

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH



HOÀNG NGỌC ANH

**NGHIÊN CỨU CHỈ SỐ ĐÚT GỠY DNA TINH
TRÙNG Ở BỆNH NHÂN NAM KHÁM HIỂM
MUỘN TẠI BỆNH VIỆN HNĐK NGHỆ AN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Vinh - 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH**



HOÀNG NGỌC ANH

**NGHIÊN CỨU CHỈ SỐ ĐÚT GỠY DNA TINH
TRÙNG Ở BỆNH NHÂN NAM KHÁM HIỂM
MUỘN TẠI BỆNH VIỆN HNĐK NGHỆ AN**

**Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm
Mã số: 84210141**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

Vinh - 2021

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Khái niệm vô sinh và vô sinh nam.....	3
1.2. Tình hình vô sinh, vô sinh nam trên thế giới và ở Việt Nam	3
<i>1.2.1. Tình hình vô sinh và vô sinh nam trên thế giới</i>	<i>3</i>
<i>1.2.2. Tình hình vô sinh và vô sinh nam ở Việt Nam.....</i>	<i>4</i>
1.3. Tình trùng và xét nghiệm tinh dịch đồ	5
<i>1.3.1. Cấu tạo tinh trùng và quá trình sinh tinh</i>	<i>5</i>
<i>1.3.2. Tinh dịch và đánh giá chất lượng tinh trùng qua xét nghiệm tinh dịch đồ</i>	<i>5</i>
1.4. Các nguyên nhân vô sinh ở nam giới	6
<i>1.4.1. Nguyên nhân di truyền</i>	<i>7</i>
<i>1.4.2. Nguyên nhân nội tiết.....</i>	<i>9</i>
<i>1.4.3. Nguyên nhân tại tinh hoàn</i>	<i>10</i>
<i>1.4.4. Các vấn đề liên quan đến tình dục.....</i>	<i>13</i>
1.5. Đứt gãy DNA tinh trùng	14
<i>1.5.1. Khái niệm</i>	<i>14</i>
<i>1.5.2. Nguyên nhân.....</i>	<i>14</i>
1.6. Các phương pháp đánh giá tình trạng đứt gãy DNA của tinh trùng hiện nay	18
Chương 2.....	19
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	19
2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	19
2.2. Đối tượng nghiên cứu	19
<i>2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn</i>	<i>19</i>
<i>2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ</i>	<i>19</i>
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	19
<i>2.3.1. Thiết kế nghiên cứu</i>	<i>19</i>
<i>2.3.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu</i>	<i>19</i>
2.4. Các bước nghiên cứu	20
<i>2.4.1. Lập hồ sơ bệnh án.....</i>	<i>20</i>
<i>2.4.2. Xét nghiệm tinh dịch đồ</i>	<i>20</i>
<i>2.4.3. Xét nghiệm tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng.....</i>	<i>21</i>
2.5. Các biến số nghiên cứu	22

2.4. Xử lý số liệu	22
2.5. Đạo đức nghiên cứu:	22
Chương 3.....	23
DỰ KIẾN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	23
3.1 Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.....	23
3.1.1. Phân loại vô sinh.....	23
3.1.2. Tình trạng có con	23
Nhận xét:	23
3.1.2. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi.....	23
3.1.3. Đặc điểm nghề nghiệp của bệnh nhân.....	24
3.1.4. Đặc điểm tiền sử bệnh nhân	24
3.1.5. Đặc điểm chỉ số khối cơ thể (BMI)	25
3.2. Đặc điểm tình dịch đồ theo từng nhóm vô sinh	25
3.2.1. Mật độ tinh trùng	25
3.2.2. Tỷ lệ di động tiến tới, tỷ lệ sống và hình thái bình thường của tinh trùng	25
3.2.3. Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng	26
3.2.4. Phân bố bệnh nhân theo tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng	26
3.3. Mối tương quan giữa tỷ lệ đứt gãy tinh trùng với các chỉ số của tình dịch đồ	26
3.3.1. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với độ di động tinh trùng	26
3.3.2. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với tỷ lệ sống tinh trùng.....	27
3.3.3. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với hình dạng bình thường tinh trùng	27
3.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng với các yếu tố nguy cơ	27
3.4.1. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tuổi nam giới... ..	27
3.4.2. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và hút thuốc lá	28
3.4.3. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng sử dụng rượu/bia	28
3.4.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tiền sử tiếp xúc hóa chất, tia xạ	29
3.4.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và sảy thai, thai lưu.....	29
3.4.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và giãn tĩnh mạch tinh	30

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AZF	Azoospermia factor
BMI	Body Mass Index
CRNN	Chưa rõ nguyên nhân
DFI	DNA fragmentation index
DNA	Deoxyribonucleic Acid
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
HNĐK	Hữu nghị Đa Khoa
FSH	Follicle Stimulating Hormone
NST	Nhiễm sắc thể
LH	Luteinizing Hormone
ROS	Reactive Oxygen Species
SDF	Sperm DNA Fragmentation
TTHTSS	Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản
TM	Tĩnh mạch
VS	Vô Sinh
WHO	World Health Organization, Tổ chức Y tế Thế giới
IUI	Intra Uterine Insemination
IVF	Invitro Fertilization
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh nói chung và vô sinh nam giới nói riêng là một vấn đề sức khỏe sinh sản gây ảnh hưởng lớn tới chất lượng cuộc sống của nhiều cặp vợ chồng. Tỷ lệ vô sinh có sự khác nhau giữa các quốc gia và vùng lãnh thổ, tần suất khoảng 9 - 18% [1], nó có thể nguyên nhân đến từ nam hoặc nữ hoặc chưa rõ lý do, khoảng 30-50% nguyên nhân vô sinh đến từ phía nam do các bất thường về tinh trùng [2]. Tại Việt Nam, tỷ lệ này là 7,7% (khoảng 1 triệu cặp vợ chồng), theo nghiên cứu của Bệnh viện Phụ sản Trung ương và trường Đại học Y Hà Nội năm 2012, trong đó, vô sinh nam chiếm 40% [3].

Trên thực tiễn lâm sàng cho thấy, nhiều trường hợp mặc dù có các chỉ số tinh dịch đồ nằm trong giới hạn bình thường theo tiêu chuẩn của tổ chức Y tế Thế giới nhưng vẫn bị vô sinh. Với sự phát triển của các kỹ thuật di truyền phân tử, người ta phát hiện những người này vẫn bị vô sinh có thể do sự đứt gãy DNA trong tinh trùng. Phát hiện này cho phép giải thích cơ chế gây bệnh, giúp ích cho người thầy thuốc trong chẩn đoán, điều trị và tiên lượng.

Phân mảnh DNA tinh trùng (SDF - Sperm DNA fragmentation) là sự mất tính toàn vẹn của DNA tinh trùng trên chuỗi đơn hoặc chuỗi kép được thể hiện qua đơn vị đo là chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DFI – DNA fragmentation index) [4]. Những trường hợp có sự đứt gãy DNA mức độ cao là một trong những nguyên nhân ảnh hưởng đến thụ tinh và chất lượng phôi, tỷ lệ làm tổ, làm giảm tỷ lệ thành công của phương pháp hỗ trợ sinh sản và gây sảy thai nhiều lần [5].

Tại các trung tâm điều trị Hỗ trợ Sinh sản tại Việt Nam hiện nay xét nghiệm thường quy để chẩn đoán và điều trị vẫn là xét nghiệm tinh dịch đồ. Từ năm 2021 trong phiên bản lần thứ 6 về cẩm nang phân tích tinh dịch đồ của WHO đã khuyến cáo nâng cao chỉ định xét nghiệm đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng trong vấn đề khám và điều trị vô sinh [6]

Phân tích tinh dịch là một phương pháp phổ biến nhất giúp chuẩn đoán khả năng sinh sản ở nam giới tại các labo nam khoa, mặc dù vậy các chỉ số của

một tinh dịch đồ không cho biết tính toàn vẹn của các vật liệu di truyền trong tinh trùng. Có khoảng 15% những người đàn ông vô sinh có kết quả tinh dịch đồ bình thường, nhưng có khoảng 8% những trường hợp này có bất thường về DNA của tinh trùng [7]. Hiện nay, nhiều loại test đã được giới thiệu và đưa vào sử dụng để xác định tình trạng phân mảnh AND tinh trùng như Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Nick End Labeling (TUNEL), singlecell gel electrophoresis (COMET), in-situ nick translation (NT), DNA breakage detection fluorescence in situ hybridization (DBD-FISH), sperm chromatin dispersion test (SCD) hay Sperm chromatin structure assay (SCSA). Các xét nghiệm trên được chia làm hai nhóm: (1) test khảo sát sự phân mảnh DNA trực tiếp như TUNEL, NT và (2) test khảo sát tổn thương DNA gián tiếp sau khi đã được tháo xoắn như SCSA, SCD, COMET. Nguyên tắc chung của các test chẩn đoán này, dù trực tiếp hay gián tiếp, là xác định số lượng DNA bị phân mảnh mà không giúp định vị vị trí của tổn thương [7].

