm chức năng khứu giác, thính giác, mù màu, tinh hoàn ỏ (như hội chứng Kallmann). Nguyên nhân của bệnh là do rối loạn di cư của các tế bào tiết GnRH trong thời kỳ phôi thai hoặc do các tế bào này phát triển không bình thường.

+ Nguyên nhân mắc phải: do các tế bào chức năng bị tổn thương từ đó làm thiếu hụt các hormon, hoặc do sự tuần hoàn bị rối loạn từ đó dẫn đến giảm hoạt động các tế bào. Trong số các bệnh lý phổ biến nhất là bệnh u tuyến yên, di chứng sau phẫu thuật tuyến yên...

+ Các bệnh lý hệ thống nghiêm trọng hay các bệnh rối loạn dinh dưỡng mạn tính đều có thể gây ra, ví dụ: bệnh béo phì, xơ gan, suy thận mạn tính, nghiện rượu đều làm quá trình sinh tinh giảm và các biểu hiện như testosterone giảm, FSH và LH tăng.

+ Bệnh nhân tăng tiết prolactin, do tế bào α_2 ở thùy trước tuyến yên tăng tiết, dẫn đến ức chế sự tiết FSH và GnRH từ đó ức chế đến quá trình sinh tinh.

- Vô tinh do bất thường di truyền:

Theo Rucker G.B. và cs (1998), nguyên nhân của vô tinh không do tắc có tới 17% do yếu tố di truyền [32]. Người ta ước tính có khoảng 2000 gen chi phối quá trình sinh tinh. Nghiên cứu trên 20 năm tại Đại học Munster thấy có tới 4,3% các nguyên nhân di truyền được phát hiện trong các cặp vợ chồng vô sinh đến khám (trong số 26.091 bệnh nhân) và có đến 20,6% nguyên nhân di truyền được phát hiện trong các cặp vợ chồng vô sinh mà có chồng vô tinh (trong số 3252 bệnh nhân vô tinh). Các nghiên cứu khuyến cáo nên kiểm tra di truyền trên tất cả các bệnh nhân có tinh dịch đồ bất thường [27].

+ Bất thường số lượng nhiễm sắc thể:

Có đến 14% các bệnh nhân vô tinh và bệnh nhân thiếu năng tinh trùng (oligospermia) nặng có bất thường về cấu trúc và số lượng NST.

- Hội chứng Klinefelter (47, XXY): là nguyên nhân phổ biến nhất trong các bệnh nhân vô tinh, chiếm khoảng 82,5% các trường hợp bị bất thường số lượng NST giới tính, chiếm khoảng 3% các trường hợp bệnh nhân vô sinh nam và 3,5% - 14% các trường hợp bệnh nhân vô tinh [33].

- Hội chứng nam XX: xảy ra khi mảnh nhỏ của đầu xa nhất trên nhánh ngắn của NST Y nằm đâu đó trong bộ NST. Mảnh nhỏ này có thể chứa gen SRY, gen quyết định giới tính nam (testis determining gene). Do có gen SRY nên kiểu hình vẫn là nam. Ở các bệnh nhân này không có quá trình sinh tinh nên không tìm được tinh trùng.

- Hội chứng Noonan: bệnh nhân có bộ NST giới tính giống hội chứng Turner 45,XO nhưng một đoạn nhiễm sắc thể Y lại dính lên một trong các NST trong bộ NST; do đó bệnh nhân có kiểu hình là nam giới. Bệnh nhân có tinh hoàn rất nhỏ và thường lạc chỗ, lượng testosterone thấp, mô bệnh học ống sinh tinh biểu hiện ống sinh tinh teo nhỏ, mặc dù có bệnh nhân vẫn có rất ít tinh trùng trong tinh dịch.

- Một số bất thường về số lượng NST như hội chứng Down, có 3 NST 21 là nguyên nhân của bệnh nhân vô tinh và chỉ có trisomy 21 mới có thể sống sót đến tuổi dậy thì [33], [34].

+ Bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể:

- Bất thường cấu trúc NST giới tính Y:

- Khi toàn bộ nhánh ngắn của NST Y hay phần xa của nhánh này bị mất thì cơ thể mất gen SRY, từ đó dẫn đến sự phát triển của tuyến sinh dục thời kỳ phôi thai bất thường, biểu hiện của các bệnh nhân này giống hội chứng Turner, nghĩa là suy sinh dục nguyên phát.

- Khi mất đoạn dài trên NST giới tính Y thì kiểu hình vẫn là nam giới, nhưng tùy theo kích thước của đoạn mất mà quá trình sinh tinh ảnh hưởng theo các mức độ khác nhau. Nếu mất đoạn kéo dài đến dài nhiễm sắc thể điển hình (dài Y_{q11} - đây là dài chứa nhiều gen hoạt hoá) thì sẽ ảnh hưởng nghiêm trọng đến quá trình sinh tinh có thể dẫn đến vô tinh. Có tới 7% các trường hợp không có tinh trùng hoặc thiếu năng tinh trùng nặng có mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể Y. Hầu hết đoạn nhỏ này xảy ra trên nhánh dài của Y (Y_{q11}) có tên là AZF (azoospermic factor): AZFa ở đoạn gần, AZFb ở trung

tâm và AZFc ở đoạn xa, nơi chứa gen chi phối sự sinh tinh bình thường. Khi mất đoạn vùng AZFc thì bệnh nhân chỉ thiếu tinh nặng hoặc xuất tinh không có tinh trùng nhưng có tinh trùng trong tinh hoàn. Khi mất đoạn AZFa hay AZFb thì không có tinh trùng và tiên lượng tìm tinh trùng ở tinh hoàn rất kém [30]. Theo các nghiên cứu thì tỷ lệ mất AZFc cao nhất [35], [36], [37], [38].

➤ Nhiễm sắc thể Y có 2 tâm động: nhiễm sắc thể này có 2 nhánh ngắn, 2 tâm động và một phần nhỏ của đoạn gần nhánh dài. Những trường hợp này có thể tìm thấy ở một số bệnh nhân vô tinh.

➤ Ngoài những bất thường trên người ta còn nhận thấy có một số sai lệch khác về cấu trúc NST Y như:

Đảo đoạn quanh tâm: trường hợp này hầu như không ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh.

Chuyển đoạn tương hỗ giữa nhiễm sắc thể Y và nhiễm sắc thể thường: đây là trường hợp hiếm xảy ra, nhưng lại ảnh hưởng trầm trọng quá trình sinh tinh có thể dẫn đến vô tinh.

- Bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể giới tính X:

➤ Hội chứng Kallmann: hội chứng này có biểu hiện mất khứu giác và suy sinh dục do suy hạ đồi. Bệnh này do gen lặn nằm trên nhiễm sắc thể X, gen này nằm trên nhánh ngắn của X và có tên là KAL1, nếu bị đột biến, làm mất gen này sẽ gây nên hội chứng Kallmann.

➤ Sự chuyển đoạn giữa nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể thường làm quá trình sinh tinh bị ngừng trệ, gây nên không có tinh trùng hoặc thiếu năng tinh trùng. Nếu chỉ là sự đảo đoạn của nhiễm sắc thể X thì sẽ không ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh.

➤ Các chuyển đoạn giữa NST thường với NST Y hoặc X đều dẫn đến vô tinh [33].

- Bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể thường:

Các bất thường về cấu trúc nhiễm sắc thể thường có thể làm ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của nam giới, chiếm tỷ lệ 1% - 2% các vô sinh nam.

- Tật tinh hoàn ẩn:

Đây là bệnh lý tinh hoàn không xuống bìu do bất thường trong phát triển thai nhi, tinh hoàn vẫn còn nằm trong ổ bụng hoặc ở các vị trí bất thường khác, có thể 1 bên hoặc cả 2 bên. Chính vì nằm ở vị trí bất thường mà quá trình sinh tinh bị suy giảm dẫn đến vô tinh, tăng nguy cơ ung thư tinh hoàn.

- Cấu trúc và chức năng các thụ cảm thể biến đổi:

+ Do các thụ cảm thể của androgen bất thường: bệnh này biểu hiện ở nhiều mức độ, nhẹ thì biểu hiện bởi vô sinh đơn thuần, nặng thì kết hợp với các triệu chứng như lỗ tiểu lệch dưới, tinh hoàn ẩn, không tiết dịch tiền liệt tuyến.

+ Tổn thương gen qui định cấu trúc thụ cảm thể FSH: dẫn đến cấu tạo của các thụ cảm thể FSH không bình thường và không hoạt động. Biểu hiện của bệnh này là số lượng tinh trùng không có hoặc rất ít, nồng độ FSH cao.

- Nhiễm trùng:

Các bệnh viêm tinh hoàn do virus, đặc biệt là bệnh quai bị đã được biết từ lâu là một nguyên nhân gây vô sinh nam. Các bệnh này gây tổn thương các tế bào dòng tinh. Biểu mô ống sinh tinh có thể bị huỷ hoại hoàn toàn do tác động trực tiếp của nhiễm trùng, cụ thể là hiện tượng viêm, tăng nhiệt độ tại chỗ và do các phản ứng miễn dịch sau khi hàng rào máu - tinh hoàn bị phá huỷ.

Ngoài ra, một số tác nhân gây viêm khác có thể gây viêm tinh hoàn và làm tắc mào tinh như lao, hủi, các bệnh lây truyền qua đường tình dục như lậu, chlamydia.

- Phóng xạ:

Phóng xạ có tác động rất lớn đến quá trình sinh tinh. Tinh nguyên bào giai đoạn phân chia rất nhạy cảm với phóng xạ. Tinh tử và tinh trùng ít bị ảnh hưởng hơn. Tuy nhiên khi tiếp xúc với phóng xạ liều cao, tất cả các tế bào dòng tinh đều bị ảnh hưởng và có thể dẫn đến vô sinh không hồi phục. Nói chung cường độ phóng xạ càng cao thì thời gian hồi phục càng lâu, có thể

nhieu năm hoặc không hồi phục. Với liều chiếu xạ nhỏ hơn hoặc bằng 0,015 Gy (1,5 rads) có thể làm dừng quá trình sinh tinh tạm thời. Nếu liều chiếu xạ lớn hơn 6 Gy (600 rads) thì chắc chắn sẽ gây nên tình trạng không có tinh trùng không thể hồi phục; nếu quá trình sinh tinh có hồi phục thì phóng xạ có thể cũng đã gây tổn thương nhiễm sắc thể và gây bất thường ở thế hệ sau. Do đó, ở bệnh nhân xạ trị ung thư, người ta có thể trữ lạnh tinh trùng trước khi xạ trị để duy trì khả năng sinh sản của bệnh nhân.

- Các thuốc:

Nhiều loại thuốc có thể làm tổn thương quá trình sinh tinh hay tế bào Leydig hoặc cả 2 như: các thuốc alkyl hoá (cyclophosphamid), các thuốc kháng androgen (flutamide, ketoconazole, cimetidine...). Một số thuốc khác như suramin, thuốc điều trị ký sinh trùng, thuốc có thể làm cho tế bào Leydig không có khả năng tổng hợp testosterone. Ketoconazole cũng có tác dụng tương tự suramin.

Các thuốc điều trị ung thư đều ức chế mạnh quá trình sinh tinh. Hầu hết các phác đồ hoá chất điều trị ung thư đều ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh và gây tình trạng vô sinh tạm thời, trong số đó có 80% có thể hồi phục sau 5 năm. Cơ chế gây tổn thương bao gồm: tổn thương tế bào dòng tinh, rối loạn chức năng tế bào Sertoli, rối loạn tổng hợp nội tiết tố, đồng thời làm tổn thương nhiễm sắc thể ở tinh trùng, những tổn thương này có thể di truyền cho con cái.

- Các hóa chất:

Nhiễm độc một số kim loại nặng như chì, thủy ngân, muối lithium có thể gây giảm sinh tinh và gây vô tinh [39]. Một số hợp chất khác cũng gây tác dụng lớn đến quá trình sinh tinh ví dụ như Dibromodichloropropane là một chất tác động mạnh mẽ đến quá trình sinh tinh, gây không có tinh trùng ở nam giới, và chất này đã cấm sử dụng ở nhiều nơi trên thế giới.

1.2.3.2. Vô tinh do tắc

Tổn thương do tắc là một trong các nguyên nhân thường gặp trong vô sinh nam. Quá trình tắc có thể xảy ra tại nhiều vị trí khác nhau và với nhiều mức độ, có thể do bẩm sinh, có thể do mắc phải. Nếu tắc hoàn toàn 2 bên sẽ dẫn đến vô tinh, nếu tắc không hoàn toàn hay chỉ tắc ở một bên có thể dẫn đến thiếu năng tinh trùng. Để chẩn đoán có thể thông qua phân tích các thành phần trong tinh dịch [24].

- Tắc bên trong tinh hoàn:

Tắc bên trong tinh hoàn là nguyên nhân ít gặp, tỷ lệ gặp khoảng 2% trong số các bệnh nhân vô sinh do tắc. Đặc điểm của bệnh nhân nhóm này là: quá trình sinh tinh, kích thước tinh hoàn, nội tiết tố bình thường, chức năng các tế bào Sertoli, tế bào Leydig không thay đổi. Tùy theo mức độ tắc mà bệnh nhân có thể là vô tinh hay thiếu năng tinh trùng.

+ Các ống sinh tinh xoắn quá mức: tổn thương này được mô tả đầu tiên bởi Averbach P. và cs (1979), đến nay chưa rõ đây là bệnh di truyền hay mắc phải. Ống sinh tinh của các bệnh nhân này có những vị trí xoắn quá mức. Các nghiên cứu cho thấy quá trình xoắn này không bao giờ xảy ra hoàn toàn, chính vì vậy bệnh nhân luôn thể hiện là thiếu năng tinh trùng. Để chẩn đoán người ta thường sinh thiết tinh hoàn và sau đó phân tích trên hệ thống máy tính phân tích hình ảnh (Quantimet 720 image analyzing modular computing system) [40].

+ Tắc lưới tinh: được Guerin và cs mô tả lần đầu vào năm 1981. Nếu quá trình tắc xảy ra hoàn toàn thì bệnh nhân biểu hiện vô tinh. Trong các bệnh nhân này thường phát hiện kháng thể kháng tinh trùng. Một số tác giả như Hendry W.F. và cs (1983) cho rằng: nguyên nhân của tắc lưới tinh có thể do quá trình đáp ứng miễn dịch [41]. Ở các bệnh nhân này, khi bộc lộ có thể thấy mào tinh và ống dẫn tinh hoàn toàn bình thường. Quá trình sinh tinh hoàn toàn bình thường. Việc chẩn đoán hết sức khó khăn do sinh thiết vùng lưới tinh rất dễ chảy máu.

+ Tắc trong tinh hoàn còn do các nguyên nhân như không kết nối giữa lưới tinh và các ống xuất trong thời kỳ phôi thai. Nguyên nhân do mắc phải thường ít hơn do sau viêm và sau chấn thương.

- *Tắc mào tinh:*

Đây là vị trí tắc thường xảy ra. Chiếm khoảng hơn 50% các bệnh nhân vô tinh do tắc. Nhà nam học người Pháp Bayle (1952) nghiên cứu nhận thấy hơn 65% nguyên nhân tắc mào tinh là do lậu cầu. Nhưng ngày nay lậu cầu chiếm ít hơn (5%) các trường hợp vô tinh do tắc [42].

+ Không nối giữa mào tinh và ống dẫn tinh: đây là nguyên nhân không phổ biến, nhưng dễ dàng nhận ra. Tổn thương này thường xuất hiện cả 2 bên do đó bệnh nhân vô tinh. Bệnh nhân có thể được chẩn đoán chỉ bằng thăm khám bằng tay.

+ Bẩm sinh không có một phần mào tinh: đây là bệnh lý không phổ biến trong các bệnh nhân vô tinh do tắc. Tổn thương này có kết hợp với mất một phần hay toàn bộ ống dẫn tinh.

+ Tắc mào tinh: có rất nhiều nguyên nhân dẫn đến tắc mào tinh, tổn thương có thể xuất hiện tại nhiều vị trí khác nhau và có thể nhiều vị trí cùng một lúc.

- Các nguyên nhân viêm nhiễm do vi khuẩn: như lậu, lao, Escherichia coli, Pseudomonas, Streptococci, Salmonella, Chlamydia trachomatis... Các bệnh nhân này có thể có tiền sử đau, sưng bìu, sốt.

- Các nguyên nhân viêm nhiễm do virus: Smallpox, Cytomegalovirus.

- Chấn thương: đây cũng là một nguyên nhân gây tắc mào tinh sau các chấn thương vùng tinh hoàn.

+ Các nguyên nhân ảnh hưởng đến sự thông thương của mào tinh:

- Xơ hoá mào tinh: là nguyên nhân hiếm gặp.

- Bệnh Fabry: đây là bệnh bất thường về hoạt động của enzym galactosidase từ đó dẫn đến dư thừa và tích lũy triglycosylceramide và diglycosylceramide trong mô. Sự lắng đọng của các chất này có thể thấy trong tế bào Sertoli, trong lưới tinh, thành mào tinh. Chính vì vậy bệnh Fabry gây vô sinh bằng nhiều cách [43].

- Polyarteritis nodosa: bệnh viêm đa động mạch này dẫn đến tổn thương mào tinh và dẫn đến vô sinh do tắc mào tinh.

- Hội chứng Young: được mô tả năm 1970. Bệnh biểu hiện viêm phế quản và vô tinh do tắc [42]. Nguyên nhân của hội chứng này chưa rõ, nhưng một số tác giả cho rằng đó là nhiễm độc thuỷ ngân mạn tính.

- Nang mào tinh: có các nang nhỏ ở mào tinh, từ đó gây tắc mào tinh.

- Loạn dưỡng: hậu quả mào tinh được thay thế bởi mô liên kết. Nguyên nhân chưa rõ, nhưng các nghiên cứu nhận thấy loại tổn thương này thường xuất hiện ở người già.

- *Tắc ống dẫn tinh:*

Đây là nhóm nguyên nhân chiếm tỷ lệ ít hơn nhóm tắc mào tinh.

+ Không có ống dẫn tinh bẩm sinh 2 bên (congenital bilateral absence of the vas deferens - CBAVD): chiếm 1% trong các bệnh nhân vô sinh nam và là nguyên nhân thường gặp trong các bệnh nhân vô tinh do tắc [44].

Xơ hoá nang là một bệnh di truyền do gen lặn nằm trên nhiễm sắc thể thường, tần xuất của bệnh là 1/1600 ở vùng Bắc Âu. Gen xơ hoá nang (gen CFTR) nằm trên nhiễm sắc thể số 7. Gen này tổng hợp protein vận chuyển màng có tên là CFTR, đây là protein điều hoà sự sản xuất dịch nhầy của niêm mạc đường hô hấp và ống tụy. Trong xơ hoá nang bệnh nhân biểu hiện bởi các triệu chứng như nhiễm trùng hô hấp mạn tính, suy giảm chức năng ngoại tiết của tụy. Hiện nay đã tìm ra khoảng 1000 đột biến khác nhau của gen này, nhưng phổ biến nhất là gen DF508, chiếm tỷ lệ 60%. Nếu cả cha và mẹ đều có gen đột biến thì con có cặp gen đồng hợp tử lặn và biểu hiện bệnh.

Tất cả nam giới bị xơ hoá nang đều không có ống dẫn tinh bẩm sinh và vô sinh. Các rối loạn này di truyền cho con do đó bệnh nhân cần được kiểm soát và xét nghiệm trước khi làm các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

+ Viêm nhiễm ống dẫn tinh: đây là nguyên nhân lớn gây tắc ống dẫn tinh. Tất cả các tác nhân gây viêm mào tinh đều có thể là nguyên nhân của nhóm này.

+ Tổn thương sau phẫu thuật: thường xuất hiện sau phẫu thuật thoát vị bẹn ở trẻ em và thường biểu hiện là thiếu năng tinh trùng.

+ Sau chấn thương.

+ Sau triệt sản.

- *Tắc ống phóng tinh:*

Tắc ống phóng tinh là nguyên nhân không phổ biến, chiếm khoảng 2% các trường hợp bệnh nhân vô tinh do tắc. Nguyên nhân này có thể do bẩm sinh hay mắc phải. Biểu hiện của bệnh này là giảm thể tích tinh dịch.

+ Tắc ống phóng tinh bẩm sinh: những trường hợp này thường có sự hẹp tắc ở toàn bộ ống phóng tinh hoặc tắc do nang (thường có nguồn gốc bẩm sinh do sự tồn tại các nang ống Muller).

+ Tắc ống phóng tinh do mắc phải: thường xuất hiện ở các bệnh nhân sau viêm như viêm tuyến tiền liệt hoặc ở các bệnh nhân sau trải qua các phẫu thuật về niệu đạo đặc biệt niệu đạo tiền liệt tuyến, các bệnh nhân thường đặt sonde tiểu, các bệnh nhân u xơ tiền liệt tuyến, sau bệnh lậu.

Tuy nhiên, ở một số trường hợp có thể bị tắc ở nhiều vị trí khác nhau, có thể tắc hoàn toàn hoặc không hoàn toàn, có thể tắc một bên hay cả 2 bên. Vì vậy bệnh nhân có thể bị thiếu năng tinh trùng hay vô tinh.

- *Tắc chức năng:*

Bên cạnh tắc cơ học, tắc chức năng có thể xuất hiện do tổn thương thần kinh hay do một số thuốc làm mất khả năng co thắt cơ ống dẫn tinh như bị tổn thương thần kinh do nạo hạch sau phúc mạc trong điều trị ung thư tinh hoàn gây ra.

1.3. Một số kỹ thuật thu tinh trùng ở bệnh nhân vô tinh

Lần đầu tiên, năm 1994 Tournaye thực hiện thành công trường hợp ICSI với tinh trùng thu được từ chọc hút mào tinh, từ đó đến nay có rất nhiều các phương pháp khác nhau nhằm thu tinh trùng cho các bệnh nhân vô tinh. Mỗi phương pháp có những ưu và nhược điểm khác nhau.

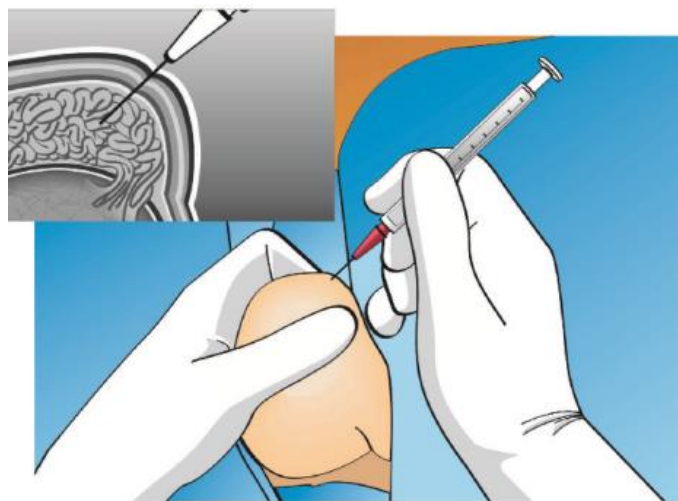
1.3.1. Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da (*Percutaneous epididymal sperm aspiration – PESA*)

- *Chỉ định*: Không có tinh trùng do tắc

- *Kỹ thuật*: Gây tê thường tinh và tại chỗ bằng Lidocain 2%. Sử dụng bơm tiêm 1mL có sẵn 0,1mL môi trường, kim số 26 Gauge. Dùng ngón cái và ngón trỏ cố định mào tinh. Chọc kim vuông góc với mào tinh, hút mạnh, vừa hút vừa rút kim tiêm ra (hình 1.7). Tìm tinh trùng trong dịch thu được dưới kính hiển vi. Có thể làm lặp lại ở vị trí khác cho đến khi lấy đủ số lượng tinh trùng.

- *Biến chứng*: Sung và đau vùng bìu, thường nhẹ và tự khỏi sau vài ngày. Tụ máu bìu hoặc tụ máu mào tinh đặc biệt khi chọc vào đuôi mào tinh.

- *Ưu điểm*: Phương pháp đơn giản, không đòi hỏi kỹ thuật, dụng cụ vi phẫu. Kết quả thành công cao. Ít nguy cơ teo tinh hoàn [45], [46], [47].



Hình 1.7. Kỹ thuật chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da

* Nguồn: theo Esteves S.C. và cs (2013) [47]

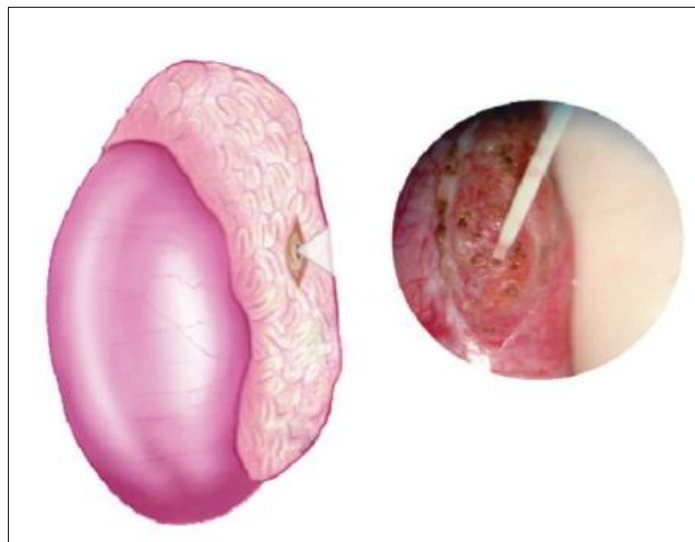
1.3.2. Vi phẫu thuật mào tinh hoàn thu tinh trùng (*Microsurgical epididymal sperm aspiration – MESA*)

- *Chỉ định:* Không có tinh trùng do tắc.

- *Kỹ thuật:* Gây tê thừng tinh và tại chỗ bằng Lidocain 2%. Dùng tay cố định tinh hoàn sau đó rạch da đường giữa bìu khoảng 2 đến 3 cm. Mở bao tinh mạc của tinh hoàn và mào tinh để bộc lộ mào tinh. Tìm vị trí mào tinh giãn và dùng dao vi phẫu rạch mở hút dịch. Soi tìm tinh trùng dưới kính hiển vi dịch thu được từ mào tinh (hình 1.8).

- *Biến chứng:* Tụ máu, nhiễm trùng, sưng đau tinh hoàn.

- *Ưu điểm:* Tỷ lệ tìm thấy tinh trùng cao hơn, ít làm tổn thương mào tinh hơn so với phương pháp PESA nhưng đòi hỏi cần dụng cụ vi phẫu, kính phẫu thuật cũng như kỹ thuật phức tạp và thời gian tiến hành lâu hơn PESA nên ít được áp dụng [45], [47], [48].



Hình 1.8. Vi phẫu thuật mào tinh hoàn thu tinh trùng

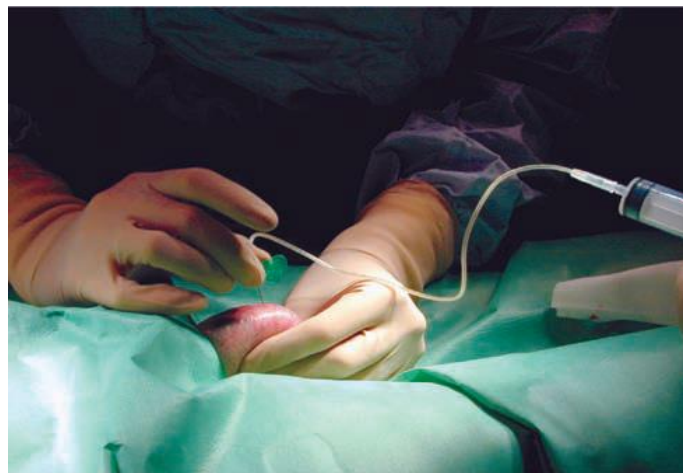
* *Nguồn:* theo Esteves S.C. và cs (2013) [47]

1.3.3. Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ (*Testicular fine needle aspiration – TEFNA*)

- *Chỉ định:* Không có tinh trùng do tắc hoặc không do tắc.

- *Kỹ thuật:* Gây tê thường tinh và tại chỗ bằng Lidocain 2%. Cố định tinh hoàn bằng ngón cái và ngón trỏ, bóp và đẩy tinh hoàn làm căng da bìu lên. Dùng bơm tiêm 10mL, kim 23 Gauge có chứa sẵn môi trường chọc kim vuông góc với tinh hoàn, nhẹ nhàng di chuyển trong mô tinh hoàn (khoảng 10 lượt) sau đó hút mạnh để hút được mô tinh hoàn. Trước khi rút bơm tiêm cần giữ áp lực âm trong bơm tiêm để mô tinh hoàn không bị đẩy ra ngoài (hình 1.9). Có thể chọc 20 - 30 lần với độ sâu từ 8 đến 12 mm. Kèm theo có thể lập bản đồ tinh hoàn. Tùy theo kích thước tinh hoàn có thể tạo 4 đến 9 điểm. Nếu vị trí đánh dấu có tinh trùng sẽ tiến hành sinh thiết tại điểm đó. Bơm mô tinh hoàn vào đĩa Petri, dùng kim xé mẫu mô và tìm tinh trùng dưới kính hiển vi.

- *Biến chứng:* Nguy cơ nhiễm trùng, tụ máu, đau tinh hoàn sau thủ thuật, xơ hóa rộng nhu mô gây giảm chức năng tinh hoàn và teo tinh hoàn [45], [47].



Hình 1.9. Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ

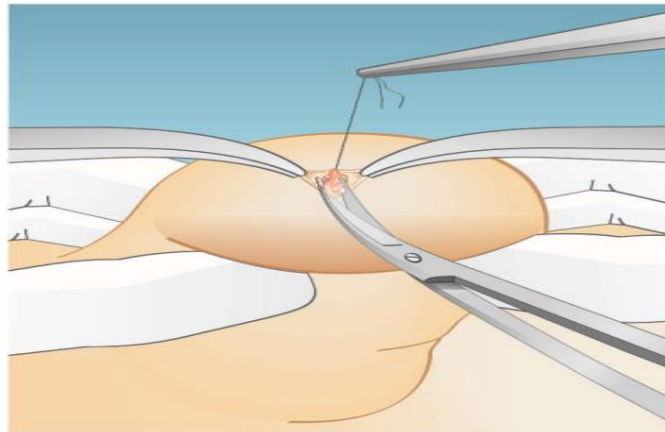
* *Nguồn:* theo Tournaye H. và cs (2009) [45]

1.3.4. Phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (Testicular sperm extraction – TESE)

- *Chỉ định:* Không có tinh trùng trong mào tinh hoặc không có mào tinh.

- *Kỹ thuật:* Gây tê thừng tinh và tại chỗ bằng Lidocain 2%. Dùng đầu dao rạch da bìu 1 – 2 cm. Mở bao trắng của tinh hoàn nơi không có mạch máu. Bóp nhẹ tinh hoàn để nhu mô tinh hoàn lòi ra ngoài. Dùng kéo phẫu tích một ít mô tinh hoàn cho vào đĩa Petri có sẵn 1mL môi trường nuôi cấy, sau đó xé mô tinh hoàn tìm tinh trùng dưới kính hiển vi. Có thể lấy một hoặc một số vị trí. Mỗi mảnh cắt khoảng 5x5 mm (hình 1.10).

- *Biến chứng:* Tụ máu, nhiễm trùng, teo tinh hoàn [45], [47].



Hình 1.10. Phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng

* Nguồn: theo Esteves S.C. và cs (2013) [47]

1.3.5. Vi phẫu thuật tinh hoàn thu tinh trùng (Microdissection testicular sperm extraction - micro TESE)

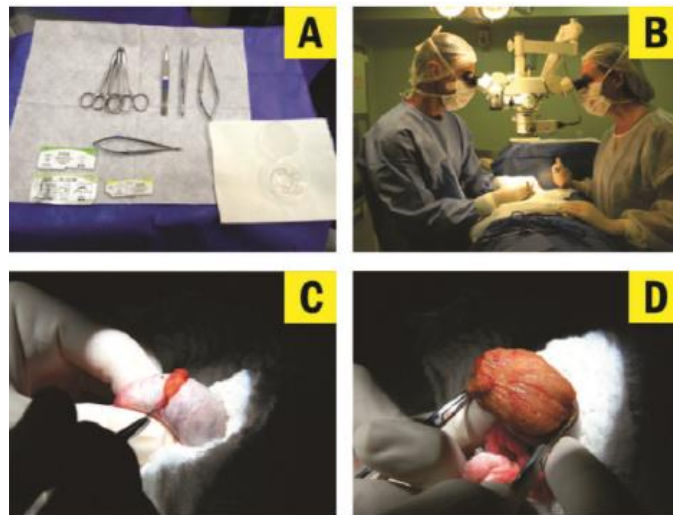
- *Chỉ định:* Không có tinh trùng không do tắc.

- *Kỹ thuật:* Gây tê thừng tinh và tại chỗ bằng Lidocain 2%. Sử dụng kính hiển vi phẫu để nhìn rõ các cấu trúc. Rạch theo đường xích đạo cắt đôi tinh hoàn để không làm ảnh hưởng đến việc cung cấp máu sau này đến tinh hoàn. Bộc lộ tinh hoàn. Dùng dao vi phẫu rạch rộng màng trắng tinh hoàn khoảng 5 – 10 mm ở vùng không mạch máu. Tay không thuận của phẫu thuật viên giữ mô tinh hoàn đã được lộn ra và tay thuận dùng kéo vi phẫu cắt cẩn

thận các ống sinh tinh dưới kính hiển vi. Dùng dao điện lưỡng cực để cầm máu. Bơm rửa phẫu trường bằng nước muối sinh lý để nhìn rõ các mạch máu và các ống sinh tinh. Việc sử dụng kính có độ phóng đại lớn (15 - 20 lần) giúp xác định và bảo tồn các mạch máu dưới bao cũng như trong tinh hoàn. Các vùng nhu mô tinh hoàn có nhiều mạch máu có màu xanh hay màu đỏ dưới kính hiển vi. Các ống chứa tinh trùng có đường kính rộng hơn và có màu đục hơn so với các ống chỉ có tế bào Sertoli.

Các mẫu mô được cắt ra, đặt trong môi trường nuôi cấy và được kiểm tra có tinh trùng hay không (hình 1.11). Nếu không tìm thấy tinh trùng, tiến hành sinh thiết tinh hoàn còn lại. Sau khi tìm thấy tinh trùng, tiến hành khâu lớp bao trắng tinh hoàn, lớp tinh mạc và khâu da bằng mũi rời, chỉ 5-0 [47], [49], [50].

Theo Janosek-Albright K.J.C. và cs (2015), nên phẫu thuật ở tinh hoàn có kích thước lớn hơn. Nếu 2 tinh hoàn có kích thước bằng nhau nên phẫu thuật ở tinh hoàn bên phải [30].



Hình 1.11. Kỹ thuật micro TESE

(A): Bộ dụng cụ vi phẫu; (B): Kính hiển vi được sử dụng trong suốt quá trình phẫu thuật; (C): Rạch ngang qua màng trắng tinh hoàn sau khi đã rạch da bìu; (D): Bộc lộ rộng nhu mô tinh hoàn tìm các ống sinh tinh có khả năng có tinh trùng.

* Nguồn: theo Esteves S.C. và cs (2013) [47]

1.4. Các nghiên cứu về micro TESE trên thế giới và ở Việt Nam

1.4.1. Nghiên cứu về micro TESE trên thế giới

Schlegel P.N. (1999) là người đầu tiên tiến hành phương pháp micro TESE với kính hiển vi có độ phóng đại từ 6 - 8 lần, mục đích tránh các mạch máu khi mở rộng màng trắng tinh hoàn. Đây là phương pháp tiến hành TESE ở nhiều vị trí có sử dụng kính vi phẫu. Sau đó độ phóng đại được áp dụng từ 15 - 20 lần nhằm nhìn rõ các ống sinh tinh. Micro TESE đã mang lại khả năng thu tinh trùng từ tinh hoàn cao (63%), bên cạnh đó còn giảm tổn thương, giảm ảnh hưởng đến chức năng tinh hoàn và hiện nay được nghiên cứu, áp dụng tại nhiều trung tâm trên thế giới [49]. Hầu hết các nghiên cứu đều cho rằng đây là phương pháp thu tinh trùng hiệu quả hơn hẳn so với các phương pháp thu tinh trùng thông thường trên những bệnh nhân vô tinh không do tắc. Tỷ lệ thu được tinh trùng cao kể cả ở những trường hợp trước đó đã từng thất bại với các phương pháp thu tinh trùng khác. Ngoài ra, micro TESE không gây biến chứng và ít ảnh hưởng đến chức năng của tinh hoàn sau phẫu thuật.

Theo Ramasamy R. và cs (2005), nghiên cứu tại Weill Cornell Medical Center, quy trình micro TESE tương đối an toàn hơn so với kỹ thuật TESE và cải thiện đáng kể tốc độ lấy tinh trùng ở bệnh nhân vô tinh không do tắc (57% so với 32%, $p = 0,0002$). Kết quả siêu âm cho thấy những thay đổi cấp tính và mãn tính sau phẫu thuật ở nhóm micro TESE ít hơn so với nhóm TESE ($p < 0,05$) [51].

Ramasamy R. và cs (2007) nghiên cứu trên 311 bệnh nhân vô tinh không do tắc được thực hiện micro TESE thấy tỷ lệ thu được tinh trùng là 48%. Tỷ lệ tìm thấy tinh trùng ở bệnh nhân chưa sinh thiết lần nào (56%) sẽ cao hơn bệnh nhân đã sinh thiết 1 - 2 lần trước đó (51%) hoặc 3 - 4 lần (23%) ($p = 0,04$). Micro TESE được xem là cứu cánh trong các trường hợp vô tinh không do tắc thất bại trước đó với phương pháp TESE cổ điển [52].

Theo Colpi G.M. và cs (2009), microTESE có hiệu quả thu tinh trùng cao hơn đáng kể so với TESE ở bệnh nhân vô tinh không do tắc, đặc biệt là ở người bệnh có tiên lượng xấu. Cho đến nay, không có yếu tố nào có thể dự đoán việc thu tinh trùng ở bệnh nhân vô tinh không do tắc và microTESE là sự lựa chọn cho những bệnh nhân này, nhất là ở những trường hợp có nồng độ FSH cao [53].

Esteves S.C. và cs (2011) cho thấy khả năng thu tinh trùng của micro TESE cao hơn so với một hoặc nhiều sinh thiết ngẫu nhiên. Hơn nữa, micro TESE ít ảnh hưởng đến chức năng tinh hoàn do ít ảnh hưởng tới mạch máu và lấy một lượng mô ít hơn. Cho đến nay, không có yếu tố nào có khả năng dự đoán chính xác khả năng thu tinh trùng của các phương pháp, tỷ lệ thu tinh trùng dường như phụ thuộc vào các kỹ thuật [54].

Ghalayini I.F. và cs (2011) thấy micro TESE có khả năng thu tinh trùng cao hơn so với TESE thông thường (56,9% so với 38,2%, $p = 0,03$) và micro TESE nên được lựa chọn thay thế TESE thông thường bởi tỷ lệ thu tinh trùng cao và ít xảy ra biến chứng. Kỹ thuật này được khuyến khích đặc biệt trong trường hợp tinh hoàn bị teo, nồng độ FSH cao hoặc ở hội chứng chỉ có tế bào Sertoli (Sertoli cell only syndrome - SCOS) có nồng độ FSH cao [55].

Kalsi J. và cs (2011) tiến hành micro TESE cho các bệnh nhân vô tinh không do tắc. Các bệnh nhân được phân thành các nhóm theo mô bệnh học là hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, dừng sinh tinh nửa chừng (Maturation arrest - MA), giảm sinh tinh (Hypospermatogenesis - HS) thấy tỷ lệ thu tinh trùng của các nhóm là 42,85%, 26,60% và 75,86%. Tỷ lệ thu tinh trùng tổng thể là 50%. Nghiên cứu nhận thấy nồng độ FSH không có giá trị tiên lượng khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE [9].

