

viện.

Chăm sóc người bệnh ung thư thanh quản không kém phần quan trọng so với điều trị.

Giải thích phương pháp điều trị, theo dõi phát hiện sớm các biến chứng giúp người bệnh giảm đau và lo lắng trong giai đoạn hậu phẫu.

Chăm sóc và theo dõi đúng cách, đúng kỹ thuật của điều dưỡng góp phần mang lại kết quả tốt đẹp cho người bệnh, giúp người bệnh hồi phục tốt, giảm biến chứng, giảm được chi phí điều trị, rút ngắn thời gian nằm viện của người bệnh. Góp phần giúp người bệnh trở về với cuộc sống đời thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Anh Bích, Trần Minh Trường, Lâm Việt Trung** (2016), "ứng dụng kỹ thuật cắt toàn bộ hạ họng - thanh quản - thực quản và tái tạo thực quản bằng ống dạ dày trong điều trị ung thư hạ họng - thanh quản" Y học Việt Nam, tập 452, số 2, tr. 135- 141
2. **Trần Minh Trường** (2009), chăm sóc bệnh nhân sau mổ cắt thanh quản toàn phần do ung thư. Tạp chí y học thành phố Hồ Chí Minh, tập 13, số 1
3. **Dechaphunkul t., et al.** (2003). "Malnutrition assessment in patients with cancers of the head and neck: a call to action anh consensus", Crit Rev oncol Hematol, 88(2), pp. 459-476
4. **Lưu Ngân Tâm** (2010), "Đáp ứng chuyển hóa đối với tình trạng đói đơn thuần và bệnh lý", tạp chí y học TP.HCM, 14 (2), tr.18-22
5. **Nguyễn Xuân Cẩm Huyền** (2011), "tiêu hóa ở miệng và thực quản", Sinh lý học y khoa, Nhà xuất bản y học, 06, tr.296-301

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ TRÊN BỆNH NHÂN VÔ SINH NAM DO VI MẤT ĐOẠN AZF

Đỗ Diệu Linh¹, Lê Thị Diệu Hiền¹, Nguyễn Ngọc Nhất², Trịnh Thế Sơn²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát các bất thường nhiễm sắc thể đồ trên nhóm bệnh nhân vô sinh nam có vi mất đoạn AZF. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả hồi cứu tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội – Học viện Quân y và Bệnh viện nam học và hiếm muộn Hà Nội trên 153 nam giới thiếu tinh nặng, vô tinh có vi mất đoạn AZF; thu thập thông tin đặc điểm lâm sàng và bộ nhiễm sắc thể. **Kết quả:** 35 bệnh nhân mang các bất thường trên nhiễm sắc thể đồ kèm theo vi mất đoạn AZF được phát hiện, chiếm 22,87%; các bất thường nằm trên cả nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính. Đặc biệt, các hội chứng hiếm gặp được phát hiện như Klinefelter (47,XXY) và De la Chapelle (nam giới 46,XX) với lần lượt là 5 và 2 bệnh nhân, đây là các bất thường nặng với biểu hiện vô tinh gặp ở cả 7 bệnh nhân. **Kết luận:** bất thường nhiễm sắc thể đồ hay gặp ở nhóm nam giới vô sinh có vi mất đoạn AZF. **Từ khóa:** vi mất đoạn AZF, nhiễm sắc thể đồ, Klinefelter, De la Chapelle.

SUMMARY

EVALUATION OF THE ABNORMAL KARYOTYPE CHARACTERISTICS IN MALE INFERTILITY DUE TO AZF MICRODELETIONS

Objectives: This study aimed to evaluation of

the abnormal karyotype characteristics in male infertility due to AZF microdeletions. **Materials and method:** a retrospective descriptive study at the Military Institute of Clinical Embryology and Histology and the Andrology and Fertility Hospital of Hanoi on 153 men with severe oligospermia and azoospermia caused by AZF microdeletions, collecting clinical manifestations and karyotype results. **Results:** 35 patients with abnormalities in the karyotype were detected in one having AZF microdeletions, accounting for 22.87%; Abnormalities are located on both autosomal and sex chromosomes. In particular, rare syndromes were discovered, such as Klinefelter (47,XXY) and De la Chapelle (men 46,XX) with 5 and 2 patients, respectively; these are severe abnormalities with manifestations of azoospermia encountered in all 7 patients. **Conclusion:** Chromosomal abnormalities are common in infertile men affected by AZF microdeletions. **Keywords:** AZF microdeletions, karyotype, Klinefelter, De la Chapelle.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh là tình trạng thất bại thụ thai của một cặp đôi sau ít nhất một năm giao hợp thường xuyên không sử dụng biện pháp tránh thai, tình trạng vô sinh ảnh hưởng tới hạnh phúc gia đình cũng như an sinh xã hội. Trong đó một nửa nguyên nhân vô sinh đến từ yếu tố nam giới, báo cáo cho thấy 90% vô sinh nam có biểu hiện bất thường số lượng tinh trùng, bao gồm tình trạng thiếu tinh (oligozoospermia) và vô tinh (azoospermia) [1], [2]. Ngoài những nguyên nhân gây vô sinh nam đã biết từ lâu như giãn tinh mạch tinh, quai bị, ... thì vai trò của nhóm