Tại Bệnh viện HNĐK Nghệ An mỗi năm thăm khám cho hằng ngàn các cặp vợ chồng hiếm muộn-vô sinh. Bên cạnh đó chưa có nghiên cứu đánh giá tình trạng phân mảnh tinh trùng ở nam trên địa bàn. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: ***“Nghiên cứu chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng ở đối tượng khám hiếm muộn tại Bệnh viện HNĐK Nghệ An”*** nhằm 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng ở đối tượng khám hiếm muộn tại Bệnh viện HNĐK Nghệ An.*
2. *Phân tích một số yếu tố liên quan đến chỉ số đứt gãy DNA ở đối tượng nghiên cứu trên.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Khái niệm vô sinh và vô sinh nam

Vô sinh (VS) là tình trạng một cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản không có thai sau một năm chung sống, sinh hoạt tình dục thường xuyên, không dùng bất cứ một biện pháp tránh thai nào [8].

Vô sinh nguyên phát hay còn gọi là vô sinh I là trường hợp người phụ nữ chưa có thai lần nào, còn vô sinh thứ phát hay còn gọi là vô sinh II là trước đó người phụ nữ đã có thai ít nhất một lần [8].

Có 3 nhóm nguyên nhân vô sinh, trong đó vô sinh nữ là vô sinh mà nguyên nhân được xác định là do người vợ, vô sinh nam giới là vô sinh mà nguyên nhân do người chồng. Vô sinh chưa rõ nguyên nhân (CRNN) là trường hợp cặp vợ chồng đã được làm tất cả các xét nghiệm thăm dò hiện có nhưng không tìm được nguyên nhân vô sinh [5].

Vô sinh nam vô căn là trường hợp nam giới không tìm thấy yếu tố liên quan đến vô sinh, không có tiền sử mắc các bệnh ảnh hưởng đến khả năng sinh sản, thể chất hoàn toàn bình thường, các xét nghiệm nội tiết, di truyền và sinh hóa bình thường. Tuy nhiên, trên kết quả phân tích tinh dịch đồ lại cho thấy có dấu hiệu bất thường [4].

1.2. Tình hình vô sinh, vô sinh nam trên thế giới và ở Việt Nam

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

Tình trạng vô sinh là một vấn đề khá phổ biến ở các quốc gia trên thế giới, các báo cáo gần đây cho thấy tỷ lệ vô sinh chung chiếm khoảng 9 – 18% quần thể dân số tuổi sinh sản. Nó có thể do nữ, do nam giới hoặc phần do cả hai hay chưa rõ nguyên nhân (CRNN). Trong đó có khoảng 30-50% các trường hợp vô sinh đến từ nguyên nhân đó bất thường tinh trùng người nam [9].

Ở Châu Âu, vô sinh nam chiếm 20% [5]. Tại Pháp, tỷ lệ vô sinh chiếm 13,5% các cặp vợ chồng. Theo Irvine (2002), vô sinh chiếm 14% - 17%, trong đó nguyên nhân do nam giới khó xác định [8]. Krauz và cs cũng cho rằng

nguyên nhân gây vô sinh do nam khoảng 50%. Trong đó, khoảng 40% - 50% những người này là do có bất thường về số lượng và chất lượng tinh trùng [9].

Ở các nước Châu Á: Theo Aribarg (1995), vô sinh ở Thái Lan chiếm 12% các cặp vợ chồng ở lứa tuổi sinh đẻ [9]. Nhìn chung, tỷ lệ vô sinh thay đổi từ 10% - 20%, trong đó nguyên nhân vô sinh do nam và nữ tương đương nhau, tỷ lệ này có xu hướng ngày càng tăng, tỷ lệ vô sinh CRNN còn nhiều. Theo tổ chức Y tế Thế giới, năm 1985 có khoảng 20% vô sinh không rõ nguyên nhân, 80% có nguyên nhân trong đó vô sinh nữ chiếm 30%, vô sinh nam chiếm 30% và do cả 2 là 20% [5].

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

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

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

Nghiên cứu trên toàn quốc do Bệnh viện Phụ sản Trung ương và Đại học Y Hà Nội năm 2015 tiến hành trên 14.300 cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ (15 - 49 tuổi) ở 8 tỉnh đại diện cho 8 vùng sinh thái ở nước ta cũng xác định tỷ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ là 7,7%, nghĩa là có từ 700.000 đến 1 triệu cặp vợ chồng vô sinh, trong đó vô sinh nguyên phát là 3,9% và vô sinh thứ phát là 3,8%. Đáng báo động có khoảng 50% cặp vợ chồng vô sinh có độ tuổi dưới 30 tuổi [11].

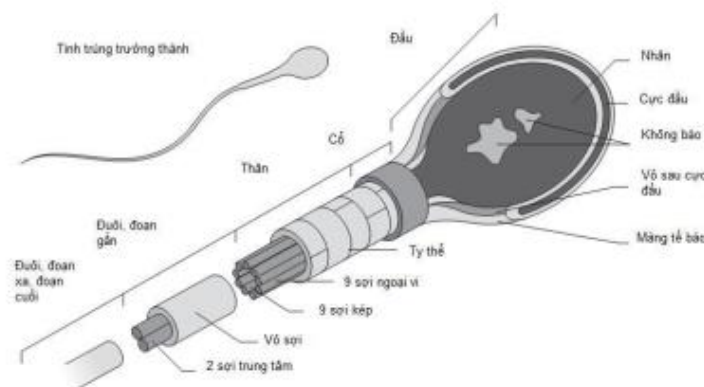
Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), Việt Nam là một trong những quốc gia khu vực Châu Á - Thái Bình Dương có tỷ lệ sinh thấp nhất và tỷ lệ vô sinh cao nhất thế giới. Ước tính năm 2018, Việt Nam có khoảng 1 triệu cặp vợ chồng vô sinh. Trong đó, 50% các cặp vợ chồng ở độ tuổi dưới 30, 7,7% là tỷ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ. Bên cạnh đó, tỷ lệ vô sinh thứ phát đang phát triển, chiếm hơn 50% các cặp vợ chồng vô sinh và

gia tăng hơn các năm trước khoảng 15 - 20% [13].

1.3. Tinh trùng và xét nghiệm tinh dịch đồ

1.3.1. Cấu tạo tinh trùng và quá trình sinh tinh

Tinh trùng có cấu tạo bình thường dài khoảng 60 μ m và bao gồm ba đoạn là đầu, cổ và đuôi. Đầu có hình bầu dục, hơi dẹt, dài 4-5 μ m, rộng 2 μ m. Nhân lớn chiếm gần hết đầu tinh trùng. Cổ là đoạn ngắn hẹp, gần thẳng trục với đầu. Đuôi dài khoảng 50 μ m, chia làm 3 đoạn. Đoạn trung gian thường ngắn chỉ khoảng 4-5 μ m. Giữa đoạn trung gian và đoạn chính, màng tế bào dày lên thành vòng Zensen. Đoạn chính dài nhất, khoảng 45 μ m, gồm một dây trục nằm giữa trung tâm, vây quanh bởi bao sợi xơ và bọc ngoài bởi màng tế bào. Đoạn cuối dài khoảng 2-3 μ m, tạo thành dây trục bọc ngoài bằng màng tế bào [12].



Hình 1.1: Tinh trùng trưởng thành [12]

Quá trình sinh tinh diễn ra liên tục từ lúc bắt đầu dậy thì cho đến tận cuối đời và được chia ra bốn giai đoạn: tinh nguyên bào, tinh bào, tinh tử và tinh trùng trưởng thành [12].

1.3.2. Tinh dịch và đánh giá chất lượng tinh trùng qua xét nghiệm tinh dịch đồ

Tinh dịch là một thành phần hỗn dịch gồm tinh trùng và dịch tiết của các tuyến phụ thuộc đường dẫn tinh, trong đó tinh trùng chiếm khoảng 5%, dịch túi tinh chiếm 46 - 80%, dịch tuyến tiền liệt chiếm khoảng 13 - 33%, dịch mào tinh chiếm khoảng 5%, dịch tuyến hành niệu đạo và tuyến niệu đạo 2 - 5%. Vì vậy

ngoài tinh trùng, hai thành phần dịch thêm vào quan trọng nhất là dịch túi tinh và dịch túi tiền liệt [12]

Để đánh giá chức năng sinh sản ở nam giới, xét nghiệm tinh dịch đồ đang được xem là xét nghiệm thường quy, có hiệu quả trong việc phân loại tinh trùng, từ đó làm căn cứ để các bác sỹ lâm sàng có quyết định xử lý phù hợp. Năm 2010, Tổ chức Y tế thế giới (World Health Organization - WHO) đã ban hành hướng dẫn đánh giá và xử lý tinh dịch đồ người, trong đó thiết lập các giá trị tham chiếu ở mỗi thông số tinh trùng từ các mẫu tinh dịch của 1953 nam giới, ở 8 quốc gia, được đánh giá là có khả năng sinh sản bình thường (có con trong khoảng thời gian dưới 12 tháng tính đến thời điểm thu thập mẫu) [13].

Bảng 1.1: Tinh dịch đồ trong giới hạn bình thường ở người WHO [13]

Các chỉ số	Bình thường
Thể tích (ml)	$\geq 1,5$
pH	$\geq 7,2$
Mật độ ($10^6/\text{ml}$)	≥ 15
Số lượng (10^6)	≥ 39
Tỉ lệ sống (%)	≥ 58
Khả năng di động tiến tới PR (%)	≥ 32
Khả năng di động PR+NP (%)	≥ 40
Hình thái bình thường (%)	≥ 04

1.4. Các nguyên nhân vô sinh ở nam giới

Khi tiếp cận bệnh nhân vô sinh nam, cho thấy hơn 90% các trường hợp có số lượng, chất lượng tinh trùng thấp hoặc kết hợp cả hai theo University of Maryland Medical Center (UMMC) các nhóm nguyên nhân VS nam [14]:

Nguyên nhân di truyền.