Dabaja A.A. và cs (2013) cho rằng micro TESE là phương pháp thu tinh trùng ít xâm lấn, an toàn, tỷ lệ thu tinh trùng cao và chức năng tinh hoàn không thay đổi sau phẫu thuật. Nguyên nhân vô tinh không do tắc có đến 17%

do gen hay nhiễm sắc thể. Trong nghiên cứu này, micro TESE được thực hiện dưới kính vi phẫu có độ phóng đại 15 - 20 lần. Thời gian cho một ca micro TESE khoảng 1,8 giờ. Tác giả cũng khuyến cáo nên dùng các enzym để xử lý mẫu mô tinh hoàn thu được giúp tăng cơ hội thu tinh trùng từ mẫu mô [56].

Bernie A.M. và cs (2013) nghiên cứu mối liên quan giữa tuổi, nồng độ FSH, thể tích tinh hoàn, một số gen, hội chứng Klinefelter, tiền sử giãn tĩnh mạch thừng tinh, tinh hoàn lạc chỗ, đặc điểm mô bệnh học, đường kính ống sinh tinh với khả năng thu tinh trùng của micro TESE thấy không có một yếu tố riêng lẻ nào đánh giá được khả năng thu tinh trùng của phương pháp, vì vậy cần kết hợp tất cả các yếu tố để tiên lượng. Tỷ lệ thu được tinh trùng trong nghiên cứu là 60% [57].

Bryson C.F. và cs (2014) nghiên cứu mối liên hệ giữa thể tích tinh hoàn và sự thành công của micro TESE trên 1127 bệnh nhân vô tinh không do tắc từ 1999 - 2011. Trong nghiên cứu, chia thể tích tinh hoàn thành ba nhóm: < 2mL, 2 – 10mL và > 10mL. Ở mỗi mẫu lấy 1 - 3 mg mô tinh hoàn. Kết quả cho thấy thể tích tinh hoàn ở nhóm có hay không có tinh trùng không có sự khác biệt. 106 bệnh nhân có thể tích tinh hoàn < 2mL vẫn thu được tinh trùng. Thể tích tinh hoàn của các bệnh nhân thu được tinh trùng nằm trong khoảng 1 – 25mL. Bệnh nhân trẻ tuổi cho kết quả thành công cao hơn bệnh nhân cao tuổi. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy micro TESE là phương pháp thu tinh trùng rất tốt đối với bệnh nhân vô tinh không do tắc. Tỷ lệ thu được tinh trùng là 56% [58].

Theo Deruyver Y. và cs (2014), so với TESE thông thường, thì micro TESE cho tỷ lệ thu tinh trùng cao hơn (dao động từ 42,9 - 63% so với TESE là 16,7% - 45%). Tỷ lệ biến chứng của micro TESE thấp hơn, ít tụ máu, ít xơ hóa tinh hoàn và teo tinh hoàn [59]. Bernie A.M. và cs (2015) nghiên cứu một phân tích gộp 15 nghiên cứu với tổng 1.890 bệnh nhân nhằm so sánh hiệu quả thu tinh trùng của micro TESE với TESE thông thường thấy micro TESE có

khả năng thu tinh trùng cao hơn 1,5 lần (52% và 35% với CI 95%: 1,4 - 1,6) [60]. Tương tự theo Flannigan R. và cs (2017), microTESE được coi là tiêu chuẩn vàng để thu tinh trùng với hiệu quả gấp 1,5 lần so với TESE thông thường; FSH tăng, thể tích tinh hoàn nhỏ không tiên lượng bất lợi cho việc thu tinh trùng của micro TESE [3].

Eken A. và cs (2017) nghiên cứu 145 trường hợp vô tinh không do tắc được làm micro TESE từ 3/2013 đến 11/2016, tỷ lệ thu tinh trùng 65,5%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi, thể tích tinh hoàn, nồng độ hormon ở nhóm thu được tinh trùng và không thu được tinh trùng. Có 4 trong 7 trường hợp Klinefelter tìm được tinh trùng. Một trường hợp nhiễm trùng tại vị trí vết mổ. Theo các tác giả, micro TESE là một quy trình an toàn giúp cho những trường hợp vô tinh không do tắc có cơ hội làm cha [61].

1.4.2. Nghiên cứu về micro TESE tại Việt Nam

Do micro TESE là kỹ thuật mới được triển khai tại Việt Nam, là kỹ thuật đòi hỏi trang thiết bị hiện đại và kinh nghiệm của bác sỹ, chuyên gia lâu năm trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản đặc biệt là nam khoa nên tại Việt Nam mới có một vài nghiên cứu được công bố với cỡ mẫu còn rất nhỏ nhưng bước đầu cho kết quả khích lệ về hiệu quả của phương pháp micro TESE đối với những bệnh nhân vô tinh không do tắc.

Nguyễn Thành Như (2010) nghiên cứu trên 8 bệnh nhân vô tinh không do tắc tại bệnh viện Bình Dân thời gian từ 01/03/2010 đến 10/06/2010. Bệnh nhân được gây tê tùy sống và được phẫu thuật dưới kính lúp phóng đại 3x5 lần. Kết quả sinh thiết tinh hoàn trước mổ của bệnh nhân là: 4 trường hợp (50%) dừng sinh tinh nửa chừng, 3 trường hợp (37,5%) hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, 1 trường hợp (12,5%) thoái hóa hyalin. Tuổi trung bình của bệnh nhân là $37,5 \pm 1,7$ (31 - 46). Kết quả tìm thấy tinh trùng trưởng thành trong 1/8 trường hợp (12,5%). Bệnh nhân này trước đó được chẩn đoán mô bệnh học là thoái hóa hyalin và đặc điểm tinh hoàn trên đại thể thấy toàn bộ mô xơ

trắng nhạt, chỉ có vài điểm có mô màu vàng tươi với các ống sinh tinh giãn to, tìm được tinh trùng trưởng thành bên trong. Khoảng cách trung bình giữa hai lần sinh thiết là $31,8 \pm 3,6$ tháng (24 - 48 tháng). Không gặp trường hợp nào sau mổ bị biến chứng tụ máu bìu, nhiễm trùng vết mổ [62].

Huỳnh Thị Thu Thảo và cs (2015) nghiên cứu đánh giá kết quả thực hiện ICSI kết hợp micro TESE trên 21 cặp vợ chồng vô sinh vì chồng vô tinh không do tắc tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản bệnh viện Hạnh Phúc từ 1/2013 đến 7/2014. Bệnh nhân được gây tê tủy sống thực hiện micro TESE cùng ngày vợ chọc hút noãn. Kết quả: tỷ lệ thu được tinh trùng là 71,4% (15/21). Tỷ lệ có thai/chuyển phôi tươi là 62,5% (5/8), tỷ lệ có thai cộng dồn là 76,9% (10/13), tỷ lệ sinh sống là 62,5% (5/8). Tỷ lệ làm tổ là 37,1% (13/35) [63].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: là các bệnh nhân nam không có tinh trùng trong tinh dịch không do tắc.

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân: là những người không có tinh trùng trong tinh dịch được xác định theo tiêu chuẩn của Tổ chức y tế Thế giới (World Health Organization - WHO), năm 2010 [17]. Bệnh nhân được làm PESA hoặc MESA để loại trừ các trường hợp vô tinh do tắc.

- Tiêu chuẩn loại trừ: là các bệnh nhân xuất tinh ngược dòng; bệnh nhân có các bệnh cấp tính, nhiễm HIV, viêm gan virus, bệnh lây truyền qua đường tình dục, có bệnh nội tiết hoặc đang dùng các thuốc, hoá chất ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh; đặc biệt loại trừ các trường hợp suy sinh dục thứ phát.

2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 8 năm 2016 đến tháng 10 năm 2018 tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y và khoa Hình thái Viện 69, Bộ Tư lệnh Bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

- Sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả tiền cứu. Các thông tin được thu thập theo mẫu nghiên cứu có sẵn (phụ lục 1).

- Các bước thực hiện:

+ Chọn các bệnh nhân vô tinh trong tổng số bệnh nhân nam đến khám vô sinh. Dựa vào hỏi bệnh, khám lâm sàng, xét nghiệm nước tiểu, xét nghiệm hormon (FSH, LH, Testosterone), xét nghiệm HIV, viêm gan virus, giang mai để loại trừ các bệnh nhân không thuộc nhóm nghiên cứu.

- Từ các bệnh nhân vô tình chọn các bệnh nhân vô tình không do tác động qua phương pháp PESA và MESA.

- Các bệnh nhân vô tình không do tác động thực hiện micro TESE. Sử dụng Collagenase type IA để ly giải mẫu mô tinh hoàn thu được [56] và xác định xem mẫu có tinh trùng hay không. Nếu tìm thấy tinh trùng trong mẫu thì đánh giá mật độ, độ di động, tỷ lệ sống chết và hình thái cấu trúc tinh trùng, hình thái cấu trúc ống sinh tinh. Nếu không thấy tinh trùng trong mẫu mô tinh hoàn đó thì tiến hành đánh giá hình thái cấu trúc ống sinh tinh.

2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

Sử dụng công thức tính cỡ mẫu nhằm ước lượng một tỷ lệ của nghiên cứu mô tả:

$$n = Z_{1-\alpha/2} \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

n: là cỡ mẫu tối thiểu cần thiết, đủ lớn và đủ độ tin cậy.

p: tỷ lệ ước đoán của quần thể. Căn cứ trên các tài liệu của thế giới và Việt Nam, tỷ lệ thu được tinh trùng từ các bệnh nhân vô tình không do tác động từ 48,0% - 71,4% [52], [63]. Do đó, trong nghiên cứu này chọn tỷ lệ thu được tinh trùng là 50% để cỡ mẫu đạt được là lớn nhất $\rightarrow p = 0,5$.

d: Độ chính xác tuyệt đối mong muốn. Vì khoảng dao động của tỷ lệ thu được tinh trùng ở những bệnh nhân vô tình không do tác động lớn, do vậy sai số dự kiến của nghiên cứu này là 10% so với tỷ lệ thật $\rightarrow d = 0,1$.

α : Mức ý nghĩa; $Z_{1-\alpha/2}$ là giá trị tới hạn của phân phối chuẩn.

Với $\alpha = 0,05$ ứng với độ tin cậy 95% thì $Z_{1-\alpha/2}$ bằng 1,96.

Thay số vào công thức tính cỡ mẫu, tính được cỡ mẫu tối thiểu cần thiết cho nghiên cứu là 97 người bệnh vô tình không do tác động. Trong nghiên cứu này lấy tròn là 100 người bệnh.

2.2.3. Các biến số, chỉ số nghiên cứu

2.2.3.1. Các biến về đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

- Tuổi: tính theo năm dương lịch.
- Nghề nghiệp: chia theo các nhóm: công nhân, viên chức; tự do, kinh doanh; làm ruộng; bộ đội; học sinh, sinh viên.
- Thời gian vô sinh: tính bằng năm.
- Loại vô sinh: nguyên phát (chưa từng có thai lần nào - vô sinh I) hay thứ phát (đã từng có thai - vô sinh II).
- Tiền sử bệnh và thói quen: bệnh nội khoa, quai bị, viêm đường sinh dục, giãn tĩnh mạch tinh, tinh hoàn lạc chỗ, phẫu thuật đường sinh dục, hút thuốc, uống rượu.

2.2.3.2. Các biến về đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của đối tượng nghiên cứu

- Thể tích tinh hoàn: được ước lượng bằng thước đo thể tích tinh hoàn Prader, đơn vị tính bằng mL.
- Nồng độ các hormon: FSH (mIU/mL), LH (mIU/mL), Testosterone (ng/mL).
- Các dạng bất thường gen AZF: bất thường AZFa, AZFb, AZFc và bất thường phối hợp.

2.2.3.3. Kết quả của kỹ thuật micro TESE

- Tỷ lệ thu được tinh trùng
- Mật độ, độ di động, tỷ lệ sống chết của tinh trùng
- Hình thái tinh trùng trên lam nhuộm Papanicolaou
- + Tỷ lệ tinh trùng bình thường và kích thước của tinh trùng (chiều dài tinh trùng, chiều dài đầu, chiều rộng đầu, chiều dài cổ và đoạn trung gian, chiều dài đuôi tinh trùng).
- + Tỷ lệ tinh trùng bất thường, tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu, bất thường cổ và đoạn trung gian, bất thường đuôi, bào tương còn dư và bất thường phối hợp.

- Hình thái siêu cấu trúc tinh trùng.
- Hình thái cấu trúc và siêu cấu trúc ống sinh tinh:
 - + Cấu trúc ống sinh tinh: định tính mức độ thoái hóa, độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh, đường kính ống sinh tinh, điểm Johsen, mật độ từng loại tế bào.
 - + Siêu cấu trúc ống sinh tinh: lớp vỏ xơ ống sinh tinh, các tế bào dòng tinh và các tế bào Sertoli.

2.2.4. Các thăm khám và kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu

2.2.4.1. Khám lâm sàng

- Quan sát sẹo mổ vùng bẹn, đùi.
- Khám tinh hoàn: xác định vị trí, mật độ, thể tích.

Thể tích tinh hoàn được ước lượng dựa trên thước đo thể tích tinh hoàn Prader, đơn vị tính bằng mL. Thước đo thể tích tinh hoàn Prader được sáng chế từ năm 1966. Thước là một chuỗi bao gồm 12 hạt được đánh số từ 1-6, 8, 10, 12, 15, 20 và 25mL. Khi khám căng da bìu tinh hoàn, so sánh kích thước tinh hoàn tương ứng với kích thước hạt trên thước đo. Thể tích tinh hoàn được tính bằng thể tích của hạt tương ứng đó [64].



Hình 2.1. Thước Prader đo thể tích tinh hoàn



Hình 2.2. Đo thể tích tinh hoàn bằng thước Prader
Thể tích tinh hoàn 25mL
(tương ứng trên thước đo là số 25)

* Nguồn: theo Dagli P. và cs (2014) [64]

- Khám thừng tinh: có sờ thấy ống dẫn tinh không, có giãn tĩnh mạch tinh không.

2.2.4.2. Xét nghiệm tinh dịch đồ

Xét nghiệm tinh dịch đồ theo hướng dẫn của WHO (2010) [17]

- Tinh dịch được lấy bằng tay và đựng vào lọ nhựa trung tính vô trùng do phòng xét nghiệm cung cấp và được lấy tại phòng lấy tinh dịch. Trên thành lọ nhựa có ghi tên, tuổi bệnh nhân. Không dùng bao cao su để lấy tinh dịch.

- Thời gian kiêng xuất tinh tối thiểu là 2 ngày và tối đa là 7 ngày. Trường hợp cần kiểm tra lại thì số ngày kiêng của hai lần giống nhau. Tất cả các mẫu được thực hiện trong vòng 1 giờ sau khi lấy mẫu. Bệnh nhân nắm rõ thông tin về cách lấy mẫu, thu thập toàn bộ mẫu và phải thông báo cho nhân viên y tế nếu có làm rơi vãi.

- Sau khi mẫu tinh dịch ly giải, sử dụng kính hiển vi ở vật kính 10x và 40x để phân tích, xác định các thông số của mẫu. Nếu không thấy tinh trùng trong mẫu tinh dịch, tinh dịch sẽ được ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 15 phút. Khảo sát hệ thống toàn bộ cận ly tâm không thấy tinh trùng thì mẫu đó mới kết luận không có tinh trùng trong tinh dịch. Bên cạnh đó kiểm tra nước tiểu bệnh nhân xem có tinh trùng không để loại trừ trường hợp xuất tinh ngược dòng do rối loạn phóng tinh. Hẹn bệnh nhân làm lại xét nghiệm tinh dịch đồ sau 3 tháng với số ngày kiêng xuất tinh giống như làm tinh dịch đồ lần 1. Sau 2 lần xét nghiệm không tìm thấy tinh trùng trong cận ly tâm thì bệnh nhân được chẩn đoán là vô tinh.

2.2.4.3. Xét nghiệm hormon

Máu ngoại vi của tất cả các bệnh nhân vô tinh được xét nghiệm trên máy bằng hệ thống tự động Elecsys 2010 của hãng Roche dựa trên nguyên lý Sandwich (Sandwich principle) và kỹ thuật điện hóa phát quang. Bao gồm các bước sau:

- Mẫu xét nghiệm là huyết thanh hoặc huyết tương.

- Số lượng máu cần lấy: lấy 3mL cho vào ống nghiệm có chất chống đông nếu là mẫu huyết tương hoặc cho vào ống nghiệm không có chất chống đông nếu là mẫu huyết thanh.

- Ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong khoảng 10 - 15 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Hút lấy huyết thanh hoặc huyết tương số lượng khoảng 400 - 600 μ L cho vào bộ phận nhận mẫu của máy Elecsys 2010.

- Khai báo thông số mẫu xét nghiệm.

Tiến hành chạy máy tự động xác định nồng độ FSH, LH, Testosterone.

2.2.4.4. Kỹ thuật lấy mẫu trong nghiên cứu

- Trang thiết bị:

+ Kính vi phẫu Carl Zeiss Meditec AG – Germany

+ Bàn phẫu thuật chuyên dụng

+ Bộ dụng cụ vi phẫu thuật

+ Monitor theo dõi mạch, huyết áp bệnh nhân

+ Tủ CO₂ Thermo Forma – USA

+ Máy ly tâm Eppendorf 5702 – Germany

+ Kính phân tích tinh trùng tự động Olympus – Japan



Hình 2.3. Kính vi phẫu Carl Zeiss Meditec AG – Germany
tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội

- Các bước thực hiện kỹ thuật:

+ Bệnh nhân tư thế nằm ngửa, sát trùng rộng vùng phẫu thuật, gây tê thường tinh, gây tê tại chỗ bằng Lidocain 2%.

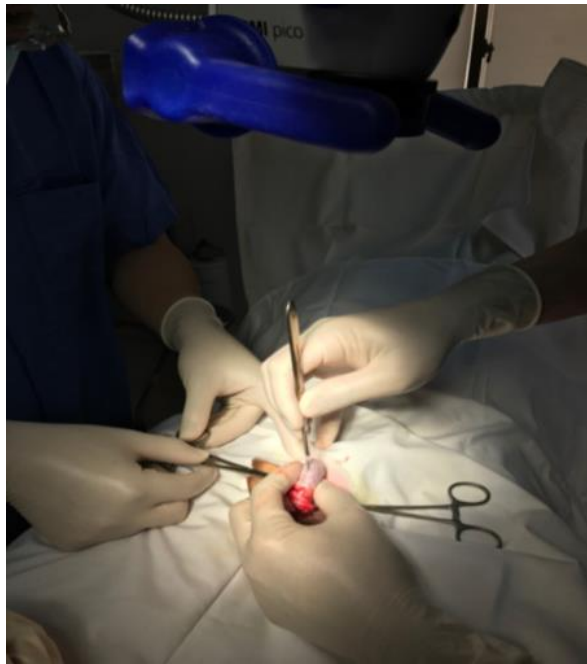
+ Thực hiện kỹ thuật PESA để kiểm tra mào tinh bệnh nhân có tinh trùng không bằng cách cố định mào tinh giữa ngón cái và ngón trỏ của bàn tay phẫu thuật viên, sau đó dùng bơm tiêm 1mL với kim có kích thước 23 Gauge đã lấy sẵn 0,1mL môi trường chọc kim vuông góc mào tinh, hút mạnh, vừa hút vừa rút kim tiêm ra. Quan sát và tìm tinh trùng dưới kính hiển vi quang học vật kính 10x và 40x dịch thu được từ mào tinh (theo Levine L.A. và cs (2003)) [46]. Nếu không tìm thấy tinh trùng chuyển qua phương pháp MESA bằng cách rạch da đường dọc giữa bìu khoảng 2 đến 3 cm. Mở bao tinh mạc của tinh hoàn và mào tinh để bộc lộ mào tinh. Tìm vị trí mào tinh giãn, dùng dao vi phẫu rạch mở sau đó sử dụng bơm tiêm 1mL có chứa sẵn môi trường hút dịch mào tinh soi tìm tinh trùng dưới kính hiển vi ở vật kính 10x và 40x (theo Tournaye H.(1999)) [65]. Nếu không tìm thấy tinh trùng thì cầm máu chỗ rạch bằng dao điện hai cực, chuyển qua kỹ thuật micro TESE.

+ Thực hiện kỹ thuật micro TESE với các bước như sau (theo Schlegel P.N. (1999)) [49]:

Bộc lộ tinh hoàn và rạch rộng bao trắng khoảng 5 – 10 mm ở vùng không mạch máu bằng dao vi phẫu trong khi vẫn giữ được sự toàn vẹn của các mạch máu cung cấp cho tinh hoàn. Tay không thuận của phẫu thuật viên giữ mô tinh hoàn đã được lột ra và tay thuận dùng kéo vi phẫu cắt cẩn thận các ống sinh tinh dưới kính hiển vi vi phẫu. Dùng dao điện lưỡng cực cầm máu. Bơm rửa phẫu trường bằng nước muối sinh lý để nhìn rõ các mạch máu và các ống sinh tinh. Các ống sinh tinh được cắt là những ống có đường kính rộng hơn và màu đục hơn. Mỗi mẫu được lấy từ 1 - 3 mg.

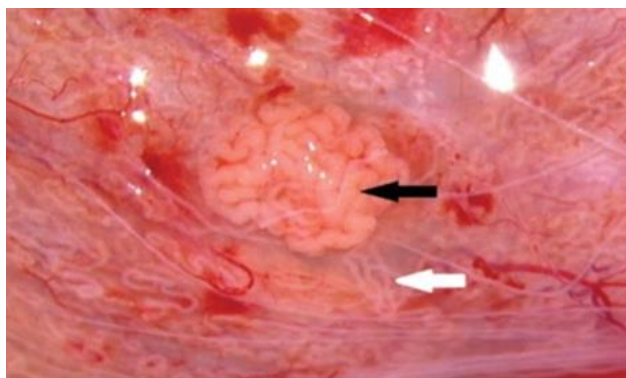
Các mẫu mô lấy ra được cho vào dung dịch enzym Collagenase loại IA ly giải và kiểm tra có tinh trùng không [56] đồng thời lấy mẫu làm tiêu bản mô học, mẫu làm tiêu bản siêu cấu trúc để đánh giá mức độ tổn thương. Nếu

không tìm thấy tinh trùng, tiến hành sinh thiết tinh hoàn còn lại. Nếu vẫn không thấy tinh trùng, sinh thiết lại các vị trí khác của cả hai tinh hoàn. Mỗi lần phẫu thuật chỉ lấy từ 5-10 mg mô tinh hoàn. Sau khi tìm thấy tinh trùng, tiến hành khâu lớp bao trắng tinh hoàn và lớp tinh mạc bằng mũi rời, chỉ 5-0. Khâu da bằng chỉ 5-0. Bệnh nhân được dùng kháng sinh sau phẫu thuật. Xuất viện cùng ngày và hẹn tái khám sau 7 đến 10 ngày.



Hình 2.4. Thu tinh trùng từ tinh hoàn bằng kỹ thuật micro TESE tại Viện Mô Phôi Lâm sàng Quân đội

* Nguồn: Bệnh nhân Lê Đăng K, mã số 2637



Hình 2.5. Các ống sinh tinh được bộc lộ trên kính vi phẫu bằng kỹ thuật micro TESE (mũi tên đen), độ phóng đại 25X

* Nguồn: Bệnh nhân Lê Đăng K, mã số 2637

- Cách xử lý mẫu mô tinh hoàn dựa theo Verheyen G. và cs (2017) [10]:

+ Đưa mẫu mô tinh hoàn thu được vào 2mL môi trường G IVF có nồng độ Collagenase loại IA (Sigma) 0,8mg/mL, ủ ấm 37°C trong 2 giờ để ly giải. Lắc đều ống chứa mẫu mô sau 10 -15 phút giúp mẫu ly giải tốt hơn. Cuối cùng, thêm 5mL môi trường G IVF trộn đều, ly tâm 2000 vòng/phút tối thiểu trong 10 phút. Loại bỏ dịch nổi bên trên để lại 0,5mL dịch cặn, lắc đều, soi tìm tinh trùng dưới kính hiển vi vật kính 10x và 40x. Nếu thấy tinh trùng, tiến hành khảo sát về mật độ, độ di động, nhuộm soi đánh giá tỷ lệ sống chết và hình thái tinh trùng.

Kỹ thuật micro TESE được đánh giá thành công khi tìm thấy tối thiểu một tinh trùng trong mẫu.

Tinh trùng thu được sau micro TESE có thể được bảo quản hoặc sử dụng cho ICSI.

+ Đánh giá về mật độ, độ di động, tỷ lệ sống chết và hình thái tinh trùng dựa theo hướng dẫn của WHO (2010) [17].

• Đánh giá mật độ tinh trùng (TT): nhỏ 10 μ L cặn ly tâm lên buồng đếm và khảo sát mật độ tinh trùng ở vật kính 40x. Do tinh trùng thu được từ tinh hoàn bệnh nhân nghiên cứu có mật độ rất thấp, nên áp dụng theo cách ước lượng mật độ tinh trùng của WHO (2010) như sau:

< 2 TT/vi trường 40x \rightarrow Mật độ tinh trùng < $0,5 \cdot 10^6$ (TT/mL).

< 4 TT/vi trường 40x \rightarrow Mật độ tinh trùng < $1 \cdot 10^6$ (TT/mL).

Từ 4 đến dưới 60 TT/vi trường 40x \rightarrow Mật độ TT từ $1 \cdot 10^6$ đến < $15 \cdot 10^6$ (TT/mL).

Từ ≥ 60 TT/vi trường 40x \rightarrow Mật độ TT $\geq 15 \cdot 10^6$ (TT/mL).

• Đánh giá độ di động của tinh trùng:

Tạo 3 tiêu bản (lam) tươi (do sử dụng cặn ly tâm nên dịch thu được số lượng ít). Đánh giá trên cả 3 lam ở vật kính 10x.

Đánh giá độ di động bằng cách khảo sát sự di động tự nhiên của tinh trùng bằng mắt thường sau đó tính tỷ lệ giữa tinh trùng di động trên tổng số tinh trùng được khảo sát và được thể hiện bằng tỷ lệ phần trăm.

Cách đánh giá như sau: đếm đủ 200 tinh trùng/vi trường/lam. Nếu không đủ, tiếp tục đếm đủ 200 tinh trùng ở các vi trường khác trên 2 lam còn lại. Nếu đếm cả 3 lam không đủ 200 tinh trùng thì đếm toàn bộ các vi trường trên 3 lam sau đó tính tỷ lệ tinh trùng di động trên tổng số tinh trùng đếm được của 3 lam đó. Đánh giá phân loại các loại tinh trùng di động theo tiêu chuẩn của WHO (2010). Chia sự di động của tinh trùng gồm 3 loại:

- Di động tiến tới (Progressive motility - PR): tinh trùng di chuyển tích cực, hoặc là tuyến tính hoặc trong một vòng tròn lớn, tốc độ di chuyển không quan trọng.

- Di động không tiến tới hay di động tại chỗ (Non progressive motility - NP): có khả năng di động trong các trường hợp như bơi trong vòng tròn nhỏ, di động tại chỗ hoặc đuôi cử động nhẹ.

- Tinh trùng bất động (Immotile - IM): tinh trùng nằm yên một chỗ không di động.

Cách đánh giá phân loại di động: dùng máy bách phân bạch cầu để phân loại tinh trùng. Trong vùng chọn giới hạn, cùng một thời gian các tinh trùng di động tiến tới (PR) được đếm trước, sau đó mới đếm không tiến tới (NP) và bất động (IM). Không đợi tinh trùng bơi vào vùng đánh giá mới đếm. Có thể đảo ngược thứ tự phân tích bằng cách đánh giá NP và IM trước để tránh đánh giá quá cao loại PR.

Trường hợp tổng số 200 tinh trùng đạt được trước khi tất cả các loại di động còn lại chưa được đếm từ cùng vùng đánh giá, thì đếm tiếp tục các loại di động còn lại cho dù hơn tổng số 200. Tính trung bình cộng và tỷ lệ khác biệt giữa 2 lần đếm của PR, NP, IM.

Tỷ lệ trung bình được làm tròn số, quy ước làm tròn 0,5% đến số chẵn gần nhất. Giá trị giới hạn tối thiểu đối với tổng số của tinh trùng di động (PR + NP) là 40%, đối với tinh trùng di động tiến tới (PR) là 32%.

- Đánh giá tỷ lệ sống chết của tinh trùng: bằng nhuộm Eosin Nigrosin.

Lắc đều mẫu. Trộn đều 50 μ L tinh dịch với 50 μ L Eosin - Nigrosin, đợi 30 giây. Trộn đều mẫu và dàn tiêu bản để khô. Quan sát dưới kính hiển vi vật kính 100x. Đếm số tinh trùng bắt màu và không bắt màu thuốc nhuộm (tinh trùng bắt màu thuốc nhuộm là tinh trùng chết, những tinh trùng không bắt màu là tinh trùng sống) và tính tỷ lệ phần trăm mỗi loại.

- Đánh giá hình thái tinh trùng:

Tiến hành nhuộm Papanicolaou để đánh giá các dạng hình thái tinh trùng và đo kích thước tinh trùng. Ở mỗi bệnh nhân chuẩn bị 2 lam và đánh giá trên cả 2 lam để hạn chế sai số.

Trong nghiên cứu này, do tinh trùng thu được từ tinh hoàn có mật độ rất thấp nên ở mỗi mẫu đọc ngẫu nhiên 20 tinh trùng, đánh giá ở vật kính 100x (không đếm những tinh trùng chồng lên nhau và cuốn vào nhau). Sau đó xác định tỷ lệ phần trăm tinh trùng có hình dạng bình thường, tỷ lệ phần trăm tinh trùng có hình dạng bất thường, tỷ lệ các dạng hình thái bất thường của tinh trùng và đo kích thước tinh trùng.

➤ Theo WHO (2010) [17], hình thái bất thường của tinh trùng gồm các loại chính sau:

- (1) Bất thường đầu
- (2) Bất thường cổ và đoạn trung gian
- (3) Bất thường đuôi
- (4) Bào tương còn dư

Tiến hành đồng thời hai cách đếm trên máy đếm bách phân bạch cầu:

Cách đếm thứ nhất: đếm theo phương pháp phân loại: tinh trùng bình thường, tinh trùng bất thường đầu, tinh trùng bất thường cổ và đoạn trung

gian, tinh trùng bất thường đuôi, tinh trùng có bào tương còn dư và tinh trùng có bất thường phối hợp.

Cách đếm thứ hai: vì một tinh trùng có thể có nhiều dị dạng, nên cách đếm này là đếm lần lượt từng loại dị dạng. Cách đếm này cho kết quả tổng số dị dạng lớn hơn tổng số tinh trùng mà ta đếm [17].

➤ Đo kích thước của tinh trùng:

Thu ảnh từ tiêu bản bằng camera gắn vào kính hiển vi trường sáng và ghi vào bộ nhớ của máy tính. Sau đó dùng phần mềm Axiovision 4 của hãng Carl Zeiss để tiến hành đo tinh trùng trên ảnh (độ phóng đại của ảnh đã được chương trình phần mềm tính toán và quy đổi ra μm).

Tiến hành đo kích thước của các tinh trùng có hình thái bình thường với các chỉ số: đo chiều dài đầu, chiều rộng của đầu, chiều dài của cổ và đoạn trung gian, chiều dài đuôi.

Đo chiều dài đầu: với mốc xác định từ cực trước của đầu tới ranh giới giữa đầu và cổ tinh trùng.

Đo chiều rộng đầu: đo ở khoảng cách có chiều rộng lớn nhất.

Đo chiều dài cổ và đoạn trung gian: với mốc xác định từ ranh giới giữa đầu và cổ cho tới ranh giới giữa đoạn trung gian và đuôi.

Đo chiều dài đuôi: bắt đầu từ ranh giới giữa đoạn trung gian và đuôi.

2.2.4.5. Các kỹ thuật xác định và đánh giá tổn thương

- *Kỹ thuật làm tiêu bản mô học thông thường*: nhuộm Hematoxylin – Eosin (HE) (theo Vũ Công Hoà và cs (1976)) [66].

Tiến hành làm tiêu bản nhuộm HE qua các bước chính sau:

+ Lấy bệnh phẩm và pha nhỏ thành các mảnh 3 mm x 3 mm x 3 mm, thấm sạch dịch máu. Cố định vật phẩm trong dung dịch Bouin 12 giờ.

+ Khử nước trong mẫu bằng cách chuyển qua cồn 100% x 2 lần, mỗi lần 90 phút, sau đó chuyển qua xylene 2 lần mỗi lần 90 phút.

+ Tẩm đúc trong parafin ở 56⁰C trong 6 – 8 giờ. Đúc vật phẩm trong khuôn chuyên dụng.

+ Cắt lát mỏng 5 µm trên máy cắt microtom, mỗi vật phẩm lấy 3 lát cắt trên lam kính làm tiêu bản.

+ Lát cắt được tẩy paraffin bằng xylen trong 20 phút, chuyển qua cồn nồng độ giảm dần: 100% - 90% - 80% - 70%, mỗi loại 2 lần trong 10 phút, rửa nước 2 phút.

+ Nhuộm nhân tế bào của mảnh cắt từ 30 – 35 phút trong dung dịch hematoxylin 0,5%. Rửa qua nước máy, biệt hóa lát cắt 1 – 2 phút trong dung dịch cồn 70% có 0,25% acid clohydric, rửa nước, sau đó ngâm 10 – 15 phút trong natribicarbonat 2,5% để trung hòa, rồi rửa nước máy.

+ Nhuộm bào tương bằng eosin 0,5% 2 – 3 phút, rửa trong nước máy. Làm mất nước ở tiêu bản bằng cách nhúng qua cồn 96% và 100%, mỗi loại 10 – 30 giây.

+ Làm trong tiêu bản 2 phút với xylen, dán lamen lên trên tiêu bản bằng nhựa Canada.

+ Đọc kết quả và chụp ảnh trên kính hiển vi quang học

Phân chia mô bệnh học tinh hoàn thành 4 nhóm theo hướng dẫn của Hiệp hội tiết niệu Châu Âu [67], bao gồm:

- Ống sinh tinh hyaline hóa (Seminiferous tubule hyalinization): ống sinh tinh và vùng xung quanh ống sinh tinh bị hyaline hóa hay không thấy ống sinh tinh. Màng đáy ống sinh tinh dày lên ở bên trong, tăng sinh các thành phần sợi ở bên ngoài. Xơ hoá quanh ống sinh tinh biểu hiện tăng sinh các lớp cơ trơn. Các tế bào dòng tinh không có, tế bào Leydig tập trung thành những đám tế bào to.

- Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli (SCOS): không thấy có tế bào dòng tinh trong ống sinh tinh. Trong ống sinh tinh chỉ có duy nhất tế bào Sertoli. Màng đáy ống sinh tinh bình thường, đường kính ống sinh tinh có thể bình

thường hoặc giảm, mô kẽ cấu trúc bình thường. Tổn thương này có thể xảy ra sau hoá trị liệu, tia xạ, suy tuyến yên. Hội chứng này có 2 loại:

Dạng toàn bộ: tất cả các ống sinh tinh đều chỉ có tế bào Sertoli. Đường kính ống sinh tinh bình thường. Kích thước tinh hoàn bình thường.

Dạng cục bộ: tinh hoàn có các ống sinh tinh teo nhỏ và chỉ có tế bào Sertoli, xen kẽ với các ống sinh tinh bình thường.

- Dừng sinh tinh nửa chừng (MA): là quá trình sinh tinh bị dừng lại ở một giai đoạn nào đó nhưng mật độ các loại tế bào không đổi. Ở giai đoạn muộn thường dừng ở tinh tử, ở giai đoạn sớm thường ở tinh bào I hoặc II, nhưng không bao giờ có tinh trùng trưởng thành.

- Giảm sinh tinh (HS): biểu hiện bằng giảm toàn bộ các tế bào dòng tinh ở các giai đoạn khác nhau, cụ thể là làm biểu mô sinh tinh thấp, đường kính ống sinh tinh nhỏ, nhưng biểu mô ống sinh tinh có đầy đủ các giai đoạn của tế bào dòng tinh. Biểu mô ống sinh tinh, các tế bào dòng tinh sắp xếp không theo trật tự, có thể thấy các tế bào dòng tinh chưa trưởng thành xuất hiện trong lòng ống sinh tinh.

- *Phương pháp nhuộm Papanicolaou đánh giá hình thái tinh trùng (theo WHO (2010)) [17].*

Làm sạch lam kính bằng cồn 70%, để khô. Mỗi mẫu chuẩn bị ít nhất hai lam kính.

Nếu mật độ tinh trùng $> 20.10^6/\text{mL}$ thì nhỏ 5 μL tinh dịch lên lam. Nếu mật độ tinh trùng $< 20.10^6/\text{mL}$ thì nhỏ 10 - 20 μL tinh dịch lên lam.

Dàn đều giọt tinh dịch trên lam (tạo phiến phết).

Dùng phương pháp nhuộm Papanicolaou qua các bước sau:

- + Bước 1: phết tinh dịch lên lam kính, để phiến phết thật khô trước khi cố định và nhuộm.

- + Bước 2 (cố định): ngâm phiến phết trong cồn 95% ít nhất 15 phút trước khi nhuộm.

+ Bước 3 (nhuộm): ngâm phiên phết liên tục theo các bước sau:

- Còn 80% ngâm 30 giây
- Còn 50% ngâm 30 giây
- Nước cất ngâm 30 giây
- Hematoxylin ngâm 4 phút
- Nước cất ngâm 30 giây
- Còn acid ngâm 4 - 8 giây
- Rửa nước 5 phút
- Còn 50% ngâm 30 giây
- Còn 80% ngâm 30 giây
- Còn 95% ngâm 15 phút
- OG6 ngâm 1 phút
- Còn 95% ngâm 30 giây
- EA50 ngâm 1 phút
- Còn 95% ngâm 30 giây
- Còn 100% ngâm 15 giây

Trong đó:

Còn có tác dụng cố định tế bào và khử nước.

Nước cất: loại bỏ còn trước khi nhuộm Hematoxylin (chất hòa tan trong nước).

Hematoxylin: nhuộm nhân tế bào (bắt màu xanh).

Rửa nước: loại bỏ thành phần không nhuộm màu Hematoxylin.

Còn acid (1mL acid hydrochloric đậm đặc + 200mL còn 70%): tẩy sạch các thành phần không bắt màu Heamatoxylin.

Orange G6: nhuộm tế bào chất, bào tương (bắt màu hồng).

EA50: nhuộm tế bào chất, bào tương (bắt màu hồng).

- Phương pháp đánh giá mức độ tổn thương của tinh hoàn (định lượng và bán định lượng theo Alukal J. P. (2009) và Johnsen S.G.(1970) [68], [69].

Ở mỗi bệnh nhân, chọn 3 tiêu bản để định lượng và bán định lượng.

+ Định lượng theo phương pháp của Alukal J. P. và cs (2009) bằng cách đếm từng loại tế bào trong thành ống sinh tinh dưới vật kính 40x, chỉ quan sát các ống sinh tinh được cắt ngang, không đếm tế bào ở các ống sinh tinh được cắt vát, mỗi bệnh nhân đếm 20 ống sinh tinh, sau đó tính số lượng trung bình từng loại tế bào trên một ống sinh tinh ở mỗi bệnh nhân và ở mỗi nhóm [68].

+ Bán định lượng theo phương pháp của Johnsen S.G. (1970) có cải tiến (Johnsen score) bằng thang điểm từ 1 đến 10. Đánh giá và cho điểm 20 ống sinh tinh trên mỗi bệnh nhân và sau đó tính điểm trung bình cho mỗi bệnh nhân và điểm trung bình cho mỗi nhóm [69].