¹Đại học Y Dược Hải Phòng

²Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Diệu Linh

Email: linhdipp0501@gmail.com

Ngày nhận bài: 14.3.2024

Ngày phản biện khoa học: 26.4.2024

Ngày duyệt bài: 30.5.2024

nguyên nhân di truyền ngày càng được báo cáo nhiều, trong đó vi mất đoạn NST Y hay gặp với tỉ lệ hiện mắc trong cộng đồng được báo cáo là 1:4000 nam giới, tỉ lệ này cao hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân thiểu tinh 2-5%, đặc biệt là vô tinh 5-10%[3]. Khi đột biến vi mất đoạn nhiễm sắc thể Y xảy ra trên vùng Yq11 gây ra những khiếm khuyết nghiêm trọng trong quá trình sinh tinh, kiểu hình đặc trưng được báo cáo là vô tinh (azoospermia) cho nên vùng này còn được gọi là vùng AZF (azoospermia factor). Vi mất đoạn AZF (Yq11) được báo cáo lần đầu tiên năm 1976, sau đó dựa trên mối liên quan giữa vị trí mất đoạn với ảnh hưởng lên quá trình sinh tinh mà người ta chia thành đoạn AZFa (gần tâm động), AZFb (giữa), AZFc (xa tâm động) và AZFd (vùng chông lẫn giữa AZFb và AZFc). Bốn loại vi mất đoạn trên có thể xảy ra đơn lẻ hoặc phối hợp, ảnh hưởng ở các mức độ khác nhau lên chức năng nội tiết và ngoại tiết của tinh hoàn.

Tần suất cao các bất thường về nhiễm sắc thể (22,6%) cùng tồn tại với các vi mất đoạn AZF ở nam giới vô sinh, nguyên nhân được cho là vi mất đoạn ở vùng Yq11 có thể gây mất ổn định nhiễm sắc thể dẫn đến sự sắp xếp lại nhiễm sắc thể hoặc mất nhiễm sắc thể Y. Ngược lại, tần số vi mất đoạn AZF cao hơn đã được chứng minh ở những bệnh nhân thể khảm nhiễm sắc thể giới tính (45,X/46,XY hoặc 47,XXY/46,XX). Tuy nhiên, người ta vẫn chưa biết liệu bất thường về nhiễm sắc thể đồ hay vi mất đoạn AZF là nguyên nhân chủ yếu gây ra suy giảm sinh tinh ở những bệnh nhân này [4]. Do vậy cần thiết tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá tần suất và đặc điểm các loại bất thường nhiễm sắc thể đồ trong nhóm nam giới vô sinh có vi mất đoạn AZF tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Nghiên cứu được tiến hành trên 153 nam giới vô sinh có vi mất đoạn AZF.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Nam giới vô sinh; thiểu tinh nặng hoặc vô tinh; có vi mất đoạn AZF; đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ:

Giãn tĩnh mạch tinh; vô tinh do nguyên nhân tắc; xuất tinh ngược dòng; bệnh cấp tính; suy sinh dục thứ phát.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu mô tả hồi cứu.

Các bước tiến hành:

Bước 1. Xét nghiệm tinh dịch đồ nam giới vô sinh
Mẫu tinh dịch của bệnh nhân được xét nghiệm và đánh giá kết quả theo hướng dẫn của

WHO (2010). Bệnh nhân kiêng không quan hệ tình dục ít nhất 48 giờ (nhưng không quá 7 ngày) trước khi lấy mẫu. Mỗi bệnh nhân được xét nghiệm tinh dịch đồ hai lần cách nhau ít nhất 7 ngày. Chẩn đoán thiểu nặng khi mật độ tinh trùng < 5 triệu/ml; vô tinh (Azoospermia) khi không có tinh trùng trong tinh dịch.