Nguyên nhân nội tiết.

Nguyên nhân tại tinh hoàn.

Nguyên nhân liên quan đến tình dục.

1.4.1. Nguyên nhân di truyền

1.4.1.1. Mức độ tế bào

Hội chứng Klinefelter (Klinefelter syndrome-KS) với bộ nhiễm sắc thể (NST) 47,XXY xảy ra với tần suất 150 : 1000.000 trẻ trai sinh ra, là bất thường nhiễm sắc thể thường gặp gây vô sinh ở nam giới. KS dẫn đến tình trạng suy dục, thiếu hụt testosterone và vô sinh dù nồng độ hormon sinh dục nam có thể bình thường cho đến tuổi dậy thì [15]. Phân tích mô bệnh học cho thấy hyalin hóa toàn bộ ống sinh tinh và sự tăng sản của các tế bào Leydig [16].

Kiểu di truyền thường gặp là 47,XXY chiếm 90%, còn 10% là thể khảm 47,XXY/46XY. Dấu hiệu bao gồm tinh hoàn nhỏ, chắc, không có tinh trùng, vú to, kiểu hình bình thường hoặc biểu hiện rõ của sự thiếu androgen. Các biểu hiện thường phát hiện khi đến tuổi dậy thì [17]

Các nghiên cứu cho thấy trường hợp bất thường nhiễm sắc thể giới tính như hội chứng Klinefelter hay rối loạn cấu trúc NST giới tính có thể dẫn đến tình trạng không có tinh trùng. Theo nghiên cứu của Trần Quán Anh năm 2002, hội chứng Klinefelter chiếm 1% các trường hợp vô sinh, 13-20% các trường hợp không có tinh trùng [18].

1.4.1.2. Mức độ di truyền phân tử

Ước tính có khoảng 2-8% nam giới vô sinh có bất thường về mặt di truyền ở mức phân tử và con số này tăng lên tới 15% ở nam giới không có tinh trùng [19]. Ngoài các nguyên nhân hay gặp nhất là các bất thường ở mức độ tế bào, các bất thường ở mức độ phân tử ngày càng được đánh giá một cách sâu sắc. Các bất thường này bao gồm có:

Các mất đoạn nhỏ trên NST Y

Vùng trên nhiễm sắc thể Y chứa các gen cho quá trình sinh tinh trùng (AZF- azoospermia factor). Mất đoạn trên các vùng được gọi là AZF a, b hoặc c. Các gen ở các vùng đó mang cấu trúc để tạo nên các protein tham gia vào

quá trình phát triển và biệt hóa tinh trùng. Mặc dù chức năng đặc hiệu của các protein đó chưa được hiểu rõ ràng. Các mất đoạn nhỏ trên NST Y là một nguyên nhân phổ biến xảy ra ở 11-18% nam giới Azoospermia và 4-14 % nam giới oligospermia. Tỷ lệ nam giới mắc các mất đoạn nhỏ trên NST Y là từ 1/2000 đến 1/3000 ở mọi chủng tộc [20]. Hiện nay người ta nghiên cứu tập trung vào vùng AZF bên nhánh dài của NST Y tại vùng Yq11. Mất đoạn trên vùng AZFa và AZFb đều gây ra Azoospermia, nhưng về mô học có sự khác biệt, đó là mất đoạn nhỏ trên vùng AZFa dẫn đến Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli trong khi mất đoạn trên vùng AZFb gây lên sự ngừng biệt hóa tinh trùng ở giai đoạn tinh nguyên bào. Mất đoạn AZFc gặp nhiều hơn và được tìm thấy ở 5-7% nam giới ít tinh trùng [20]. Không giống như mất đoạn AZFa/AZFb, chúng không gây ra Azoospermia.

Trong nghiên cứu của Omar F. Khabour (2014) nghiên cứu mất đoạn nhỏ trên NST Y và thấy mất đoạn nhỏ ở vùng AZFc chiếm tỷ lệ cao hơn so với mất đoạn AZFa/AZFb [21].

Với sự phát triển không ngừng của các kỹ thuật di truyền phân tử, các tác giả đã chỉ rõ được mất những đoạn nhỏ trong vùng AZF liên quan đến vô tinh hay thiếu tinh mà trước đây cho là không rõ nguyên nhân.

Đứt gãy DNA tinh trùng

Đứt gãy DNA tinh trùng là sự mất tính toàn vẹn của DNA tinh trùng trên chuỗi đơn hoặc chuỗi kép. Có nhiều nguyên nhân gây tổn thương DNA tinh trùng như : phóng xạ, chất độc hại, viêm nhiễm đường sinh dục, giãn tĩnh mạch tinh, tuổi bố tăng và tăng nhiệt độ tinh hoàn [22]. Bốn cơ chế chính gây nên đứt gãy DNA tinh trùng [22], [23].

- Quá trình tái tổ hợp không hoàn chỉnh khi hình thành tinh trùng.
- Bất thường trong đóng gói chất nhiễm sắc của tinh trùng.
- Lỗi trong quá trình chết theo chương trình của tế bào.
- Mất cân bằng các phản ứng oxy hóa

Chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng là DFI (DNA Fragmentation Index), có 3 mức độ đứt gãy DNA tinh trùng [24], [25].

- DFI < 15%: đứt gãy DNA tinh trùng ở mức thấp.
- DFI 15 - 30 %: đứt gãy DNA tinh trùng ở mức trung bình.
- DFI > 30%: đứt gãy DNA tinh trùng cao.

Đứt gãy DNA tinh trùng gây ra một tỷ lệ không nhỏ các trường hợp vô sinh [26]. Khoảng 15% số nam giới vô sinh có tinh dịch đồ bình thường, nhưng có 8% độ đứt gãy DNA tinh trùng cao [7]. Tổn thương DNA của tinh trùng sẽ làm giảm khả năng thành công của các phương pháp hỗ trợ sinh sản. Khi DFI > 30 %, cơ hội để thụ tinh tự nhiên, bơm tinh trùng vào buồng tử cung (IUI) gần như rất thấp, và cũng làm giảm hiệu quả điều trị thụ tinh trong ống nghiệm [4].

Không những vậy tinh trùng đứt gãy DNA còn tạo nên các phôi có thể gây đột biến về sau này.

1.4.2. Nguyên nhân nội tiết

Hypogonadism

Hypogonadism là căn bệnh ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh trùng. Nguyên nhân do có nồng độ thấp testosterone hoặc do suy tinh hoàn, có thể là nguyên phát hoặc thứ phát. Kết quả giảm bài tiết hormone gonadotropin-releasing hormone hoặc hormone gonadotropin. Chức năng tình dục cũng bị ảnh hưởng như rối loạn chức năng cương dương, xuất tinh và ham muốn tình dục giảm [14].

Tăng prolactin

Tăng Prolactin máu chiếm 11% các trường hợp nam giới vô sinh do ít tinh trùng và 16% các trường hợp có rối loạn cương dương và được xem là nguyên nhân hay gặp nhất trong số các nguyên nhân do rối loạn nội tiết vùng hạ đồi tuyến yên [17]

Tăng prolactin có thể gây suy sinh dục thông qua việc ức chế bài tiết GnRH, ức chế tuyến yên tiết FHS, LH dẫn đến tinh hoàn ức chế tiết testosterone và ức chế sản xuất tinh trùng [17]. Tăng Prolactin thì triệu chứng của suy sinh dục, đặc biệt là rối loạn cương dương, giảm hoặc mất ham muốn tình dục (libido). Phần lớn là bệnh nhân có giảm sinh tinh trùng. Tăng prolactin có thể

là thứ cấp của nhiều nguyên nhân, có thể là do suy giáp, do sử dụng thuốc gây tăng tiết prolactine, do stress, phổ biến là do khối u xuất hiện ở tuyến yên, khối u có thể là microadenome hoặc macroadenome tùy thuộc kích thước [27].

Nguyên nhân tuyến giáp

Hormone tuyến giáp có liên quan chặt chẽ với chức năng sinh dục, giảm hormone tuyến giáp trong bệnh lý suy giáp làm giảm giảm ham muốn tình dục và giảm cương dương. Ngược lại bệnh cường giáp trạng có mật độ và tỷ lệ di động của tinh trùng cũng giảm do các bệnh nhân này nồng độ testosterone giảm [17].

Hội chứng Kallmann

Hội chứng Kallman là một bất thường bẩm sinh do suy dục, suy vùng dưới đồi tuyến yên kèm theo mất khứu giác. Hội chứng Kallmann ảnh hưởng lên 1 trong số 8000 - 10.000 nam giới. Gen liên quan hội chứng này là di truyền liên kết giới tính X. Gen mã hóa protein anosmin 1 đóng vai trò quan trọng trong việc di chuyển nơ ron GnRH và sợi thần kinh khứu giác đến vùng dưới đồi. Do hậu quả không di chuyển được các nơ ron thần kinh trên đến vùng dưới đồi nên thùy trước tuyến yên không thể kích thích được tinh hoàn. Biểu hiện của hội chứng này là dậy thì muộn và tinh hoàn teo nhỏ. Dấu hiệu lâm sàng phụ thuộc vào mức độ suy dục, trong một số các trường hợp nam giới chỉ biểu hiện giảm khả năng sinh sản nhưng sinh thiết tinh hoàn vẫn có thể tìm thấy tinh trùng phát triển ở các giai đoạn khác nhau [17], [28].