Cách cho điểm như sau:

Không có tế bào trong thành ống sinh tinh	1 điểm
Chỉ có tế bào Sertoli trong thành ống sinh tinh	2 điểm
Chỉ có tế bào Sertoli, tinh nguyên bào trong thành ống sinh tinh	3 điểm
Số lượng tinh bào < 5, nhưng không có tinh tử	4 điểm
Không có tinh tử nhưng có nhiều tinh bào	5 điểm
Không có tinh trùng, số lượng tinh tử < 5	6 điểm
Không có tinh trùng nhưng có nhiều tinh tử	7 điểm
Số lượng tinh trùng < 10	8 điểm
Có nhiều tinh trùng trong ống sinh tinh nhưng cấu trúc ống sinh tinh bị đảo lộn	9 điểm
Quá trình sinh tinh xảy ra bình thường, có nhiều tinh trùng trong ống sinh tinh	10 điểm

- *Phương pháp đo đường kính ống sinh tinh (theo McVicar C.M. và cs (2005)) [70].*

Trên ba tiêu bản nhuộm bằng phương pháp HE của mỗi bệnh nhân vô tinh, chúng tôi tiến hành đo đường kính cho 20 ống sinh tinh cắt ngang, không đo các ống sinh tinh cắt vát. Sau đó tính đường kính ống sinh tinh trung bình ở mỗi bệnh nhân và nhóm bệnh nhân. Việc đo được tiến hành trên kính hiển vi video có phần mềm Axiovision 4 của hãng Carl Zeiss.

- *Phương pháp đo chiều dày vỏ xơ ống sinh tinh (theo McVicar C.M. và cs (2005)) [70].*

Độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh bao gồm: màng đáy, các lớp collagen xen kẽ các tế bào sợi và ngoài cùng là các tế bào dạng cơ. Do chiều dày lớp vỏ xơ phụ thuộc vào góc cắt qua ống sinh tinh nên khi đo độ dày ống sinh tinh thì phải đo tại vị trí mỏng nhất và đo ở các ống sinh tinh cắt ngang, không đo tại các ống sinh tinh cắt vát. Trên ba tiêu bản của mỗi bệnh nhân nghiên cứu, chúng tôi đo độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của 20 ống sinh tinh sau đó xác định độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh trung bình của mỗi bệnh nhân và mỗi nhóm. Tương tự như đo đường kính ống sinh tinh, việc đo chiều dày vỏ xơ ống sinh tinh được tiến hành trên kính hiển vi video có phần mềm Axiovision 4 của hãng Carl Zeiss.

- *Phương pháp làm tiêu bản siêu cấu trúc (theo Palade G.E. (1952) và Nguyễn Kim Giao (2004) [71], [72].*

+ Bước 1: Vật phẩm được cố định trong dung dịch Glutaraldehyt 4% trong dung dịch đệm Cacodylat thời gian 5 giờ ở 4⁰C.

+ Bước 2: Rửa bằng dung dịch đệm Cacodylat một lần sau đó cố định mẫu trong dung dịch Cacodylat để qua đêm ở nhiệt độ 4⁰C.

+ Bước 3: Thâm khô mẫu vật và cố định trong dung dịch Osmic 2% trong 60 phút.

+ Bước 4: Rửa bằng dung dịch Palade 3 lần mỗi lần 2 - 3 phút.

+ Bước 5: Rửa nước bằng cồn có nồng độ từ thấp đến cao theo thứ tự:

- Cồn 30% trong 30 phút
- Cồn 40% trong 30 phút
- Cồn 70% trong 30 phút
- Cồn 90% trong 30 phút
- Cồn 100% lần 1 trong 30 phút
- Cồn 100% lần 2 trong 30 phút
- Cồn 100% lần 3 trong 1 giờ

+ Bước 6: Chuyển mẫu vật qua cồn + Propylen oxyt tỉ lệ 1/15.

+ Bước 7: Để mẫu vật ở Propylen oxyt trong 15 phút.

+ Bước 8: Chuyển trong Propylen oxyt + hỗn hợp Epon 812 tỉ lệ 1/1 trong 2 giờ.

+ Bước 9: Cho mẫu vật vào hỗn dịch đúc để ở nhiệt độ phòng thời gian 24 giờ.

+ Bước 10: Cho mẫu vật vào khuôn đúc, đổ hỗn dịch vào trong khuôn để trong tủ ấm 30⁰C thời gian 24 giờ, sau đó 45⁰C trong thời gian 24 giờ, sau đó lại 60⁰C trong 72 giờ.

Các block được cắt lát siêu mỏng trên máy Ultramicrotom L.K.B.4 độ dày lát cắt 50 – 70nm. Mỗi block làm 3 tiêu bản.

Nhuộm tiêu bản bằng Uranyl Acetate 10% và Citrat chì 4%.

Đọc tiêu bản trên kính hiển vi truyền qua JEOL - 1011 có độ phân giải 2A⁰, điện áp 100KV, tại khoa Hình thái - Viện 69, Bộ Tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.

- Phương pháp làm tiêu bản cho kính hiển vi điện tử quét (theo Nguyễn Kim Giao (2004)) [72].

Các bước làm tiêu bản cho kính hiển vi điện tử quét như sau:

+ Bước 1: Làm sạch mặt mẫu bằng cách rửa qua dung dịch đệm 3 lần.

+ Bước 2: Cố định mẫu.

- Vật phẩm được cố định trong dung dịch Glutaraldehyt 4% trong dung dịch đệm Cacodylat thời gian 5 giờ ở 4⁰C.
- Rửa bằng dung dịch đệm Cacodylat một lần sau đó cố định mẫu trong dung dịch Cacodylat để qua đêm ở nhiệt độ 4⁰C.
- Thâm khô mẫu vật và cố định trong dung dịch Osmic 1% trong 60 phút.

+ Bước 3: Rửa và khử nước mẫu.

- Rửa bằng dung dịch đệm Cacodylat 3 lần, mỗi lần 2 – 3 phút.
- Rửa nước bằng cồn có nồng độ từ thấp đến cao theo thứ tự:
Cồn 30% trong 30 phút
Cồn 40% trong 30 phút
Cồn 70% trong 30 phút
Cồn 90% trong 30 phút
Cồn 100% lần 1 trong 30 phút
Cồn 100% lần 2 trong 30 phút
Cồn 100% lần 3 trong 1 giờ

+ Bước 4: Làm khô mẫu.

+ Bước 5: Đặt mẫu trên giá đỡ.

+ Bước 6: Tạo màng dẫn điện cho mẫu.

+ Bước 7: Bảo quản mẫu.

Đọc tiêu bản trên kính hiển vi điện tử quét JSM 5410LV của hãng JEOL - Nhật Bản, tại Khoa Hình thái, Viện 69, Bộ Tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.



Hình 2.6. Kính hiển vi điện tử truyền qua JEOL – 1011
tại viện 69 Bộ tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh

2.2.5. Xử lý số liệu nghiên cứu

2.2.5.1. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý bằng chương trình xử lý số liệu SPSS 17.0 for Window.

Các số liệu thu được từ nghiên cứu được xử lý bằng các thuật toán thống kê trong y học.

- Các biến liên tục được biểu diễn dưới dạng số trung bình (\bar{X}), độ lệch chuẩn (SD).
- Các biến không liên tục được biểu diễn dưới dạng trung vị, 95%CI.
- So sánh các biến định tính bằng kiểm định χ^2 .
- So sánh giá trị trung bình (independent-sample T test)
- So sánh trung vị bằng Mann - Whitney test.

2.2.5.2. Không chế sai số

Để hạn chế một số sai số hệ thống có thể xuất hiện trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi sử dụng một số biện pháp sau:

- Sử dụng mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất của Viện Mô Phôi lâm sàng Quân đội - Học viện Quân Y. Đây là mẫu bệnh án đã và đang được sử dụng nhiều năm nay tại Học viện Quân Y.

- Các tiêu bản cấu trúc và siêu cấu trúc được làm và được đọc bởi các cán bộ có kinh nghiệm tại labo mô học và labo kính hiển vi điện tử thuộc Viện Mô Phôi lâm sàng Quân đội - Học viện Quân Y và Khoa hình thái Viện 69 - Bộ Tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh với quy trình chuẩn, nơi có nhiều kinh nghiệm trong nghiên cứu mô phôi thai học.

- Số liệu được nhập hai lần để tránh sai số do nhập liệu và được xử lý trên những phần mềm chuyên dụng.

2.2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Đề tài được tiến hành dựa trên đề cương nghiên cứu đã được Hội đồng chấm đề cương nghiên cứu sinh tại Học viện Quân Y phê duyệt.

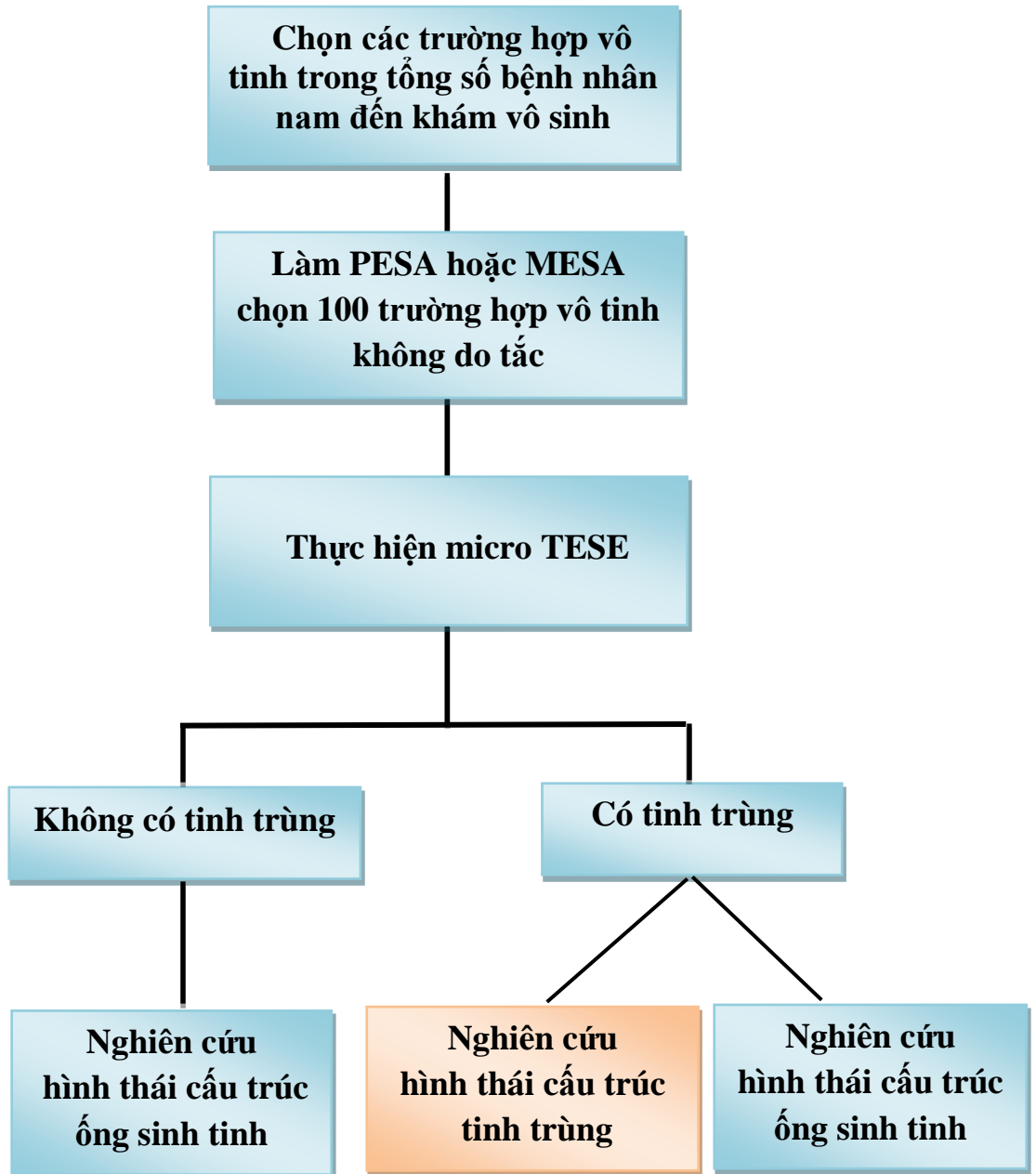
- Trước khi tiến hành nghiên cứu, tất cả các đối tượng nghiên cứu được thông báo về mục đích nghiên cứu, quyền lợi và trách nhiệm khi tham gia nghiên cứu. Bệnh nhân có quyền từ chối không tham gia vào nghiên cứu.

- Mọi thông tin về cá nhân của đối tượng nghiên cứu được giữ kín, các kết quả xét nghiệm được trả trực tiếp cho đối tượng nghiên cứu. Đồng thời bệnh nhân được tư vấn, giải thích về các kết quả xét nghiệm. Phiếu trả lời kết quả xét nghiệm được sử dụng cho công tác tư vấn và điều trị của bệnh nhân.

- Mục tiêu nghiên cứu, các kỹ thuật áp dụng cho nghiên cứu không làm ảnh hưởng tới sức khỏe của đối tượng nghiên cứu. Mục đích cuối cùng của đề tài là góp phần tìm hiểu các biến đổi hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu và hiệu quả thu tinh trùng của phương pháp micro TESE, mối liên quan của kỹ thuật micro TESE với một số yếu tố để từ đó có cơ sở trong dự phòng, tiên lượng cho người bệnh vô tinh không do tắc và có thêm phương pháp thu tinh trùng hiệu quả cho những bệnh nhân này, góp phần trong điều trị giúp họ có thể có con của chính mình.

2.2.7. Sơ đồ nghiên cứu

Sơ đồ nghiên cứu được thể hiện như sau:



Hình 2.7. Sơ đồ nghiên cứu

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu 100 bệnh nhân vô tình không do tác được thực hiện kỹ thuật micro TESE để thu tinh trùng, kết quả thu được như sau:

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Đặc điểm về tuổi, nghề nghiệp, loại vô sinh, thời gian vô sinh của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Nhóm tuổi		
≤ 30 tuổi	39	39
> 30 - 40 tuổi	57	57
> 40	4	4
Trung bình: 32,21 ± 4,55; Min: 21 - Max: 47		
Nghề nghiệp		
Công nhân, viên chức	41	41
Tự do, kinh doanh	45	45
Làm ruộng	11	11
Bộ đội	3	3
Học sinh, sinh viên	0	0
Loại vô sinh		
Nguyên phát	93	93
Thứ phát	7	7
Thời gian vô sinh		
< 2 năm	7	7
2 - < 5 năm	52	52
5 - < 10 năm	31	31
≥ 10 năm	10	10
Trung bình: 4,77 ± 3,37; Min: 1 - Max: 19		
Trung vị: 4,00 - 95%CI: 4,10 - 5,44		

- Tuổi trung bình của bệnh nhân nghiên cứu là $32,21 \pm 4,55$. Tuổi cao nhất 47, tuổi thấp nhất 21. Gặp nhiều nhất ở nhóm > 30 - 40 tuổi (57%), nhóm ≤ 30 tuổi có 39 trường hợp (39%). Chỉ có 4 trường hợp (4%) trên 40 tuổi

- Bệnh nhân trong nghiên cứu 45% là nhóm nghề tự do, kinh doanh; 41% là công nhân viên chức; làm ruộng chiếm tỷ lệ 11% và bộ đội là 3%. Không gặp trường hợp nào là học sinh, sinh viên.

- Vô sinh nguyên phát chiếm 93%. Chỉ có 7% vô sinh thứ phát.

- Trung vị thời gian vô sinh là 4 năm với 95%CI trong khoảng 4,10 - 5,44.

- Bệnh nhân có thời gian vô sinh lâu nhất là 19 năm và sớm nhất là 1 năm. Nhóm vô sinh từ 2 - < 5 năm chiếm tỷ lệ cao nhất: 52%; đứng thứ hai là nhóm từ 5 - < 10 năm (31%). Nhóm có thời gian vô sinh dưới 2 năm chiếm 7% và nhóm có thời gian vô sinh \geq 10 năm chiếm tỷ lệ 10%.

3.1.2. Tiền sử bệnh và thói quen của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.2. Tiền sử bệnh và thói quen của đối tượng nghiên cứu

Tiền sử bệnh		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Nội khoa	Có	6	6
	Không	94	94
Quai bị	Có	34	34
	Không	60	60
	Không rõ	6	6
Tiếp xúc hóa chất	Có	11	11
	Không	88	88
	Không rõ	1	1
Viêm tinh hoàn (Bao gồm cả viêm tinh hoàn do biến chứng quai bị)	Có	22	22
	Không	75	75
	Không rõ	3	3
Phẫu thuật đường sinh dục	Có	13	13
	Không	87	87
Phẫu thuật khác	Có	2	2
	Không	98	98
Mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục	Có	1	1
	Không	99	99
Hút thuốc	Có	25	25
	Không	75	75
Uống rượu	Có	11	11
	Không	89	89
Dùng thuốc ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh	Không	99	99
	Không rõ	1	1

Trong nhóm nghiên cứu, số bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị gặp nhiều nhất: 34/100 đối tượng (chiếm 34%); có 22/100 (chiếm 22%) số đối tượng có tiền sử viêm tinh hoàn (trong đó đa phần viêm tinh hoàn do biến chứng quai bị: 17/22 trường hợp); 13% có tiền sử phẫu thuật đường sinh dục. Tỷ lệ bệnh nhân hút thuốc và uống rượu là 25% và 11%.

3.1.3. Thể tích tinh hoàn của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.3. Thể tích tinh hoàn của đối tượng nghiên cứu

Thể tích tinh hoàn (mL)		Tinh hoàn phải (n = 97)		Tinh hoàn trái (n = 97)	
		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Dưới 5mL		29	29,9	28	28,9
Từ 5 - dưới 10mL		56	57,7	55	56,7
Từ 10 - dưới 12mL		7	7,2	10	10,3
Từ 12 – 15mL		4	4,2	3	3,1
Trên 15mL		1	1,0	1	1,0
Thể tích tinh hoàn	$\bar{X} \pm SD$	6,45 \pm 2,70		6,46 \pm 2,83	
	Min – Max	2 – 16		1 – 16	
	Trung vị	6,0		6,0	
	95%CI	5,91 – 7,00		5,89 – 7,03	

- Trung vị thể tích tinh hoàn phải là 6mL với 95%CI trong khoảng 5,91 – 7,00. Trong đó tinh hoàn phải có thể tích lớn nhất là 16mL, nhỏ nhất là 2mL. Có 3 trường hợp không sờ thấy tinh hoàn phải trên lâm sàng, đó là những trường hợp tinh hoàn lạc chỗ đã được phẫu thuật hạ tinh hoàn.

- Tương tự như tinh hoàn phải, trung vị thể tích tinh hoàn trái là 6mL với 95%CI trong khoảng 5,89 – 7,03. Trong đó, tinh hoàn trái có thể tích lớn nhất là 16mL, nhỏ nhất là 1mL. Cũng có 3 trường hợp không sờ thấy tinh hoàn trái trên lâm sàng, đó là những trường hợp tinh hoàn lạc chỗ đã được phẫu thuật hạ tinh hoàn.

Bảng 3.4. Thể tích tinh hoàn được mổ của đối tượng nghiên cứu
(n = 100)

Thể tích tinh hoàn được mổ (mL)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Dưới 5mL	27	27
Từ 5 - dưới 10mL	59	59
Từ 10 - dưới 12mL	9	9
Từ 12 – 15mL	4	4
Trên 15mL	1	1
$\bar{X} \pm SD$; (Min - Max) Trung vị; 95%CI	6,57 \pm 2,77; (2 - 16) 6; (6,02 - 7,12)	

Trung vị thể tích tinh hoàn được mổ là 6mL với 95%CI trong khoảng 6,02 - 7,12. Bệnh nhân có tinh hoàn được mổ lớn nhất là 16mL, bệnh nhân có tinh hoàn được mổ nhỏ nhất là 2mL.

3.1.4. Một số xét nghiệm của đối tượng nghiên cứu

3.1.4.1. Xét nghiệm một số hormon

Nồng độ FSH, LH, Testosterone của đối tượng nghiên cứu được thể hiện qua bảng 3.5.

Bảng 3.5. Nồng độ một số hormon của đối tượng nghiên cứu

Các hormon	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
FSH (mIU/mL)	20,30 \pm 12,63	1,74 - 62,85	19,66	17,79 - 22,81
LH (mIU/mL)	10,83 \pm 6,26	1,02 - 33,05	9,35	9,59 - 12,07
Testosterone (ng/mL)	4,24 \pm 2,40	0,32 - 15,01	3,72	3,76 - 4,72

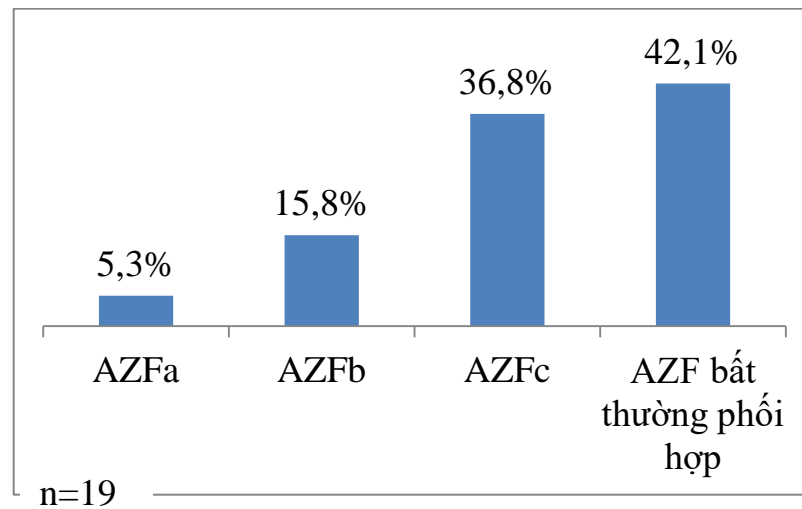
Nồng độ FSH trung bình là 20,30 \pm 12,63 mIU/mL.

Trung vị của nồng độ LH là 9,35 mIU/mL với 95%CI nằm trong khoảng 9,59 - 12,07.

Trung vị của nồng độ Testosterone là 3,72 ng/mL với 95%CI nằm trong khoảng 3,76 - 4,72.

3.1.4.2. Xét nghiệm AZF

Tỷ lệ các loại bất thường gen AZF được thể hiện qua biểu đồ sau:



Biểu đồ 3.1. Các loại bất thường gen AZF của đối tượng nghiên cứu

Trong 100 bệnh nhân nghiên cứu có 19 trường hợp có bất thường gen AZF (chiếm 19%) và 81 trường hợp có gen AZF bình thường (chiếm 81%).

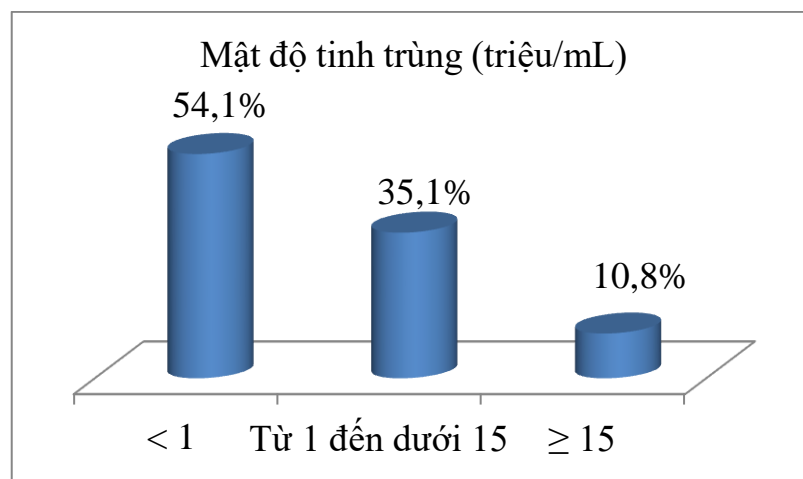
Trong các loại bất thường gen AZF ở nhóm nghiên cứu, gặp nhiều nhất loại bất thường phối hợp (42,1%), đứng thứ 2 là bất thường AZFc (36,8%), thấp nhất là bất thường AZFa (5,3%). Bất thường AZFb chiếm 15,8%.

3.2. Một số đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu thu được bằng kỹ thuật micro TESE

3.2.1. Hình thái cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu

3.2.1.1. Đặc điểm tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu

Trong 100 bệnh nhân vô tinh không do tắc làm micro TESE có 37 ca thu được tinh trùng (chiếm tỷ lệ 37%). Do lượng tinh trùng ở mỗi mẫu thu được tinh trùng rất ít nên ở mỗi mẫu đó chúng tôi nhuộm hình thái đọc ngẫu nhiên 20 tinh trùng để phân tích kết quả dựa vào cách phân loại hình thái tinh trùng của WHO (2010). Như vậy tổng số tinh trùng được nghiên cứu hình thái là 740 tinh trùng (20 tinh trùng x 37 mẫu). Kết quả nghiên cứu về mật độ, độ di động, tỷ lệ sống chết, hình thái tinh trùng và kích thước tinh trùng được thể hiện qua biểu đồ và các bảng dưới đây:



Biểu đồ 3.2. Mật độ tinh trùng ở nhóm nghiên cứu

Số bệnh nhân có mật độ tinh trùng $\geq 15.10^6/\text{mL}$ chiếm tỷ lệ thấp: 10,8% (4/37 trường hợp). Có 54,1% (20/37 trường hợp) có mật độ tinh trùng $< 1.10^6/\text{mL}$. Số bệnh nhân có mật độ tinh trùng từ 1 - $< 15.10^6/\text{mL}$ chiếm tỷ lệ 35,1% (13/37 trường hợp).

Bảng 3.6. Tỷ lệ di động và tỷ lệ sống chết của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu

Chỉ tiêu (%)	$\bar{x} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Di động tiến tới	$2,49 \pm 5,71$	0 - 20	0	0,58 - 4,39
Di động không tiến tới	$9,30 \pm 9,30$	0 - 31	10	6,19 - 12,41
Bất động	$88,22 \pm 13,17$	54 - 100	90	83,82 - 92,61
Tỷ lệ sống	$27,89 \pm 19,76$	0 - 80	25	21,30 - 34,48
Tỷ lệ chết	$72,11 \pm 19,76$	20 - 100	75	65,52 - 78,70

Trung vị tỷ lệ di động dạng tiến tới là 0% với 95%CI nằm trong khoảng 0,58 - 4,39. Trung vị của tỷ lệ di động dạng không tiến tới là 10% với 95%CI nằm trong khoảng 6,19 - 12,41. Trung vị của tỷ lệ bất động là 90% với 95%CI nằm trong khoảng 83,82 - 92,61.

Trung vị tỷ lệ sống của tinh trùng là 25% với 95%CI nằm trong khoảng 21,30 - 34,48. Trung vị tỷ lệ chết của tinh trùng là 75% với 95%CI nằm trong khoảng 65,52 - 78,70.

Bảng 3.7. Tỷ lệ hình thái tinh trùng bình thường và bất thường ở nhóm nghiên cứu

Các dạng hình thái tinh trùng				n	%
Tinh trùng bình thường				12	1,6
Tinh trùng bất thường	Các dạng bất thường	<i>n</i> và tỷ lệ % trên tổng số TT bất thường	Tỷ lệ % trên tổng số TT nghiên cứu	728	98,4
	Bất thường đầu	227 (31,2)	30,7		
	Bất thường cổ và đoạn trung gian	105 (14,4)	14,2		
	Bất thường đuôi	93 (12,8)	12,6		
	Bào tương còn dư	16 (2,2)	2,1		
	Bất thường phối hợp	287 (39,4)	38,8		
Tổng				740	100

Tinh trùng có hình thái bình thường chỉ chiếm 1,6% trong tổng số tinh trùng nghiên cứu. Trong số tinh trùng bất thường, dạng bất thường phối hợp chiếm tỉ lệ cao nhất là 39,4%; tiếp đến là dạng bất thường đầu chiếm tỷ lệ 31,2%; có 14,4% tinh trùng có hình thái bất thường cổ và đoạn trung gian; 12,8% tinh trùng bất thường đuôi và 2,2% tinh trùng có bào tương còn dư.

Bảng 3.8. Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường đầu của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu

Các dạng bất thường đầu tinh trùng	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Đầu dẹt (nhọn)	31	13,7
Đầu hình lê	38	16,7
Không có túi cực đầu	23	10,1
Đầu tròn	27	11,9
Đầu bất định	31	13,7
Đầu có không bào	58	25,6
Túi cực đầu nhỏ	13	5,7
Khác	6	2,6
Tổng	227	100

Kết quả từ bảng 3.8 cho thấy: trong số 227 tinh trùng có hình thái bất thường đầu thì tỷ lệ bất thường đầu có không bào là cao nhất, chiếm 25,6%; tiếp đến là tỷ lệ bất thường đầu hình lê chiếm 16,7%, thấp nhất là các loại bất thường đầu khác, chiếm 2,6%. Tỷ lệ bất thường dạng đầu dẹt và đầu bất định đều chiếm 13,7%; đầu tròn 11,9%; không có túi cực đầu và túi cực đầu nhỏ lần lượt 10,1% và 5,7%.

Bảng 3.9. Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường cổ và đoạn trung gian của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu

Các dạng bất thường cổ và đoạn trung gian	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Gập nhọn	24	22,9
Không cân đối	18	17,1
Dày	47	44,8
Mảnh	16	15,2
Tổng	105	100

Kết quả từ bảng 3.9 cho thấy: trong số 105 tinh trùng có hình thái bất thường về cổ và đoạn trung gian thì loại bất thường có cổ và đoạn trung gian dày chiếm tỷ lệ cao nhất 44,8%, tiếp đến là bất thường dạng gập nhọn chiếm 22,9%. Bất thường loại không cân đối chiếm 17,1%. Thấp nhất là dạng bất thường cổ và đoạn trung gian mảnh, chiếm 15,2%.

Bảng 3.10. Tỷ lệ các dạng hình thái bất thường đuôi tinh trùng ở nhóm nghiên cứu

Các dạng bất thường đuôi tinh trùng	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Ngắn	22	23,7
Gập góc	23	24,7
Cuộn	35	37,6
Khác	13	14,0
Tổng	93	100

Trong tổng số 93 tinh trùng có hình thái bất thường đuôi thì tỷ lệ dạng đuôi cuộn là cao nhất, chiếm 37,6%. Đuôi ngắn và gập góc lần lượt là 23,7% và 24,7%. Các dạng bất thường đuôi khác chiếm tỷ lệ thấp nhất, 14,0%.

3.2.1.2. Kích thước của tinh trùng thu được ở nhóm nghiên cứu

Trong 37 trường hợp thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE, chúng tôi đếm ngẫu nhiên ở mỗi mẫu nghiên cứu 20 tinh trùng có đủ thông số đầu, cổ, đuôi. Như vậy nghiên cứu 740 tinh trùng (20x37 mẫu) thu được kết quả về kích thước tinh trùng như sau:

Bảng 3.11. Chiều dài trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Kích thước tinh trùng	$\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài (μm)	52,08 \pm 1,57	46,15 - 57,45	52,40	51,97 - 52,19

Bảng 3.11 cho thấy: trung vị chiều dài của tinh trùng là 52,40 μm với 95%CI trong khoảng 51,97 - 52,19. Trong đó, tinh trùng trong nghiên cứu có chiều dài lớn nhất là 57,45 μm , nhỏ nhất là 46,15 μm .

Bảng 3.12. Kích thước đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Kích thước đầu tinh trùng	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài (μm)	4,10 \pm 0,29	3,26 - 4,73	4,13	4,08 - 4,12
Chiều rộng (μm)	2,77 \pm 0,21	1,79 - 4,27	2,73	2,76 - 2,79

Bảng 3.12 cho thấy: trung vị chiều dài đầu của tinh trùng là 4,13 μm với 95%CI trong khoảng 4,08 - 4,12. Trung vị chiều rộng đầu của tinh trùng là 2,73 μm với 95%CI nằm trong khoảng 2,76 - 2,79. Trong đó, tinh trùng có chiều dài đầu lớn nhất là 4,73 μm , nhỏ nhất là 3,26 μm . Tinh trùng có chiều rộng đầu lớn nhất là 4,27 μm , nhỏ nhất là 1,79 μm .

Bảng 3.13. Tỷ lệ chiều dài đầu/chiều rộng đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Tỷ lệ	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài đầu/chiều rộng đầu tinh trùng (lần)	1,49 ± 0,16	1,02 - 2,31	1,49	1,47 - 1,5

Bảng 3.13 cho thấy: trung vị chiều dài đầu/chiều rộng đầu của tinh trùng nghiên cứu là 1,49 lần với 95%CI trong khoảng 1,47 - 1,5. Trong đó, chiều dài đầu/chiều rộng đầu tinh trùng lớn nhất là 2,31 lần, nhỏ nhất là 1,02 lần.

Bảng 3.14. Chiều dài cổ và đoạn trung gian trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Kích thước	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài cổ và đoạn trung gian (μm)	4,00 ± 0,33	3,29 - 5,21	4,08	3,98 - 4,03

Bảng 3.14 cho thấy: trung vị chiều dài cổ và đoạn trung gian của tinh trùng nghiên cứu là 4,08 μm với 95%CI trong khoảng 3,98 - 4,03. Trong đó, tinh trùng có chiều dài cổ và đoạn trung gian lớn nhất là 5,21 μm , nhỏ nhất là 3,29 μm .

Bảng 3.15. Chiều dài đuôi trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Kích thước	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài đuôi (μm)	43,98 ± 1,50	38,40 - 49,67	44,36	43,87- 44,09

Bảng 3.15 cho thấy: trung vị chiều dài đuôi của tinh trùng nghiên cứu là 44,36 μm với 95%CI trong khoảng 43,87 - 44,09. Trong đó, tinh trùng có chiều dài đuôi lớn nhất là 49,67 μm , nhỏ nhất là 38,40 μm .

Bảng 3.16. Tỷ lệ chiều dài đuôi/chiều dài đầu trung bình của tinh trùng ở nhóm nghiên cứu (n = 740)

Tỷ lệ	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Chiều dài đuôi/ chiều dài đầu tinh trùng (lần)	10,78 ± 0,85	8,70 - 13,95	10,69	10,72 - 10,84

Bảng 3.16 cho thấy: trung vị chiều dài đuôi/chiều dài đầu của tinh trùng nghiên cứu là 10,69 lần với 95%CI trong khoảng 10,72 - 10,84. Trong đó tỷ lệ chiều dài đuôi/ chiều dài đầu tinh trùng lớn nhất là 13,95 lần và nhỏ nhất là 8,70 lần.

3.2.1.3. Hình thái siêu cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu bằng kỹ thuật micro TESE

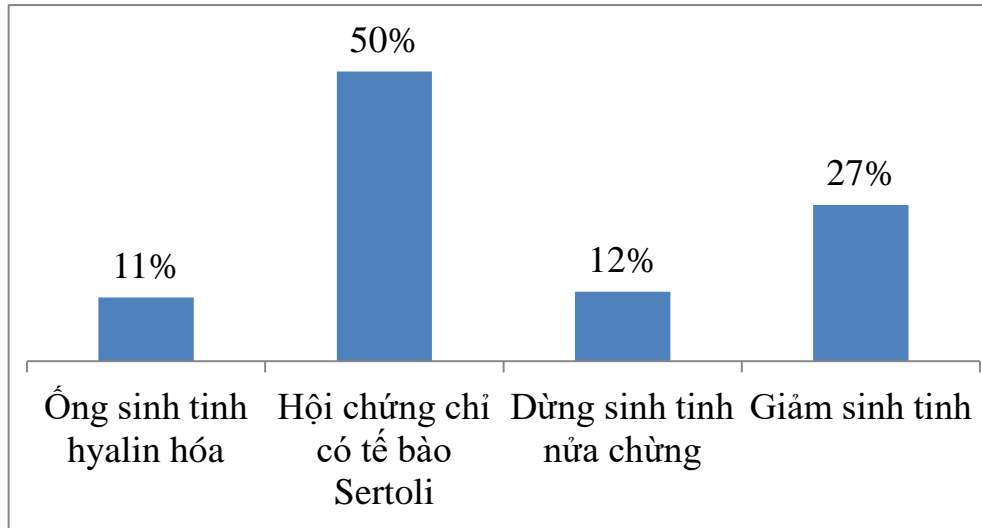
Trong tổng số 100 bệnh nhân vô tinh không do tắc được thực hiện micro TESE, chúng tôi lấy ngẫu nhiên 15 mẫu mô tinh hoàn của các đối tượng nghiên cứu để nghiên cứu hình thái siêu cấu trúc tinh trùng và ống sinh tinh. Trong 15 mẫu nghiên cứu hình thái siêu cấu trúc này có 2 mẫu tìm thấy tinh trùng trong đó đa số tinh trùng bất thường về đầu biểu hiện ở màng tế bào phần đầu nhăn nhúm, thậm chí không liên tục, túi cực đầu có hình dạng méo mó bất thường. Ở nhân một số tế bào, chất nhiễm sắc tụ đặc không đồng nhất, có những vùng khuyết thể hiện bằng vùng mật độ điện tử thấp. Phần cổ bào tương dày, ty thể ở đuôi mất các nếp gấp.

*** Một số hình ảnh cấu trúc, siêu cấu trúc tinh trùng thu được bằng kỹ thuật micro TESE ở bệnh nhân nghiên cứu: phụ lục 3.**

3.2.2. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu

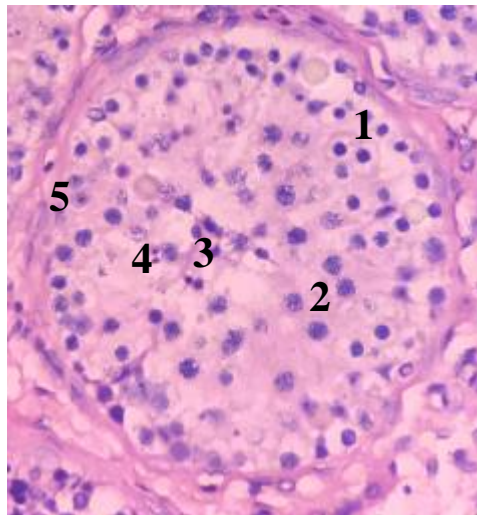
3.2.2.1. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh

- Đặc điểm mô bệnh học ống sinh tinh:



Biểu đồ 3.3. Kết quả mô bệnh học của đối tượng nghiên cứu

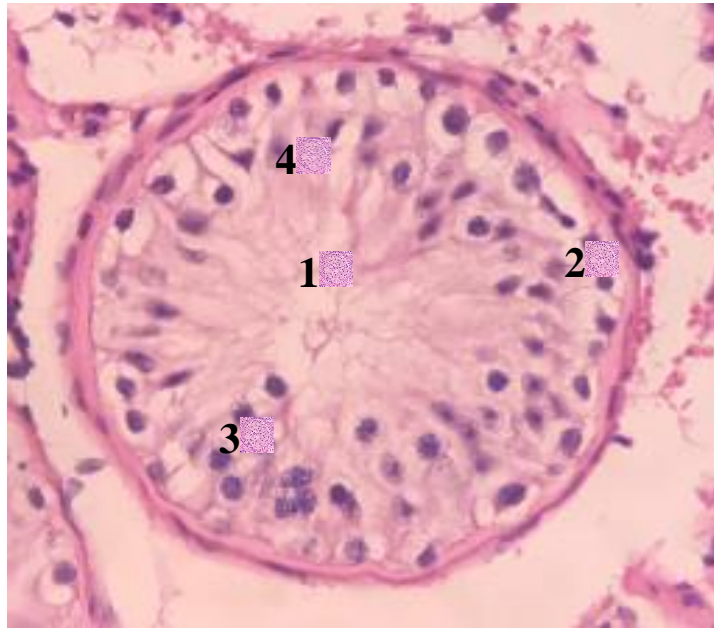
Tổn thương mô bệnh học của nhóm nghiên cứu chủ yếu là Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, chiếm 50%; tiếp đến là giảm sinh tinh, dừng sinh tinh nửa chừng và ống sinh tinh hyalin hóa, tương ứng là 27%; 12% và 11%.