Bước 2. Xét nghiệm vi mất đoạn AZF

Xét nghiệm vi mất đoạn NST Y bằng phương pháp Multiplex PCR: DNA được tách chiết từ 5ml máu toàn phần bằng DNAmix kit (Qiagen - Mỹ). Nồng độ DNA được đo bằng máy Nanodrop (Thermo Fisher Scientific Inc - Mỹ). Sử dụng cùng một nồng độ DNA cho các mẫu. DNA sau tách chiết được nhân bản bằng PCR đa mồi để phát hiện các mất đoạn nhỏ. Sử dụng các cặp mồi để xác định sự có mặt hay mất của các trình tự đích đặc hiệu cho mỗi phân vùng AZFa, b, c, d. Chứng nội được sử dụng là gen SRY nằm ở vai ngăn NST Y. Sản phẩm PCR được phân tích trên gel agarose 2% có chứa ethidium bromide (0.5 µg/ml), soi dưới đèn cực tím và chụp ảnh gel. Đánh giá kết quả điện di dựa trên thang 100 bp của hãng Invitrogen (Mỹ).

Phân vùng AZF	Trình tự đích (STS)
AZFa	sY84, sY86, USP9Y, DBY
AZFb	sY127, sY134, sY105, sY121, sY1192
AZFc	sY254, sY255, sY160, sY1191, sY1291, BPY2
AZFd	sY152, sY153

Bước 3: Xét nghiệm karyotype.

Mỗi bệnh nhân được lấy 2 ml máu tĩnh mạch ngoại vi, chống đông bằng heparin, để lắng trong 30 phút, rồi làm giàu bạch cầu. Tế bào lympho máu ngoại vi được nuôi cấy, làm tiêu bản và nhuộm băng G. Quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi, chụp hình các cụm kỳ giữa đạt tiêu chuẩn. Karyotype được mô tả theo danh pháp ISCN 2016 (International System for Human Cytogenomic Nomenclature).

Xử lý số liệu: Số liệu thu thập vào bệnh án nghiên cứu và được nhập vào phần mềm Epidata 3.1 và phân tích bằng STATA 16.0. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn và tỷ lệ phần trăm. Chi-square test hoặc Fisher exact test được sử dụng để kiểm định sự khác nhau giữa 2 tỉ lệ. Giá trị p < 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nam học và hiếm muộn Hà Nội số 779/2021/IRB-AFHANOI.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Đặc điểm bất thường nhiễm sắc thể ở những bệnh nhân có vi mất đoạn AZF

Vi mất đoạn AZF	Số lượng n	Karyotype bình thường n (%)	Karyotype bất thường	
			NST thường n (%)	NST giới tính n (%)
AZFa	3	3 (100)	0 (0)	0 (0)
AZFc	76	63 (82,89)	8 (10,53)	5 (6,58) (1 BN mắc hội chứng Klinefelter)
AZFd	6	6 (100)	0 (0)	0 (0)
AZFabc	3	0 (0)	0 (0)	3 (100)
AZFabcd	2	0 (0)	0 (0)	2 (100) (2 BN mắc hội chứng De la Chapelle 46, XX)
AZFbc	12	7 (58,33)	2 (16,67)	3 (25) (1 BN mắc hội chứng Klinefelter)
AZFbcd	43	34 (79,07)	3 (6,97)	6 (13,95) (2 BN mắc hội chứng Klinefelter)
AZF bd	1	1 (100)	0 (0)	0 (0)
AZFcd	7	4 (57,14)	0 (0)	3 (42,86)
Tổng	153	118 (77,12)	13 (8,49)	22 (14,38)

Trong 153 bệnh nhân vô sinh nam do vi mất đoạn AZF có 35 bệnh nhân phát hiện bất thường trên kết quả nhiễm sắc thể đồ, chiếm 22,87%. Bất thường xảy ra trên cả nhiễm sắc thể thường (13 bệnh nhân chiếm 8,49%) và nhiễm sắc thể giới tính (22 bệnh nhân chiếm 14,38%). Các trường hợp có vi mất đoạn AZF đơn lẻ như AZFa, AZFd không gặp bất thường trên nhiễm sắc thể đồ. Trong khi đó vi mất đoạn AZFc đơn lẻ hoặc

phối hợp có tỉ lệ bất thường nhiễm sắc thể đồ tương đối cao.

Trong nghiên cứu này, có 5 bệnh nhân mắc hội chứng Klinefelter với bộ nhiễm sắc thể 46,XXY. Ngoài ra, 2 bệnh nhân kiểu hình nam mất toàn bộ vùng AZFbcd, khi khảo sát nhiễm sắc thể đồ phát hiện mang bộ nhiễm sắc thể 46,XX do vậy được chẩn đoán mắc hội chứng De la Chapelle (nam giới 46,XX có SRY dương tính).