1.4.3. Nguyên nhân tại tinh hoàn

Tinh hoàn ẩn

Tinh hoàn ẩn hay còn gọi là tinh hoàn lạc chỗ là bất thường bẩm sinh cơ quan sinh dục nam thường gặp nhất trong số các bất thường sinh. Các thể lâm sàng có thể gặp là tinh hoàn nằm trong ổ bụng, ở lỗ bẹn sâu, trong ống bẹn và ngoài lỗ bẹn nông. Tỷ lệ bị tinh hoàn ẩn gặp ở khoảng 2-5% trẻ khi sinh, tùy thuộc vào tuổi thai, trẻ non tháng thường gặp hơn trẻ đẻ đủ tháng. Các bất thường có thể gây ra khi tinh hoàn lạc chỗ là thoái hóa tế bào mầm, tỷ lệ thoái hóa nhiều hay ít phụ thuộc vào vị trí lạc chỗ của tinh hoàn ở trong bụng hay trong ống bẹn. Đồng thời cũng làm tăng nguy cơ ung thư tinh hoàn, ung thư tinh hoàn ở

bệnh nhân có tinh hoàn lạc chỗ tăng 3,6 - 7,4 lần so với nhóm nam giới bình thường và khoảng 2-6% nam giới có tiền sử tinh hoàn lạc chỗ có biến chứng ung thư tinh hoàn [17], [29].

Ung thư tinh hoàn

Ung thư tinh hoàn hay ung thư từ nơi khác di căn đến tinh hoàn và phải cắt bỏ tinh hoàn, hay việc sử dụng hóa chất, tia xạ làm tổn thương tế bào mầm, tế bào Leydig và Sertoli dẫn đến suy tinh hoàn và vô sinh [30]

Chấn thương tinh hoàn

Chấn thương tinh hoàn, trong các trường hợp đụng dập mô gây tổn thương rất lớn đến khả năng sinh sản, sản xuất testosterone, đặc biệt trong trường hợp xoắn tinh hoàn có thể gây mất tinh hoàn vĩnh viễn nếu không được xử lý kịp thời [30]

Tổn thương tinh hoàn gián tiếp có thể do nhiễm trùng hoặc viêm tinh hoàn, trong đó nguyên nhân kinh điển nhất gây vô sinh là quai bị. Viêm tinh hoàn xảy ra ở khoảng 20% nam giới sau dậy thì mắc quai bị. Tinh hoàn nhiễm vi rút quai bị sẽ viêm và sưng lên, do bị màng trắng giới hạn sẽ dẫn tới teo tinh hoàn. Những vi khuẩn và vi rút khác cũng có thể gây vô sinh do làm viêm nhiễm ức chế chức năng tinh hoàn và xơ hóa thứ cấp mào tinh.

Giãn tĩnh mạch thừng tinh

Giãn tĩnh mạch tinh (Varicocele) nó khá phổ biến ở người nam có tinh trùng bình thường cũng như bất thường. Nó là nguyên nhân ảnh hưởng đến 15% toàn bộ quần thể dân số nam và chiếm 40% nam có vô sinh [31]. Dữ liệu nghiên cứu của WHO cho thấy có mối liên quan giữa tình trạng giãn tĩnh mạch tinh và bất thường tinh trùng, giảm thể tích tinh hoàn, giảm chức năng tế bào Leydig, nhưng không phải xảy ra ở tất cả những người đàn ông có giãn tĩnh mạch tinh [32]. Trong dữ liệu nghiên cứu này cho thấy giãn tĩnh mạch thừng tinh thấy 25,4 % nam có tinh trùng bất thường, so với 11,7% nam giới có tinh trùng bình thường [32], [33]. Giãn tĩnh mạch tinh ảnh hưởng nhiều lên chỉ số tinh dịch như tổng số tinh trùng, độ di động tinh trùng và hình thái tinh trùng [33]. Cơ chế sinh lý bệnh về giãn tĩnh

mạch tinh ảnh hưởng đến chất lượng, số lượng tinh trùng chưa được biết rõ, nhưng nó nguyên nhân cơ bản làm tăng nhiệt độ bìu, trào ngược dòng máu tĩnh mạch tinh và làm tổn thương vi tuần hoàn tại mào tinh. Những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, giãn tĩnh mạch tinh làm tăng thành phần phản ứng gốc oxy hóa (ROS và quá trình chết tự nhiên (apoptosis) ở trong tinh dịch ở những người nam có giãn tĩnh mạch tinh [34]. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy giãn tĩnh mạch tinh có mối liên quan với sự tăng đứt gãy DNA tinh trùng. Mức độ tổn thương DNA tinh trùng càng cao thì khả năng có thai tự nhiên hoặc kết quả của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản càng giảm. Sửa chữa giãn tĩnh mạch tinh có thể mang đến kết quả làm giảm gốc oxy hóa trong tinh dịch và làm giảm tổn thương DNA tinh trùng [34].

Thuốc- Dược liệu

Rất nhiều thuốc có thể gây hypogonadotropic hypogonadism. Estrogen và progestin có thể gây giảm nồng độ testosterone thông qua điều hòa ngược âm tính tới trục dưới đồi - tuyến yên - tuyến sinh dục. Thuốc phiện làm giảm nồng độ testosterone thông qua việc ức chế bài tiết GnRH của tuyến dưới đồi. Gần 40% nam giới sử dụng methadone có nồng độ testosterone toàn phần thấp hơn bình thường là 230ng/Dl. Các thuốc nội tiết như corticoid hoặc androgen nếu điều trị với liều cao và kéo dài có thể gây ức chế tuyến yên dẫn tới ức chế quá trình sinh tinh và gây teo tinh hoàn [17].

Xạ trị

Tinh trùng không thể dung nạp tia xạ lớn hơn 6 Gy, tế bào Leydig bị tổn thương bởi liều xạ hơn 15 Gy [35].

Hóa trị liệu

Hóa trị liệu tác động lên tế bào đang phân chia mạnh, do đó nó cũng tác động nên các tế bào mầm biểu mô. Bleomycin, etoposide và cisplatin (BEF) là những hóa trị liệu được dùng phổ biến chúng tác động trực tiếp làm giảm khả năng sinh sản. Sự hồi phục số lượng tinh trùng cũng như hàm lượng hormone tùy thuộc vào liều lượng và thời gian hóa trị. Khả năng phục hồi sau dùng thuốc

khoảng 80% và mất đi khoảng sau 5 năm. Hơn nữa một số thuốc này có thể làm biến đổi cấu trúc NST của tinh trùng và có thể di truyền cho thế hệ sau [17].

Nguyên nhân từ các thành phần plasma tinh dịch

Đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của các chất trong plasma tinh dịch lên số lượng và chất lượng tinh trùng.

Theo Colagar A H. Và cộng sự (2009), kẽm có chức năng chống oxy hóa và đóng một vai trò quan trọng trong việc dọn dẹp các gốc oxy hóa. Việc thiếu hụt kẽm có thể tăng sự tồn tại của các gốc tự do có hại, góp phần làm giảm chất lượng tinh trùng. Vì vậy định lượng kẽm trong tinh dịch của nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân là cần thiết và có thể hữu ích trong đánh giá khả năng sinh sản.

Khi có những kiến thức sâu hơn về phân tử, người ta càng hiểu rõ về các cơ chế mà trước đó có thể coi là vô sinh không rõ nguyên nhân. Khi vai trò của các chất plasma trong tinh dịch như glutathione, coenzym Q10... đối với chất lượng và số lượng tinh trùng được hiểu rõ chúng ta sẽ có những cách chẩn đoán chính xác hơn, điều trị hiệu quả hơn đối với nam giới vô sinh.

1.4.4. Các vấn đề liên quan đến tình dục

Xuất tinh ngược

Là tình trạng phóng tinh vào bàng quang khi đạt cực khoái. Trường hợp này lượng tinh dịch khi xuất tinh giảm thấp. Khi xét nghiệm tìm thấy tinh trùng trong nước tiểu.

Quan hệ tình dục không đều đặn

Các nghiên cứu chỉ ra rằng tinh trùng chỉ sống trong đường sinh dục nữ khoảng 3 ngày, trứng chỉ có khả năng thụ tinh trong vòng 1 ngày sau khi phóng noãn. Như vậy quan hệ tình dục không đều đặn sẽ làm giảm khả năng trứng gặp tinh trùng.

Rối loạn cương dương và/ hoặc rối loạn xuất tinh

Tổn thương thần kinh ảnh hưởng đến xuất tinh có thể xảy ra ở nhiều mức độ, do nhiều bệnh nguyên. Trong khoảng từ tổn thương tùy sống tới tổn thương

thần kinh xung quanh màng bụng, hoặc tổn thương khung chậu tới bệnh lý thần kinh mang tính hệ thống đều có thể dẫn tới rối loạn cương dương hoặc rối loạn xuất tinh. Rối loạn xuất tinh xuất hiện trong 90% trường hợp bệnh nhân tổn thương tủy sống.