Hình 3.1. Ống sinh tinh ở bệnh nhân giảm sinh tinh

Mã 2557 (HE, x400)

1. Tinh nguyên bào 2. Tinh bào; 3. Tinh tử; 4. Tinh trùng; 5. Tế bào Sertoli.



Hình 3.2. Ống sinh tinh nhóm dừng sinh tinh nửa chừng
Thành ống sinh tinh gồm tế bào Sertoli, tinh nguyên bào và tinh bào.

Lớp vỏ xơ ống sinh tinh rất dày. Mã 2633 (HE, x400)

1. Lòng ống sinh tinh; 2. Tinh nguyên bào; 3. Tinh bào; 4. Tế bào Sertoli



Hình 3.3. Ống sinh tinh chỉ có tế bào Sertoli. Mã 2524 (HE, x400)

1.Lòng ống sinh tinh; 2. Mảnh vỡ biểu mô tinh; 3. Tế bào Sertoli

Ngoài ra chúng tôi nhận thấy có một số đặc điểm trên các tiêu bản cấu trúc như (phụ lục 4):

+ Các tế bào biểu mô tinh của ống sinh tinh bị thoái hoá không đều. Mức độ thoái hoá và đặc điểm tổn thương của các ống sinh tinh có thể rất khác nhau trên cùng một tiêu bản cũng như trên các tiêu bản khác nhau (hình PL4.1).

+ Ống sinh tinh bị phá hủy hoàn toàn và thay vào đó là mô liên kết, không thấy các tế bào dòng tinh và các tế bào Sertoli (hình PL4.2).

+ Ống sinh tinh vẫn giữ nguyên cấu trúc hình ống. Trên thành ống sinh tinh không có các tế bào dòng tinh và tế bào Sertoli. Thành ống sinh tinh chỉ bao gồm nguyên bào sợi và các tế bào sợi tăng sinh (hình PL4.3).

+ Quan sát ống sinh tinh ở các bệnh nhân nhóm này còn thấy tổn thương như xuất hiện hình ảnh thoái hóa hóc (hình PL4.4).

- *Bán định lượng mức độ thoái hoá ống sinh tinh:*

Bảng 3.17. Điểm bán định lượng mức độ thoái hoá ống sinh tinh trung bình ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng

Điểm Johnsen	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	Cả 2 nhóm (n = 100)
$\bar{X} \pm SD$	2,89 ± 2,22	5,76 ± 3,04	3,95 ± 2,89
Trung vị	2	8	2
95%CI	2,33 - 3,45	4,74 - 6,77	3,37-4,52
p	< 0,001*		

*. *Mann - Whitney test*

Kiểm định phi tham số Mann – Whitney có $p < 0,001$ chứng tỏ sự khác biệt trung vị điểm Johnsen giữa 2 nhóm có và không có tinh trùng có ý nghĩa thống kê. Nói cách khác, điểm Johnsen của 2 nhóm là khác nhau. Trung vị điểm Johnsen của nhóm không có tinh trùng thấp hơn 6 điểm so với nhóm có tinh trùng (2 điểm so với 8 điểm).

- Đường kính ống sinh tinh và độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh:

Ở mỗi bệnh nhân, tiến hành nghiên cứu trên 20 ống sinh tinh cắt ngang. Như vậy tổng số ống sinh tinh được nghiên cứu là 2000.

Bảng 3.18. Độ dày lớp vỏ xơ trung bình và đường kính ống sinh tinh trung bình của bệnh nhân nghiên cứu (n = 2000)

Chỉ tiêu	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Độ dày lớp vỏ xơ (μm)	10,99 \pm 3,31	4,40 - 25,70	10,70	10,84 - 11,13
Đường kính ống sinh tinh (μm)	123,21 \pm 26,77	46,50 - 210,20	127,40	122,03-124,38

Bảng 3.18 cho thấy: trung vị độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 10,70 μm với 95%CI trong khoảng 10,84 - 11,13. Trong đó độ dày lớp vỏ xơ lớn nhất là 25,70 μm và nhỏ nhất là 4,40 μm .

Trung vị đường kính ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 127,40 μm với 95%CI trong khoảng 122,03 - 124,38. Trong đó đường kính ống sinh tinh lớn nhất là 210,20 μm và đường kính ống sinh tinh nhỏ nhất là 46,50 μm .

Bảng 3.19. Độ dày lớp vỏ xơ trung bình và đường kính ống sinh tinh trung bình ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng

Chỉ tiêu nghiên cứu		Không thu được tinh trùng (n = 1260)	Thu được tinh trùng (n = 740)	p
Độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh (μm)	$\bar{X} \pm SD$	12,12 \pm 3,29	9,05 \pm 2,29	< 0,001*
	Trung vị	11,60	9,05	
	95%CI	11,94 - 12,30	8,89 - 9,21	
Đường kính ống sinh tinh (μm)	$\bar{X} \pm SD$	110,68 \pm 22,77	144,54 \pm 18,23	< 0,001*
	Trung vị	112,20	140,30	
	95%CI	109,43 - 111,94	143,22-145,85	

*. Mann - Whitney test

Bảng 3.19 cho thấy: kiểm định phi tham số Mann - Whitney có $p < 0,001$ chứng tỏ sự khác biệt trung vị độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh giữa 2 nhóm có tinh trùng và không có tinh trùng có ý nghĩa thống kê. Nói các khác, độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của 2 nhóm là khác nhau. Trung vị độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của nhóm không có tinh trùng cao hơn $2,55\mu\text{m}$ so với nhóm có tinh trùng ($11,60\mu\text{m}$ so với $9,05\mu\text{m}$).

Tương tự, đường kính ống sinh tinh của 2 nhóm là khác nhau ($p < 0,001$). Trung vị đường kính ống sinh tinh của nhóm không có tinh trùng thấp hơn $28,10\mu\text{m}$ so với ở nhóm có tinh trùng ($112,20\mu\text{m}$ so với $140,30\mu\text{m}$).

- *Số lượng trung bình từng loại tế bào ở ống sinh tinh bệnh nhân nghiên cứu:*

Ở mỗi bệnh nhân nghiên cứu, tiến hành đếm từng loại tế bào trên 20 ống sinh tinh cắt ngang. Như vậy tổng số ống sinh tinh được đếm tế bào là 2000 ống. Kết quả định lượng từng loại tế bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh được thể hiện tại bảng 3.20.

Bảng 3.20. Số lượng trung bình từng loại tế bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu ($n = 2000$)

Chỉ tiêu	$\bar{X} \pm SD$	Min - Max	Trung vị	95%CI
Tế bào Sertoli	$11,10 \pm 8,61$	0 – 44	10	10,72 - 11,48
Tinh nguyên bào	$4,62 \pm 8,51$	0 – 78	0	4,24 - 5,00
Tinh bào	$3,44 \pm 8,77$	0 – 132	0	3,05 - 3,82
Tinh tử	$1,29 \pm 3,23$	0 – 51	0	1,15 - 1,43
Tinh trùng	$1,59 \pm 4,72$	0 – 31	0	1,39 - 1,80

Trung vị số lượng tế bào Sertoli trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 10 tế bào với 95%CI (10,72 - 11,48).

Trung vị số lượng tinh nguyên bào, tinh bào, tinh tử và tinh trùng trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 0 tế bào với 95%CI lần lượt là: 4,24 - 5,00; 3,05 - 3,82; 1,15 - 1,43; 1,39 - 1,80.

Bảng 3.21. Số lượng trung bình từng loại tế bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh ở nhóm thu được tinh trùng và nhóm không thu được tinh trùng

Các loại tế bào	Không thu được tinh trùng (n = 1260)	Thu được tinh trùng (n = 740)	p
	Trung vị (95% CI)	Trung vị (95% CI)	
Tế bào Sertoli	12 (11,38 - 12,42)	8 (9,25 - 10,23)	< 0,001*
Tinh nguyên bào	0 (2,09 - 2,70)	6 (6,71 - 9,20)	< 0,001*
Tinh bào	0 (1,14 - 1,58)	3 (6,06 - 7,89)	< 0,001*
Tinh tử	0 (0,39 - 0,56)	0 (2,53 - 3,02)	< 0,001*
Tinh trùng	0 (0,14 - 0,21)	0 (3,50 - 4,53)	< 0,001*

*. *Mann - Whitney test*

Bảng 3.21 cho thấy: kiểm định phi tham số Mann - Whitney có $p < 0,001$ chứng tỏ sự khác biệt trung vị số lượng từng loại tế bào giữa 2 nhóm có và không có tinh trùng có ý nghĩa thống kê. Nói cách khác, trung vị số lượng từng loại tế bào của 2 nhóm là khác nhau.

Trung vị số lượng tế bào Sertoli của nhóm không có tinh trùng cao hơn hơn 4 tế bào so với nhóm có tinh trùng (12 so với 8).

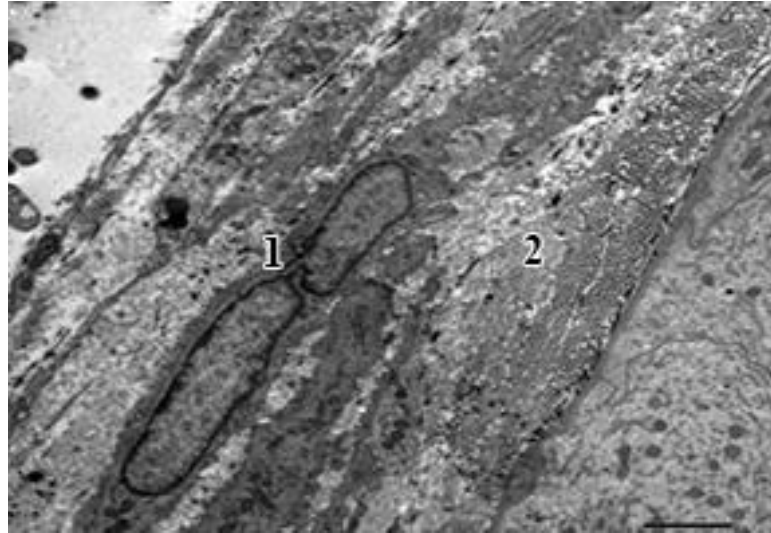
Trung vị số lượng tinh nguyên bào và tinh bào của nhóm không có tinh trùng thấp hơn so với nhóm có tinh trùng.

3.2.2.2. Đặc điểm hình thái siêu cấu trúc ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu

- Lớp vỏ xơ ống sinh tinh:

Nghiên cứu hình thái siêu cấu trúc lớp vỏ xơ ống sinh tinh dưới kính hiển vi điện tử truyền qua và hiển vi điện tử quét, chúng tôi thấy đa số các trường hợp độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh tăng lên. Biểu hiện của cấu trúc này là các bó sợi collagen và các tế bào liên kết tăng lên cả về số lượng và kích thước.

Một số trường hợp, sự dày lên của lớp vỏ xơ ống sinh tinh chủ yếu là sự xuất hiện nhiều lớp tế bào liên kết (từ 4 đến 5 lớp tế bào liên kết). Một số trường hợp, sự dày lên của lớp vỏ xơ ống sinh tinh chủ yếu là sự xuất hiện nhiều bó sợi collagen. Một số trường hợp, sự dày lên của lớp vỏ xơ ống sinh tinh đi kèm với sự xuất hiện nhiều tế bào Mast có dạng kéo dài với nhiều hạt chôn tiết trong bào tương.



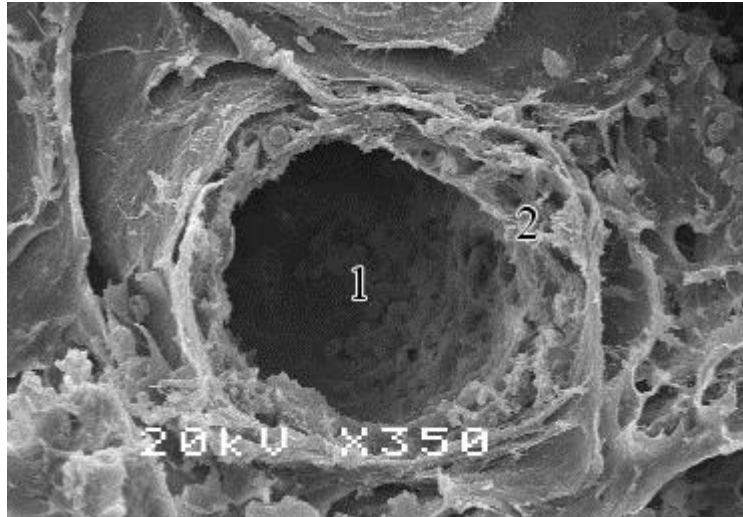
Hình 3.4. Hình ảnh siêu cấu trúc vỏ xơ ống sinh tinh

Vỏ xơ tăng sinh nguyên bào sợi, tế bào sợi và bó sợi collagen. Mã 2654 (TEM, x1500)

1. Tế bào sợi; 2. Bó sợi collagen cắt ngang

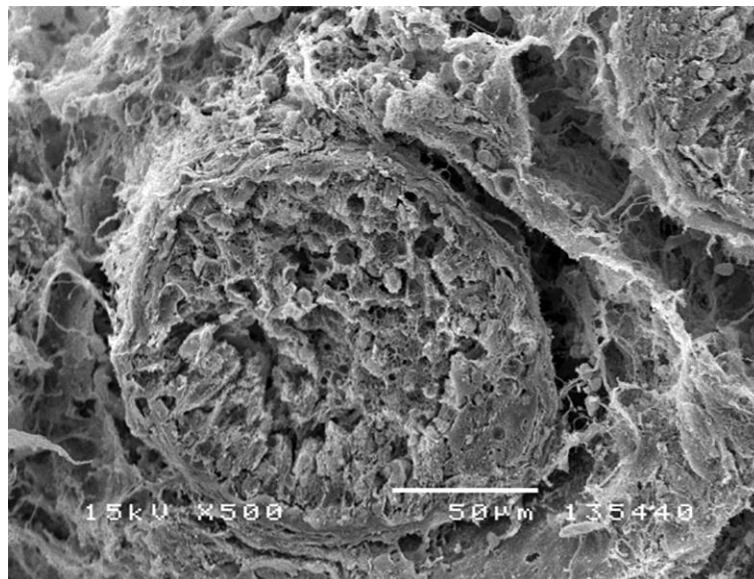
- *Đường kính ống sinh tinh:*

Ở các bệnh nhân nghiên cứu, đa số các ống sinh tinh của tinh hoàn teo nhỏ. Trên một bệnh nhân các ống sinh tinh có kích thước to nhỏ không đều, nhiều ống sinh tinh teo nhỏ kèm theo biểu mô sinh tinh mỏng do giảm số lượng các tế bào dòng tinh (hình 3.5). Bên cạnh những ống sinh tinh đường kính nhỏ, biểu mô sinh tinh mỏng, có những ống sinh tinh với kích thước bình thường, biểu mô sinh tinh dày với nhiều lớp tế bào (hình 3.6).



Hình 3.5. Hình ảnh siêu cấu trúc ống sinh tinh. Mã 2636 (SEM, x420)

1. lòng ống rộng; 2. Ống sinh tinh với biểu mô tinh mỏng



Hình 3.6. Hình ảnh siêu cấu trúc ống sinh tinh. Mã 2620 (SEM, x300)

Lòng ống không rõ, ống sinh tinh với biểu mô tinh dày

- *Biểu mô tinh:*

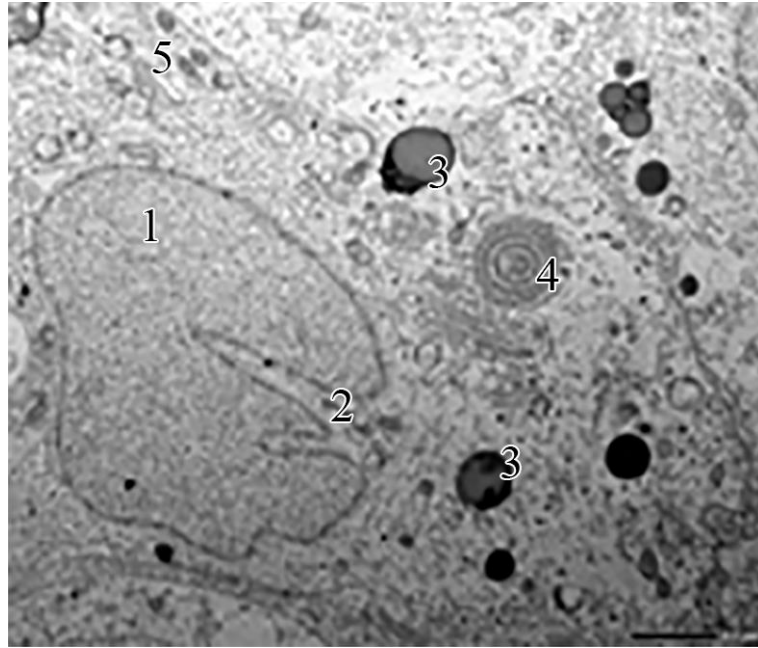
Bảng 3.22. Các tế bào trong biểu mô tinh của nhóm nghiên cứu

Các tế bào dòng tinh	Số mẫu (n)	Tỷ lệ %
Chỉ có tinh nguyên bào	3	20,0
Có đến tinh bào	3	20,0
Có đến tinh tử	2	13,33
Có đến tinh trùng	2	13,33
Chỉ có tế bào Sertoli	2	13,34
Không có tế bào	3	20,0
Tổng số mẫu làm siêu cấu trúc	15	

Trong tổng số 15 mẫu làm siêu cấu trúc, chỉ có 2 mẫu tìm thấy đầy đủ tế bào dòng tinh (có tới tinh trùng), chiếm tỷ lệ 13,33%; có 2 mẫu chỉ tìm thấy tới tinh tử; 3 mẫu tìm thấy đến tinh bào và tinh nguyên bào. Cá biệt có 2 mẫu chỉ có tế bào Sertoli và 3 mẫu không tìm thấy các tế bào trên biểu mô tinh.

Nghiên cứu siêu cấu trúc biểu mô ống sinh tinh các bệnh nhân trong nghiên cứu chúng tôi nhận thấy: đặc điểm cấu trúc các tế bào biểu mô ống sinh tinh rất khác nhau giữa các bệnh nhân. Bên cạnh những bệnh nhân có các tế bào biểu mô bình thường, hoạt động mạnh (biểu hiện ở tế bào Sertoli, lưới nội bào và ty thể phát triển, màng nhân gấp nếp; tế bào dòng tinh có lưới nội bào và ty thể phát triển) là những bệnh nhân có các tế bào biểu mô kém hoạt động.

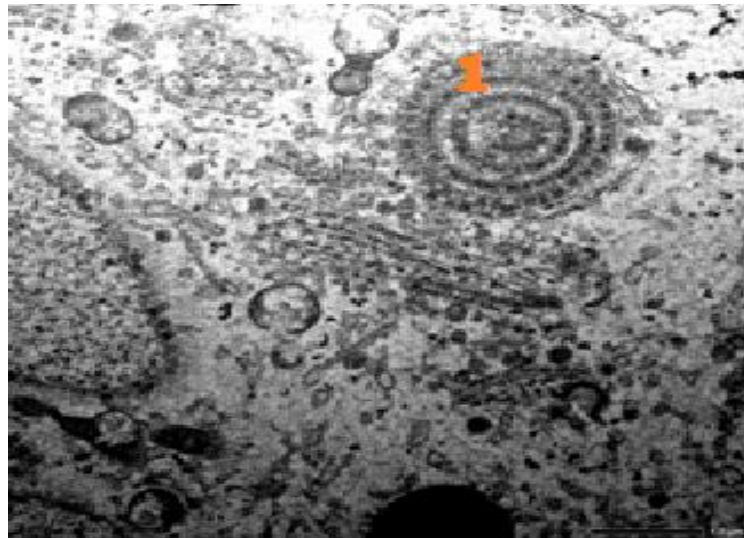
Trong biểu mô ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu thấy đa số tế bào Sertoli có cấu trúc kém hoạt động với đặc điểm các bào quan thưa thớt, nhân nhỏ không gấp nếp. Nhưng một số mẫu có thể thấy các tế bào Sertoli hoạt động mạnh với hình ảnh tế bào Sertoli trưởng thành, thể hiện màng nhân gấp nếp, nhiều ty thể, xuất hiện thể thực bào, đặc biệt xuất hiện tinh thể Charcot - Bottcher, loại tinh thể được ghi nhận chỉ thấy trong bào tương tế bào Sertoli người (hình 3.7 và hình 3.8).



Hình 3.7. Siêu cấu trúc tế bào Sertoli trưởng thành

Tế bào Sertoli với đặc điểm: màng nhân gấp nếp, nhiều ty thể, xuất hiện thể thực bào, đặc biệt xuất hiện tinh thể Charcot - Bottcher, loại tinh thể được ghi nhận chỉ thấy trong bào tương tế bào Sertoli người. Mã 2448 (TEM, x5000)

1. Nhân tế bào Sertoli; 2. Nếp gấp màng bào tương; 3. Thể thực bào;
4. Tinh thể Charcot - Bottcher; 5. Ty thể



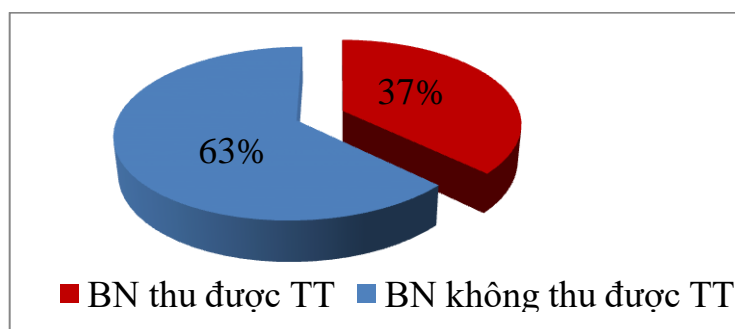
Hình 3.8. Siêu cấu trúc tinh thể Charcot – Bottcher. Mã 2448 (TEM, x5000)

1. Tinh thể Charcot – Bottcher

** Một số hình ảnh cấu trúc, siêu cấu trúc ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu: phụ lục 4.*

3.3. Đánh giá hiệu quả thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc

3.3.1. Tỷ lệ bệnh nhân thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE



Biểu đồ 3.4. Tỷ lệ bệnh nhân thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Trong tổng số 100 bệnh nhân nghiên cứu có 37 trường hợp thu được tinh trùng (chiếm tỷ lệ 37%) và 63 trường hợp không thu được tinh trùng (chiếm tỷ lệ 63%).

3.3.2. Liên quan của một số yếu tố với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

3.3.2.1. Liên quan giữa tuổi, phân nhóm tuổi với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Bảng 3.23. Liên quan giữa phân nhóm tuổi với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Nhóm tuổi	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p
	(n; %)	(n; %)	
≤ 30 tuổi	25 (64,1)	14 (35,9)	> 0,05
> 30 - 40 tuổi	35 (61,4)	22 (38,6)	
> 40 tuổi	3 (75,0)	1 (25,0)	

Bảng 3.23 cho thấy tỷ lệ thu được tinh trùng ở nhóm tuổi > 30 - 40 tuổi là cao nhất 38,6%; của nhóm tuổi ≤ 30 là 35,9% và thấp nhất ở nhóm tuổi > 40 chiếm 25,0%. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Không thấy mối liên quan giữa tuổi với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE ($p > 0,05$).

3.3.2.2. Liên quan giữa thời gian vô sinh, phân nhóm thời gian vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Bảng 3.24. Liên quan giữa phân nhóm thời gian vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Thời gian vô sinh (năm)	Không thu được TT (n = 63)	Thu được TT (n = 37)	p
	(n; %)	(n; %)	
< 2	1 (14,3)	6 (85,7)	< 0,05
2 - < 5	37 (71,2)	15 (28,8)	
5 - < 10	19 (61,3)	12 (38,7)	
≥ 10	6 (60,0)	4 (40,0)	

Kết quả từ bảng 3.24 cho thấy có 85,7% số bệnh nhân có thời gian vô sinh < 2 năm thu được tinh trùng; có 28,8% trường hợp có thời gian vô sinh từ 2 - < 5 năm thu được tinh trùng; 38,7% số trường hợp có thời gian vô sinh 5 - < 10 năm thu được tinh trùng và 40,0% số trường hợp có thời gian vô sinh ≥ 10 năm thu được tinh trùng.

Xét trên 37 bệnh nhân thu được tinh trùng thì số lượng bệnh nhân có thời gian vô sinh < 5 năm thu được tinh trùng là nhiều nhất (21 trường hợp) và số bệnh nhân có thời gian vô sinh từ 10 năm trở lên thu được tinh trùng thấp nhất (4 trường hợp). Không thấy mối liên quan giữa thời gian vô sinh với khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE ($p > 0,05$).

3.3.2.3. Liên quan giữa phân loại vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Bảng 3.25. Liên quan giữa phân loại vô sinh với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Loại vô sinh	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p
	(n; %)	(n; %)	
Thứ phát	3 (42,9)	4 (57,1)	> 0,05**
Nguyên phát	60 (64,5)	33 (35,5)	

** Fisher's Exact Test

Kết quả bảng 3.25 cho thấy có 57,1% bệnh nhân thuộc nhóm vô sinh thứ phát thu được tinh trùng cao hơn so với nhóm vô sinh nguyên phát (35,5%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.2.4. Liên quan giữa tiền sử mắc quai bị với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Số người có tiền sử mắc quai bị trong nghiên cứu là 34 người trong đó có 17 trường hợp tiền sử mắc quai bị có biến chứng viêm tinh hoàn.

Bảng 3.26. Liên quan giữa tiền sử mắc quai bị với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

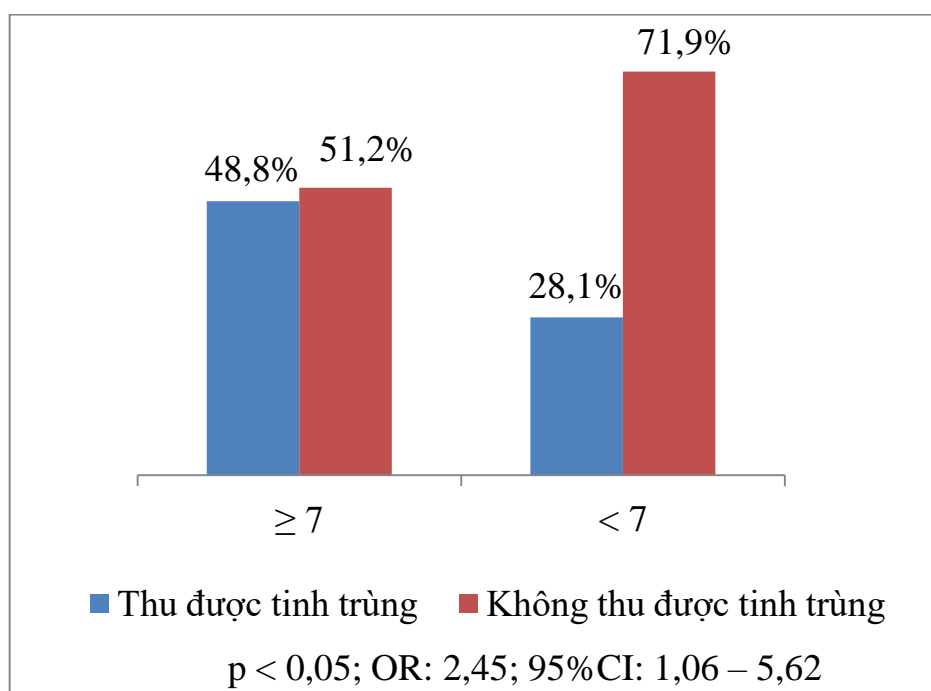
Tiền sử mắc quai bị	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p
	(n; %)	(n; %)	
Không	38 (63,3)	22 (36,7)	> 0,05**
Có	21 (61,8)	13 (38,2)	
Không rõ	4 (66,7)	2 (33,3)	

** Fisher's Exact Test

Kết quả bảng 3.26 cho thấy ở nhóm không có tiền sử mắc quai bị thì tỷ lệ thu được tinh trùng là 36,7%, ở nhóm có tiền sử mắc quai bị thì tỷ lệ thu được tinh trùng là 38,2%.

Trong nhóm thu được tinh trùng thì số đối tượng không có tiền sử mắc quai bị là chủ yếu, 22/37 đối tượng. Sự khác biệt về khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE ở nhóm có tiền sử mắc quai bị và ở nhóm không có tiền sử mắc quai bị không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.2.5. Liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE



Biểu đồ 3.5. Liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Có mối liên quan giữa nhóm có thể tích tinh hoàn được mổ ≥ 7 mL với việc mổ thấy tinh trùng ($p < 0,05$).

Những đối tượng có thể tích tinh hoàn được mổ ≥ 7 mL có khả năng tìm thấy tinh trùng cao hơn (tỷ lệ 48,8%) so với nhóm có thể tích tinh hoàn được mổ < 7 mL (28,1%).

3.3.2.6. Liên quan giữa một số xét nghiệm với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Bảng 3.27. Liên quan giữa nồng độ FSH, LH, Testosterone với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Nồng độ hormon	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p
	$\bar{X} \pm SD$ (Trung vị)	$\bar{X} \pm SD$ (Trung vị)	
FSH (mIU/mL)	23,46 \pm 12,90 (12,90)	14,94 \pm 10,24 (10,24)	0,001***
LH (mIU/mL)	12,10 \pm 6,63 (10,23)	8,68 \pm 4,93 (7,61)	0,003*
Testosterone (ng/mL)	4,27 \pm 2,81 (3,43)	4,18 \pm 1,53 (4,11)	0,321*

*. Mann - Whitney test

***.t – test

- Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) về trung bình nồng độ FSH giữa 2 nhóm mổ có tinh trùng và nhóm mổ không có tinh trùng. Nồng độ trung bình FSH của nhóm mổ có tinh trùng (14,94 \pm 10,24) thấp hơn nhóm mổ không có tinh trùng (23,46 \pm 12,90).

- Nồng độ LH có sự khác biệt giữa 2 nhóm mổ có tinh trùng và nhóm mổ không có tinh trùng ($p < 0,05$).

- Nồng độ Testosterone giữa 2 nhóm mổ có tinh trùng và không có tinh trùng không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 3.28. Liên quan giữa nồng độ FSH, LH, Testosterone trong giới hạn bình thường với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Nồng độ hormon	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p OR (95%CI)
	(n; %)	(n; %)	
FSH ngoài giá trị bình thường	54 (69,2)	24 (30,8)	0,015 3,25 (1,18 – 8,94)
FSH bình thường (2- 10 mIU/mL)	9 (40,9)	13 (59,1)	
LH ngoài giá trị bình thường	9 (90,0)	1 (10,0)	0,064 6,0 (0,69 – 51,87)
LH bình thường (1,5- 20 mIU/mL)	54 (60,0)	36 (40,0)	
Testosterone ngoài giá trị bình thường	18 (90,0)	2 (10,0)	0,005 7,0 (1,42 – 34,59)
Testosterone bình thường (2,2- 8,0ng/mL)	45 (56,2)	35 (43,8)	

Những người có nồng độ FSH nằm ngoài giá trị bình thường thì khả năng không thu được tinh trùng cao gấp 3,25 lần những người có nồng độ FSH trong giới hạn bình thường. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

Không thấy liên quan giữa nồng độ LH nằm trong giới hạn bình thường và nồng độ LH nằm ngoài giá trị bình thường với việc mổ thấy tinh trùng với $p > 0,05$. Tuy nhiên, những bệnh nhân có nồng độ LH bình thường có tỷ lệ tìm thấy tinh trùng (40,0%) cao hơn so với những bệnh nhân có nồng độ LH nằm ngoài giá trị bình thường (10,0%).

Những người có nồng độ Testosterone nằm ngoài giá trị bình thường thì khả năng không thu được tinh trùng cao gấp 7 lần những người có nồng độ Testosterone trong giới hạn bình thường. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.29. Liên quan giữa đặc điểm gen AZF với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Đặc điểm gen AZF	Không thu được tinh trùng (n = 63)	Thu được tinh trùng (n = 37)	p
	(n; %)	(n; %)	
Gen AZF bất thường	12 (63,2)	7 (36,8)	> 0,05
Gen AZF bình thường	51 (63,0)	30 (37,0)	

Không thấy mối liên quan giữa gen AZF bình thường hoặc gen AZF bất thường với việc mổ thấy tinh trùng ($p > 0,05$).

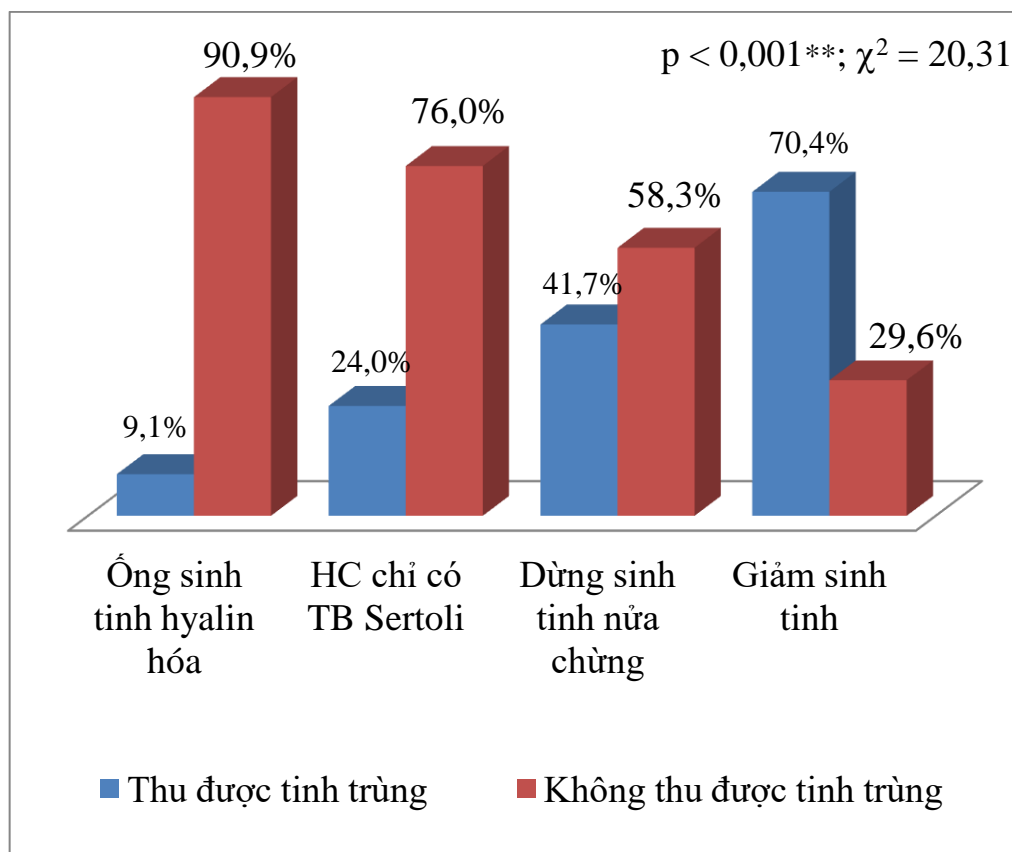
Tỷ lệ thu được tinh trùng trong nhóm có gen AZF bất thường và nhóm có gen AZF bình thường gần tương đương nhau, khoảng 37%.

Bảng 3.30. Liên quan giữa các loại bất thường gen AZF với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Gen AZF bất thường (n = 19)	Không thu được tinh trùng (n = 12)	Thu được tinh trùng (n = 7)
	(n; %)	(n; %)
Bất thường AZFa	1 (1)	0 (0)
Bất thường AZFb	1 (33,3)	2 (66,7)
Bất thường AZFc	2 (28,6)	5 (71,4)
Bất thường phối hợp	8 (100)	0 (0)

Trong 19 trường hợp có bất thường gen AZF thì bất thường gen AZFc có tỷ lệ thu được tinh trùng là cao nhất, 71,4% (5/7 trường hợp). Bất thường gen AZFb thu được tinh trùng là 66,7% (2/3 trường hợp).

Nhóm bất thường gen AZFa và bất thường phối hợp đều không tìm thấy tinh trùng.



**** Fisher's Exact Test**

Biểu đồ 3.6. Liên quan giữa kết quả mô bệnh học với khả năng thu tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Biểu đồ 3.6 cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các loại tổn thương mô bệnh học với tỷ lệ thu được tinh trùng ($p < 0,001$). Nhóm giảm sinh tinh có tỷ lệ thu được tinh trùng cao nhất (chiếm tỷ lệ 70,4%), tiếp đến là nhóm dừng sinh tinh nửa chừng (chiếm tỷ lệ 41,7%), hội chứng chỉ có tế bào Sertoli (chiếm tỷ lệ 24,0%) và thấp nhất là nhóm ống sinh tinh hyalin hóa với tỷ lệ thu được tinh trùng là 9,1%.

3.3.3. Tai biến, biến chứng sau phẫu thuật

Không gặp trường hợp nào có biến chứng gần sau mổ như: chảy máu, tụ máu, nhiễm trùng.

3.3.4. Tỷ lệ có thai ở những trường hợp thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng thu được bằng kỹ thuật micro TESE

Cho đến thời điểm kết thúc nghiên cứu, có 12 bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu đã được làm thụ tinh trong ống nghiệm với phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (chiếm 12% trong tổng số đối tượng nghiên cứu và chiếm 32,43% (12/37) trong số bệnh nhân mổ thấy tinh trùng bằng phương pháp micro TESE với kết quả như sau:

- Có 9/12 trường hợp làm IVF/ ICSI có thai lâm sàng (chiếm 75,0%). Một trường hợp có thai sinh hóa (8,3%). Có 2/12 trường hợp không có thai (chiếm 16,7%).

- Trong 9 trường hợp có thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến là 100%. Đến nay cả 9 trường hợp đã sinh em bé khỏe mạnh.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

4.1.1. Tuổi, nghề nghiệp, loại vô sinh và thời gian vô sinh

- Tuổi của đối tượng nghiên cứu: kết quả bảng 3.1 cho thấy, tuổi trung bình của bệnh nhân nghiên cứu là $32,21 \pm 4,55$. Tuổi trung bình của các bệnh nhân tương đối trẻ, nằm trong độ tuổi sinh đẻ. Trẻ nhất là 21 tuổi, nhiều tuổi nhất là 47 tuổi. Nhóm tuổi > 30 - 40 gặp nhiều nhất (57%). Chỉ có 4 trường hợp (4%) có tuổi > 40. Nghiên cứu của Kimura M. và cs (2003) chỉ ra rằng cấu trúc tinh hoàn biến đổi theo tuổi, cụ thể là số lượng tất cả các loại tế bào biểu mô ống sinh tinh giảm theo tuổi [73]. Tuổi trung bình của các bệnh nhân vô tinh trong nghiên cứu này thấp hơn so với một số nghiên cứu khác, như của Nguyễn Thành Như (2010) là $37,5 \pm 1,7$ (31-46) [62]. Trịnh Thế Sơn (2011) nghiên cứu trên 467 bệnh nhân vô tinh, tuổi trung bình của các bệnh nhân là $34,25 \pm 5,8$, trong đó ở nhóm vô tinh không do tắc có tuổi trung bình là $34,00 \pm 5,75$ [74], Nghiên cứu của Kalsi J. và cs (2011), tuổi trung bình là 37,25 (nằm trong khoảng 29-56 tuổi) [9]. Bernie A.M. và cs (2015), tuổi trung bình là 34,4 [60]. Tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với một số nghiên cứu trước đây của các tác giả khác có thể do ngày nay các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản không còn mới với người bệnh như những năm trước. Đến nay, người bệnh đã biết đến nhiều hơn và được tiếp cận nhiều hơn với các dịch vụ hỗ trợ sinh sản. Ngoài ra khi so sánh với các nghiên cứu ở nước ngoài những năm trước còn phải kể đến xu thế kết hôn muộn ở nước ngoài so với ở Việt Nam.