Bảng 3.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh nhân vi mất đoạn AZF mắc hội chứng Klinefelter (47,XXY)

STT	Vi mất đoạn AZF	Tuổi (năm)	Chiều cao (cm)	Cân nặng (kg)	Vú to	Thể tích tinh hoàn P (ml)	Thể tích tinh hoàn T (ml)	Mật độ tinh trùng (triệu/ml)
1	AZFbcd	23	171	66	Có	6	11	azoo
2	AZFc	27	168	70	Không	2	1	azoo
3	AZFbcd	26	172	75	Không	15	15	azoo
4	AZFc	34	165	61	Có	1	1	azoo
5	AZFc	29	170	65	Có	1	1	azoo
Trung bình (mean±SD)		27,8±4,09	169,2±2,77	67,4±5,32		5,0±5,96	5,8±6,72	

(azoo: vô tinh)

Trong 153 bệnh nhân vô sinh nam do vi mất đoạn AZF có 5 bệnh nhân được chẩn đoán mắc hội chứng Klinefelter với bộ nhiễm sắc thể là 47,XXY, chiếm tỉ lệ 3,27%. Bảng 3.2 cho thấy chiều cao trung bình của các bệnh nhân Klinefelter là 169,2 ± 2,77 cm; tinh hoàn 2 bên nhỏ 5,0 ± 5,96 ml với bên phải và 5,8 ± 6,72 ml

với bên trái; nữ hóa tuyến vú gặp ở 3/5 bệnh nhân. Hội chứng Klinefelter chỉ gặp ở những bệnh nhân vi mất đoạn AZFc hoặc AZFbcd, khi đó tất cả bệnh nhân đều gặp phải bất thường nặng trong quá trình sinh tinh, biểu hiện ở kiểu hình vô tinh (azoospermia).

Bảng 3.3. Đặc điểm lâm sàng bệnh nhân vi mất đoạn AZF mắc hội chứng De la Chapelle (nam giới 46,XX)

STT	Tuổi (năm)	Chiều cao (cm)	Cân nặng (kg)	Hói tóc	Vú to	Rối loạn cương dương	Thể tích tinh hoàn P (ml)	Thể tích tinh hoàn T (ml)
1	33	165	62	Có	Có	Không	4	7
2	27	161	57	Có	Không	Không	3	8

Bảng 3.3 mô tả đặc điểm lâm sàng của 2 bệnh nhân mắc hội chứng De la Chapelle được phát hiện trong nghiên cứu này. Cả 2 bệnh nhân

đều có chiều cao thấp, kiểu hình hói tóc và thể tích tinh hoàn giảm. 1 bệnh nhân có đặc điểm nữ hóa tuyến vú. Triệu chứng tối loạn cương dương

không xuất hiện ở cả 2 bệnh nhân. Kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ cho thấy không có tinh trùng trong mẫu tinh dịch của 2 bệnh nhân mắc hội chứng De la Chapelle.