Thuốc

Thuốc ảnh hưởng tới sự xuất tinh thông qua việc làm biến đổi tín hiệu hệ adrenergic, rõ nhất là kháng alpha-1. Hiện nay người ta đã phát hiện 2 loại alpha -1 là tamsulosin và silodosin gây rối loạn xuất tinh. Từ lâu người ta đã thấy thuốc chống trầm cảm có liên quan tới rối loạn chức năng tình dục, bao gồm rối loạn xuất tinh. Thuốc chống an thần tác động lên nhiều chất dẫn truyền thần kinh bao gồm: dopamine, norepinephrine, acetylcholine và risperidone cũng có thể ảnh hưởng tới sự xuất tinh.

1.5. Đứt gãy DNA tinh trùng

1.5.1. Khái niệm

Đứt gãy DNA tinh trùng (SDF - Sperm DNA fragmentation) là sự tách rời hoặc phá vỡ các sợi DNA mạch đơn và mạch kép (single - and double-strand DNA), tạo thành các mảnh nhỏ, có thể xảy ra với cả DNA trong nhân và DNA ty thể của tinh trùng. Nó là đặc tính phổ biến của tinh trùng và DNA tinh trùng có khả năng tự sửa chữa kém và do đó đứt gãy DNA tinh trùng có ảnh hưởng lớn đến chất lượng tinh trùng và được cho là liên quan đến khả năng có thai tự nhiên [4], [36].

1.5.2. Nguyên nhân

Sự đứt gãy DNA tinh trùng có thể là nguyên nhân bởi yếu tố bên trong như quá trình chết tự nhiên của tế bào, mất cân bằng các gốc oxy hóa, đồng thời sự tổn thương DNA tinh trùng cũng có thể đến từ bên ngoài như tăng nhiệt độ, thời gian kiêng xuất tinh, nhiễm trùng, các thuốc, tia xạ [37].

1.5.2.1. Nguyên nhân bên trong

Bất thường cấu trúc DNA tinh trùng có thể tăng lên từ một số nguồn gốc sau:

- *Tái tổ hợp không hoàn chỉnh trong quá trình sinh tinh trùng*: Các enzym có chức năng tạo đứt gãy mạch đôi DNA giúp cho hiện tượng trao đổi chéo trong kỳ đầu giảm phân I, các đứt gãy giảm phân I hoàn chỉnh khi DNA của tinh trùng được sửa chữa hoàn toàn và những tế bào bất thường DNA được loại bỏ. Các yếu tố kiểm tra không hoạt động trong quá trình giảm phân dẫn đến tồn tại DNA bất thường vẫn được tiếp tục phân chia và trưởng thành [17], [37].
- *Bất thường trong quá trình đóng gói chất nhiễm sắc*: Sự phá vỡ cấu trúc DNA là cần thiết cho quá trình tháo xoắn tạm thời trong quá trình trưởng thành tinh trùng. Các protein histone được thay thế bởi protamine. Sự đóng gói với lõi protamine mới này đảm bảo sự toàn vẹn của tinh trùng khi đến mào tinh. Chất nhiễm sắc của tinh trùng được đóng gói hoàn chỉnh khi 85% lượng Protein loại histon được thay thế bằng protamine. Protamin với kích thước bằng một nửa histon giúp cho đầu tinh trùng có kích thước nhỏ gọn [17]. Tuy nhiên, nếu sự phá vỡ tạm thời này không được sửa chữa thì có sự đứt gãy DNA với tinh trùng trong tinh dịch được xuất tinh có thể xảy ra [37].
- *Bất thường tỉ lệ protamine 1 và 2*: Sự thay đổi hiện diện của protamine trong nhân tinh trùng có liên quan đến tình trạng vô sinh nam. Ở người giai đoạn sau của quá trình biệt hóa tinh trùng 85-95% histone được thay thế. Protamin thay thế 1 và 2 (P1, P2) với tỉ lệ bình thường là 1:1 giúp cho quá trình đóng xoắn hoàn chỉnh DNA và tạm ngưng biểu hiện của gen trong tinh trùng. Sự mất cân bằng tỉ lệ P1/P2 được chứng minh là có liên quan làm tăng đứt gãy DNA tinh trùng, giảm tỷ lệ thụ tinh, giảm chất lượng phôi và giảm khả năng có thai [37].
- *Tế bào theo chương trình không hoàn toàn*: Tế bào hay tinh trùng chết theo chương trình giúp ngăn chặn việc sản sinh quá mức tế bào mầm đồng thời giúp loại bỏ các tế bào mầm bị tổn thương. Thay vì sự chết tế bào theo chương trình hoàn thành sẽ là sự chết của tế bào, thì vẫn có những dòng tế bào mầm sinh dục khác sự chết theo chương trình không xảy ra hoàn toàn dẫn đến sự tồn tại của các tinh trùng mang bất thường về DNA vẫn tiếp tục trưởng thành và vẫn có khả năng thụ tinh [37].

- *Tác động của các chất oxy hoá:* Vai trò của phản ứng oxy loại bỏ gốc tự do quan trọng và có vai trò tích cực trong điều chỉnh các hoạt động sống của tế bào, nhưng nếu lượng gốc oxy tự do (ROS) quá cao sẽ ảnh hưởng đến cấu trúc tế bào bao gồm cả thành phần của DNA. Nó là sự mất cân bằng giữa việc hình thành các chất gây phản ứng oxy hóa với việc điều hòa, hạn chế gốc tự do của chất chống oxy hóa. Do đó, tác động bất lợi của các chất oxy hoá có liên quan chặt chẽ với phân mảnh DNA tinh trùng [37]. Bạch cầu và tinh trùng là hai nguồn sản sinh ra các gốc tự do (ROS) nhiều nhất trong tinh dịch. Bạch cầu sản xuất ra các ROS là cơ chế tiêu diệt các mầm bệnh, còn tinh trùng sản xuất ROS liên quan đến sự trưởng thành tinh trùng. Tinh tử trước khi trở thành tinh trùng trưởng thành phải loại bỏ túi bào tương dư thừa để trưởng thành về mặt hình thái, các ROS được tạo ra trong quá trình này. Những tinh trùng dị dạng hoặc tinh trùng non thường vẫn còn bào tương ở vùng cổ [17], [31].

1.5.2.2. Nguyên nhân bên ngoài

- Khoảng thời gian từ khi xuất tinh: Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng không phải là con số hằng định mà nó thay đổi theo thời gian kể từ lúc xuất tinh. Nhiều nghiên cứu cho thấy mức độ phân mảnh tinh trùng có sự thay đổi có ý nghĩa với thời gian không xuất tinh ở các cá thể. Nguyên nhân của sự biến đổi như vậy chưa rõ ràng nhưng cũng cho thấy đã chỉ ra nó có thể liên quan đến chuỗi protamine [37].

- Giãn tĩnh mạch tinh: Khoảng 15-20% nam giới mắc giãn tĩnh mạch tinh và nó là nguyên nhân phổ biến nhất gây giảm số lượng cũng như chất lượng của tinh trùng. Giãn tĩnh mạch tinh cũng đã được chứng minh là gây ra phân mảnh ADN tinh trùng ở mức độ cao hơn đáng kể so với nam giới ở nhóm chứng. Nhiều nghiên cứu chỉ ra ở những người nam vô sinh có giãn tĩnh mạch tinh thì tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng và chất nhiễm sắc chưa trưởng thành cao hơn ở nhóm vô sinh với không có giãn tĩnh mạch tinh [31], [32], [33], [37].

- Nhiễm khuẩn: Nhiễm trùng hệ sinh dục do Chlamydia hoặc Mycoplasma có thể làm tăng mức độ phân mảnh DNA tinh trùng so với nhóm

chứng. Liệu pháp kháng sinh đóng vai trò quan trọng để điều trị nhiễm trùng và làm giảm mức độ phân mảnh DNA [37].

- Tuổi: Nhiều nghiên cứu cho thấy tăng tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng ở nam giới khi tuổi > 35 [37].

- Nhiệt độ tinh hoàn: Chức năng của tinh hoàn phụ thuộc vào nhiệt độ, vị trí của tinh hoàn đảm bảo cho nhiệt độ tinh hoàn thấp hơn cơ thể từ 1-2 độ C, phù hợp cho quá trình sản xuất tinh trùng. Tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng tăng lên khi nhiệt độ tinh hoàn tăng thêm 2-3⁰C [31]. Những báo cáo gần đây sử dụng tinh trùng chuột cho thấy cấu trúc chuỗi DNA bị phá vỡ khi cho tinh dịch ở môi trường 40-42⁰ C. Đồng thời bố mẹ bị những stress nhiệt độ cao có xu hướng giảm sự có thai [37].

- Hút thuốc: Thuốc lá chứa hơn 7000 hóa chất, nó có thể ảnh hưởng xấu đến tình trạng sinh sản [38]. Thuốc lá chứa hàm lượng cao ROS, và là nguyên nhân làm tăng tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng. Nicotine có trong thuốc lá là chất oxy hóa nó có thể gây ra phá vỡ mạch đôi DNA của tinh trùng trong in vitro. Cotinine là thành phần chuyển hóa chính được thấy trong tinh dịch của người hút thuốc. Đồng thời người hút thuốc là giảm nồng độ các chất chống oxy hóa trong cơ thể [31].