Độ tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013), nghiên cứu trên 249 bệnh nhân vô tinh, tuổi trung bình là

$32,37 \pm 5,6$, trong đó ở nhóm vô tình không do tắc là $32,28 \pm 5,7$ và thấy nhóm trên 40 tuổi, dưới 25 tuổi chiếm tỷ lệ ít nhất [75].

Tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Li G. và cs (2004), nghiên cứu trên 112 bệnh nhân vô tình, tuổi trung bình là $29 \pm 4,4$ (22 - 46) nhưng chiếm đa phần trong nghiên cứu này là bệnh nhân vô tình do tắc (105 trường hợp), chỉ có 7 trường hợp là vô tình không do tắc [76]. Thông thường, những bệnh nhân vô tình do tắc có thời gian chẩn đoán bệnh và điều trị bệnh nhanh hơn so với những bệnh nhân vô tình không do tắc, là một trong những yếu tố làm cho tuổi trong nghiên cứu của tác giả này thấp hơn so với tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi và một số tác giả khác.

- Nghề nghiệp của đối tượng nghiên cứu: đa số đối tượng nghiên cứu là công nhân viên chức và lao động tự do (86%). Với đặc thù Việt Nam là một nước có tỷ lệ lao động nông nghiệp và nông thôn cao nhưng trong nghiên cứu chỉ gặp 11% số đối tượng làm ruộng có thể lý giải do chi phí của các dịch vụ hỗ trợ sinh sản còn cao đối với người dân lao động thấp. Ngoài ra kỹ thuật micro TESE cũng là một kỹ thuật mới được áp dụng tại Việt Nam.

- Loại vô sinh: trong nghiên cứu gặp đa số bệnh nhân là vô sinh nguyên phát (93%). Chỉ có 7% vô sinh là thứ phát. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013), vô sinh nguyên phát chiếm 94,4%, vô sinh thứ phát chiếm 5,6% [75]; nghiên cứu của Li G. và cs (2004), có 96/122 trường hợp (86%) là vô sinh nguyên phát, chỉ 14% (16/112) là vô sinh thứ phát [76].

- Thời gian vô sinh: Trung vị thời gian vô sinh là 4 năm với 95%CI trong khoảng 4,10 - 5,44. Bệnh nhân có thời gian vô sinh lâu nhất là 19 năm và sớm nhất là 1 năm. Nhóm vô sinh từ 2 - < 5 năm chiếm tỷ lệ cao nhất: 52%; đứng thứ hai là nhóm từ 5 - < 10 năm (31%). Nhóm có thời gian vô sinh dưới 2 năm chiếm 7% và nhóm có thời gian vô sinh ≥ 10 năm chiếm tỷ lệ 10%.

So sánh với nghiên cứu của một số tác giả khác như Li G. và cs (2004), thời gian vô sinh trung bình của các bệnh nhân vô tinh là $4 \pm 2,8$ năm (năm trong khoảng 2 - 12 năm) [76].

Nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011), thời gian trung bình của bệnh nhân vô tinh là $5,67 \pm 4,50$ năm, của bệnh nhân vô tinh không do tắc là $5,59 \pm 4,185$ [74]. Như vậy một lần nữa cho thấy so với những năm trước đây, người dân được tiếp cận sớm hơn với các dịch vụ hỗ trợ sinh sản. Tuy nhiên, theo Hội Y học sinh sản Hoa Kỳ, 2008 (American society for reproductive medicine – ASRM): vô sinh là tình trạng cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ sau một năm quan hệ vợ chồng thường xuyên, không dùng các biện pháp tránh thai mà vẫn không có thai, điều đó có nghĩa các cặp vợ chồng sau một năm kết hôn, không sử dụng các biện pháp tránh thai mà không thể có thai thì cần được khám và điều trị. Đối với trường hợp vô sinh mà tuổi vợ ≥ 35 tuổi thì thời gian khuyến cáo nên đi khám là sau 6 tháng [2], [21]. Như vậy tỷ lệ người bệnh đi khám trước thời gian 2 năm trong nghiên cứu còn thấp (7%). Bên cạnh đó, những nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng tuổi người cha tăng có liên quan đến tăng bất thường tinh trùng, tăng phân mảnh tinh trùng và tăng tỷ lệ trẻ sinh ra dị tật. Nguy cơ một người cha trên 40 tuổi sinh ra một đứa con tự kỷ tương đương với nguy cơ mắc hội chứng Down cho một đứa trẻ có mẹ 35 - 40 tuổi. Những người cha trên 40 tuổi có nguy cơ $> 20\%$ sinh con bị dị tật bẩm sinh nghiêm trọng. Tỷ lệ phân mảnh tăng tinh trùng cao gấp đôi ở đàn ông ≥ 45 tuổi so với những người < 30 tuổi. Đây cũng là những căn cứ để xác định giới hạn tuổi đối với tinh trùng của người hiến tặng [54].

Ngoài ra, theo ASRM (2017), khả năng sinh sản giảm theo tuổi ở cả nam giới và phụ nữ, nhưng với phụ nữ ảnh hưởng của tuổi rõ rệt hơn. Phụ nữ sau 35 tuổi cơ hội thụ thai giảm đáng kể [77]. Chính vì vậy, cần đẩy mạnh hơn nữa công tác tư vấn và nâng cao nhận thức cho người bệnh đi khám phát hiện, điều trị bệnh sớm, nâng cao hiệu quả điều trị bệnh.

4.1.2. Tiền sử bệnh và thói quen

Theo các tác giả, tiền sử bệnh và thói quen của người nam giới có ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh. Trong nghiên cứu này có tới 34/100 (34%) đối tượng nghiên cứu có tiền sử mắc quai bị. Có 22 trường hợp (chiếm 22%) có tiền sử viêm tinh hoàn (trong số này 17/22 trường hợp viêm tinh hoàn do biến chứng quai bị) (bảng 3.2).

Theo Adamopoulos D.A. và cs (1978), viêm do quai bị làm suy yếu chức năng của tế bào Leydig trong giai đoạn bệnh cấp tính nhưng cũng có thể gây tổn thương lâu dài trong biểu mô mầm [78]. Bartak V. (1973) nghiên cứu trên 298 bệnh nhân bị quai bị thấy sau 1 – 3 tháng sự sinh tinh bị ảnh hưởng nghiêm trọng ở 50% bệnh nhân, dẫn đến thiếu tinh, nhược tinh hoặc vô tinh; ở 25% bệnh nhân, các tuyến sinh dục bị ảnh hưởng kéo dài, những trường hợp teo nặng thấy giảm đáng kể kích thước tinh hoàn và luôn thấy liên quan đến giảm sinh tinh. Khả năng sinh sản kém cũng được tìm thấy ở nhiều bệnh nhân không bị teo tinh hoàn [79]. Masarani M. và cs (2006) cho rằng trong vài ngày đầu mắc quai bị, virus tấn công tinh hoàn dẫn đến viêm nhu mô, làm tách các ống sinh tinh và thâm nhiễm tế bào lympho vào mô kẽ quanh mạch máu. Lớp màng trắng của tinh hoàn tạo thành một rào cản chống lại phù nề và sự gia tăng áp lực nội mạc sau đó dẫn đến teo tinh hoàn do áp lực. Có tới 30% - 50% trường hợp teo tinh hoàn trong số các tinh hoàn bị ảnh hưởng, chính vì thế các ống sinh tinh trong tinh hoàn bị phá hủy, dần xơ hóa dẫn đến không sản xuất được tinh trùng. Theo tác giả, mắc quai bị hiếm khi dẫn đến vô sinh nhưng góp phần gây ra vô sinh do bệnh có thể gây ra thiếu tinh, nhược tinh hoặc vô tinh [80]. Trên thực tế, khi thực hiện micro TESE ở những bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị thấy đa số ở những bệnh nhân này tinh hoàn teo nhỏ một bên hoặc cả hai bên. Dưới kính hiển vi vi phẫu, nhu mô tinh hoàn xơ hóa tuy nhiên vẫn tìm được những vùng có ống sinh tinh kích thước lớn, nghĩ bên trong có tinh trùng. Như vậy việc phòng chống quai bị là một việc làm cần

thiết trong cộng đồng nói chung và ở những người nam giới nói riêng. Theo Masarani M. và cs (2006), tiêm chủng là chính sách tốt nhất để tránh các biến chứng liên quan đến quai bị do đến nay vẫn chưa có điều trị đặc hiệu [80].

Tương tự như những bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị, ở những bệnh nhân có tiền sử phẫu thuật đường sinh dục (có 13 trường hợp, chiếm 13%), nhất là ở những trường hợp phẫu thuật hạ tinh hoàn thấy đa số có kích thước tinh hoàn nhỏ hơn bình thường, có trường hợp tinh hoàn teo nhỏ. Các mạch máu đến tinh hoàn tăng sinh hơn và khi phẫu thuật thường khó khăn hơn. Có những hiện tượng này phụ thuộc vào thời điểm phẫu thuật của người bệnh, phụ thuộc cơ sở phẫu thuật và trình độ tay nghề của phẫu thuật viên. Chính vì vậy cần tuyên truyền người bệnh đi khám, phát hiện bệnh sớm và không ngừng cải thiện tay nghề của người thầy thuốc cũng như cơ sở vật chất, trang thiết bị điều trị.

Trong nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân hút thuốc chiếm 25%. Theo các nghiên cứu, hút thuốc lá và uống rượu đều có ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh. Hút thuốc ảnh hưởng nhiều đến quá trình sản sinh tinh trùng vì trong thuốc lá có nhiều chất gây đột biến và gây ung thư. Các chất này có tác dụng tương tự như các gốc tự do làm tổn thương DNA (Deoxyribonucleic Acid) của tinh trùng. Hút thuốc làm ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng, làm giảm mật độ tinh trùng, giảm tỷ lệ tinh trùng bình thường, tăng số lượng bạch cầu trong tinh dịch [81]. Bên cạnh đó, nếu người nam hút thuốc cũng làm cho người bạn đời của họ tiếp xúc với khói thuốc lá và bị các tác hại của việc hút thuốc lá thụ động, điều này cũng có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của người bạn đời. Với nữ giới, các nghiên cứu cho thấy hút thuốc lá có hại cho buồng trứng, với mức độ phá hủy phụ thuộc vào thời gian hút thuốc. Nicotine và các chất hóa học khác trong thuốc lá ảnh hưởng đến khả năng cơ thể sản xuất estrogen, một hormon của buồng trứng, và làm cho trứng dễ bị bất thường di truyền hơn.

Trong nghiên cứu có 11 trường hợp có tiền sử uống rượu (11%). Uống rượu với lượng nhỏ không hưởng đến các chỉ số trong tinh dịch đồ. Tuy nhiên nếu uống liên tục trong thời gian dài thì có ảnh hưởng [81].

4.1.3. Thể tích tinh hoàn

Theo các chuyên gia y tế, kích thước tinh hoàn là một trong các yếu tố quan trọng đánh giá khả năng sinh sản cũng như phát hiện các vấn đề sức khỏe của nam giới. Chính vì thế, khám tinh hoàn là một việc không thể thiếu đối với bệnh nhân vô sinh nam đặc biệt đối với các trường hợp vô tinh không do tắc.

Qua bảng 3.4 thấy: trung vị thể tích tinh hoàn được mổ là 6mL với 95%CI trong khoảng 6,02 - 7,12 thấp hơn nhiều so với thể tích tinh hoàn trung bình của đàn ông Việt Nam trưởng thành là từ 12 – 30mL [82]. Bệnh nhân có tinh hoàn được mổ lớn nhất là 16mL, bệnh nhân có tinh hoàn được mổ nhỏ nhất là 2mL. Có 6 trường hợp tinh hoàn 4mL khi làm micro TESE vẫn thu được tinh trùng. Như vậy micro TESE mở ra cơ hội thu được tinh trùng cho những đối tượng vô tinh không do tắc có tinh hoàn nhỏ. Theo Bryson C.F. và cs (2014), những bệnh nhân có tinh hoàn < 2mL vẫn thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE. Tác giả cũng khuyến cáo thể tích tinh hoàn được mổ của các bệnh nhân có khả năng thu tinh trùng nằm trong khoảng 1 - 25mL [58].

4.1.4. Xét nghiệm một số hormon

Nồng độ FSH, LH và Testosterone trong máu là một trong các đặc điểm quan trọng của các bệnh nhân vô tinh. Nó là những thông số phản ánh chức năng của tinh hoàn.

Quá trình sinh tinh ở nam giới được điều hòa bằng các hormon sinh sản trong cơ thể. Sự sinh tinh và tổng hợp hormon của tinh hoàn chịu sự điều hòa của vùng dưới đồi và của tuyến yên. Các hormon của tuyến yên đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa hoạt động của tinh hoàn bao gồm FSH, LH,

Testosterone và một số hormon khác. Nồng độ các hormon, đặc biệt là FSH, LH và Testosterone có thể phản ánh phần nào quá trình sinh tinh ở mỗi cá thể, phản ánh chức năng của tinh hoàn. Xét nghiệm nội tiết là một trong những xét nghiệm quan trọng đối với các bệnh nhân vô tinh [27].

Nồng độ FSH:

Kết quả từ bảng 3.5 cho thấy: nồng độ FSH trung bình là $20,30 \pm 12,63$ mIU/mL trong đó nồng độ FSH cao nhất là 62,85mIU/mL, thấp nhất là 1,74mIU/mL. Nồng độ FSH trung bình của bệnh nhân trong nghiên cứu này tăng cao hơn rất nhiều so với chỉ số bình thường trong khoảng từ 2 - 10 mIU/mL. FSH là hormon do tuyến yên tiết ra và có tác dụng kích thích tinh hoàn sản sinh tinh trùng. Khi nồng độ FSH cao chứng tỏ tinh hoàn không còn đáp ứng với kích thích của nội tiết hướng sinh dục, quá trình sinh tinh bị tổn thương và tinh hoàn không còn sinh tinh được nữa. Có thể giải thích đây là nguyên nhân dẫn đến tỷ lệ thu tinh trùng từ tinh hoàn bằng kỹ thuật micro TESE ở những bệnh nhân này kém hơn so với những bệnh nhân có FSH tăng ít hoặc nằm trong giới hạn bình thường và không có điều trị nào được chứng minh là thực sự có hiệu quả.

Khi nồng độ FSH thấp kết hợp LH và Testosterone thấp gợi ý tới nhóm nguyên nhân do suy hạ đồi, tuyến yên, có thể điều trị bằng hCG/hMG kèm theo bromocryptine nếu có kèm prolactin cao. Có đến 2/3 nhóm bệnh nhân này sau điều trị có thể thấy tinh trùng trong tinh dịch [83]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này không chọn đối tượng giảm cả ba chỉ số nội tiết FSH, LH và Testosterone vào nghiên cứu.

Nghiên cứu của Bernie A.M. và cs (2013), nồng độ FSH là một trong những yếu tố có giá trị đánh giá chức năng của tinh hoàn nhưng không phải là yếu tố có giá trị đánh giá khả năng thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE. Trong nghiên cứu này tác giả cũng đưa ra cảnh báo về giá trị tiên lượng của

nồng độ FSH trong máu khi kết hợp với các yếu tố khác [57]. Yavetz H. và cs (2001) đã chia bệnh nhân vô tinh thành 2 nhóm là vô tinh do tắc và vô tinh không do tắc. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ FSH ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc khá cao là $16 \pm 2,3$ mIU/mL [84]. Nghiên cứu của Eken A. và cs (2017) cũng cho thấy các bệnh nhân vô tinh không do tắc có nồng độ FSH cao là $19,04 \pm 7,64$ [61].

4.1.5. Bất thường gen AZF

Trong nghiên cứu có 19/100 (19%) bệnh nhân có bất thường về gen AZF, trong đó bất thường phối hợp chiếm tỷ lệ cao nhất, 42,1%. Đứng thứ 2 là bất thường gen AZFc chiếm tỷ lệ 36,8%. Bất thường AZFb chiếm tỷ lệ 15,8% và thấp nhất là bất thường AZFa, chỉ có 1 trường hợp, chiếm 5,3%.

Nghiên cứu của Dabaja A.A. và cs (2013), tỷ lệ bất thường AZFc là cao nhất [56]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bất thường gen AZFc (36,8%) thấp hơn so với nghiên cứu của Dabaja A.A. và cs và thấp hơn loại bất thường AZF phối hợp có thể do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là những bệnh nhân vô tinh không do tắc còn đối tượng nghiên cứu của Dabaja A.A. là nam giới không có tinh trùng trong tinh dịch nói chung.

4.2. Một số đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh ở bệnh nhân vô tinh không do tắc thu được bằng kỹ thuật micro TESE

4.2.1. Hình thái cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu

4.2.1.1. Mật độ, độ di động, tỷ lệ sống chết và hình thái cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu

Trong 100 bệnh nhân vô tinh không do tắc được thực hiện kỹ thuật micro TESE có 37 ca thu được tinh trùng (37%). Tinh trùng thu được từ những mẫu nghiên cứu này có mật độ rất thấp (54,1% các trường hợp có mật độ tinh trùng < 1 triệu/mL), đa phần là tinh trùng bất động (90,0%), tỷ lệ tinh trùng chết cao (75%) và tỷ lệ hình thái bất thường cao (98,4%).

Mặc dù có nhiều phương pháp nhuộm để đánh giá hình thái tinh trùng như phương pháp Papanicolaou, Giemsa, Hematoxylin - Eosin..., mỗi phương pháp đều có những ưu điểm và nhược điểm riêng nhưng trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp nhuộm Papanicolaou theo WHO (2010) khuyến cáo để đánh giá hình thái vi thể của tinh trùng do phương pháp này phân biệt được rõ nhất cực đầu, vùng sau cực đầu, bào tương, đoạn cổ và đuôi tinh trùng [17]. Số lượng tinh trùng tìm thấy trong mỗi mẫu rất ít nên nhuộm hình thái và đọc ngẫu nhiên 20 tinh trùng ở mỗi mẫu tìm thấy tinh trùng. Bên cạnh đó, dịch thu được của mẫu nghiên cứu thường loãng, độ quán thấp hơn rất nhiều so với cách xuất tinh thông thường nên trong quá trình nhuộm qua các bước của qui trình phải hết sức cẩn thận như: phải để phiến phết thật khô, không xả nước trực tiếp lên phiến phết để tránh trôi tinh trùng trên lam nhuộm. Mục đích là để làm hạn chế tối đa sai số, cho kết quả chính xác nhất.

Hình thái tinh trùng bình thường trong nghiên cứu chỉ chiếm 1,6%, thấp hơn nhiều so với tiêu chuẩn của WHO (2010) là hình dạng tinh trùng bình thường $\geq 4\%$. Bất thường phối hợp của tinh trùng trong nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao, 38,8%. Các bất thường tinh trùng phối hợp là những tinh trùng có bất thường về hình thái nặng. Bất thường hay gặp thứ hai trong nghiên cứu là các bất thường về đầu (30,7%). Các dạng bất thường của tinh trùng tiếp theo lần lượt là bất thường cổ và đoạn trung gian (14,2%) và bất thường đuôi (12,6%). Bào tương còn dư chiếm tỷ lệ thấp nhất 2,1%. Nguyên nhân có tỷ lệ bất thường phối hợp và bất thường đầu cao cũng như tỷ lệ tinh trùng bất thường hình thái nói chung cao, mật độ, độ di động, tỷ lệ sống của tinh trùng thấp là do tinh trùng thu được từ các ống sinh tinh tại tinh hoàn thường chưa trưởng thành hoàn toàn về cấu trúc và chức năng.

Trong hỗ trợ sinh sản, việc chọn lựa những tinh trùng bình thường và khỏe mạnh là vô cùng quan trọng, ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ thành công. Từ lâu hình thái tinh trùng đã được biết đến là một yếu tố dự báo quan trọng cho sự thụ

tinh thành công của IVF cổ điển. Sự lựa chọn hình thái tinh trùng được thực hiện ở độ phóng đại 400 lần, và lý tưởng nhất là tinh trùng có độ di động, và hình thái bình thường [85]. Hình thái tinh trùng cũng được coi là một yếu tố quan trọng trong các trường hợp ICSI. Lựa chọn tinh trùng có hình thái bình thường khi thực hiện kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển hoặc ICSI quyết định rất nhiều đến khả năng thụ thai cũng như chất lượng phôi. Mặc dù một số nghiên cứu không cho rằng có thể sử dụng hình thái tinh trùng như một dấu hiệu tin cậy cho sự phát triển phôi thai và mang thai nhưng có đến > 70% trung tâm đang sử dụng theo cách này [86]. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh vai trò của giao tử đực trong quá trình tạo phôi rất có ý nghĩa và tác động lớn đến sự hình thành phôi thai, khả năng mang thai và sức khỏe của trẻ sinh ra [87].

Barroso G. và cs (2009) cũng cho rằng kết quả thành công phụ thuộc vào chất lượng tế bào mầm (tế bào trứng và tinh trùng). Chọn tinh trùng chất lượng tốt là một bước thiết yếu trong sự phát triển của phôi và rất quan trọng trong vô sinh nam. Tinh trùng không chỉ là phương tiện chuyển DNA mà hiện nay chúng được cho là đóng một vai trò quan trọng trong sự phát triển phôi sớm và muộn [88] nhưng tinh trùng với hình thái bình thường vẫn có thể có sự phân mảnh DNA [89]. Tuy nhiên, một nghiên cứu gần đây lại cho rằng thiếu sự đồng thuận về phân loại hình thái tinh trùng. Bằng chứng hiện tại cho thấy hình thái tinh trùng có giá trị tiên đoán thấp cho sự thành công của thai kỳ, cho cả sinh sản tự nhiên và hỗ trợ sinh sản [90].

Hiện nay, phương pháp tiêm tinh trùng có chọn lọc hình dạng vào bào tương noãn (Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection - IMSI) đã được áp dụng rộng rãi. Phương pháp này đưa ra bởi Bartoov B. và cs (2002) giúp chọn lựa tinh trùng với hình dạng bình thường và không có không bào ở độ phóng đại cao hơn 6.600 lần dựa theo tiêu chuẩn MSOME (Motile Sperm Organellar Morphology Examination). Việc chọn lựa tinh trùng về hình dạng không nhất thiết phải sử dụng hệ thống phóng đại cao kỹ

thuật số, chi phí cao như trên thị trường hiện nay mà về cơ bản, kỹ thuật IMSI cải tiến sử dụng vật kính tương phản pha 40x, kết hợp hệ thống phóng đại phụ có sẵn và chọn lựa tinh trùng bình thường theo hình dạng và sự hiện diện của không bào theo tiêu chuẩn WHO (2010) dưới độ phóng đại trên 6000 lần, dựa trên hệ thống quang học chuẩn của kính hiển vi đảo ngược. Với MSOME bất thường của hình dạng bên ngoài có thể dễ dàng quan sát ở độ phóng đại thấp, tuy nhiên những bất thường như trung tử, không bào và sự hiện diện của những hóc nhỏ ở đầu tinh trùng không thể nhận thấy ở độ phóng đại thấp. Những bất thường này chỉ được phát hiện ở độ phóng đại cao. Dựa trên những tiêu chí này nên tiêu chuẩn MSOME được áp dụng để lựa chọn tinh trùng trong IMSI. Đây là phương pháp hiện đại có khả năng đánh giá hình thái tinh trùng ở độ phóng đại cao mà không cần nhuộm tế bào. Theo đánh giá, phương pháp này giúp phát hiện, lựa chọn được tinh trùng có hình thái bình thường tạo tiền đề cho việc thu được những phôi tốt trong IVF [91].

Cho đến nay, chúng tôi chưa thấy một nghiên cứu nào đánh giá về tỷ lệ bất thường của tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE. Đối với những tinh trùng thu được từ tinh hoàn ở bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng kỹ thuật micro TESE, tỷ lệ tinh trùng bất thường rất cao và số lượng tinh trùng thu được thường rất ít nên quá trình chọn lựa tinh trùng cần được tiến hành một cách cẩn thận bởi những chuyên viên phôi học có kinh nghiệm.

- Về kích thước của tinh trùng thu được trong nghiên cứu:

So sánh kích thước tinh trùng thu được từ tinh hoàn ở bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng kỹ thuật micro TESE trong nghiên cứu này với tiêu chuẩn WHO (2010) chúng tôi thấy: chiều dài đầu, chiều rộng đầu, chiều dài cổ và đoạn trung gian tinh trùng đều tương tự với tiêu chuẩn của WHO (2010); chiều dài tinh trùng và chiều dài đuôi tinh trùng chênh lệch kích thước ít. (Bảng 4.1). Có thể lý giải sự chênh lệch này là do tinh trùng thu được bằng kỹ thuật micro TESE trong nghiên cứu là tinh trùng thu được từ ống sinh tinh

trong tinh hoàn, chưa trưởng thành về mặt cấu trúc và chức năng so với tinh trùng đã được xuất ra ngoài. Ngoài ra tiêu chuẩn của WHO (2010) lấy trên người nam giới bình thường, còn trong nghiên cứu của chúng tôi là trên bệnh nhân vô tinh không do tắc.

Bảng 4.1. So sánh kích thước của tinh trùng thu được trong nghiên cứu với tiêu chuẩn của WHO (2010)

Kích thước tinh trùng	Trong nghiên cứu	WHO (2010)
Chiều dài tinh trùng (μm)	52,40	53,10
Chiều dài đầu tinh trùng (μm)	4,13	4,10
Chiều rộng đầu tinh trùng (μm)	2,73	2,80
Chiều dài đầu/chiều rộng đầu (lần)	1,49	1,50
Chiều dài đoạn cổ và đoạn trung gian (μm)	4,08	4,00
Chiều dài đuôi tinh trùng (μm)	44,36	45,00
Chiều dài đuôi/chiều dài đầu (lần)	10,69	> 10

4.2.1.2. Siêu cấu trúc tinh trùng thu được ở bệnh nhân nghiên cứu

Nghiên cứu hình thái siêu cấu trúc tinh trùng thu được từ tinh hoàn của bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng kỹ thuật micro TESE chúng tôi nhận thấy:

Trên các mẫu tìm được tinh trùng, bên cạnh các tinh trùng có cấu tạo trưởng thành là một số tinh tử đang phát triển. Có thể thấy các bất thường về hình thái của tinh trùng, đặc biệt là bất thường về đầu. Đa số bất thường về đầu tinh trùng được biểu hiện là màng tế bào ở phần đầu nhăn nhúm, thậm chí không liên tục, túi cực đầu có hình dạng méo mó bất thường, đặc biệt thấy hình ảnh nhân phân thùy. Ở nhân một số tinh trùng, chất nhiễm sắc tụ đặc đồng nhất, có những vùng khuyết thể hiện bằng mật độ điện tử thấp. Một số

tinh trùng thấy phần cổ bào tương dày. Ở vùng đuôi tinh trùng thấy ty thể mất các nếp gấp, màng ty thể dày. Những điều này chỉ ra rằng tinh trùng thu được từ các ống sinh tinh đang trong quá trình trưởng thành hay nói cách khác là các ống sinh tinh có nhiệm vụ hoàn thiện về cấu trúc cũng như chức năng trong quá trình trưởng thành của tinh trùng.

4.2.2. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh ở bệnh nhân nghiên cứu

4.2.2.1. Hình thái cấu trúc ống sinh tinh

- *Đặc điểm mô bệnh học:*

Trong 100 bệnh nhân nghiên cứu, tổn thương mô bệnh học chủ yếu là Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, chiếm 50%; tiếp đến là giảm sinh tinh, dừng sinh tinh nửa chừng và nhóm hyalin hóa, tương ứng là 27%; 12% và 11%.

+ Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli (SCOS):

Ở bệnh nhân này không thấy có tế bào dòng tinh trong ống sinh tinh. Trong ống sinh tinh chỉ có duy nhất tế bào Sertoli. Màng đáy ống sinh tinh bình thường, đường kính ống sinh tinh có thể bình thường hoặc giảm, mô kẽ cấu trúc bình thường. Tế bào Sertoli đã được chứng minh là có vai trò bảo vệ, dinh dưỡng cho các tế bào dòng tinh. Đồng thời, tế bào Sertoli cũng tiết ra inhibin B điều hòa quá trình sinh tinh trong tinh hoàn. Đây là một dạng tổn thương hết sức nặng nề và là hậu quả của rất nhiều nguyên nhân khác nhau như: rối loạn chức năng tuyến yên, tinh hoàn lạc chỗ, sau hóa trị liệu, sau điều trị oestrogen kéo dài [92].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, SCOS chiếm 50%. Trịnh Thế Sơn (2011) nghiên cứu trên 309 bệnh nhân vô tinh không do tắc thấy có 165 bệnh nhân thuộc hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, chiếm 53,39% [74]. Momen M.N. và cs (1984) nghiên cứu 1075 bệnh nhân vô tinh thấy: trong số bệnh nhân vô tinh không do tắc thì hội chứng chỉ có tế bào Sertoli chiếm 66% [93]. Turek P.J. và cs (1995) nghiên cứu trên 652 bệnh nhân vô tinh thấy chỉ có 13% thuộc hội chứng chỉ có tế bào Sertoli [94]. So sánh với các

kết quả nghiên cứu khác nhau thấy tỷ lệ bệnh nhân thuộc hội chứng chỉ có tế bào Sertoli ở các nghiên cứu là khác nhau, tuy nhiên đa phần đều chiếm tỷ lệ cao trong nhóm nghiên cứu.

+ Dừng sinh tinh nửa chừng (MA):

Dừng sinh tinh nửa chừng là quá trình sinh tinh bị dừng lại ở một giai đoạn nào đó, nhưng mật độ các loại tế bào không đổi. Khi ngưng trệ ở giai đoạn muộn thường dừng ở tinh tử, ở giai đoạn sớm thường ở tinh bào I hoặc II, nhưng không bao giờ có tinh trùng trưởng thành. Dừng sinh tinh nửa chừng thường thấy trong các bệnh nhân vô tinh không do tắc.

Trong nghiên cứu, dừng sinh tinh nửa chừng chiếm 12%, trong đó chủ yếu dừng lại ở giai đoạn tinh bào I, tinh bào II. Tỷ lệ dừng lại ở tinh tử rất thấp. Mặc dù đã có nghiên cứu báo cáo về khả năng nuôi cấy tinh tử thành tinh trùng và cho ra đời những đứa trẻ từ việc nuôi cấy tinh tử. Song thực tế, tỷ lệ nuôi cấy thành công rất thấp, chi phí tốn kém.

+ Giảm sinh tinh (HS):

Giảm sinh tinh biểu hiện bằng sự giảm toàn bộ các tế bào dòng tinh ở các giai đoạn khác nhau, cụ thể là biểu mô sinh tinh thấp, đường kính ống sinh tinh nhỏ, nhưng biểu mô ống sinh tinh có đầy đủ các giai đoạn của tế bào dòng tinh. Biểu mô ống sinh tinh, các tế bào dòng tinh sắp xếp không theo trật tự, có thể thấy các tế bào dòng tinh chưa trưởng thành xuất hiện trong lòng ống sinh tinh. Quá trình này có thể dẫn đến vô tinh hay thiếu năng tinh trùng. Người ta có thể chia loại tổn thương này thành các mức độ nặng, vừa, nhẹ. Dạng tổn thương này thường kết hợp với dừng sinh tinh nửa chừng. Nhiều nghiên cứu cho thấy bệnh nhân có tổn thương phối hợp lên đến 55% các trường hợp.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, giảm sinh tinh chiếm 27%. Trong tổng số 27 bệnh nhân này, có những ống sinh tinh tìm được rất nhiều tinh trùng (khoảng 30 tinh trùng), cũng có những ống chỉ thấy một vài tinh trùng. Việc

tìm thấy tinh trùng trong lòng ống sinh tinh đã mở ra cơ hội cho các bệnh nhân vô tinh không do tắc có cơ hội có con của chính mình.

Ngoài ra còn thấy cấu trúc tinh hoàn ở các bệnh nhân nghiên cứu bị tổn thương rất trầm trọng, mức độ tổn thương không đồng đều giữa các ống sinh tinh, đặc điểm tổn thương cũng rất đa dạng và có thể thấy đầy đủ các tổn thương như mô tả của Jequier A.M. và cs (1993) [31].

- *Bán định lượng mức độ thoái hóa ống sinh tinh:*

Mức độ thoái hóa ống sinh tinh đánh giá theo phương pháp của Johnsen (1970) thang điểm từ 1 đến 10 thấy: trung vị điểm Johnsen của nhóm không có tinh trùng thấp hơn 6 điểm so với nhóm có tinh trùng (2 so với 8 điểm) với $p < 0,001$ (bảng 3.17).

Trịnh Thế Sơn (2011) cho kết quả bán định lượng mức độ thoái hóa ống sinh tinh của các bệnh nhân vô tinh không do tắc với điểm Johnsen trung bình được là: $3,31 \pm 2,19$ và ở bệnh nhân vô tinh do tắc là $7,70 \pm 1,49$ [74]. Theo Alukal J. P. và cs (2009) điểm trung bình của một bán định lượng trên tiêu bản sinh thiết tinh hoàn của người bình thường là 9,38 [68]. Bên cạnh đó, theo Holstein A.F. và cs (2003) cho rằng ở người bình thường trưởng thành điểm Johnsen nhỏ nhất là 8 [95]. Li G. và cs (2004) nghiên cứu trên 112 bệnh nhân vô tinh cho thấy điểm Johnsen cho các mẫu tinh hoàn sinh thiết có liên quan chặt chẽ đến nguyên nhân và sinh bệnh học của bệnh nhân vô tinh [76].

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ bán định lượng tình trạng thoái hóa ống sinh tinh của nhóm bệnh nhân vô tinh không do tắc thấp hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân vô tinh do tắc và thấp hơn những người bình thường. Trung vị điểm Johnsen của bệnh nhân nghiên cứu là 2 điểm, so với thang điểm tối đa là 10 có thể thấy rằng tinh hoàn của bệnh nhân trong nghiên cứu bị tổn thương rất trầm trọng, đặc biệt ở nhóm không tìm thấy tinh trùng trong ống sinh tinh.

- Đường kính ống sinh tinh và độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh:

Đường kính ống sinh tinh và độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh là một trong các chỉ tiêu quan trọng đánh giá sự biến đổi mô bệnh học của tinh hoàn.

Trung vị đường kính ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 127,40 μm với 95%CI trong khoảng 122,03 - 124,38. Trong đó đường kính ống sinh tinh lớn nhất là 210,20 μm và đường kính ống sinh tinh nhỏ nhất là 46,50 μm (bảng 3.18).

Nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011), đường kính ống sinh tinh trung bình của nhóm vô tinh không do tắc là $115,73 \pm 52,14\mu\text{m}$; của nhóm vô tinh do tắc là $142,21 \pm 50,88\mu\text{m}$ [74]. Holstein A.F. và cs (2003) cho rằng: ở người bình thường, trưởng thành, đường kính ống sinh tinh nhỏ nhất là 180 μm [95]. Theo Đỗ Kính (2002) thì đường kính ống sinh tinh ở người bình thường là từ 150 – 200 μm [15]. Như vậy, đường kính ống sinh tinh của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011) ở nhóm vô tinh không do tắc nhưng lại thấp hơn ở nhóm vô tinh do tắc và thấp hơn ở người bình thường. Điều này chứng tỏ đường kính ống sinh tinh ở những bệnh nhân vô tinh đều có tình trạng teo nhỏ so với bình thường, trong đó mức độ teo ở nhóm vô tinh không do tắc trầm trọng hơn.

Trung vị độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 10,70 μm với 95%CI trong khoảng 10,84 - 11,13. Trong đó độ dày lớp vỏ xơ lớn nhất là 25,70 μm và nhỏ nhất là 4,40 μm (bảng 3.18). Như vậy, độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của các bệnh nhân nghiên cứu rất khác nhau. Có thể là do ở các bệnh nhân có sự khác nhau về thời gian và nguyên nhân vô tinh. Kết quả trong nghiên cứu này cao hơn so với nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011), độ dày trung bình của lớp vỏ xơ ống sinh tinh của bệnh nhân nhóm vô tinh không do tắc là $7,22 \pm 3,25\mu\text{m}$; của nhóm vô tinh do tắc là $4,35 \pm 2,17\mu\text{m}$ [74]. Nguyên nhân tăng độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh là do tăng chiều dày màng đáy và mô liên kết quanh màng đáy. Tổn thương này làm cho

Testosterone khó khăn thấm qua để kích thích sinh tinh, từ đó làm ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh.

McVicar C.M. và cs (2005) đã nghiên cứu cấu trúc tinh hoàn người bình thường cho thấy chiều dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh là $4,86 \pm 0,34\mu\text{m}$ [70]. Qua đó có thể thấy, độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh ở bệnh nhân vô tinh tăng đáng kể so với người bình thường trưởng thành, điều này biểu hiện sự biến đổi lớn về cấu trúc tinh hoàn của các bệnh nhân nhóm này. Đặc biệt khi so sánh ở nhóm mô thu được tinh trùng và không thu được tinh trùng thấy trung vị đường kính ống sinh tinh của nhóm không có tinh trùng thấp hơn $28,10\mu\text{m}$ so với nhóm có tinh trùng ($112,20\mu\text{m}$ so với $140,30\mu\text{m}$) ($p < 0,001$) (bảng 3.19). Trung vị độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh của nhóm không có tinh trùng cao hơn $2,55\mu\text{m}$ so với nhóm có tinh trùng ($11,60\mu\text{m}$ so với $9,05\mu\text{m}$) với $p < 0,001$.

- *Số lượng trung bình từng loại tế bào ở ống sinh tinh bệnh nhân nghiên cứu:*

Kết quả bảng 3.20 cho thấy: tế bào Sertoli và tinh nguyên bào là những tế bào chiếm số lượng lớn nhất trong biểu mô ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu. Tinh tử và tinh trùng là những loại tế bào có số lượng rất ít ở bệnh nhân nhóm này.

+ Tế bào Sertoli: trung vị số lượng tế bào Sertoli trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 10 tế bào với 95%CI trong khoảng 10,72 - 11,48. Trịnh Thế Sơn (2011) nghiên cứu ở những bệnh nhân vô tinh không do tắc cho thấy số lượng tế bào Sertoli trên ống sinh tinh cắt ngang là $12,31 \pm 7,23$ và ở những bệnh nhân vô tinh do tắc là $17,00 \pm 3,72$ [74]. Kimura M. và cs (2003) thấy ở người bình thường trưởng thành, số lượng tế bào Sertoli trên một ống sinh tinh cắt ngang là $20,9 \pm 4,0$ và ở người lớn tuổi, số lượng tế bào Sertoli giảm đáng kể [73]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như của một số tác giả cho thấy số lượng tế bào Sertoli giảm ở tất cả các bệnh nhân vô tinh, trong đó giảm nhiều hơn ở nhóm vô tinh

không do tắc. Điều đó chứng tỏ khi vô tinh do các nguyên nhân khác nhau đều ít nhiều có sự thoái hóa ống sinh tinh dẫn đến suy giảm các tế bào trên biểu mô tinh.

+ Với tinh nguyên bào: trung vị số lượng tinh nguyên bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 0 tế bào với 95%CI là: 4,24 - 5,00. Kết quả nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011), ở nhóm vô tinh không do tắc, số lượng tinh nguyên bào trung bình là $5,71 \pm 4,93$ [74]. Theo Kerr J. và cs (2006), ở người bình thường số lượng tinh nguyên bào trên ống sinh tinh cắt ngang là 35 [96]. Như vậy, ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc quá trình sinh tinh giảm rất nhiều, số lượng tinh nguyên bào giảm hơn 8 lần so với người bình thường.