IV. BÀN LUẬN

Cơ sở của vi mất đoạn AZF là do cấu trúc đặc biệt của nhánh dài NST Y, tại vùng Yq11 chứa các trình tự lặp lại sắp xếp đối xứng, sự tái tổ hợp sinh lý của các trình tự lặp lại thông qua chuyển đoạn không tương hỗ (non-reciprocal transfer) ngược chiều giúp bảo toàn vật chất di truyền trên NST Y [5]. Tuy nhiên, khi chuyển đoạn cùng chiều xảy ra dẫn đến tái tổ hợp cùng chiều các trình tự lặp lại không allelic (Non-Allelic Homologous Recombination - NAHR) dẫn đến mất đoạn NST Y nằm giữa 2 trình tự này. Mất các gen quan trọng trong quá trình sinh tinh ở vùng AZF thường gây ra thiếu tinh nặng hoặc vô tinh ở nam giới. Do vậy theo hiệp hội Tiết niệu Châu Âu, chỉ định xét nghiệm vi mất đoạn AZF dựa trên nồng độ tinh trùng và được khuyến cáo thực hiện ở những bệnh nhân vô tinh hoặc thiếu tinh nặng (<5 triệu/ml). Ngoài ra, bệnh cảnh thiếu tinh hoặc vô tinh còn do một số loại rối loạn di truyền khác gây nên, hay gặp hơn cả là hội chứng Klinefelter. Tiếp cận những bệnh nhân bất thường nặng về số lượng tinh trùng, ngoài xét nghiệm vi mất đoạn AZF còn cần các xét nghiệm chuyên sâu khác như karyotype, nội tiết tố với mục đích tiên lượng và lựa chọn phương pháp điều trị thích hợp (mổ tinh hoàn tìm tinh trùng hoặc xin tinh trùng). Báo cáo năm 2012 cho thấy tần suất cao các bất thường về nhiễm sắc thể (22,6%) cùng tồn tại với các vi mất đoạn AZF ở nam giới vô sinh. Tỷ lệ trên tương đương với nghiên cứu của chúng tôi với tỉ lệ bất thường nhiễm sắc thể trên nhóm vô sinh nam do vi mất đoạn AZF là 22,87%; các bất thường xảy ra trên cả nhiễm sắc thể thường (13 bệnh nhân chiếm 8,49%) và nhiễm sắc thể giới tính (22 bệnh nhân chiếm 14,38%).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 5 bệnh nhân mắc hội chứng Klinefelter với kiểu nhân 47,XXY chiếm tỉ lệ 3,27%, tỉ lệ này trong các nghiên cứu trước đây dao động từ 0,1 - 0,2% ở trẻ sơ sinh nam, tăng lên 3 - 4% ở nam giới vô sinh và 10 - 12% ở bệnh nhân vô tinh [6]. Đặc điểm lâm sàng 5 bệnh nhân Klinefelter kết hợp với vi mất đoạn AZF trong nghiên cứu của chúng tôi là cao trung bình $169,2 \pm 2,77$ cm; tinh hoàn nhỏ và nữ hóa tuyến vú. Khi mang vi mất đoạn AZF và kiểu nhân 47,XXY thì tất cả các bệnh nhân đều vô tinh, điều đó cho thấy tiên lượng xấu khi có

đồng thời 2 bất thường di truyền kể trên.

Nghiên cứu ở Iran năm 2012 phân tích karyotype cho 157 bệnh nhân nam có vi mất đoạn AZF, tìm thấy 51 trường hợp (32,48%) karyotype bất thường, trong đó 20 trường hợp (41,17%) biểu hiện hội chứng nam giới 46,XX có SRY dương tính [4]. Tỷ lệ này cao hơn nhiều so với nghiên cứu của chúng tôi, với chỉ 2 trong số 153 bệnh nhân vi mất đoạn AZF mang kiểu gen 46,XX. Tất cả các bệnh nhân nam 46,XX đều vô tinh, điều đó là do những bệnh nhân này không có vai dài nhiễm sắc thể Y nơi chứa các gen quan trọng quyết định quá trình sinh tinh. Sự xuất hiện của đoạn SRY trên bộ nhiễm sắc thể 46,XX phần lớn là do sự chuyển đoạn SRY từ vai ngắn NST Y sang NST X hoặc NST khác trong quá trình giảm phân ở người bố bệnh nhân. Kiểu hình đặc trưng của hội chứng De la Chapelle (nam giới 46,XX) là thấp, hói đầu và tinh hoàn nhỏ cũng được mô tả trong nghiên cứu của chúng tôi. Những bệnh nhân có kiểu gen 46,XX không có tinh trùng và không có chỉ định mổ tinh hoàn thu tinh trùng, thay vào đó xin tinh trùng là phương pháp duy nhất cho những bệnh nhân này [7].

V. KẾT LUẬN

Vi mất đoạn AZF hay gặp các bất thường nhiễm sắc thể đồ kèm theo, tiên lượng xấu khi bệnh nhân mang đồng thời các bất thường này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine** (2015). Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*, 103(3), e18-25.
2. **Rabinowitz M.J., Huffman P.J., Haney N.M. và cộng sự.** (2021). Y-Chromosome Microdeletions: A Review of Prevalence, Screening, and Clinical Considerations. *Appl Clin Genet*, 14, 51-59.
3. **Krausz C. và Casamonti E.** (2017). Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum Genet*, 136(5), 637-655.
4. **Totonchi M., Mohseni Meybodi A., Borjian Boroujeni P. và cộng sự.** (2012). Clinical data for 185 infertile Iranian men with Y-chromosome microdeletion. *J Assist Reprod Genet*, 29(8), 847-853.
5. **Repping S., Skaletsky H., Brown L. và cộng sự.** (2003). Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection. *Nat Genet*, 35(3), 247-251.
6. **Bonomi M., Rochira V., Pasquali D. và cộng sự.** (2017). Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *J Endocrinol Invest*, 40(2), 123-134.
7. **Terribile M., Stizzo M., Manfredi C. và cộng sự.** (2019). 46,XX Testicular Disorder of Sex Development (DSD): A Case Report and Systematic Review. *Med Kaunas Lith*, 55(7), 371.