- Béo phì: Một nghiên cứu với 520 đàn ông phân tích tinh dịch cho thấy có mối liên quan giữa chỉ số khối cơ thể (BMI) và tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng, với tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng tăng 19,9% ở người có BMI bình thường lên tới 27,0% ở người béo phì [31].

- Do thuốc, vaccine, hóa trị - xạ trị liệu: Nhiều năm qua người ta đã ghi nhận tia xạ và hóa chất trong điều trị ung thư có những ảnh hưởng xấu đến biểu mô tế bào mầm sinh tinh tại tinh hoàn trước tuổi dậy thì và người lớn. Ảnh hưởng của hai biện pháp điều trị này tương tự nhau, nó phụ thuộc vào liều dùng và thời gian sử dụng [39]. Trong điều trị y khoa, như sử dụng paroxetine kích thích sự bất thường đứt gãy DNA tinh trùng. Một vài vaccine cũng có ảnh hưởng xấu đến DNA tinh trùng [37].

- Phơi nhiễm với môi trường hóa chất độc hại: Có ít nhất 200 hóa chất phần lớn con người phơi nhiễm với các thời gian khác nhau trong cuộc sống, tuy nhiên mới có rất ít hóa chất được ghi nhận đặc biệt ảnh hưởng đến nguy cơ làm đứt gãy DNA tinh trùng. Nhiều nghiên cứu trước đây đã cung cấp bằng chứng về mối liên quan giữa phơi nhiễm tình trạng ô nhiễm không khí và tăng mức độ đứt gãy DNA tinh trùng [40].

1.6. Các phương pháp đánh giá tình trạng đứt gãy DNA của tinh trùng hiện nay

Hiện nay có nhiều kỹ thuật được sử dụng để đánh giá mức độ phân mảnh DNA tinh trùng: Sử dụng chất nhuộm acridine orange (AO), khảo sát cấu trúc nhiễm sắc chất tinh trùng (Sperm Chromatin Structure Assay - SCSA), sử dụng chất nhuộm aniline blue (AB), sử dụng chất nhuộm toluidine blue (TB), đánh dấu đứt gãy ADN bằng các dUTP (Terminal deoxynucleotidyl transferase nick end labeling - TUNEL), điện di tế bào đơn (COMET), khảo sát mức độ phân tán chất nhiễm sắc của tinh trùng (Sperm Chromatin Dispersion - SCD) [41].

Trong các kỹ thuật trên thì kỹ thuật khảo sát cấu trúc chất nhiễm sắc tinh trùng là một trong những xét nghiệm đầu tiên được sử dụng để đánh giá tính toàn vẹn DNA tinh trùng. Cho đến nay kỹ thuật này đã được sử dụng rộng rãi trên thế giới và được xem là “tiêu chuẩn vàng” trong việc đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng. So với các phương pháp khác, kết quả của phương pháp này khách quan hơn, đã xây dựng được hệ số tham chiếu trong ứng dụng lâm sàng và hữu ích trong đánh giá khả năng sinh sản của nam giới [42]

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản - Bệnh viện HNĐK Nghệ An 01/11/2021 – 01/11/2022

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Đối tượng được chọn đưa vào nghiên cứu là nam giới đi khám hiếm muộn tại Bệnh viện HNĐK Nghệ An, có các tiêu chuẩn sau:

- Có thời gian vô sinh ≥ 1 năm hoặc vợ đã từng sảy thai, thai lưu.
- Làm xét nghiệm tinh dịch đồ tại TTHTSS-Bệnh viện HNĐK Nghệ An
- Có thể tích tinh dịch > 1 ml và mật độ tinh trùng ≥ 1 triệu/ml.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Đối tượng sẽ loại ra trong nghiên cứu là những người có 1 trong các tiêu chuẩn sau:

- Không thỏa mãn các tiêu chuẩn trên.
- Người đang có bệnh cấp tính, tâm thần...
- Không đồng ý tham gia nghiên cứu
- Đang điều trị các bệnh lý khác

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả, thu thập số liệu tiến cứu

2.3.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

Cách chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện

Cỡ mẫu xét nghiệm tỷ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng

$$n = Z^2_{(1-\frac{\alpha}{2})} \chi \frac{\rho(1-\rho)}{(\epsilon\rho)^2}$$

Trong đó:

$Z_{(1-\frac{\alpha}{2})}$: là hệ số tin cậy (với độ tin cậy 95% thì $Z = 1,96$)

ρ : theo nghiên cứu của Hồ Mạnh Tường và cộng sự tại Bệnh viện Mỹ Đức-Tp HCM (2019) thì tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng mức độ trung bình

($15 < \text{DFI} \leq 30\%$) là 29% ($\rho = 29\%$) [43]

ε : là khoảng cách sai lệch mong muốn được tính, chọn $\varepsilon = 20\%$

Thay vào công thức ta được :

$$n = 1.96^2 \times 0,29 \times (1 - 0,29) : (0,2 \times 0,29)^2 = 235$$

2.4. Các bước nghiên cứu

2.4.1. Lập hồ sơ bệnh án

- Phần hành chính; nam giới vô sinh được lập hồ sơ bệnh án theo mẫu để khai thác thông tin về tuổi, nghề nghiệp, địa chỉ...

- Phần khai thác tiền sử: nam giới vô sinh được phỏng vấn trực tiếp và trả lời đầy đủ các câu hỏi về tiền sử bệnh lý bản thân, môi trường làm việc, tiền sử mắc bệnh, nhiễm độc, quai bị, chấn thương bộ phận sinh dục..., mắc một số bệnh tật liên quan đến vô sinh.

- Khai thác các kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ và các xét nghiệm khác đã có từ trước.

2.4.2. Xét nghiệm tinh dịch đồ

- Các mẫu tinh dịch là mẫu của bệnh nhân đã kiêng xuất tinh từ 2-7 ngày, lấy mẫu bằng phương pháp thủ dâm.

- Tinh dịch được đựng trong lọ nhựa trung tính, vô trùng.

- Mẫu tinh dịch được phân tích ngay khi đã hóa lỏng hoàn toàn.

- Tiến hành phân tích tinh dịch đồ theo hướng dẫn của WHO 2010

Trên cơ sở kết quả tinh dịch đồ, chúng tôi chỉ tập trung đánh giá các chỉ số:

+ Tổng số tinh trùng: tính bằng số triệu tinh trùng cho 1 lần xuất tinh, phương pháp tính là mật độ tinh trùng x số ml tinh dịch.

+ Mật độ tinh trùng: tính bằng số triệu tinh trùng/ 1ml tinh dịch thực hiện kỹ thuật đếm trên buồng đếm Neubauer cải tiến.

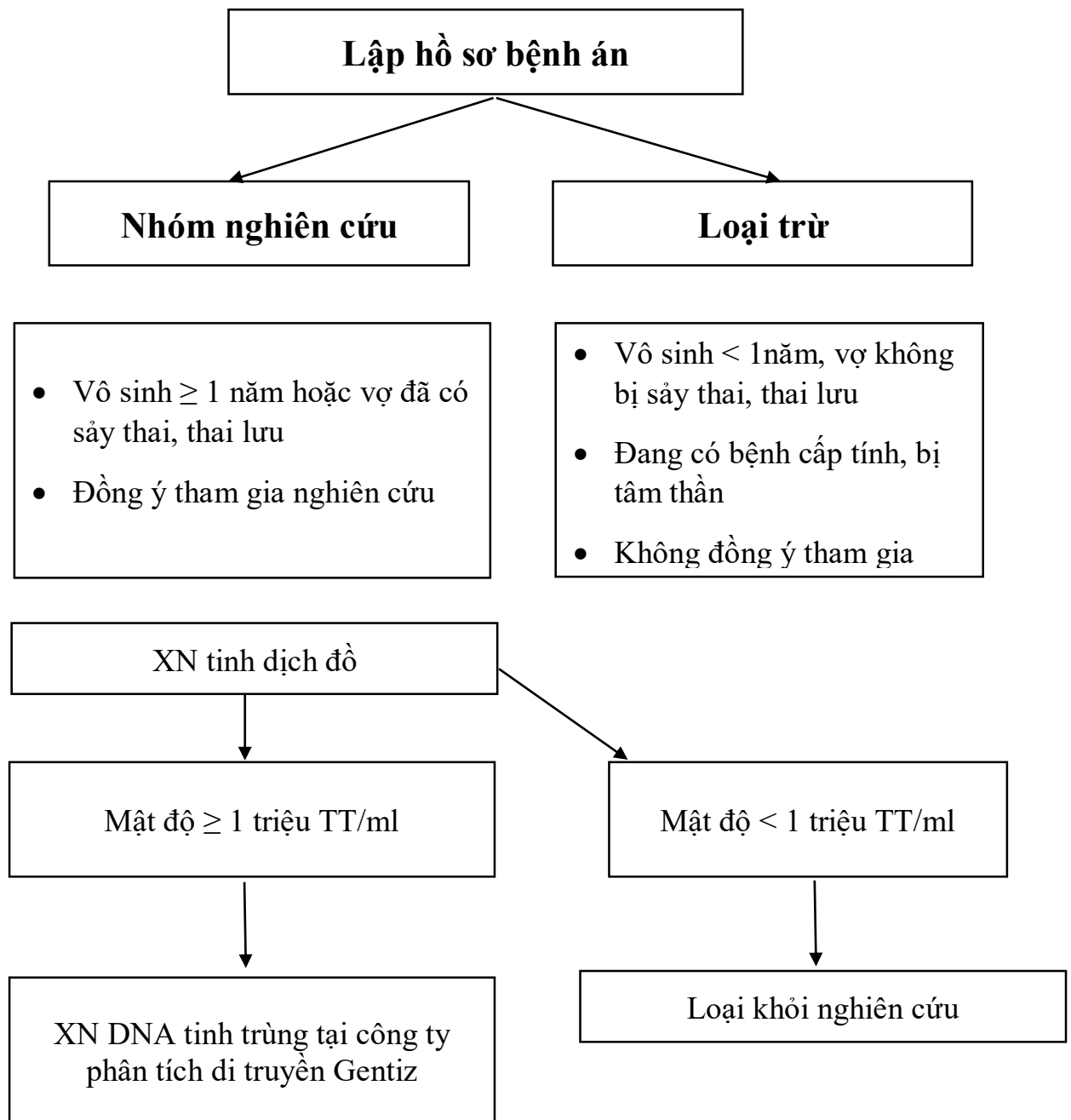
+ Tỷ lệ sống: là phần trăm tinh trùng sống.