+ Đối với tinh bào: trung vị số lượng tinh bào trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 0 tế bào với 95%CI là: 3,05 - 3,82. So với nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011), số lượng tinh bào trên một ống sinh tinh cắt ngang ở nhóm vô tinh không do tắc là $12,28 \pm 11,47$ thì thấy tỷ lệ tinh bào trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn do nghiên cứu của chúng tôi tính trung bình trên 2000 ống sinh tinh cắt ngang, trong đó tỷ lệ ống sinh tinh không có tinh bào chiếm tới 63%. Với nhóm vô tinh do tắc, nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn số lượng tinh bào trung bình trên một mặt cắt ngang của ống sinh tinh là $45,29 \pm 16,94$ [74]. Kerr J. và cs (2006) cho rằng: ở người bình thường số lượng tinh bào trên một ống sinh tinh cắt ngang là 50 [96]. Như vậy, số lượng tinh bào trong nghiên cứu của chúng tôi giảm nhiều so với nghiên cứu của các tác giả trên cả ở bệnh nhân vô tinh do tắc và không do tắc cũng như người bình thường. Điều này chứng tỏ tổn thương mô tinh hoàn ở những bệnh nhân vô tinh không do tắc trong nghiên cứu của chúng tôi là rất trầm trọng. Có thể lý giải cho nguyên nhân này là do thời gian tổn thương tinh hoàn kéo dài không được phát hiện và điều trị, một số có bất thường di truyền bẩm sinh...

+ Với tinh tử: trung vị số lượng tinh tử trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 0 tế bào với 95%CI là: 1,15 - 1,43. Nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn (2011) ở nhóm vô tinh không do tắc số lượng trung bình các tế bào tinh tử trên một ống sinh tinh cắt ngang là $0,52 \pm 0,48$, ở nhóm vô tinh do tắc là $4,09 \pm 3,95$ [74]. Theo Kerr J. và cs (2006) thì số lượng tinh tử trên một ống sinh tinh cắt ngang ở người bình thường trưởng thành là 17 - 35 tế bào [96]. Như vậy, số lượng tinh tử trong nghiên cứu này giảm đáng kể và thấp hơn nhiều so với người bình thường trưởng thành.

+ Về tinh trùng: khi nghiên cứu trên tiêu bản nhuộm HE để đếm các tế bào dòng tinh, chúng tôi chỉ thấy được tinh trùng trong lòng ống sinh tinh ở 27 mẫu nghiên cứu. Trung vị số lượng tinh trùng trên một mặt cắt ngang ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu là 0 tế bào với 95%CI là: 1,39 - 1,80.

Bảng 3.21 cho thấy: có sự khác biệt trung vị số lượng từng loại tế bào giữa 2 nhóm có và không có tinh trùng ($p < 0,001$). Trung vị số lượng tế bào Sertoli của nhóm không có tinh trùng cao hơn hơn 4 tế bào so với nhóm có tinh trùng (12 so với 8). Trung vị số lượng tinh nguyên bào và số lượng tinh bào của nhóm không có tinh trùng thấp hơn so với nhóm có tinh trùng. Điều này chứng tỏ ống sinh tinh ở nhóm không tìm thấy tinh trùng tổn thương trầm trọng, phù hợp với tổn thương mô bệnh học đã nghiên cứu ở trên.

Như vậy, thông qua đếm các tế bào trong biểu mô tinh cũng như so sánh với các nghiên cứu khác, chúng tôi thấy rằng: ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau và thời gian tổn thương tinh hoàn dài ngắn khác nhau nhưng đều gây ra tình trạng suy giảm quá trình sinh tinh, dẫn đến suy giảm số lượng tế bào dòng tinh. Đặc biệt quá trình sinh tinh diễn ra không đều ở các bệnh nhân cũng như ở các vị trí khác nhau trên một bệnh nhân.

4.2.2.2. Đặc điểm hình thái siêu cấu trúc ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu

- Lớp vỏ xơ ống sinh tinh:

Qua nghiên cứu thấy: đa số các trường hợp, độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh tăng lên. Biểu hiện của cấu trúc này là các bó sợi collagen và các tế bào liên kết tăng lên cả về số lượng và kích thước (hình 3.4). Sự dày lên của lớp vỏ xơ ống sinh tinh thường đi kèm với sự xuất hiện nhiều tế bào Mast ở lớp này do tế bào Mast còn có tác dụng hoạt hoá nguyên bào sợi và kích thích tổng hợp collagen.

Hình ảnh tế bào Mast quan sát được chủ yếu là các tế bào có dạng kéo dài với nhiều hạt chế tiết trong bào tương. Hình ảnh này cũng được Abalkhail A. và cs (2003) mô tả khi nghiên cứu tinh hoàn ở các bệnh nhân có tinh hoàn lạc chỗ [97]. Sự tăng độ dày lớp vỏ xơ ống sinh tinh và sự xuất hiện các tế bào Mast có mối quan hệ mật thiết với nhau. Hơn nữa, tế bào Mast có chứa tryptase, một yếu tố tăng trưởng của nguyên bào sợi (fibroblast growth factor), từ đó làm tăng số lượng collagen và các tế bào liên kết ở lớp vỏ xơ ống sinh tinh dẫn đến làm tăng độ dày lớp vỏ xơ này [98]. Như kết luận của Camatini M. và cs (1978), nghiên cứu siêu cấu trúc tinh hoàn các bệnh nhân vô tinh cho thấy thành ống sinh tinh dày lên do xuất hiện nhiều sợi collagen và số lượng các tế bào liên kết [99].

Theo Apa D.D. và cs (2002), Roaiah M.M.F. và cs (2007), ở người có quá trình sinh tinh bất thường thì có sự tăng sinh số lượng tế bào Mast, đặc biệt ở vùng vỏ xơ ống sinh tinh [100], [101]. Cayan S. và cs (2002) cho rằng: sự xuất hiện của các tế bào Mast đó là biểu hiện của sự viêm, xơ hoá. Tế bào Mast là các tế bào có khả năng sản xuất histamin, serotonin [102]. Các tác giả này đã cho các bệnh nhân đó dùng fexofenadine (một chất ức chế tế bào Mast) và đã nhận thấy có sự cải thiện đáng kể số lượng và chất lượng tinh trùng sau điều trị.

Jezek D. và cs (1999) tiến hành nghiên cứu tinh hoàn các bệnh nhân vô sinh nam thấy có sự liên quan mật thiết giữa các yếu tố như thể tích tinh hoàn,

số lượng tế bào Mast và điểm Johnsen [103]. Cayan S. và cs (2002) đã chứng minh rằng: chức năng sinh sản của tinh hoàn liên quan chặt chẽ đến sự tăng số lượng tế bào Mast trong mô tinh hoàn [102].

- *Đường kính ống sinh tinh:*

Đa phần ống sinh tinh của các bệnh nhân nghiên cứu có kích thước to nhỏ không đều, nhiều ống sinh tinh teo nhỏ, điều đó chứng tỏ quá trình sinh tinh suy giảm rất nhiều.

- *Tế bào dòng tinh:*

Trong 15 mẫu làm siêu cấu trúc, chúng tôi chỉ quan sát được 2 mẫu có tinh trùng trong ống sinh tinh; 02 mẫu có tinh tử; 03 mẫu có tinh bào và 03 mẫu chỉ có tế bào Sertoli. Cá biệt có 3 mẫu không tìm thấy các tế bào trong biểu mô tinh. Điều này cũng phù hợp với kết quả khi quan sát ống sinh tinh dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM): với những mẫu tìm thấy tinh trùng, ống sinh tinh có biểu mô tinh dày, lòng ống sinh tinh không rõ (hình 3.6); với những mẫu không tìm thấy tế bào dòng tinh, lòng ống sinh tinh rất rộng, thành ống sinh tinh mỏng (hình 3.5).

Khi nghiên cứu biểu mô tinh, hầu hết chỉ quan sát thấy tinh nguyên bào, tinh bào I và tế bào Sertoli, không thấy tinh tử, tinh trùng. Có những ống sinh tinh chỉ có tế bào Sertoli. Một số ít tiêu bản có thể thấy tinh tử, tinh trùng. Bên cạnh các cấu trúc bình thường, nhận thấy các cấu trúc bất thường, đa số là bất thường về đầu. Đối với tinh tử, tinh trùng bất thường ở đầu với biểu hiện màng tế bào ở phần đầu nhăn nhúm, thậm chí không liên tục, túi cực đầu có hình dạng méo mó bất thường, đặc biệt có thể thấy hình ảnh nhân phân thùy. Một số ít bệnh nhân có thể quan sát các giai đoạn biệt hóa của tinh tử. Bình thường dưới kính hiển vi điện tử, các tinh tử trưởng thành và các tinh trùng xuất hiện túi cực đầu, chất nhiễm sắc tụ đặc lại đồng nhất, màng nhân và màng tế bào liên tục. Ở nhân một số tế bào, chất nhiễm sắc tụ đặc không

đồng nhất, có những vùng khuyết thể hiện bằng vùng mật độ điện tử thấp. Các hình ảnh này là kết quả của sự biến đổi chất nhuộm sắc của các tế bào này tại biểu mô ống sinh tinh.

- *Tế bào Sertoli:*

Trên 1 thiết diện cắt ngang tế bào Sertoli ở người bình thường trưởng thành, bào tương tế bào Sertoli bao gồm các bào quan thông thường. Tế bào Sertoli có hình trụ kéo dài từ màng đáy đến lòng ống sinh tinh, ở vùng bào tương gần màng đáy có nhiều vi thể xếp song song nhau, có nhiều giọt mỡ trong bào tương. Ở khu vực đỉnh tế bào có hệ thống lưới nội bào có hạt và bộ máy Golgi. Tế bào Sertoli xuất hiện nhiều nhánh bào tương. Nhân tế bào Sertoli lớn nằm gần màng đáy, có hình tháp, sáng màu (vì chứa ít chất nhuộm sắc); có ba hạt nhân lớn và rõ rệt. Màng nhân có nhiều vết lõm vào tạo hình ảnh đặc trưng.

+ Ở các bệnh nhân có tinh trùng trong các ống sinh tinh, chiếm 37% số bệnh nhân nghiên cứu (tinh trùng tìm thấy sau khi mẫu mô được ly giải bằng collagenase), các tế bào Sertoli cũng có cấu trúc tương tự như các tế bào Sertoli ở nhóm không có tinh trùng trong ống sinh tinh.

+ Ở các bệnh nhân còn lại (chiếm 63%), các tế bào Sertoli có cấu trúc của tế bào Sertoli giảm hoạt động chức năng. Biểu hiện của sự khác biệt này được thể hiện ở cả nhân và bào tương tế bào, nhưng đặc trưng nhất vẫn là nhân tế bào Sertoli.

- Nhân có hình tròn hay hình bầu dục và thường kéo dài, hướng về phía lòng ống sinh tinh. Màng nhân không gấp nếp, hạt nhân có thể thấy hoặc không thấy. Nhân tế bào Sertoli thường có kích thước nhỏ và có nhiều trường hợp, nhân tế bào nằm xa màng đáy.

- Bào tương không phân cực. Các bào quan thưa thớt biểu hiện tế bào Sertoli giảm hoạt động chức năng.

+ Các thể thực bào trong bào tương tế bào Sertoli:

Quan sát dưới kính hiển vi điện tử, chúng tôi nhận thấy: các thể thực bào có kích thước lớn chỉ xuất hiện ở trong các tế bào Sertoli có hoạt động chức năng bình thường. Ngược lại, trong các tế bào Sertoli giảm hoạt động chức năng không bao giờ xuất hiện các thể thực bào.

4.2.3. Sự khác nhau về kết quả tìm thấy tinh trùng ở các vị trí sinh thiết

Khi thực hiện kỹ thuật micro TESE chúng tôi tiến hành sinh thiết ở nhiều vị trí khác nhau, sử dụng với các mục đích: (1) tiến hành tìm tinh trùng và đánh giá đặc điểm, hình thái tinh trùng thu được sau khi mẫu được ly giải bằng collagenase; (2) tiến hành nhuộm HE nghiên cứu mô bệnh học biểu mô tinh; (3) mẫu mô được làm tiêu bản siêu cấu trúc đánh giá hình thái siêu cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh bằng kỹ thuật hiển vi điện tử truyền qua và kỹ thuật hiển vi điện tử quét. Kết quả, trong 100 mẫu nghiên cứu có 37 mẫu (chiếm 37%) tìm được tinh trùng sau khi ly giải mẫu mô bằng collagenase. Trong khi đó, chỉ có 27 mẫu (chiếm 27%) tìm thấy được tinh trùng trong lòng ống sinh tinh sau khi nhuộm HE. Đặc biệt trong 15 mẫu mô làm tiêu bản siêu cấu trúc quan sát trên kính hiển vi điện tử truyền qua và kính hiển vi điện tử quét (trong đó có 8/15 mẫu đã tìm thấy tinh trùng sau khi ly giải bằng collagenase) thì chỉ có 2 mẫu (2/15, chiếm 13,33%) tìm được tinh trùng trong biểu mô tinh. Tuy nhiên với 15 mẫu mô làm tiêu bản siêu cấu trúc chưa đại diện hết được kết quả cho nhóm nghiên cứu.

Lý giải cho hiệu quả thu tinh trùng cao nhất ở mẫu ly giải bằng collagenase là do trong quá trình tiến hành micro TESE, chúng tôi thường chọn những vị trí có ống sinh tinh tốt nhất để cho ly giải. Ở 15 mẫu làm siêu cấu trúc, có 8 mẫu chúng tôi tìm thấy tinh trùng khi ly giải bằng collagenase nhưng chỉ 2 trong 8 mẫu này tìm thấy tinh trùng trên hình ảnh siêu cấu trúc. Như vậy, với kết quả tìm thấy tinh trùng bằng 3 phương pháp trên khác nhau càng chứng tỏ quá trình sinh tinh trong tinh hoàn xảy ra không đồng đều. Kỹ thuật micro

TESE sẽ giúp lựa chọn được vị trí ống sinh tinh tốt nhất. Chính vì vậy, đòi hỏi phẫu thuật viên phải có kinh nghiệm và nên bộc lộ rộng mô tinh hoàn để chọn được những vị trí tối ưu. Tuy nhiên, khi bộc lộ rộng có thể làm tổn thương mô kẽ tinh hoàn dẫn đến chức năng tinh hoàn suy giảm sau phẫu thuật.

4.3. Hiệu quả thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc

4.3.1. Tỷ lệ thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc

Hiện nay trên thế giới micro TESE là phương pháp thu tinh trùng hiệu quả từ tinh hoàn được tiến hành phổ biến cho các bệnh nhân vô tinh không do tắc. Theo các tác giả, đây là một phương pháp an toàn, khối lượng mô tinh hoàn lấy đi ít do đó ít ảnh hưởng đến chức năng của tinh hoàn sau phẫu thuật. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 37/100 trường hợp (37%) tìm được tinh trùng nhờ kỹ thuật này. Sau khi mẫu mô tinh hoàn thu được dưới kính hiển vi vi phẫu sẽ được đưa vào dung dịch collagenase type IA để các tế bào dòng tinh tách ra khỏi thành ống sinh tinh. Sau đó ly tâm lấy cặn soi tìm tinh trùng. Đây là một quy trình đầu tiên triển khai tại Việt Nam thay cho quá trình xử lý mô tinh hoàn bằng hai lam kính hay hai kim tiêm đầu tù. Dabaja A.A. và cs (2013) đã khuyến cáo nên dùng các enzym để xử lý mẫu mô tinh hoàn giúp tăng cơ hội thu tinh trùng từ mẫu mô thu được [56]. Quá trình sử dụng collagenase để ly giải mất nhiều thời gian nhưng dễ thực hiện, và không làm hỏng tế bào.

Theo Schlegel N.P. (1999), micro TESE mang lại khả năng thu tinh trùng từ tinh hoàn cao do dưới kính hiển vi phẫu có thể lựa chọn các ống sinh tinh có khả năng có chứa tinh trùng. Bên cạnh đó, micro TESE giúp làm giảm sự thương tổn cũng như giảm thiểu sự ảnh hưởng đến chức năng tinh hoàn do làm giảm tối đa thể tích mô tinh hoàn bị lấy đi, có khả năng tránh chảy máu. Khả năng thu tinh trùng bằng phương pháp micro TESE đạt 63%, phụ thuộc

vào kỹ thuật tiến hành và kỹ thuật của Labo [49]. Bryson C.F. và cs (2014), cho thấy tỷ lệ này đạt 50% - 60% [58]. Dabaja A.A. và cs (2013) kết luận micro TESE là phương pháp thu tinh trùng ít xâm lấn, an toàn, tỷ lệ thu tinh trùng cao và chức năng tinh hoàn không thay đổi sau thủ thuật. Tỷ lệ thu tinh trùng trên những bệnh nhân vô tinh không do tắc bằng kỹ thuật micro TESE cho kết quả cao hơn so với TESE thông thường đặc biệt là trong phân nhóm mô bệnh học hội chứng chỉ có tế bào Sertoli. Hơn nữa, micro TESE có tỷ lệ biến chứng thấp hơn so với các phương pháp thu tinh trùng khác từ tinh hoàn. Khi so sánh những thay đổi cấu trúc tinh hoàn dựa trên siêu âm ở những bệnh nhân đã được thực hiện micro TESE so với những phương pháp thu tinh trùng khác từ tinh hoàn thì ở nhóm được làm micro TESE thấy tinh hoàn có ít thay đổi cấp tính và mãn tính hơn. Kỹ thuật micro TESE có hiệu quả rõ ở những trường hợp bị hội chứng Klinefelter, tinh hoàn lạc chỗ, tiền sử dùng hóa trị, mất đoạn nhỏ trên nhiễm sắc thể Y (AZFc) hoặc ở các trường hợp vô tinh không do tắc không rõ nguyên nhân [56].

So sánh tỷ lệ thu được tinh trùng ở nghiên cứu này với một số nghiên cứu khác thì tỷ lệ thu được tinh trùng trong nghiên cứu của chúng tôi còn thấp hơn (bảng 4.2). Sự khác biệt này có thể do tiêu chuẩn chọn bệnh nhân, cỡ mẫu nghiên cứu ngoài ra còn phụ thuộc cơ sở phẫu thuật và kinh nghiệm của phẫu thuật viên. Hơn nữa đây là một qui trình mới được áp dụng tại Việt Nam. Tuy nhiên, so với tỷ lệ thu tinh trùng từ tinh hoàn bằng phương pháp TESE ở bệnh nhân vô tinh không do tắc được công bố bởi Trịnh Thế Sơn và cs (2015) thì phương pháp micro TESE là phương pháp thu tinh trùng từ tinh hoàn hiệu quả hơn hẳn (37% so với 23,3%) [104]. Như vậy, với sự thành công của phương pháp micro TESE đã góp phần nâng cao chất lượng, hiệu quả điều trị vô sinh nói chung, vô sinh nam nói riêng và mang lại cơ hội cho các bệnh nhân vô tinh không do tắc có thể có con của chính mình.

Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ thu được tinh trùng bằng phương pháp micro TESE trong nghiên cứu với một số nghiên cứu khác

Các nghiên cứu	Tỷ lệ thu được tinh trùng (%)	Tài liệu tham khảo
Schlegel N.P. (1999)	63	[49]
Bryson C.F. và cs (2014)	50 - 60	[58]
Esteves S.C. và cs (2014)	41,4	[105]
Velasquez M. và cs (2014)	56,9	[22]
Alrabeeah K. và cs (2015)	56	[106]
Ashraf M.C. và cs (2013)	40 - 50	[107]
Göktolga M. và cs (2015)	52,7	[108]
Ran R. và cs (2016)	40 - 60	[109]
Franco G. và cs (2016)	28,1	[110]
Eken A. và cs (2017)	65,5	[61]
An G. và cs (2018)	48.7	[111]
<i>Vũ Thị Thu Trang</i>	37	

4.3.2. Liên quan của một số yếu tố với khả năng thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

4.3.2.1. Liên quan giữa tuổi, phân nhóm tuổi, thời gian vô sinh, phân nhóm thời gian vô sinh với khả năng thu được tinh trùng

Không có mối liên quan giữa tuổi, phân nhóm tuổi với khả năng thu được tinh trùng ở bệnh nhân nghiên cứu ($p > 0,05$). Kết quả này tương tự nhiều nghiên cứu khác như: Ghalayini I.F. và cs (2011), tuổi không ảnh hưởng đáng kể đến việc thu tinh trùng ở cả micro TESE hoặc TESE [55]; Ramasamy R. và cs (2014), nghiên cứu trên 605 bệnh nhân thực hiện micro TESE thấy tuổi không ảnh hưởng tới kết quả thu tinh trùng [112]; theo Bryson C.F. và cs (2014), trường hợp duy nhất cần quan tâm tới tuổi của bệnh nhân đó là trên bệnh nhân Klinefelter. Khi bệnh nhân < 30 tuổi tỷ lệ thu tinh

trùng cao hơn hẳn so với nhóm > 30 tuổi (81,8% so với 33%, $p < 0,01$) [58]; theo Eken A. và cs (2017), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi, thể tích tinh hoàn, nồng độ hormon ở nhóm thu được tinh trùng và không thu được tinh trùng. Có 4/7 trường hợp Klinefelter tìm thấy tinh trùng bằng micro TESE và một trường hợp nhiễm trùng tại vị trí vết mổ. Theo các tác giả, micro TESE là một quy trình an toàn giúp cho những trường hợp vô tinh không do tác có cơ hội làm cha [61].

Nghiên cứu không thấy có mối liên quan giữa thời gian vô sinh với khả năng thu được tinh trùng ($p > 0,05$). Tuy nhiên, xét trên 37 bệnh nhân thu được tinh trùng thì số bệnh nhân có thời gian vô sinh < 5 năm thu được tinh trùng là nhiều nhất (21 trường hợp) và số bệnh nhân có thời gian vô sinh từ 10 năm trở lên thu được tinh trùng thấp nhất (4 trường hợp). Có thể lý giải kết quả này là do thời gian vô sinh càng lâu, tuổi bệnh nhân càng tăng sẽ ảnh hưởng phần nào tới chức năng tinh hoàn và quá trình sinh tinh và tăng nguy cơ kèm theo bệnh lý khác. Vì vậy cần tư vấn cho người bệnh đi khám, phát hiện và điều trị bệnh sớm.

4.3.2.2. Liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ với khả năng thu được tinh trùng

Trong nghiên cứu thấy có mối liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ $\geq 7\text{mL}$ với việc thu được tinh trùng của kỹ thuật micro TESE ($p < 0,05$). Những đối tượng có thể tích tinh hoàn được mổ $\geq 7\text{mL}$ có khả năng tìm thấy tinh trùng cao hơn (48,8%) so với nhóm có thể tích tinh hoàn được mổ $< 7\text{mL}$ (28,1%).

Mối liên quan giữa thể tích tinh hoàn được mổ với khả năng thu tinh trùng khác nhau ở các nghiên cứu. Theo Ishikawa T. (2012), một số yếu tố tiên lượng về khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE đó là thể tích tinh hoàn trên 10mL [113]. Nhiều nghiên cứu khác lại chỉ ra không có mối liên quan giữa thể tích tinh hoàn mổ với khả năng thu tinh trùng của kỹ

thuật micro TESE. Bonarriba C.R. và cs (2013) nghiên cứu mối liên hệ giữa thể tích tinh hoàn với sự thành công của phương pháp micro TESE, trong nghiên cứu thể tích tinh hoàn được chia thành < 2mL, 2 - 10mL và > 10mL, mỗi mẫu tinh hoàn được lấy 1 – 3mg. Kết quả nghiên cứu cho thấy thể tích tinh hoàn của nhóm có hay không có tinh trùng không khác nhau. Thể tích tinh hoàn của các bệnh nhân có khả năng thu tinh trùng nằm trong khoảng 1 – 25mL. Bệnh nhân trẻ tuổi cho kết quả thành công cao hơn so với bệnh nhân cao tuổi. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy micro TESE là phương pháp thu tinh trùng rất tốt đối với bệnh nhân vô tinh không do tắc [114]. Bernie A.M. và cs (2013) nghiên cứu mối liên quan giữa tuổi, nồng độ FSH, thể tích tinh hoàn, một số gen, hội chứng Klinefelter, tiền sử giãn tĩnh mạch tinh, tinh hoàn lạc chỗ, đặc điểm mô bệnh học, đường kính ống sinh tinh đến khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE cho thấy: không có bất cứ một yếu tố riêng lẻ nào có khả năng đánh giá khả năng thu tinh trùng của micro TESE, cần kết hợp tất cả các yếu tố để tiên lượng. Tỷ lệ thu được tinh trùng trong nghiên cứu là 60% [57]. Bryson C.F. và cs (2014) cũng cho thấy thể tích tinh hoàn không ảnh hưởng đến khả năng thu tinh trùng [58].

Có sự khác nhau về kết quả ở các nghiên cứu có thể do các nghiên cứu khác nhau về cỡ mẫu, về tiêu chí chọn bệnh nhân. Trong nghiên cứu này cỡ mẫu nghiên cứu còn thấp và thấp hơn nhiều so với nghiên cứu của các tác giả khác, như của Bonarriba C.R. và cs (2013) là 1127 bệnh nhân vô tinh không do tắc trong 12 năm từ 1999 - 2011 [114]. Tuy nhiên bước đầu ở nghiên cứu này, thể tích tinh hoàn 4mL vẫn thu được tinh trùng. Như vậy kỹ thuật micro TESE giúp thầy thuốc có thể tìm được tinh trùng cho những bệnh nhân vô tinh không do tắc mặc dù tinh hoàn có thể tích nhỏ.

4.3.2.3. Liên quan giữa một số xét nghiệm hormon với khả năng thu được tinh trùng

Các chỉ số xét nghiệm hormon rất cần thiết trong quá trình chẩn đoán và tiên lượng khả năng thu được tinh trùng ở người vô tinh không do tắc.

Bảng 3.5 cho thấy, nồng độ FSH trung bình của bệnh nhân nghiên cứu là $20,30 \pm 12,63$ mIU/mL, cao hơn rất nhiều so với chỉ số bình thường trong khoảng 2 – 10 mIU/mL. Trong nghiên cứu, nồng độ FSH cao nhất ở đối tượng nghiên cứu mà vẫn tìm thấy tinh trùng là 40,79 mIU/mL. Nồng độ LH cao nhất tìm thấy tinh trùng là 25,30 mIU/mL; Nồng độ Testosterone thấp nhất tìm thấy tinh trùng là 0,67 ng/mL. Nồng độ FSH trung bình của nhóm mổ có tinh trùng ($14,94 \pm 10,24$) thấp hơn nhóm mổ không có tinh trùng ($23,46 \pm 12,90$) (bảng 3.27), có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Những người có nồng độ FSH nằm ngoài giá trị bình thường thì khả năng không thu được tinh trùng cao gấp 3,25 lần so với những người có nồng độ FSH trong giới hạn bình thường. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (bảng 3.28).

Không thấy liên quan giữa nồng độ LH nằm trong giới hạn bình thường với việc mổ thấy tinh trùng ($p > 0,05$). Tuy nhiên, những bệnh nhân có nồng độ LH bình thường có tỷ lệ tìm thấy tinh trùng (40,0%) cao hơn so với những bệnh nhân có nồng độ LH nằm ngoài giá trị bình thường (10,0%). Những người có nồng độ Testosterone nằm ngoài giá trị bình thường thì khả năng không thu được tinh trùng cao gấp 7 lần những người có nồng độ Testosterone trong giới hạn bình thường. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (bảng 3.28).

Nghiên cứu của chúng tôi tương tự như của một số tác giả khác, có mối liên quan giữa nồng độ FSH và khả năng thu tinh trùng của micro TESE, như: Colpi G.M. và cs (2009) chứng minh khả năng thu tinh trùng thấp hơn ở nam giới có mức FSH cao hơn [53]. Ghalayini I.F. và cs (2011), thấy có mối liên hệ giữa tỷ lệ thu tinh trùng và FSH. Nồng độ Testosterone hoặc Prolactin không ảnh hưởng đến tỷ lệ thu tinh trùng. Micro TESE được khuyến khích trong trường hợp tinh hoàn bị teo, nồng độ FSH cao hoặc khi SCOS có nồng độ FSH cao [55]. Ishikawa T. (2012), FSH là một trong các yếu tố tiên lượng về khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE. Với những bệnh nhân có FSH dưới 15 IU/L thì có khả năng thu được tinh trùng cao hơn [113].

Tuy nhiên một số tác giả khác lại cho rằng không có mối liên quan giữa FSH và khả năng thu tinh trùng, như: Flannigan R. và cs (2017) cho rằng FSH tăng và thể tích tinh hoàn nhỏ hơn không cung cấp tiên lượng bất lợi cho việc thu tinh trùng [3]. Ramasamy R. và cs (2009) thấy rất ít sự liên quan giữa nồng độ FSH và khả năng thu tinh trùng, với mức FSH < 15 IU/mL, tỷ lệ thu tinh trùng là 51%, nồng độ FSH từ 15 – 30 IU/mL là 60%, FSH 31 - 45 IU/mL là 67% và FSH > 45 IU/mL là 60% [115]. Kalsi J. và cs (2011), nồng độ FSH không có giá trị tiên lượng khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE [9]. Bernie A.M. và cs (2013), Bryson C.F và cs (2014) cho rằng không có bất cứ một yếu tố riêng lẻ nào có khả năng đánh giá khả năng thu tinh trùng của micro TESE, do đó cần kết hợp tất cả các yếu tố để tiên lượng [57], [58].

Nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu này có sự khác biệt có thể do cỡ mẫu trong các nghiên cứu khác nhau và việc chọn lựa đối tượng nghiên cứu cũng khác nhau.

4.3.2.4. Liên quan giữa các loại bất thường gen AZF với khả năng thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE

Không thấy mối liên quan giữa đặc điểm gen AZF bình thường và gen AZF bất thường với việc mổ thấy tinh trùng ($p > 0,05$). Tỷ lệ thu được tinh trùng ở cả hai nhóm gần tương đương nhau, khoảng 37% (bảng 3.29) có thể do cỡ mẫu trong nghiên cứu của chúng tôi còn thấp. Tuy nhiên, trong 19 trường hợp có bất thường gen AZF thì bất thường gen AZFc có tỷ lệ thu được tinh trùng là cao nhất (71,4%); tiếp đến là bất thường gen AZFb với tỷ lệ thu được tinh trùng là 66,7%. Bất thường gen AZFa và bất thường phối hợp đều không tìm thấy tinh trùng (bảng 3.30).

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan giữa các loại bất thường gen AZF với khả năng thu tinh trùng của micro TESE trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của một số tác giả khác. Hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ thu được tinh trùng cao ở những bệnh nhân có bất thường gen

AZFc. Bất thường gen AZFa và gen AZFb không thu được tinh trùng hoặc cho tỷ lệ thu được tinh trùng rất thấp.

Bernie A.M. và cs (2013) cho thấy đứt đoạn gen AZFc có tiên lượng tốt hơn đứt đoạn gen AZFa hoặc gen AZFb và đứt đoạn gen AZFc có tiên lượng tốt hơn đứt đoạn gen AZFa, gen AZFb trong vấn đề tiên lượng mức độ nặng của vô tinh hoặc tình trạng thu được tinh trùng [57].

Theo Tüttelmann F. và cs (2018), các tổn thương trên gen AZF thì khả năng thu tinh trùng từ 0% (đối với AZFa/b) và 50% đối với AZFc bằng phương pháp micro TESE và những bé trai lại mang các gen này [27].

Flannigan R. và cs (2017), đột biến gen AZFa có mô bệnh học là SCOS. Đột biến gen AZFb dẫn đến SCOS hoặc dừng sinh tinh nửa chừng. 70% đột biến gen AZFc có tinh trùng trong tinh dịch, nhưng đa số dưới 1 triệu/mL. Tỷ lệ thu tinh trùng của bệnh nhân vô tinh do đột biến AZFc từ 50% - 60% [3].

Theo Janosek-Albright K.J.C. và cs (2015), bệnh nhân có bất thường gen AZFc hoặc hội chứng Klinefelter có tiên lượng tốt. Đàn ông có bất thường gen AZFa hoặc gen AZFb có ít hoặc không có cơ hội lấy tinh trùng. Đàn ông bất thường gen AZFc nên được tư vấn về việc di truyền đối với con cái của họ [30].

Stahl P.J. và cs (2010), trong 718 ca thực hiện micro TESE thấy các trường hợp mất đoạn gen AZFa, AZFb, AZF b+c và mất đoạn hoàn toàn Yq gần như không có khả năng tìm thấy tinh trùng. Ngược lại với trường hợp vi mất đoạn AZFc thì khả năng tìm thấy khoảng 40% - 70% [116].

Hopps C.V. và cs (2003), đối với tổn thương gen AZFc một phần và toàn bộ có thể tìm thấy tinh trùng trên phân tích tinh dịch hoặc trong tinh hoàn 70%. Không tìm thấy tinh trùng ở trong tổn thương hoàn toàn gen AZFa hoặc AZFb [117].

Glina S. và cs (2013), tỷ lệ tìm thấy tinh trùng ở bất thường gen AZFc là 60%. Bất thường gen AZFa hoặc AZFb là một yếu tố dự đoán tiêu cực cho việc thu hồi tinh trùng [118].

Ku M.-H. và cs (2017), nghiên cứu trên 200 bệnh nhân vô tinh không do tắc được làm micro TESE, kết quả không tìm thấy tinh trùng ở bệnh nhân có bất thường gen AZFa hoặc gen AZFb [119].

4.3.2.5. *Liên quan giữa kết quả mô bệnh học với khả năng thu được tinh trùng bằng kỹ thuật micro TESE*

Biểu đồ 3.6 cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các loại tổn thương mô bệnh học với tỷ lệ thu được tinh trùng ($p < 0,001$). Nhóm giảm sinh tinh có tỷ lệ thu được tinh trùng cao nhất (70,4%), tiếp đến là nhóm dừng sinh tinh nửa chừng (41,7%) và thấp nhất là nhóm ống sinh tinh hyalin hóa 9,1%. Kết quả này cho thấy đặc điểm mô bệnh học là một yếu tố có giá trị nhất trong việc tiên lượng khả năng thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự nghiên cứu của một số tác giả khác. Đa số các nghiên cứu đều chỉ ra mô bệnh học là yếu tố có giá trị nhất trong tiên lượng khả năng thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE.

Theo Ramasamy R. và cs (2005), đối với trường hợp giảm sinh tinh thì khả năng tìm thấy tinh trùng là 81%; dừng sinh tinh nửa chừng là khoảng 44% và SCOS là 41% [120].

Flannigan R. và cs (2017) cho rằng có 4 dạng mô bệnh học tinh hoàn dẫn đến vô tinh không do tắc. Giảm sinh tinh là dạng ít nghiêm trọng nhất với tỷ lệ thu tinh trùng khoảng 73% - 100%. Dừng sinh tinh nửa chừng có tỷ lệ thu tinh trùng 27% - 86%, dạng ngưng trệ sinh tinh có tỷ lệ thu tinh trùng 27 - 40% và hội chứng chỉ có tế bào Sertoli là dạng nghiêm trọng nhất với tỷ lệ thu tinh trùng 22,5% - 41% [3].

Ku M.-H. và cs (2017) thấy giảm sinh tinh có tỷ lệ thu tinh trùng là 93,3%, dừng sinh tinh nửa chừng là 13,3%, ngưng trệ sinh tinh là 66,7%, và hội chứng chỉ tế bào Sertoli là 18,1% [119].

Kalsi J. và cs (2011), bệnh nhân được phân thành các nhóm theo mô bệnh học là hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, ngưng trệ quá trình sinh tinh, giảm sinh tinh thấy tỷ lệ thu tinh trùng của các nhóm lần lượt là 42,85%, 26,6% và 75,86% [9].

Ramasamy R. và cs (2007) cho rằng FSH và mô bệnh học là yếu tố tiên lượng [121].

Theo Esteves S.C. và cs (2011), mô học tinh hoàn được coi là yếu tố tốt nhất dự đoán khả năng thu tinh trùng trong vô tinh không do tắc [53].

Bên cạnh đó, mô bệnh học cũng là yếu tố tiên lượng cho TESE. Theo Caroppo E. và cs (2017) nghiên cứu trên 356 bệnh nhân để đánh giá khả năng tiên lượng của nồng độ FSH, thể tích tinh hoàn và đặc điểm mô bệnh học với khả năng thành công thu tinh trùng bằng phương pháp micro TESE. Kết quả cho thấy 158 trong số 356 bệnh nhân (44,3 %) thu được tinh trùng. Trong số đó hội chứng chỉ có tế bào Sertoli (SCOS) gồm 216 bệnh nhân (60,6%): tỷ lệ thu được tinh trùng là 66 (41,8%); dừng sinh tinh nửa chừng (MA) có 55 bệnh nhân (15,4%): tỷ lệ thu được tinh trùng là 17 (10,8%) và 85 bệnh nhân (23,8%) giảm sinh tinh (HS): tỷ lệ thu được tinh trùng là 75 (47,4%). Nghiên cứu cho kết luận mô bệnh học có giá trị tiên lượng nhất [122].

4.4. Hạn chế của đề tài

Theo các tác giả, micro TESE là một phương pháp an toàn, khối lượng mô tinh hoàn lấy đi ít do đó ít ảnh hưởng đến chức năng của tinh hoàn sau phẫu thuật. Tuy nhiên cho đến nay các nghiên cứu về ảnh hưởng đến người bệnh sau phẫu thuật còn rất ít. Đặc biệt chưa thấy nghiên cứu nào nghiên cứu về nồng độ nội tiết cũng như sinh lý người nam sau phẫu thuật. Hơn thế nữa đây là một kỹ thuật tốn kém, đòi hỏi nhiều thời gian, kỹ thuật và dụng cụ chuyên sâu, phẫu thuật viên và các chuyên viên phôi học cần có kinh nghiệm nên khi triển khai kỹ thuật phải được trang bị và đào tạo hiệu quả.

Khi thực hiện nghiên cứu này, mặc dù các bệnh nhân đã được tư vấn kỹ về những ưu nhược điểm của kỹ thuật cũng như tỷ lệ thu được tinh trùng của phương pháp nhưng một số cặp vợ chồng không thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm cùng ngày người chồng phẫu thuật. Như vậy có thể ở lần phẫu thuật sau cơ hội thu được tinh trùng sẽ giảm đi do sau lần phẫu thuật trước có thể có ảnh hưởng nhất định đến tinh hoàn (xơ, dính, tăng sinh mạch dẫn đến khó khăn cho phẫu thuật...), thêm vào đó tuổi của cặp vợ chồng vô sinh tăng lên cũng làm giảm cơ hội thụ thai. Bên cạnh đó, một số cặp vợ chồng trong nghiên cứu hủy chu kỳ thực hiện IVF/ICSI trong trường hợp người chồng phẫu thuật không thu được tinh trùng gây lãng phí về kinh tế và sức khỏe. Chính vì vậy người bệnh cần được truyền thông, được tư vấn kỹ để hiểu rõ về phương pháp thu tinh trùng micro TESE, lợi ích cũng như những nhược điểm của phương pháp này.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 100 bệnh nhân vô tinh không do tắc được thực hiện kỹ thuật micro TESE, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

1. Đặc điểm hình thái cấu trúc tinh trùng, ống sinh tinh thu được bằng kỹ thuật micro TESE ở bệnh nhân vô tinh không do tắc

- Tinh trùng thu được ở nhóm nghiên cứu có tỷ lệ dị dạng cao (98,4%); kích thước trung bình ngắn hơn không đáng kể so với tiêu chuẩn của WHO, 2010 (trung vị: 52,40 μ m).

- Biểu mô ống sinh tinh tổn thương khá trầm trọng. Ống sinh tinh có hiện tượng thoái hóa, kích thước thu nhỏ, mô xơ phát triển quanh ống và mô kẽ. Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli chiếm tỷ lệ cao nhất (50%). Quá trình sinh tinh xảy ra không giống nhau giữa các bệnh nhân và giữa các vị trí khác nhau trong tinh hoàn của một bệnh nhân.

2. Hiệu quả thu tinh trùng của kỹ thuật micro TESE trên bệnh nhân vô tinh không do tắc

- Tỷ lệ thu được tinh trùng: 37%. Tinh trùng thu được có mật độ thấp, đa phần là tinh trùng bất động, tỷ lệ tinh trùng chết cao.