+ Tỷ lệ tinh trùng tiến tới: là tổng tỷ lệ tinh trùng di chuyển nhanh và tỷ lệ tinh trùng di chuyển chậm.

+ Hình dạng bình thường: %.

2.4.3. Xét nghiệm tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng

Tinh trùng sau khi được xét nghiệm với các chỉ số tinh dịch đồ ở trên sẽ được thu thập 1 ml cho vào lọ bảo quản lạnh và gửi đến trung tâm phân tích di truyền Gentiz để thực hiện xét nghiệm phân mảnh tinh trùng theo phương pháp SCSA, sử dụng máy đo dòng chảy tế bào.



2.3. Các biến số nghiên cứu

- Tuổi của bệnh nhân: tính theo năm dương lịch
- Nghề nghiệp
- Chỉ số khối (BMI) cơ thể
- Loại vô sinh
- Tiền sử bệnh của bản thân
- Tiền sử sảy thai, thai lưu của vợ
- Thể tích tinh dịch (ml)
- Mật độ tinh trùng (triệu tinh trùng/ml)
- % tinh trùng hình thái bình thường
- Tỷ lệ đứt gãy DNA của tinh trùng (%)

2.4. Xử lý số liệu

- Thu thập số liệu: các thông số tinh dịch đồ gồm tổng số tinh trùng, tỉ lệ sống, mật độ tinh trùng, khả năng di động, hình thái tinh trùng.
- Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0 với các test thống kê thích hợp theo biến số nghiên cứu
- Trình bày số liệu dưới dạng bảng, biểu đồ và đồ thị.

2.5. Đạo đức nghiên cứu:

- Bệnh nhân được giải thích rõ về mục đích nghiên cứu, những lợi ích có thể có, những phiền phức và rủi ro khi tiến hành các xét nghiệm.
- Bệnh nhân tự nguyện tham gia nghiên cứu.
- Thông tin bệnh nhân được đảm bảo bí mật tuyệt đối.
- Số liệu phân tích của bệnh nhân chỉ được sử dụng trong nghiên cứu này không dùng cho bất cứ mục đích nào khác.
- Bệnh nhân có thể từ chối không tham gia vào nghiên cứu bất cứ lúc nào, với bất kì lý do nào.
- Bệnh nhân được giải thích về kết quả xét nghiệm và dùng kết quả xét nghiệm cho việc chẩn đoán tình trạng vô sinh.

Chương 3

DỰ KIẾN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Phân loại vô sinh

Bảng 3.1. Phân loại vô sinh

Loại vô sinh	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Nguyên phát		
Thứ phát		
Tổng		

Nhận xét:

3.1.2. Tình trạng có con

Bảng 3.2. Tình trạng có con ở đối tượng nghiên cứu

Tình trạng có con	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Có con		
Chưa có con		
Tổng		

Nhận xét:

3.1.2. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

Bảng 3.3. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
< 35		
≥ 35		
Tổng		

Nhận xét:

Bảng 3.4. Phân loại tuổi theo loại vô sinh

Loại vô sinh Tuổi	Vô sinh nguyên phát	Vô sinh thứ phát	p
Tuổi trung bình			

Nhận xét:**3.1.3. Đặc điểm nghề nghiệp của bệnh nhân***Bảng 3.5. Phân bố nghề nghiệp của bệnh nhân*

Nghề nghiệp	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Lái xe		
Công nhân		
Cán bộ cơ quan HCSN		
Kinh doanh		
Nông nghiệp		
Tổng		

Nhận xét:**3.1.4. Đặc điểm tiền sử bệnh nhân***Bảng 3.6. Đặc điểm tiền sử bệnh nhân*

Tiền sử bệnh nhân	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Hút thuốc lá		
Rượu/bia		
Tiếp xúc hóa chất, tia xạ		
Vợ có sảy thai, thai lưu		
Điều trị vô sinh thất bại		
Tổng		

Nhận xét:

3.1.5. Đặc điểm chỉ số khối cơ thể (BMI)

Bảng 3.7. Chỉ số khối cơ thể

Chỉ số khối (BMI) kg/m ²	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
< 18,5		
18,5 - 22,9		
23 - 24,9		
≤ 25		
Tổng		

Nhận xét:

3.2. Đặc điểm tình dịch đồ theo từng nhóm vô sinh

3.2.1. Mật độ tinh trùng

Bảng 3.8. Mật độ tinh trùng theo loại vô sinh

Loại vô sinh	Đặc điểm tình dịch	Số lượng	Mật độ tinh trùng	p
	Nguyên phát			
	Thứ phát			

Nhận xét:

3.2.2. Tỷ lệ di động tiến tới, tỷ lệ sống và hình thái bình thường của tinh trùng

Bảng 3.9. Tỷ lệ di động tiến tới, mật độ, tỷ lệ sống và hình thái bình thường của tinh trùng theo từng loại vô sinh

Loại vô sinh	Đặc điểm tình trùng	Nguyên phát	Thứ phát	p
	Tỷ lệ di động tiến tới (%)			
	Mật độ (x10 ⁶ /ml)			
	Tỷ lệ sống (%)			
	Tỷ lệ tinh trùng bình thường (%)			

Nhận xét:

3.2.3. Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng

Bảng 3.10. Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng theo từng loại vô sinh

Loại vô sinh	Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng (DFI, %)	p
Nguyên phát		
Thứ phát		

Nhận xét:

3.2.4. Phân bố bệnh nhân theo tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng

Bảng 3.11. Phân bố bệnh nhân theo tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng

Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
< 15 %		
15 – 30 %		
> 30 %		
Tổng		

Nhận xét:

3.3. Mối tương quan giữa tỷ lệ đứt gãy tinh trùng với các chỉ số của tình dịch đồ

3.3.1. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với độ di động tinh trùng

Bảng 3.12. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với độ di động tinh trùng

	Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng			p
	< 15 %	15 - 30 %	> 30 %	
Di động tiến tới %				

Nhận xét:

3.3.2. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với tỷ lệ sống tinh trùng

Bảng 3.13. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với tỷ lệ sống tinh trùng

	Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng			p
	< 15 %	15 - 30 %	>30 %	
Tỷ lệ sống (%)				

Nhận xét:

3.3.3. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với hình dạng bình thường tinh trùng

Bảng 3.14. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA với hình dạng bình thường tinh trùng

	Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng			p
	< 15 %	15 - 30 %	>30 %	
Hình dạng bình thường (%)				

Nhận xét:

3.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng với các yếu tố nguy cơ

3.4.1. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tuổi nam giới

Bảng 3.15. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tuổi

DFI \ Tuổi	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
< 35				
≥ 35				

Nhận xét:

3.4.2. *Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và hút thuốc lá*

Bảng 3.16. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và hút thuốc

DFI	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
Hút thuốc				
Hút thuốc				
Không hút thuốc				

Nhận xét:

3.4.3. *Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng sử dụng rượu/bia*

Bảng 3.17. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và hút thuốc

DFI	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
SD rượu, bia				
Có				
Không				

Nhận xét:

3.4.4. *Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tiền sử tiếp xúc hóa chất, tia xạ*

Bảng 3.18. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tiền sử tiếp xúc hóa chất, tia xạ

DFI				
Tiếp xúc Hóa chất, tia xạ	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
Có tiếp xúc				
Không tiếp xúc				

Nhận xét:

3.4.4. *Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và sảy thai, thai lưu*

Bảng 3.19. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và sảy thai, thai lưu

DFI				
Vợ sảy thai Thai lưu	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
Có sảy thai, thai lưu				
Không sảy thai, thai lưu				

Nhận xét:

3.4.4. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và giãn tĩnh mạch tinh

Bảng 3.20. Mối tương quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và giãn tĩnh mạch tinh

DFI Giãn TM tinh	< 15 %	15 - 30%	> 30%	p
Có giãn TM tinh				
Không giãn TM tinh				

Nhận xét:

Chương 4

BÀN LUẬN

1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

2. Chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng ở đối tượng nghiên cứu

3. Một số yếu tố liên quan đến chỉ số đứt gãy tinh trùng ở đối tượng nghiên cứu

KẾT LUẬN

1. Chỉ số đứt gãy tinh trùng ở đối tượng nghiên cứu

3. Một số yếu tố liên quan đến chỉ số đứt gãy tinh trùng ở đối tượng nghiên cứu

KHUYẾN NGHỊ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aghajanova, L., et al., *Obstetrics and Gynecology Residency and Fertility Needs*. Reprod Sci, 2017. **24**(3): p. 428-434.
2. Fainberg, J. and J.A. Kashanian, *Recent advances in understanding and managing male infertility*. F1000Res, 2019. **8**.
3. Nguyễn Việt Tiên, *Khái niệm về vô sinh, Dịch tễ học vô sinh và các phương pháp điều trị*. 2018, Nhà xuất bản Y học, Hà nội.
4. Simon, L., B. Emery, and D.T. Carrell, *Sperm DNA Fragmentation: Consequences for Reproduction*. Adv Exp Med Biol, 2019. **1166**: p. 87-105.
5. Collins, J.A., K.T. Barnhart, and P.N. Schlegel, *Do sperm DNA integrity tests predict pregnancy with in vitro fertilization?* Fertil Steril, 2008. **89**(4): p. 823-31.
6. WHO, *Laboratory manual for the examination and processing of human semen*. Vol. sixth edition. 2021.
7. Pourmasumi, S., et al., *Cytochemical tests to investigate sperm DNA damage: Assessment and review*. J Family Med Prim Care, 2019. **8**(5): p. 1533-1539.
8. Tamrakar, S.R. and R. Bastakoti, *Determinants of Infertility in Couples*. J Nepal Health Res Counc, 2019. **17**(1): p. 85-89.
9. Al Omrani, B., et al., *Associations of sperm DNA fragmentation with lifestyle factors and semen parameters of Saudi men and its impact on ICSI outcome*. Reprod Biol Endocrinol, 2018. **16**(1): p. 49.
10. Nguyễn Khắc Liêu, *Nghiên cứu tìm hiểu nguyên nhân vô sinh điều trị tại Viện Bảo vệ Bà mẹ Trẻ sơ sinh*, in *Báo cáo khoa học tháng 3/1998*. 1998: Hà Nội.
11. Tuấn, V.Đ., *Bệnh vô sinh Việt Nam đang tăng*. Tạp chí Y học Thực hành, 2017.
12. Hồ Mạnh Tường, Đặng Quang Vinh, Vương Thị Ngọc Lan, *Thụ Tinh Trong Ống Nghiệm*. 2020.
13. Alshahrani, S., et al., *Interpretation of semen analysis using WHO 1999 and WHO 2010 reference values: Abnormal becoming normal*. Andrologia, 2018. **50**(2).

14. Leaver, R.B., *Male infertility: an overview of causes and treatment options*. Br J Nurs, 2016. **25**(18): p. S35-s40.
15. Gravholt, C.H., et al., *Klinefelter Syndrome: Integrating Genetics, Neuropsychology, and Endocrinology*. Endocr Rev, 2018. **39**(4): p. 389-423.
16. Wikström, A.M. and L. Dunkel, *Testicular function in Klinefelter syndrome*. Horm Res, 2008. **69**(6): p. 317-26.
17. Hồ Sỹ Hùng, *Vô Sinh Nam*. 2017, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
18. Trần Quán Anh, Nguyễn Bửu Triều, *Vô sinh nam giới, Bệnh học giới tính nam*. 2002, Nhà xuất bản Y học.
19. Ferlin, A., et al., *Male infertility: role of genetic background*. Reprod Biomed Online, 2007. **14**(6): p. 734-45.
20. Fan, Y. and S.J. Silber, *Y Chromosome Infertility*, in *GeneReviews*(®), M.P. Adam, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle
Copyright © 1993-2021, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).
21. Khabour, O.F., A.S. Fararjeh, and A.A. Alfaouri, *Genetic screening for AZF Y chromosome microdeletions in Jordanian azoospermic infertile men*. Int J Mol Epidemiol Genet, 2014. **5**(1): p. 47-50.
22. Qiu, Y., et al., *Progress in Research on Sperm DNA Fragmentation*. Med Sci Monit, 2020. **26**: p. e918746.
23. Agarwal, A., et al., *Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians*. World J Mens Health, 2020. **38**(4): p. 412-471.
24. Chohan, K.R., et al., *Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm*. J Androl, 2006. **27**(1): p. 53-9.
25. Evenson, D. and L. Jost, *Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment*. Methods Cell Sci, 2000. **22**(2-3): p. 169-89.
26. Evenson, D.P. and R. Wixon, *Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility*. Theriogenology, 2006. **65**(5): p. 979-91.
27. Hermanns, U. and E.S. Hafez, *Prolactin and male reproduction*. Arch Androl, 1981. **6**(2): p. 95-125.

28. Hardelin, J.P., et al., *Kallmann syndrome*. Adv Otorhinolaryngol, 2000. **56**: p. 268-74.
29. Lee, P.A. and C.P. Houk, *Cryptorchidism*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2013. **20**(3): p. 210-6.
30. Đỗ Trọng Hiếu và cộng sự, *Nam học, tình dục và hiếm muộn*. 2018, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
31. Wright, C., S. Milne, and H. Leeson, *Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility*. Reprod Biomed Online, 2014. **28**(6): p. 684-703.
32. *The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics*. World Health Organization. Fertil Steril, 1992. **57**(6): p. 1289-93.
33. Schoor, R.A., S.M. Elhanbly, and C. Niederberger, *The pathophysiology of varicocele-associated male infertility*. Curr Urol Rep, 2001. **2**(6): p. 432-6.
34. Zini, A. and G. Dohle, *Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation?* Fertil Steril, 2011. **96**(6): p. 1283-7.
35. Colpi, G.M., et al., *Testicular function following chemo-radiotherapy*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2004. **113 Suppl 1**: p. S2-6.
36. Panner Selvam, M.K. and A. Agarwal, *A systematic review on sperm DNA fragmentation in male factor infertility: Laboratory assessment*. Arab J Urol, 2018. **16**(1): p. 65-76.
37. González-Marín, C., J. Gosálvez, and R. Roy, *Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells*. Int J Mol Sci, 2012. **13**(11): p. 14026-52.
38. Agarwal, A., et al., *Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios*. Transl Androl Urol, 2016. **5**(6): p. 935-950.
39. Morris, I.D., *Sperm DNA damage and cancer treatment*. Int J Androl, 2002. **25**(5): p. 255-61.
40. Rubes, J., et al., *GSTM1 genotype influences the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution*. Mutat Res, 2007. **625**(1-2): p. 20-8.

41. Cho, C.L. and A. Agarwal, *Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: A systematic review*. Arab J Urol, 2018. **16**(1): p. 21-34.
42. Simon, L., B.R. Emery, and D.T. Carrell, *Review: Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017. **44**: p. 38-56.
43. Hồ Mạnh Tường và cộng sự., *Đánh giá sự phân mảnh DNA tinh trùng của bệnh nhân khám hiếm muộn*. Tạp chí Phụ sản, 2020. **18**(1): p. 66-72.

PHỤ LỤC 1: BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Đề tài: Đánh giá chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng trên bệnh nhân vô sinh tại Bệnh viện HNĐK Nghệ An

Họ và tên:.....Năm sinh:.....

Địa chỉ:.....

Nghề nghiệp:.....

Mã số bệnh nhân..... Ngày làm XN:.....

1. PARA (vợ):

☐ Vô sinh 1

☐ Vô sinh 2

2. Tiền sử thai nghén của vợ:

☐ Đã từng có thai

☐ Chưa có thai lần nào

☐ Sảy thai

☐ Thai lưu

3. Thời gian mong con:

4. Sử dụng thuốc lá, thuốc Lào:

☐ Không sử dụng

☐ Có sử dụng

Số lượng:.....điều/ngày

5. Sử dụng các chất kích thích (rượu, bia, ma túy.....):

☐ Không sử dụng

☐ Có sử dụng

6. Tần suất sử dụng điện thoại:.....

7. Phơi nhiễm các yếu tố độc hại (kim loại nặng, chất phóng xạ, tia X, thuốc trừ sâu,...)

☐ Không phơi nhiễm

☐ Có phơi nhiễm

8. Phẫu thuật vùng bẹn bìu:

☐ Không phẫu thuật

☐ Có phẫu thuật

Loại phẫu thuật:.....

9. Mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục (HIV, Viêm gan B, Lậu, Giang mai):

☐ Không mắc bệnh

☐ Có mắc bệnh

.....

10. Tiền sử bản thân:.....

11. Tiền sử gia đình:.....

12. BMI:

13. Giãn TM tinh

☐ Không ☐ Có (nếu có) Độ mấy:.....

14. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ

THÔNG SỐ	KẾT QUẢ
Thời gian kiêng quan hệ (ngày)	
Thời gian ly giải (phút)	
Thể tích tinh dịch (ml)	
PH	
Mật độ tinh trùng (Triệu/ml)	
Tổng số tinh trùng	
Di động (%): PR NP IM	
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	
Hình dạng bình thường (%)	

15. Kết quả xét nghiệm phân mảnh ADN tinh trùng

Tỷ lệ tinh trùng phân mảnh ADN là:.....

Người thu thập số liệu