- Một số yếu tố liên quan:

+ Thể tích tinh hoàn mỗ \geq 7mL có khả năng tìm thấy tinh trùng cao hơn thể tích tinh hoàn < 7mL.

+ Nồng độ trung bình FSH của nhóm mỗ có tinh trùng (14,94 \pm 10,24) thấp hơn nhóm mỗ không có tinh trùng (23,36 \pm 12,90).

+ Tỷ lệ thu được tinh trùng ở bệnh nhân có bất thường gen AZFc cao (71,4%) và cao hơn so với các loại bất thường gen AZF khác.

+ Đặc điểm mô bệnh học là một yếu tố có giá trị nhất trong việc tiên lượng khả năng thu tinh trùng của phương pháp micro TESE.

- Không thấy mối liên quan giữa khả năng thu tinh trùng với tuổi, phân nhóm tuổi, thời gian vô sinh, phân nhóm thời gian vô sinh, loại vô sinh và tiền sử quai bị.

- Micro TESE là kỹ thuật thu tinh trùng an toàn. Không gặp trường hợp nào có biến chứng gần sau phẫu thuật.

KIẾN NGHỊ

- Áp dụng phương pháp micro TESE như một phương pháp thu tinh trùng hiệu quả ở các bệnh nhân vô tinh không do tắc và tiếp tục nghiên cứu phương pháp trữ lạnh tinh trùng thu được bằng micro TESE.

- Nghiên cứu tỷ lệ thành công của thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng thu được từ phương pháp micro TESE và theo dõi sự phát triển của các em bé sinh ra.

- Đánh giá chức năng của tinh hoàn sau phẫu thuật tinh hoàn bằng micro TESE.

**Công trình nghiên cứu của tác giả
đã công bố liên quan đến luận án**

1. Trinh The Son, Nguyen Dinh Tao, Quan Hoang Lam, Vu Thi Thu Trang, Hoang Van Luong (2018). Outcome of Microdissection Testicular Sperm Extration in Non-Obstructive Azoospermic Patients. *International Journal of Internal Medicine and Geriatrics*, 1(1):1-4.
2. Vu Thi Thu Trang, Quach Thi Yen, Nguyen Dinh Tao, Trinh The Son (2019). Study on the effcetiveness of sperm retrieval and relationship between a number of factors and sperm retrieval ability of Microdissection testicular spem extraction technique on non-obstructive azoospermia patients. *Journal of Military Pharmaco - Medicine*, 44(9):216-221.
3. Vũ Thị Thu Trang, Quách Thị Yến, Quản Hoàng Lâm, Nguyễn Đình Tảo, Trịnh Thế Sơn, Nguyễn Thanh Tùng (2019). Đặc điểm cấu trúc mô tinh hoàn ở bệnh nhân vô tinh không do tắc thu được bằng phương pháp micro TESE. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 486(1&2):134-138.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Khắc Liêu (2003). Đại cương về vô sinh. Trong: *Chẩn đoán và điều trị vô sinh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 8.
2. Bộ Y tế (2017). Bệnh vô sinh tại Việt Nam đang gia tăng. *Tạp chí Y học thực hành*, 12:1064.
3. Flannigan R., Bach P.V., Schlegel P.N. (2017). Microdissection testicular sperm extraction. *Transl Androl Urol.*, 6(4):745-752.
4. Trần Thị Phương Mai và cs (2007). Khám và làm bệnh án cặp vợ chồng vô sinh. Trong: *Hiếm muộn - Vô sinh và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 51.
5. Samuel R., Badamjav O., Murphy K.E., et al. (2016). Microfluidics: The future of microdissection TESE?. *Syst Biol Reprod Med.*, 62(3):161-170.
6. Kumar R.(2013). Medical management of non-obstructive azoospermia. *Clinics*, 68(S1):75-79.
7. Wosnitzer M., Goldstein M., Hardy M.P. (2014). Review of Azoospermia. *Spermatogenesis*, 4(1):e28218-11.
8. Shah R., Gupta C. (2018). Advances in sperm retrieval techniques in azoospermic men: A systematic review. *Arab J Urol.*, 16(1):125-131.
9. Kalsi J., Thum YM., Muneer A., et al. (2011). In the era of microdissection sperm retrieval (m-TESE) is an isolated testicular biopsy necessary in the management of men with non-obstructive azoospermia. *BJU Int.*, 109(3):418-424.
10. Verheyen G., Popovic-Todorovic B., Tournaye H. (2017). Processing and selection of surgically-retrieved sperm for ICSI: a review. *Basic Clin Androl.*, 27:6.

11. Trịnh Bình (2015). Hệ sinh dục nam. Trong: *Mô – Phôi phần mô học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 216-222.
12. Netter F.H. (2004). Các cấu trúc của nam giới. Trong: *ATLAS giải phẫu người*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 301.
13. Zini A., Agarwal A. (2011). *Sperm Chromatin*. Springer New York 2:19-35.
14. Mescher A.L. (2016). The Male Reproductive System. In: *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*, 14th ed., McGraw-Hill Education, New York, 21, 441.
15. Đỗ Kính (2002). Hệ sinh dục nam. Trong: *Mô học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 368-399.
16. Hess R.A., Luiz R. (2005). Structure of the Sertoli Cell. In: *Sertoli cell biology*, Elsevier Academic Press, 19-42.
17. WHO (2010). *WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen*, 5th ed., Geneva, Switzerland.
18. Jequier A.M. (2000). Anatomy and physiology of the male reproductive system. In: *Anatomy and physiology*, 27.1, 3592 - 3594.
19. Misell LM., Holochwost D., Boban D., et al. (2006). A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. *J Urol.*, 175(1):242-246.
20. Hoogendijk C.F., Kruger T.F., Menkveld R. (2007). Anatomy and molecular morphology of the spermatozoon. In: *Male infertility - Diagnosis and treatment*, informa UK Ltd., Oxon, UK, 3-11.
21. ASRM (2008). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. *Fertil Steril.*, 89(6):1603.
22. Velasquez M., Tanrikut C. (2014). Surgical management of male infertility: an update. *Transl Androl Urol.*, 3(1):64-76.

23. ASRM (2008). The management of infertility due to obstructive azoospermia, Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Male Reproduction and Urology. *Fertil Steril.*, 90(5 Suppl):S121-S124.
24. Jungwirth A., Giwercman A., Tournaye H., et al. (2012). *EAU Guidelines on Male Infertility*, Eur Urol, 62(2):324-332.
25. Van Peperstraten A., Proctor M.L., Johnson N.P., et al. (2008). Techniques for surgical retrieval of sperm prior to intra- cytoplasmic sperm injection (ICSI) for azoospermia. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2008(2):CD002807.
26. Tiseo B.C., Hayden R.P., Tanrikut C. (2015). Surgical management of nonobstructive azoospermia. *Asian J Urol.*, 2(2):85-91.
27. Tüttelmann F., Ruckert C., Röpke A. (2018). Disorders of spermatogenesis: Perspectives for novel genetic diagnostics after 20 years of unchanged routine. *Med Genet.*, 30(1):12-20.
28. Ezeh U. (2000). Beyond the clinical classification of azoospermia. *Hum Reprod.*, 15(11):2356-2359.
29. Schoor R.A., Elhanbly S., Niederberger C.S., et al. (2002). The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility. *J Urol.*, 167(1):197-200.
30. Janosek-Albright K.J.C., Schlegel P.N., Dabaja A.A. (2015). Testis sperm extraction. *Asian J Urol.*, 2(2):79-84.
31. Jequier A.M., Holmes S.C. (1993). Primary testicular disease presenting as azoospermia or oligozoospermia in an infertility clinic. *Br J Urol.*, 71(6):731-735.
32. Rucker G.B., Mielnik A., King P., et al. (1998). Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J Urol.*, 160(6 Pt 1):2068-2071.

33. Sadeghi-Nejad H., Farrokhi F. (2006). Genetics of Azoospermia: Current Knowledge, Clinical Implications, and Future Directions Part I. *J Urol.*, 3(4):193-203.
34. Egozcue S., Blanco J., Vendrell J.M., et al. (2000). Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update.*, 6(1):93-105.
35. Behulova R., Varga I., Strhakova L., et al. (2011). Incidence of microdeletions in the azf region of the y chromosome in slovak patients with azoospermia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repu.*, 155(1):33-38.
36. Atia T., Abbas M., Ahmed A-f. (2015). Azoospermia factor microdeletion in infertile men with idiopathic severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia. *African J Androl.*, 21, 246-253.
37. Omrani M.D., Samadzade S., Bagheri M. et al. (2006). Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from West Azarbaijan. *J Urol.*, 3(1):38-43.
38. Ceylan G.G., Ceylan C., Elyas H. (2009). Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azoospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genet Mol Res.*, 8(3):915-922.
39. Alexander B.H., Checkoway H. (1996). Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup Environ Med.*, 53(6):411-416.
40. Averbach P., Wight D.G. (1979). Seminiferous tubule hypercurvature. A newly recognised common syndrome of human male infertility. *Lancet*, 1(8109):181-183.
41. Hendry W.F., Parslow J.M., Stedronska J. (1983). Exploratory Scrototomy in 168 Azoospermic Males. *Br J Urol.*, 55(6):785-791.

42. Jequier A.M., Holmes S.C. (1984). Aetiological Factors in the Production of Obstructive Azoospermia. *Br J Urol.*, 56(5):540-543.
43. Nistal M., Paniagua R., Picazo M.L. (1983). Testicular and epididymal involvement in Fabry's disease. *J Pathol.*, 141(2):113-124.
44. Robert D. (2004). The genetics of male reproductive failure: what every clinician need to know. *Sexuality, Reproduction and menopause*, 2(4): 213-18.
45. Tournaye H., Donoso P. (2009). Sperm recovery techniques: clinical aspects. Textbook of Assisted Reproductive Technologies. Laboratory and Clinical Perspectives In: *Informa healthcare*, 3rd ed, 657-72.
46. Levine L.A., Dimitriou R.J., Fakouri B. (2003). Testicular and epididymal percutaneous sperm aspiration in men with either obstructive or nonobstructive azoospermia. *Urology*, 62(2):328-332.
47. Esteves S.C., Miyaoka R., Agarwal A., et al. (2013). An update on sperm retrieval techniques for azoospermic males. *Clinics*, 68(S1):99-110.
48. Rosenlund B., Sjöblom P., Dimitrakopoulos A., et al. (1997). Epididymal and testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in the treatment of obstructive azoospermia. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 76(2):135-139.
49. Schlegel P.N. (1999). Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod.*, 14 (1):131-135.
50. Cao Ngọc Thành, Phạm Chí Kông (2011). Các kỹ thuật thu nhận tinh trùng. Trong: *Nam học và vô sinh Nam*, Nhà xuất bản Đại học Huế, 264-267.
51. Ramasamy R., Yagan N., Schlegel PN. (2005). Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology*, 65(6):1190-1194.

52. Ramasamy R., Schlegel P.N. (2007). Microdissection testicular sperm extraction: effect of prior biopsy on success of sperm retrieval. *J Urol.*, 177(4):1447-1449.
53. Colpi G.M., Colpi E.M, Piediferro G., et al. (2009). Microsurgical TESE versus conventional TESE for ICSI in non-obstructive azoospermia: a randomized controlled study. *RBM Online.*, 18(3):315-319
54. Esteves S.C., Agarwal A. (2011). Novel concepts in male infertility. *Int Braz J Urol.*, 37(1):5-15.
55. Ghalayini I.F., Al-Ghazo M.A, Hani O.B., et al. (2011). Clinical comparison of conventional testicular sperm extraction and microdissection techniques for non-obstructive azoospermia. *J Clin Med Res.*, 3(3):124-131.
56. Dabaja A.A., Schlegel P.N. (2013). Microdissection testicular sperm extraction: an update. *Asian J Androl.*, 15(1):35-39.
57. Bernie A.M., Ramasamy R., Schlegel P.N. (2013). Predictive factors of successful microdissection testicular sperm extraction. *Basic Clin Androl.*, 23:5.
58. Bryson C.F., Ramasamy R., Sheehan M., et al. (2014). Severe testicular atrophy does not affect the success of microdissection testicular sperm extraction. *J Urol.*, 191(1):175-178.
59. Deruyver Y., Vanderschueren D., Van der Aa F. (2014). Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: a systematic review. *Andrology*, 2:20-4.
60. Bernie A.M., Mata D.A., Ramasamy R., et al. (2015). Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive

- azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.*, 104(5):1099-1103.e3.
61. Eken A., Gulec F. (2017). Microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE): Predictive value of preoperative hormonal levels and pathology in non-obstructive azoospermia. *Kaohsiung J Med Sci.*, 34(2):103-108.
 62. Nguyễn Thành Như (2010). Vi phẫu tích mô tinh hoàn tìm tinh trùng: hy vọng mới cho bệnh nhân vô tinh không bế tắc. *Y học Việt Nam*, (2):148-151.
 63. Huỳnh Thị Thu Thảo, Nguyễn Thị Kim Phương, Võ Thiện Ân và cs (2015). Hiệu quả khả quan của ICSI kết hợp microTESE. *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 19(5):235-240.
 64. Dagli P., Jethava V., Sheth J., et al. (2014). Orchidometer - Useful office practice tool for assessment of male puberty. *NHL Journal of Medical Sciences.*, 3(2):58-63.
 65. Tournaye H. (1999). No differences in outcome after intracytoplasmic sperm injection with fresh or with frozenthawed epididymal spermatozoa. *Hum Reprod.*, 14(1):90-95.
 66. Vũ Công Hoè, Vi Huyền Trác, Nguyễn Vượng và cs (1975). *Kỹ thuật hiển vi thông thường*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
 67. Cerilli L.A., Kuang W., Rogers D. (2010). A Practical Approach to Testicular Biopsy Interpretation for Male Infertility. *Arch Pathol Lab Med.*, 134(8):1197-1204.
 68. Alukal J. P., Khera M., Wheeler T.M. (2009). Testicular biopsy in male infertility evaluation. In: *Infertility in the Male*, Cambridge University Press, 4th ed, 215-225.

69. Johnsen S.G. (1970). Testicular biopsy score count, A method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1(1):2-25.
70. McVicar C.M., O'Neill D.A., McClure N., et al. (2005). Effects of vasectomy on spermatogenesis and fertility outcome after testicular sperm extraction combined with ICSI. *Hum Reprod.*, 20(10):2795-2800.
71. Palade G.E. (1952). A study of fixation for electron microscopy. *J Exp Med.*, 95(3):285-298.
72. Nguyễn Kim Giao (2004). *Hiển vi điện tử truyền qua*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
73. Kimura M., Itoh N., Takagi S., et al. (2003). Balance of Apoptosis and Proliferation of Germ Cells Related to Spermatogenesis in Aged Men. *J Androl.*, 24(2):185-191.
74. Trịnh Thế Sơn (2011). *Nghiên cứu đặc điểm hình thái ống sinh tinh của bệnh nhân không có tinh trùng trong tinh dịch, đánh giá hiệu quả một số phương pháp hỗ trợ sinh sản*, Luận án Tiến sỹ Y học, Học viện Quân Y.
75. Hồ Sỹ Hùng (2013). *Nghiên cứu hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn bằng tinh trùng lấy từ mào tinh trong điều trị vô sinh*, Luận án Tiến sỹ Y học, Hà Nội.
76. Li G., Xin Z., Yuan Y., et al. (2004). Seminiferous tubule scores used for quantitative assessment of spermatogenic function of patients with azoospermia. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 10(2): 94-102.
77. ASRM (2017). Optimizing natural fertility: a committee opinion. *Fertil Steril.*, 107(1):52-58.
78. Adamopoulos D.A., Lawrence D.M., Vassilopoulos P., et al. (1978). Pituitary-testicular interrelationships in mumps orchitis and other infections. *BMJ.*, 1:1177– 1180.

79. Bartak V. (1973). Sperm count, morphology, and motility after unilateral mumps orchitis. *J Reprod Fertil.*, 32:491–493.
80. Masarani M., Wazait H., Dinneen M. (2006). Mumps orchitis. *J R Soc Med.*, 99(11):573–575
81. Hồ Sỹ Hùng (2017). *Vô sinh nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 33.
82. Nguyễn Thành Như (2013). Giải phẫu và sinh lý hệ sinh sản-sinh dục nam: Bìu, tinh hoàn, mào tinh, ống dẫn tinh, ống phóng tinh. Trong: *Nam khoa lâm sàng*, Nhà xuất bản tổng hợp Tp Hồ Chí Minh, 24-34.
83. Nguyễn Quang (2012). Suy sinh dục nam. Trong: *Bệnh học Nam Khoa cơ bản*, Nhà xuất bản Y học, 136-141.
84. Yavetz H., Yogev L., Kleiman S., et al. (2001). Morphology of Testicular Spermatozoa Obtained by Testicular Sperm Extraction in Obstructive and Nonobstructive Azoospermic Men and Its Relation to Fertilization Success in the In Vitro Fertilization—Intracytoplasmic Sperm Injection System. *J Androl.*, 22(3):376-381.
85. Samuel R., Badamjav O., Murphy K.E., et al. (2016). Microfluidics: The future of microdissection TESE?. *Syst Biol Reprod Med.*, 62(3):161-170.
86. Bormann C.L, Alagretti J.R., Motta E., et al. (2010). Preparation and Selection of Sperm for IVF and ICSI. In: *Reproductive Endocrinology and Infertility*, Chapter 38, eds. D.T. Carrell and C.M. Peterson, Springer New York, New York, 579-590.
87. Carrell D.T. (2013). The reproductive fitness of the human male gamete. In: *Paternal Influences on Human Reproductive Success*, Cambridge University Press, New York, 1-5.
88. Barroso G., Valdespin C., Vega E., et al. (2009). Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. *Fertil Steril.*, 3(92): 835–848.

89. Avendaño C., Oehninger S. (2011). DNA fragmentation in morphologically normal spermatozoa: how much should we be concerned in the ICSI era? *J Androl.*, 4(32):356–363.
90. Danis R.B., Samplaski M.K. (2019). Sperm Morphology: History, Challenges, and Impact on Natural and Assisted Fertility. *Curr Urol Rep.*, 20(8):43.
91. Bartoov B., Berkovitz A., Eltes F., et al. (2002). Good real-time morphology of the cells of the human sperm is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl.*, 23(1):1-8.
92. Nistal M., Jimenez F., Paniagua R. (2007). Sertoli cell types in the Sertoli-cell-only syndrome: relationships between Sertoli cell morphology and aetiology. *Histopathology*, 16(2):173-180.
93. Momen M.N., Mousa M.M., Karakasy A.O., et al. (1984). Testicular Biopsy in Azoospermia and Severe Oligozoospermia. *Arch Androl.*, 12(1):109-112.
94. Turek P.J., Kim M., Gilbaugh J.H., et al. (1995). The clinical characteristics of 82 patients with Sertoli cell-only testis histology. *Fertil Steril.*, 64(6):1197-1200.
95. Holstein A.F., Schulze W., Davidoff M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol.*, 1:107.
96. Kerr J., Loveland K., Obryan M., et al. (2006). Cytology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms. In: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3rd ed., Elsevier, 827-947.
97. Abalkhail A., Hani I.B., Al-Bagdadi F., et al. (2003). Observation on the ultrastructure of mast cells in inguinal cryptorchid testes of thirteen year old children. *Microsc Microanal.*, 9(S02):1396-1397.

98. Meineke V., Frungieri M.B., Jessberger B. (2000). Human testicular mast cells contain tryptase: increased mast cell number and altered distribution in the testes of infertile men. *Fertil Steril.*, 74(2):239-244.
99. Camatini M., Faleri M., Franchi E. (1978). Testicular Biopsy of Secretory Azoospermia: Electron and Light Microscopic Analysis. *Arch Androl.*, 1(4):281-289.
100. Apa D.D., Cayan S., Polat A., et al. (2002). Mast cells and fibrosis on testicular biopsies in male infertility. *Arch Androl.*, 48(5):337-44.
101. Roaiah M.M.F., Khatab H., Mostafa T. (2007). Mast cells in testicular biopsies of azoospermic men. *Andrologia*, 39(5):185-189.
102. Cayan S., Apa D.D., Akbay E. (2002). Effect of fexofenadine, a mast cell blocker, in infertile men with significantly increased testicular mast cells. *Asian J Androl.*, 4(4):291-4.
103. Jezek D., Banek L., Hittmair A., et al (1999). Mast cells in testicular biopsies of infertile men with “mixed atrophy” of seminiferous tubules. *Andrologia*, 31(4):203-210.
104. Trịnh Thế Sơn, Vũ Văn Tâm (2015). Đánh giá kết quả chọc hút mào tinh qua da (PESA) và phẫu thuật tinh hoàn lấy tinh trùng (TESE) trên bệnh nhân vô tinh (azoospermia) tại bệnh viện phụ sản Hải Phòng. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, (6):40-44.
105. Esteves S.C, Prudencio C., Seol B., et al. (2014). Comparison of sperm retrieval and reproductive outcome in azoospermic men with testicular failure and obstructive azoospermia treated for infertility. *Asian J Androl.*, 16:1-5.
106. Alrabeeh K., Doucet R., Boulet E., et al (2015). Can the rapid identification of mature spermatozoa during microdissection testicular sperm extraction guide operative planning?. *Andrology*, 3(3):467-72

107. Ashraf M.C., Singh S., Raj D., et al. (2013). Micro-dissection testicular sperm extraction as an alternative for sperm acquisition in the most difficult cases of Azoospermia: Technique and preliminary results in India. *J Hum Reprod Sci.*, 6(2):111-123.
108. Göktolga M., Izetbegovic S., Rama A., et al. (2015). The First Report from Bosnia and Herzegovina on Micro-tese Results in Azoospermic Patients. *Med Arch.*, 69(3):196-199.
109. Ran R., Kohn T.P, Ramasamy R. (2016). Innovations in surgical management of nonobstructive azoospermia. *Indian J Urol.*, 32(1):15-20.
110. Franco G., Scarselli F., Casciani V., et al. (2016). A novel stepwise micro-TESE approach in non obstructive azoospermia. *BMC Urol.*, 16(1):20.
111. An G., Zou Z., Flannigan R., et al. (2018). Outcome of Oocyte Vitrification Combined with Microdissection Testicular Sperm Extraction and Aspiration for Assisted Reproduction in Men. *Med Sci Monit.*, 24:1379-1386.
112. Ramasamy R., Trivedi N.N., Reifsnnyder J.E., et al. (2014). Age does not adversely affect sperm retrieval in men undergoing microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril.*, 101(3):653-5.
113. Ishikawa T. (2012). Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia. *Asian J Androl.*, 14(1):109-115.
114. Bonarriba C.R., Burgués J.P., Vidaña V., et al. (2013). Factores predictivos de recuperación espermática en las azoospermias. *Actas Urol Esp.*, 37(5):266-272.
115. Ramasamy R., Lin K., Gosden L.V., et al. (2009). High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril.*, 92(2):590-593.

116. Stahl P.J., Masson P., Mielnik A., et al. (2010). A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril.*, 94(5):1753-6.
117. 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. *Hum Reprod.*,18:1660-5.
118. Glina S., Vieira M. (2013). Prognostic factors for sperm retrieval in nonobstructive azoospermia. *Clinics*, 68(S1):121-4.
119. Ku M.-H., Huang I.-S., Lin A.T., et al. (2017). The predictive value of parameters of clinical presentations for sperm yield in patients with nonobstructive azoospermia receiving microdissection testicular sperm extraction. *Urol Sci.*, 28(4):243-247.
120. Ramasamy R., Yagan N., Schlegel P.N., et al. (2005). Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology*, 65(6):1190-4.
121. Ramasamy R., Schlegel P.N. (2007). Microdissection testicular sperm extraction: effect of prior biopsy on success of sperm retrieval. *The Journal of urology.*, 177(4):1447-9.
122. Caroppo E., Colpi E.M., Gazzano G. et al (2017). Testicular histology may predict the successful sperm retrieval in patients with non-obstructive azoospermia undergoing conventional TESE: a diagnostic accuracy study. *J Assist Reprod Genet.*, 34(1):149-154.

Phụ lục 1**BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU**

Số thứ tự:.....

Số bệnh án:.....

PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU NGHIÊN CỨU**I. THÔNG TIN CHUNG**

Họ tên chồng:.....Năm sinh:.....

Nghề nghiệp:..... Học vấn:.....

Họ tên vợ:.....Năm sinh:.....

Địa chỉ liên lạc:.....

Điện thoại:.....

II. HỎI BỆNH1. Loại vô sinh: Nguyên phát Thứ phát

2. Thời gian vô sinh:.....(năm)

3. Tiền sử mắc bệnh nội, ngoại khoa:

Không Có , Ghi rõ:.....

4. Tiền sử quai bị

Không rõ Không Có , Ghi rõ bị năm..... tuổiBiểu chứng viêm tinh hoàn: Không rõ Không Có

5. Tiền sử tiếp xúc hóa chất

Không rõ Không Có , Tên hóa chất:.....

Thời gian tiếp xúc:.....

6. Tiền sử viêm tinh hoàn

Không rõ Không Có , Nguyên nhân gây viêmKhông rõ Khác

Ghi rõ:.....

7. Tiền sử phẫu thuật:

Không Có , Cụ thể loại phẫu thuật gì:7.1. PT đường sinh dục , Ghi rõ vị trí PT, năm PT:

.....

7.2. Các PT Khác , Ghi rõ:.....

.....

8. Tiền sử mắc bệnh STD:

Không Không rõ Có , cụ thể loại gì:.....

9. Tiền sử hút thuốc

Không Có , số lượng.....điều/ngày, thời gian hút.....

10. Tiền sử uống rượu:

Không Có , số mL/ngày....., thời gian uống rượu.....

11. Tiền sử dùng thuốc ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh:

Không rõ Không Có , Ghi rõ Tên (loại) thuốc:.....

Thời gian dùng:.....

Tác dụng phụ:.....

12. Hoạt động tình dục

- Sống chung thường xuyên Có Không

- Số lần giao hợp:.....lần/ tuần

III. KHÁM BỆNH

1. Chiều cao:..... cm

2. Cân nặng:.....kg

3. Tuần hoàn Bình thường
Bất thường , Ghi rõ:.....4. Hô hấp Bình thường
Bất thường , Ghi rõ:.....5. Tiêu hóa: Bình thường
Bất thường , Ghi rõ.....6. Thần kinh: Bình thường
Bất thường , Ghi rõ.....7. Bộ phận khác: Bình thường
Bất thường , Ghi rõ.....

8. Cơ quan sinh dục

8.1. Tinh hoàn

a) Tinh hoàn phải

* Hình dạng:

Bình thường Không bình thường ,.....

* Thể tích.....(ml)

* Có dịch màng tinh hoàn

Không Có

* Có sưng nóng đỏ đau

Không Có

* Có u cục

Không Có

* Khác, ghi rõ:.....

b) Tinh hoàn trái

* Hình dạng:

Bình thường Không bình thường ,.....

* Thể tích.....(ml)

* Có dịch màng tinh hoàn

Không Có

* Có sưng nóng đỏ đau

Không Có

* Có u cục

Không Có

* Khác, ghi rõ:.....

8.2. Mào tinh

a) Mào tinh phải

* Mật độ: Căng Mềm Không sờ thấy * Có nang Có Không

b) Mào tinh trái

* Mật độ: Căng Mềm Không sờ thấy * Có nang Có Không

* Khác, ghi rõ:.....

* Khác, ghi rõ:.....

8.3. Thừng tinh

a) Bên phải

b) Bên trái

Giãn tĩnh mạch thừng tinh

Giãn tĩnh mạch thừng tinh

Không Không Có , Độ:.....Có , Độ:.....

8.4. Dương vật:

Hình dạng bình thường Hình dạng bất thường , mô tả:.....**IV. XÉT NGHIỆM**

1. Các xét nghiệm cơ bản:

Bình thường Bất thường , Cụ thểMáu Nước tiểu Điện tim XQ tim phổi Siêu âm tim

2. Xét nghiệm AZF

Bình thường Bất thường , Cụ thể:Bất thường AZF_a: Bất thường AZF_b: Bất thường AZF_c: Tổn thương phối hợp:

Khác:.....

3. Xét nghiệm nội tiết

FSH (mIU/ml):.....

LH (mIU/ml):.....

Testosteron (ng/ml):.....

Số bệnh án:.....

V. THỰC HIỆN KỸ THUẬT MICRO TESE

1. Ngày mổ:...../...../ 20..... BS phẫu thuật:.....

2. Tinh hoàn mổ: Tinh hoàn trái
 Tinh hoàn phải
 Cả 2 tinh hoàn

3. Quan sát đại thể

a. Ống sinh tinh

– Hình thái: Bình thường Lớn Teo nhỏ
 – Màu sắc: Trắng đục Nâu Xám Khác , ghi rõ.....

b. Nhu mô tinh hoàn:.....

c. Mạch máu: Tăng sinh Không tăng sinh

d. Tinh trùng:

- Không tìm thấy - Tìm thấy tinh trùng , cụ thể:

Mật độ:

< 1Tr TT/mL 1 - <15 Tr TT/mL ≥ 15 Tr TT/mL

Tỷ lệ TT sống (%)......

Tỷ lệ TT chết (%)......

Độ di động: DD tiến tới (%)......

DD tại chỗ (%)......

Bất động (%)......

4. Tai biến, biến chứng:

Chảy máu, tụ máu Nhiễm trùng Khác ,.....

- Các bất thường đầu tinh trùng (con):.....

Đầu dẹt (nhọn) (con): *Đầu bất định (con):*

Đầu hình lê (con): *Đầu có không bào (con):* ...

Không có túi cực đầu (con): *Túi cực đầu nhỏ (con):*

Đầu tròn (con): *Khác (con):*

Tổng lượt bất thường đầu:

- Các bất thường cổ và đoạn trung gian (con):

Gập nhọn (con):..... *Dày (con):*.....

Không cân đối (con): *Mảnh (con):*.....

Tổng lượt bất thường đuôi:

- Các bất thường đuôi (con):

Ngắn (con):.....*Cuộn xoắn (con):*.....

Gập góc (con):..... *Khác (con):*

Tổng lượt bất thường đuôi:

- Bào tương còn dư (con): Tổng lượt bào tương còn dư:

- Bất thường phối hợp (con):.....

- Tổng lượt tinh trùng dị dạng:.....

Số bệnh án:.....

2. Hình thái siêu cấu trúc tinh trùng (nếu có) và ống sinh tinh**2.1. Siêu cấu trúc các tế bào dòng tinh**

- Tinh nguyên bào:

Không có Có , cụ thể:Màng: Bình thường Bất thường Nhân: Bình thường Bất thường Bào tương: Bình thường Bất thường

- Tinh bào I:

Không có Có , cụ thể:Màng: Bình thường Bất thường Nhân: Bình thường Bất thường Bào tương: Bình thường Bất thường

- Tinh bào II:

Không có Có , cụ thể:Màng: Bình thường Bất thường Nhân: Bình thường Bất thường Bào tương: Bình thường Bất thường

- Tinh tử:

Không có Có , cụ thể:Màng: Bình thường Bất thường Nhân: Bình thường Bất thường Bào tương: Bình thường Bất thường - Tinh trùng: Có Không

Mô tả:

- Tế bào Sertoli:

Không có

Có , cụ thể:

Màng: Bình thường

Bất thường

Nhân: Bình thường

Bất thường

Bào tương: Bình thường

Bất thường

2.2. Mô tả ống sinh tinh

.....

.....

.....

Cán bộ hướng dẫn

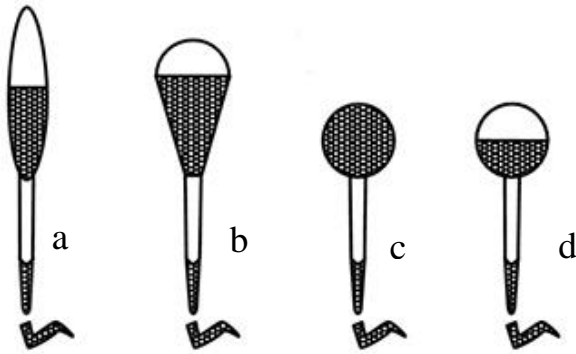
Nghiên cứu sinh

Vũ Thị Thu Trang

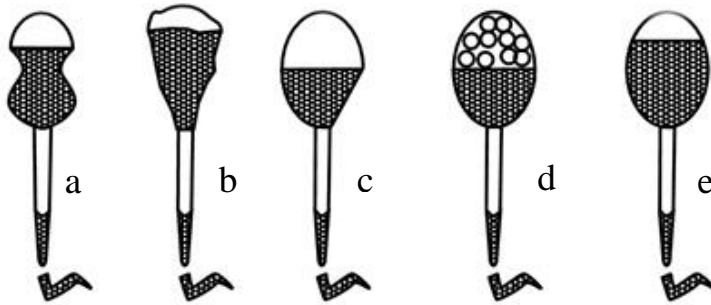
Phụ lục 2

MỘT SỐ DẠNG BẤT THƯỜNG CỦA TINH TRÙNG

A. Bất thường đầu

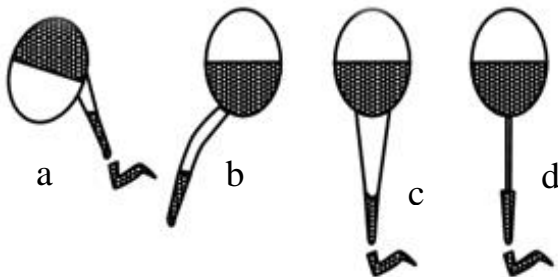


- a. Đầu hình nén (dẹp)
- b. Đầu hình lê (hạt đậu)
- c. Không có túi cực đầu
- d. Đầu tròn nhỏ



- a, b, c. Đầu dạng bất định
- d. Đầu có không bào
- e. Túi cực đầu nhỏ

B. Bất thường cổ và đoạn trung gian



- a. Cổ gập
- b. Cổ không cân đối
- c. Cổ và đoạn trung gian dày
- d. Cổ và đoạn trung gian mảnh

C. Bất thường đuôi

Đuôi ngắn Đuôi gập Đuôi cuộn



D. Bào tương còn dư



Hình PL2.1. Một số dạng bất thường của tinh trùng người

* Nguồn: Theo WHO (2010) [17]

Phụ lục 3

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VI THỂ BẤT THƯỜNG VÀ SIÊU CẤU TRÚC

TINH TRÙNG THU ĐƯỢC Ở BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU

1. Một số hình ảnh vi thể bất thường của tinh trùng thu được bằng kỹ thuật micro TESE ở bệnh nhân nghiên cứu.



Hình PL3.1. Tinh trùng có đầu to, đoạn thân gập
Mã 2575 (Papanicolaou, x2500)

1. Đầu to; 2. Đoạn thân gập



Hình PL3.2. Tinh trùng có đầu bất định. Mã 2616 (Papanicolaou, x2500)

Đầu bất định: mũi tên đỏ



Hình PL3.3. Tinh trùng đầu hình lê. Mã 2544 (Papanicolaou, x2500)

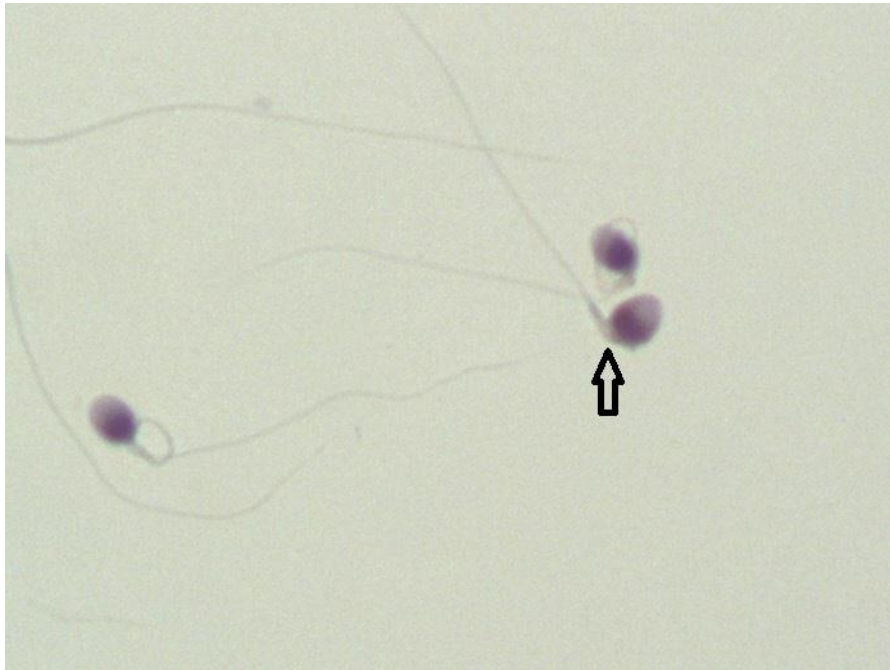
Đầu hình lê: mũi tên đỏ



Hình PL3.4. Tinh trùng có túi cực đầu bất thường

Mã 2516 (Papanicolaou, x2500)

Túi cực đầu nhỏ: mũi tên đỏ



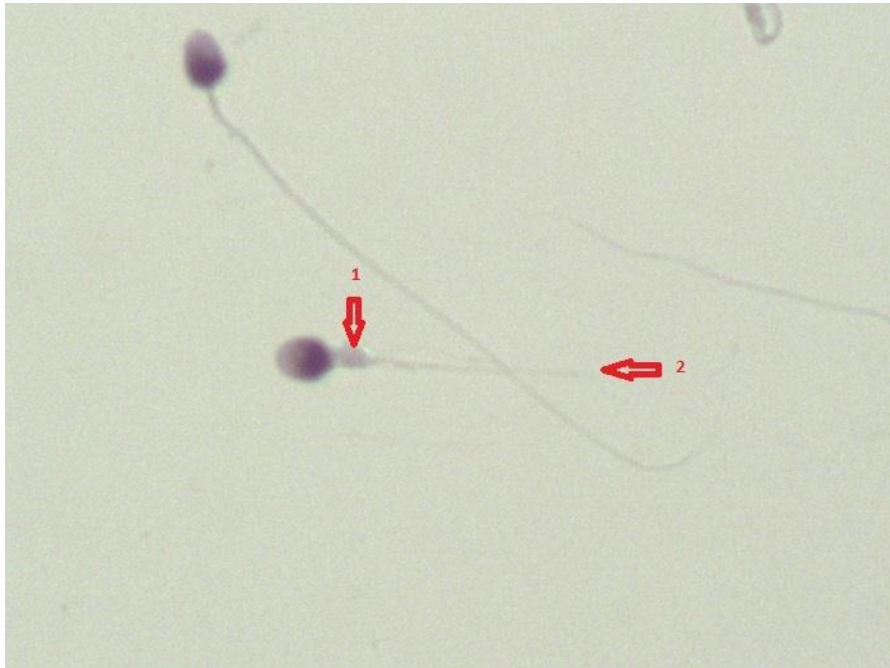
Hình PL3.5. Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian gập. Mã 2590
(Papanicolaou, x2500)

Cổ và đoạn trung gian gập: mũi tên đen



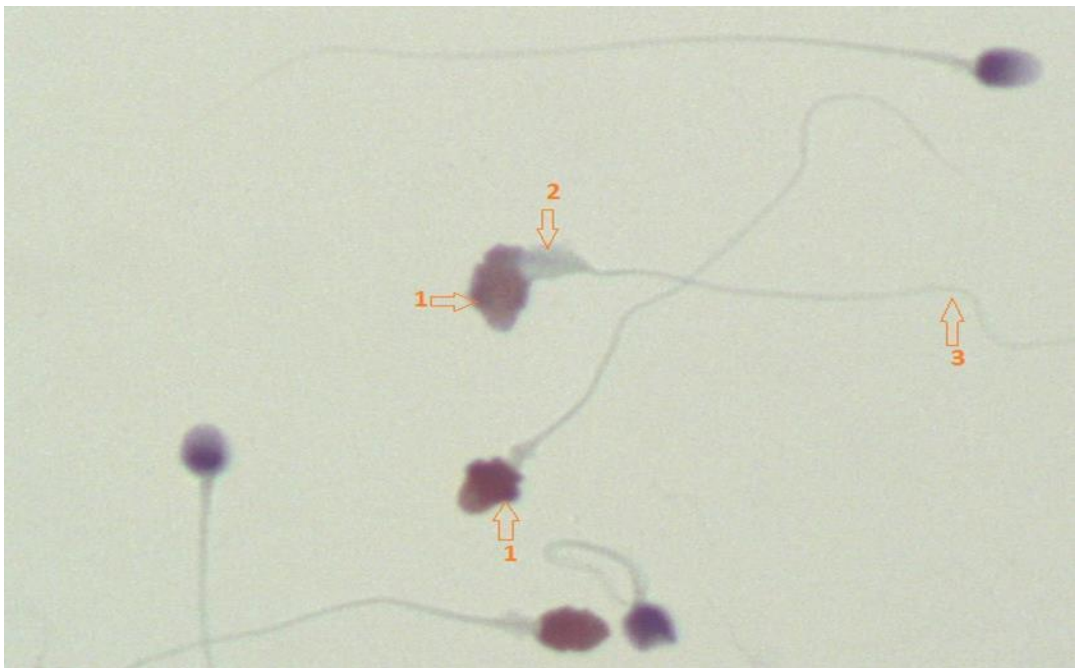
Hình PL3.6. Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian dày. Mã 2588
(Papanicolaou, x2500)

Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian dày (còn màng bào tương): mũi tên đỏ



Hình PL3.7. Tinh trùng có cổ và đoạn trung gian dày, đuôi ngắn
Mã 2514 (Papanicolaou, x2500)

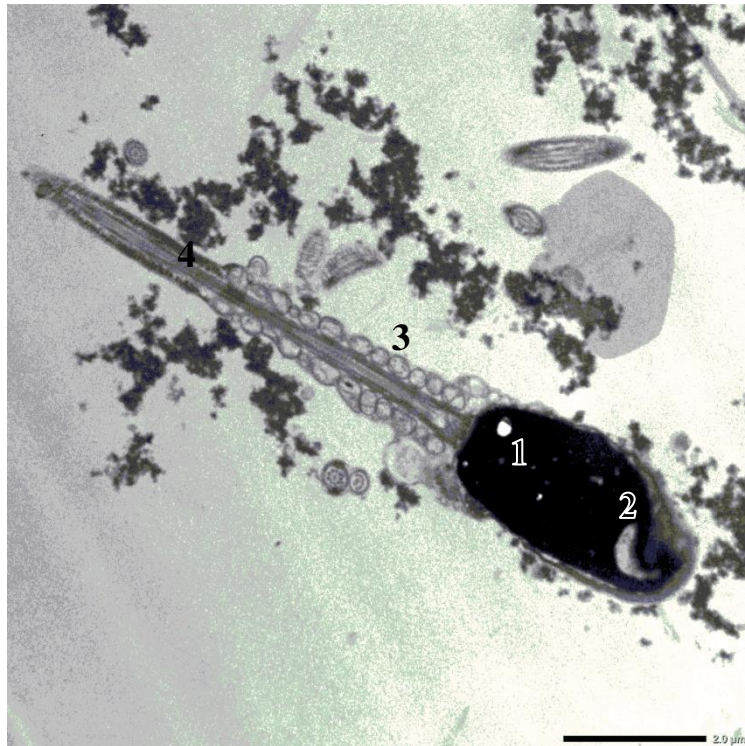
Cổ và đoạn trung gian dày: mũi tên đỏ 1; Đuôi ngắn: mũi tên đỏ 2.



Hình PL3.8. Tinh trùng đầu bất định, cổ dày, đuôi cong
Mã 2636 (Papanicolaou, x2500)

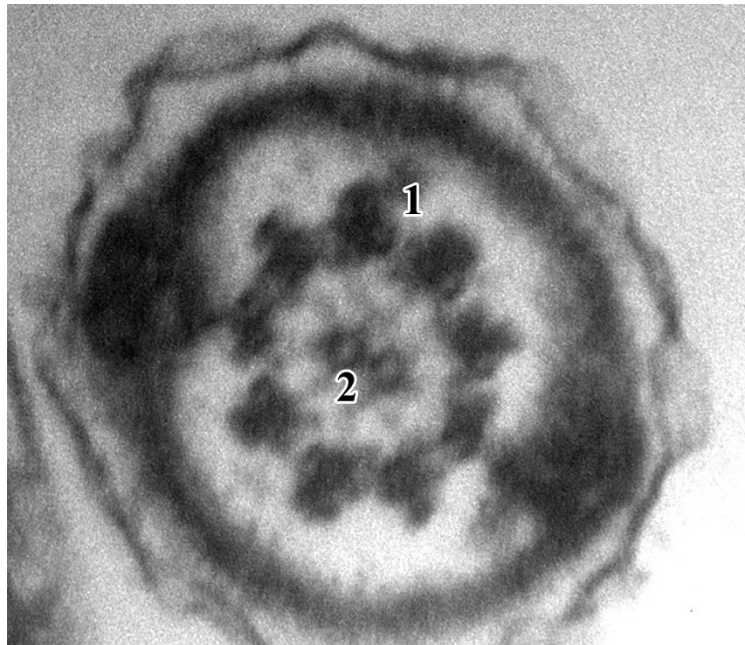
1. Đầu bất định, 2. Cổ và đoạn trung gian dày, 3. Đuôi cong

2. Hình ảnh siêu cấu trúc tinh trùng ở bệnh nhân nghiên cứu



Hình PL3.9. Siêu cấu trúc tinh trùng từ tinh hoàn bệnh nhân nghiên cứu.
Mã 2637 (TEM, x2500)

1. Chất nhiễm sắc; 2. Vùng khuyết mật độ điện tử thấp; 3. Bao ty thể; 4. Đoạn thân



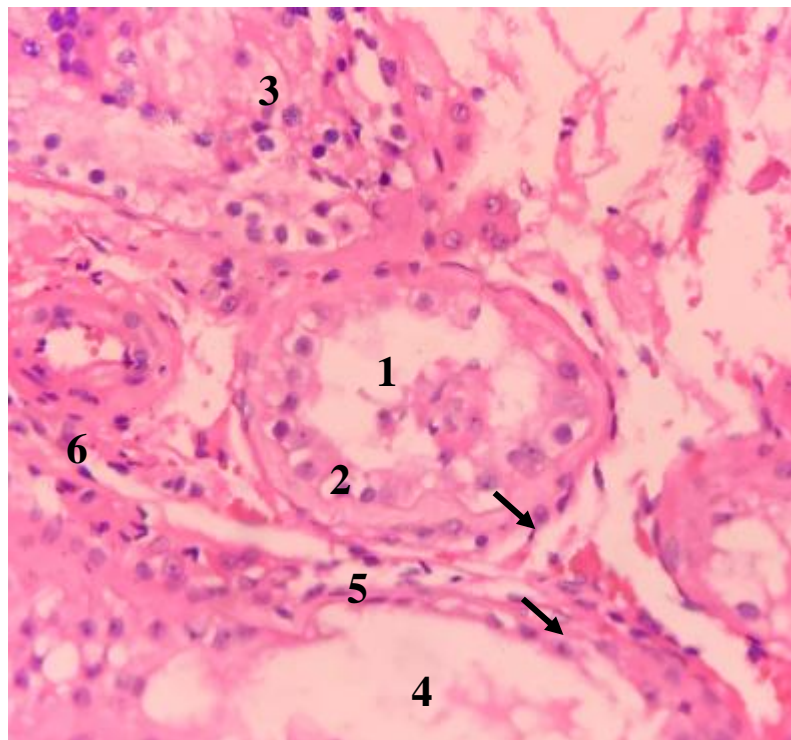
Hình PL3.10. Siêu cấu trúc đuôi (đoạn chính) tinh trùng (cắt ngang)
thu được từ tinh hoàn bệnh nhân nghiên cứu
Mã 2639 (TEM, x 30.000)

1. Các cặp ống siêu vi ở ngoại vi; 2. Hai cặp ống siêu vi trung tâm

Phụ lục 4

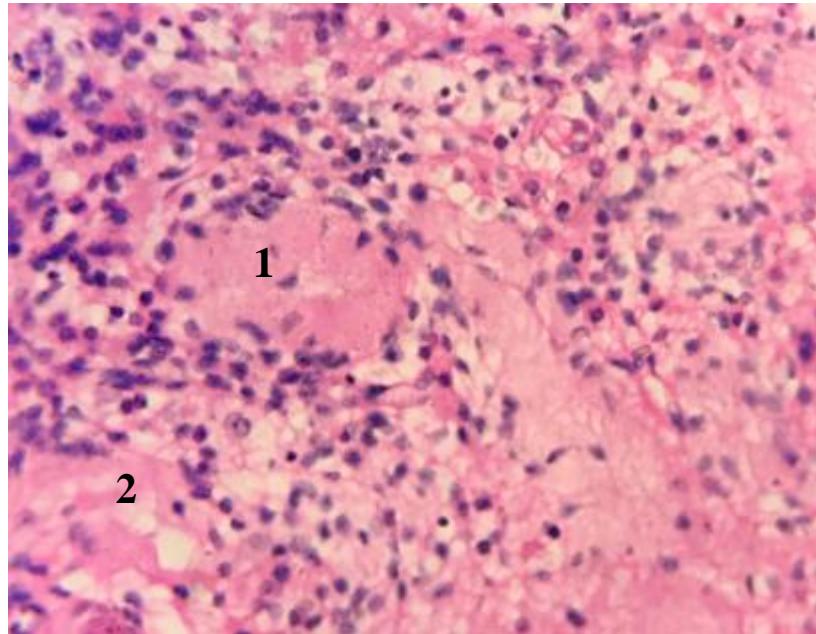
MỘT SỐ HÌNH ẢNH CẤU TRÚC VÀ SIÊU CẤU TRÚC ống SINH TINH Ở BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU

1. Một số hình ảnh cấu trúc ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu:



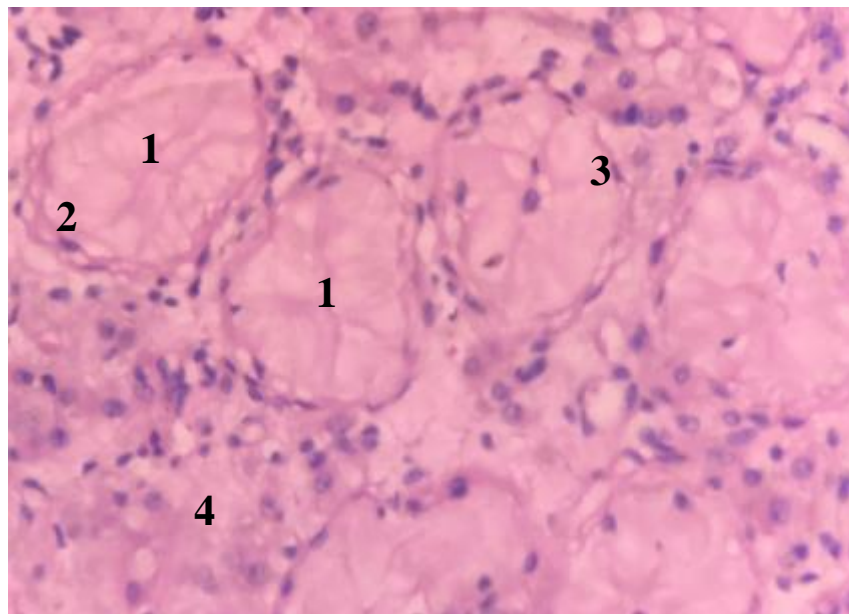
Hình PL4.1. Ống sinh tinh thoái hóa không đều. Mã 2478 (HE, x600)

1. Lòng ống sinh tinh có tinh nguyên bào và tế bào Sertoli (mũi tên)
2. Tinh nguyên bào; 3. Ống sinh tinh có tế bào Sertoli, tinh nguyên bào, tinh bào.
4. Ống sinh tinh có vỏ xơ dày, tăng sinh nguyên bào sợi và tế bào sợi;
5. Tế bào sợi; 6. Mô kẽ tăng sinh mạch máu.



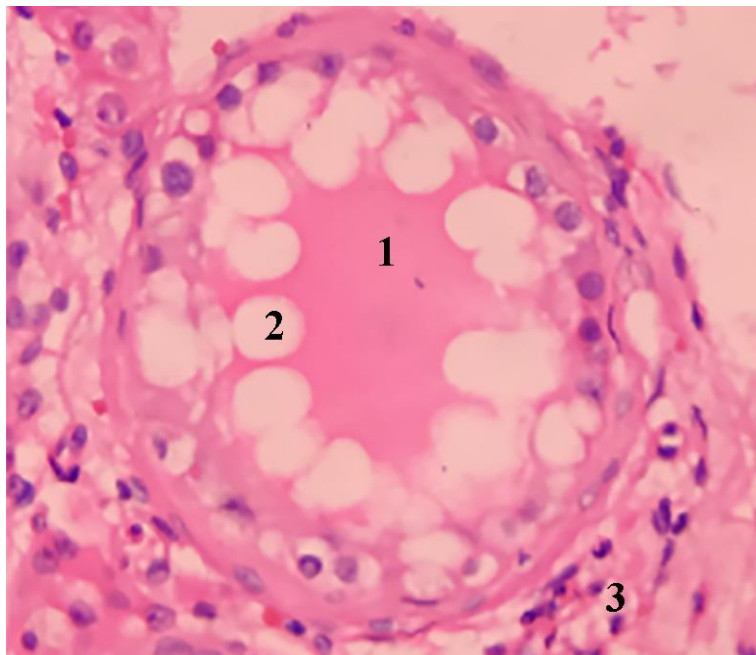
Hình PL4.2. Ống sinh tinh bị phá hủy, thay vào đó là mô liên kết
Mã 2555 (HE, x600)

1. Ống sinh tinh thoái hóa; 2. Mô liên kết



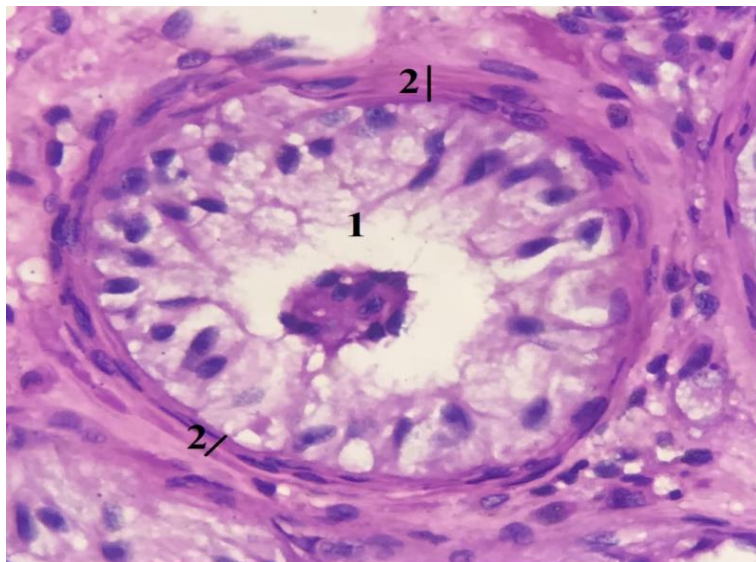
Hình PL4.3. Thành ống sinh tinh chỉ bao gồm nguyên bào sợi và tế bào sợi.
Mã 2587 (HE, x 600)

1. Lòng ống sinh tinh; 2. Nguyên bào sợi; 3. Tế bào sợi; 4. Tuyến kẽ



Hình PL4.4. Ống sinh tinh có thoái hóa hắc. Mã 2581(HE, x 600)

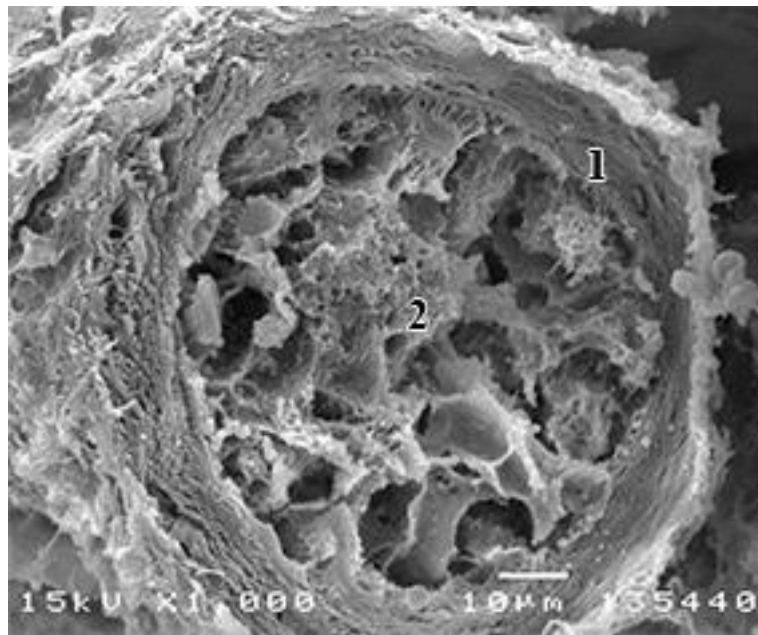
1. Ống sinh tinh; 2. Thoái hóa hắc; 3. Mô kẽ.



Hình PL4.5. Lớp vỏ xơ ống sinh tinh rất dày. Mã 2431 (HE, x 600)

1. Lòng ống sinh tinh, 2 Vỏ xơ ống sinh tinh

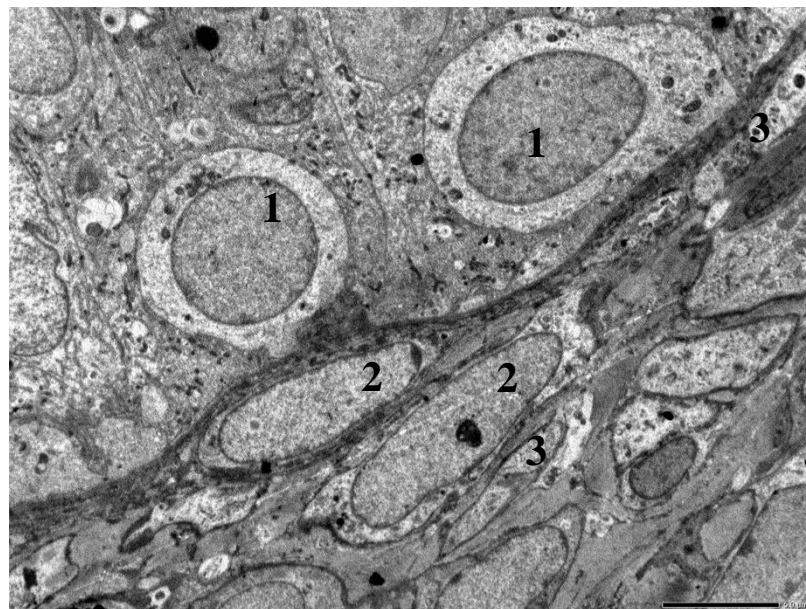
2. Một số hình ảnh siêu cấu trúc ống sinh tinh của bệnh nhân nghiên cứu:



Hình PL4.6. Ống sinh tinh với vỏ xơ dày, có đường kính 12,3µm

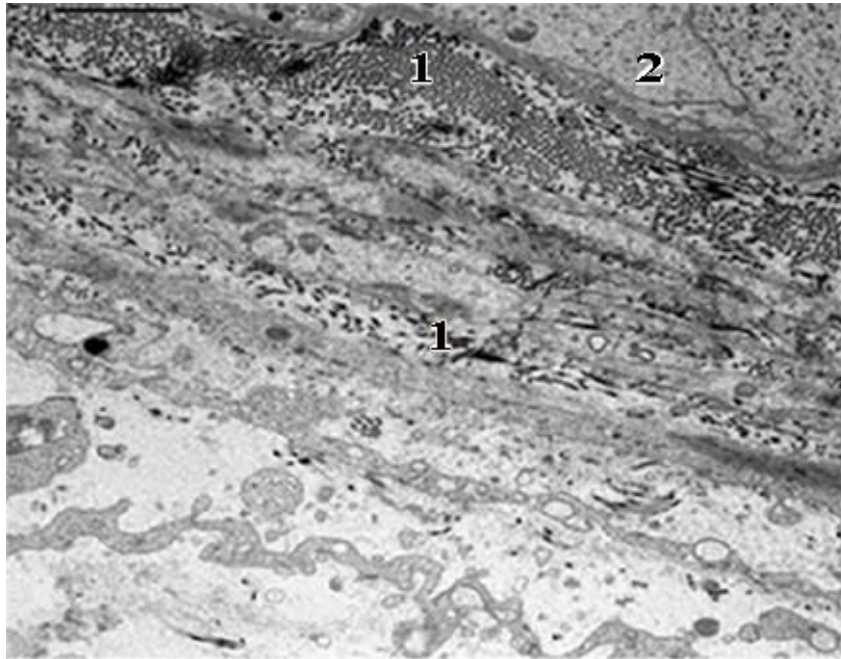
Mã 2454 (SEM, x1000)

1.Vỏ xơ dày, 2. Lòng ống sinh tinh



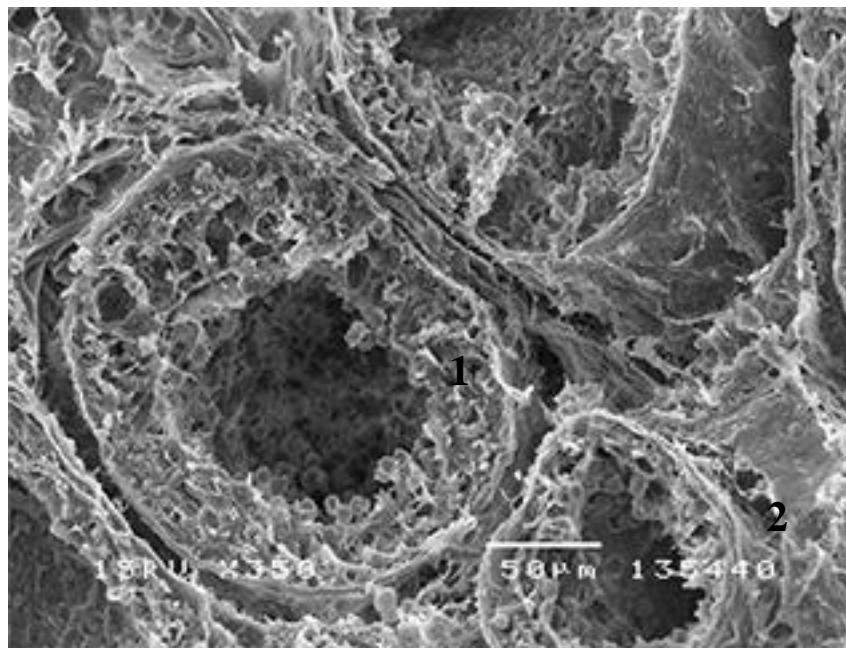
Hình PL4.7. Siêu cấu trúc lớp vỏ xơ ống sinh tinh:
tăng sinh nhiều lớp tế bào sợi. Mã 2411 (TEM, x1000)

1. Tinh nguyên bào; 2. Nguyên bào sợi; 3. Tế bào sợi



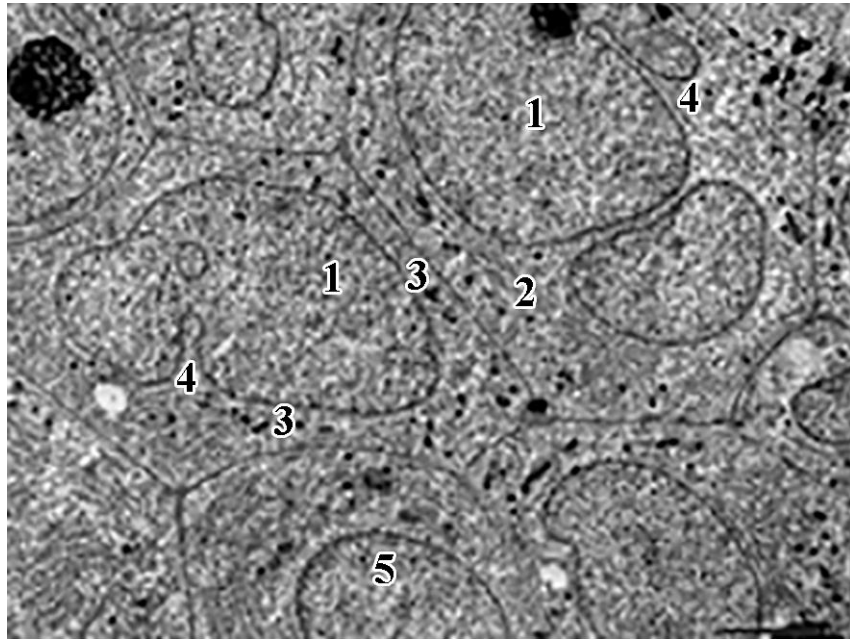
Hình PL4.8. Siêu cấu trúc lớp vỏ xơ ống sinh tinh: tầng sinh bó sợi collagen
Mã 2619 (TEM, x1000)

1. Bó sợi collagen cắt ngang; 2. Tế bào sợi



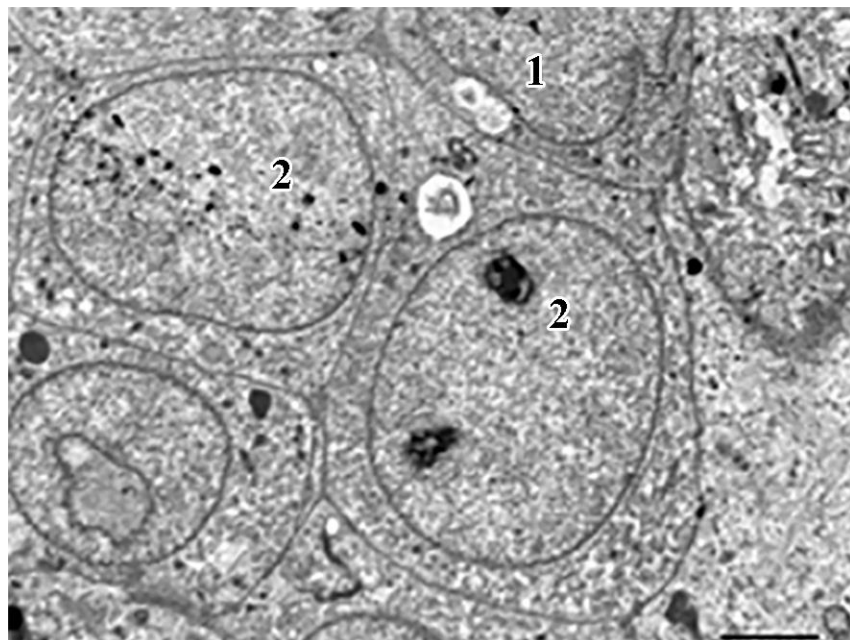
Hình PL4.9. Siêu cấu trúc ống sinh tinh đường kính bình thường
và ống sinh tinh đường kính nhỏ. Mã 2574 (SEM, x350)

1: Ống sinh tinh đường kính bình thường, biểu mô sinh tinh dày với nhiều lớp tế bào;
2: Ống sinh tinh đường kính nhỏ, biểu mô sinh tinh mỏng



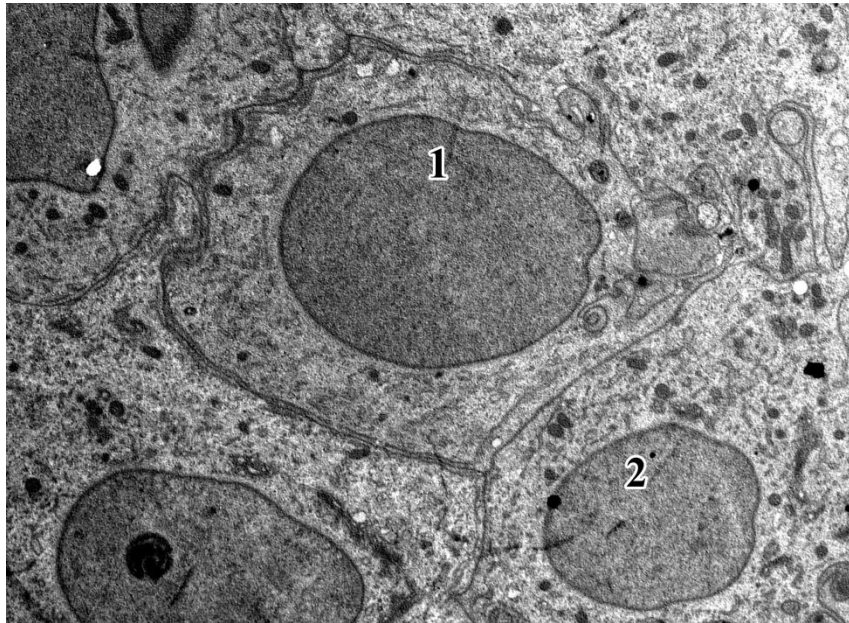
Hình PL4.10. Biểu mô sinh tinh hoạt động mạnh: ty thể và lưới nội bào phát triển. Mã 2411 (TEM, x1000)

1. Nhân tế bào Sertoli; 2. Lưới nội bào; 3. Ty thể phát triển;
4. Màng nhân gấp nếp. 5. Tế bào dòng tinh có lưới nội bào và ty thể phát triển



Hình PL4.11. Biểu mô sinh tinh hoạt động kém: tế bào biểu mô sinh tinh không có lưới nội bào và ty thể phát triển. Mã 2411 (TEM, x1000)

1. Tế bào Sertoli; 2. Tế bào dòng tinh



Hình PL4.12. Tế bào Sertoli hoạt động kém: nhân không có nếp gấp, bào quan thưa. Mã 2454 (TEM, x1200)

1. Tế bào Sertoli; 2. Tế bào dòng tinh



Hình PL4.13. Tế bào Sertoli trưởng thành với màng nhân gấp nếp, nhiều ty thể, xuất hiện thể thực bào. Mã 2448 (TEM, x5000)

1. Nhân tế bào Sertoli; 2. Ty thể; 3. Thể thực bào;

Nếp gấp màng bào tương (mũi tên)

Phụ lục 5**DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU**

TT	Họ tên bệnh nhân	Năm sinh	Tuổi	Số hồ sơ	Địa chỉ	Ngày làm microTESE
1	Đinh Ngọc A	1991	26	2461	Hà Nội	24/05/2017
2	Trần Quang A	1986	31	2479	Thái Bình	20/07/2017
3	Hà Ngọc Hoàng A	1988	30	2530	Phú Thọ	30/10/2017
4	Mai Văn B	1980	37	2455	Thanh Hóa	03/05/2017
5	Đặng Xuân B	1993	24	2538	Hải Phòng	14/12/2017
6	Vũ Văn B	1989	29	2602	Hải Phòng	03/08/2018
7	Nguyễn Đức B	1984	34	2592	Phú Thọ	24/07/2018
8	Trần Minh B	1983	35	2611	Hung Yên	15/08/2018
9	Đỗ Kiên C	1983	33	2389	Hà Nội	22/11/2016
10	Phạm Văn C	1983	35	2640	Hải Phòng	02/10/2018
11	Nguyễn Văn C	1987	31	2563	Bắc Ninh	06/03/2018
12	Nguyễn Trung C	1989	29	2632	Thanh Hóa	26/09/2018
13	Nguyễn Thế Ch	1990	26	2378	Hà Nội	01/11/2016
14	Diêm Văn Ch	1988	30	2598	Bắc Giang	31/07/2018
15	Trần Văn Ch	1989	28	2522	Bắc Giang	09/10/2017
16	Mai Đức Ch	1986	32	2574	Hà Nội	11/04/2018
17	Nguyễn Đại D	1985	31	2402	Nghệ An	13/12/2016
18	Lê Thanh D	1982	35	2454	Phú Thọ	03/05/2017
19	Trần Vũ D	1989	28	2428	Hà Nội	07/03/2017
20	Nguyễn Anh D	1988	29	2536	Hà Nội	14/11/2017
21	Vũ Công D	1983	34	2514	Bắc Ninh	12/09/2017
22	Nguyễn Văn D	1987	31	2625	Ninh Bình	27/08/2018
23	Trần Văn D	1991	27	2613	Ninh Bình	11/09/2018
24	Lê Hữu Đ	1991	26	2449	Thanh Hóa	24/04/2017
25	Nguyễn Tuấn Đ	1988	29	2503	Hà Nội	12/09/2017



26	Lưu Vũ Trường Đ	1987	31	2596	Hà Nội	26/09/2018
27	Phan Văn Đ	1984	34	2633	Bắc Giang	26/09/2018
28	Hà Thanh G	1986	31	2478	Hà Nam	20/06/2017
29	Nguyễn Thúc Gi	1984	34	2546	Thanh Hóa	20/01/2018
30	Nguyễn Đình H	1982	35	2483	Nam Định	01/08/2017
31	Tiêu Văn H	1988	29	2463	Hải Dương	15/05/2007
32	Phạm Trung H	1984	33	2515	Nam Định	12/09/2017
33	Nguyễn Hoàng H	1981	37	2557	Hà Nội	22/01/2018
34	Đào Xuân H	1976	42	2350	Hà Nam	03/08/2018
35	Nguyễn Văn H	1983	35	2583	Vĩnh Phúc	14/05/2018
36	Trần Ngọc Hoàng H	1991	27	2561	Hà Nội	06/03/2018
37	Chu Văn H	1986	32	2581	Vĩnh Phúc	24/07/2018
38	Bùi Việt H	1981	37	2603	Quảng Ninh	31/07/2018
39	Phạm Văn H	1997	21	2629	Hà Nam	27/08/2018
40	Vũ Hán H	1978	40	2630	Phú Thọ	11/09/2018
41	Lê Đăng K	1985	33	2637	Nghệ An	28/10/2018
42	Phạm Ngọc Kh	1988	29	2480	Nam Định	16/08/2017
43	Nguyễn Văn Kh	1991	27	2639	Hà Nội	02/10/2018
44	Nguyễn Phú Kh	1991	27	2610	Hà Nội	09/08/2018
45	Cao Đức L	1990	26	2404	Phú Thọ	28/12/2016
46	Hoàng Đình L	1988	30	2508	Phú Thọ	15/03/2018
47	Nguyễn Văn M	1990	26	2390	Bắc Giang	28/12/2016
48	Phạm Văn M	1981	36	2544	Lai Châu	14/12/2017
49	Trần Đăng M	1988	30	2618	Hải Phòng	06/08/2018
50	Bùi Văn M	1985	33	2582	Hòa Bình	24/07/2018
51	Hoàng Văn N	1978	39	2417	Bắc giang	20/02/2017
52	Quách Văn N	1984	33	2534	Thanh Hóa	14/11/2017
53	Trần Văn N	1985	33	2590	Nghệ An	03/08/2018
54	Phan Hải N	1986	32	2562	Hà Nội	06/03/2018
55	Nguyễn Duy Ng	1983	33	2331	Hà Nội	25/08/2016



56	Phạm Văn Ng	1991	27	2616	Nam Định	06/08/2018
57	Đỗ Thanh Ng	1980	38	2628	Lạng Sơn	11/09/2018
58	Nguyễn Đăng Ngh	1979	39	2636	Hà Nội	28/10/2018
59	Nguyễn Huy P	1992	26	2587	Hà Nam	29/05/2018
60	Nguyễn Văn Ph	1986	31	2548	Hà Nội	26/12/2017
61	Nguyễn Kim Q	1984	33	2442	Hà Nội	03/04/2017
62	Bùi Ngọc Q	1985	32	2431	Quảng Bình	22/03/2017
63	Tạ Quang Q	1987	31	2591	Thái Bình	24/07/2018
64	Phan Trọng Q	1990	28	2600	Vĩnh Phúc	09/08/2017
65	Đỗ Văn S	1969	47	2399	Ninh Bình	13/12/2016
66	Mai Thanh S	1989	28	2462	Hung Yên	24/05/2017
67	Điền Linh S	1989	29	2579	Ninh Bình	02/05/2018
68	Nguyễn Văn S	1990	28	2564	Sơn La	15/03/2018
69	Đặng Văn S	1982	36	2624	Hà Nội	27/08/2018
70	Hoàng Anh T	1979	38	2437	Hà Nội	13/03/2017
71	Đào Văn T	1983	34	2498	Hải Phòng	22/08/2017
72	Nguyễn Đình T	1984	33	2411	Hà Nội	17/02/2017
73	Vương Thanh T	1978	39	2416	Hà Nội	20/02/2017
74	Nguyễn Văn T	1984	33	2430	Bắc Ninh	13/03/2017
75	Nguyễn Minh T	1981	36	2471	Hà Nội	06/05/2017
76	Đoàn Văn T	1987	30	2474	Nam Định	20/06/2017
77	Hoàng Văn T	1989	28	2486	Lào Cai	20/07/2017
78	Nguyễn Tuấn T	1992	25	2481	Hà Nội	20/07/2017
79	Đoàn Minh T	1983	34	2524	Bình Định	18/10/2017
80	Phạm Khắc T	1987	30	2539	Hải Phòng	29/11/2017
81	Lỗ Văn T	1988	30	2559	Vĩnh Phúc	22/01/2018
82	Nguyễn Văn T	1983	35	2595	Lâm Đồng	03/08/2018
83	Lê Văn T	1990	28	2555	Hà Nội	27/03/2018
84	Lý Đức T	1981	37	2620	Hà Nội	15/08/2018
85	Nguyễn Bình Th	1978	38	2367	Hà Nội	26/09/2016

86	Phạm Xuân Th	1984	33	2531	Hải Phòng	29/11/2017
87	Phạm Đình Th	1974	43	2448	Nam Định	12/04/2017
88	Đình Công Th	1983	34	2549	Hà Nội	26/12/2017
89	Nguyễn Minh Th	1982	35	2550	Hải Phòng	26/12/2017
90	Nguyễn Ngọc Th	1983	35	2638	Hải Dương	02/10/2018
91	Chu Văn Th	1983	35	2575	Hà Nội	13/06/2018
92	Hoàng Vũ Th	1973	45	2573	Hà Nội	11/04/2018
93	Nguyễn Văn Tr	1986	30	2321	Hà Nội	09/08/2016
94	Bùi Đức Tr	1988	30	2588	Tuyên Quang	13/06/2016
95	Phạm Sỹ T	1983	34	2505	Bắc Ninh	16/08/2017
96	Nguyễn Văn V	1987	30	2545	Hà Nội	14/12/2017
97	Ngô Xuân V	1983	35	2568	Hà Nội	15/03/2018
98	Nguyễn Văn V	1982	36	2619	Thái Nguyên	21/08/2018
99	Ngô Minh V	1989	28	2516	Bắc Giang	18/09/2017
100	Ngô Văn V	1984	33	2489	Hà Nội	20/07/2017

Hà Nội, ngày 18 tháng 3 năm 2020

**XÁC NHẬN CỦA VIỆN MÔ PHÔI
LÂM SÀNG QUÂN ĐỘI**



PGS.TS Quân Hoàng Lâm



**DANH SÁCH BỆNH NHÂN LÀM SIÊU CẤU TRÚC
TẠI KHOA HÌNH THÁI VIỆN 69 (15 TEM, 15 SEM)**

STT	Mã Hồ sơ	Ngày gửi xét nghiệm
1	2411	7/2017
2	2431	7/2017
3	2448	7/2017
4	2454	7/2017
5	2462	7/2017
6	2574	8/2018
7	2581	8/2018
8	2591	8/2018
9	2616	11/2018
10	2619	11/2018
11	2620	11/2018
12	2632	11/2018
13	2633	11/2018
14	2636	11/2018
15	2639	11/2018

Hà Nội, ngày tháng năm 2020

**XÁC NHẬN CỦA THỦ TRƯỞNG
VIỆN 69**

**XÁC NHẬN CỦA CHỦ NHIỆM
KHOA HÌNH THÁI**