

Mối liên quan giữa khả năng gắn kết hyaluronic acid của tinh trùng với mức độ phân mảnh DNA và thông số tinh trùng

Nguyễn Thị Hiệp Tuyết^{1*}, Nguyễn Văn Trung², Nguyễn Thị Thái Thanh², Đặng Thị Hồng Nhan²,
Đặng Công Thuận⁴, Lê Minh Tâm^{2,3}

(1) Nghiên cứu sinh trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, chuyên ngành Khoa học Y sinh

(2) Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

(3) Bộ môn Phụ Sản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(4) Bộ môn Mô Phôi - Giải phẫu bệnh - Pháp Y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá mối liên quan giữa khả năng gắn kết hyaluronic acid của tinh trùng với mức độ phân mảnh DNA và thông số tinh trùng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang 90 mẫu tinh dịch ở người chồng của những cặp vợ chồng vô sinh tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế. Các giá trị được đánh giá: thông số tinh trùng, chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DFI), khả năng gắn kết Hyaluronic acid (HA) của tinh trùng - HBA. **Kết quả:** Giá trị trung bình về khả năng di động tiến tới (PR) và hình thái bình thường của tinh trùng thấp hơn ngưỡng giá trị tham khảo của Tổ chức Y tế Thế giới (PR = $31,59 \pm 10,14\%$ < 32%; hình thái bình thường = $3,86 \pm 2,12\%$ < 4%), giá trị trung bình của DFI là $23,88 \pm 15,56$ (4,4 - 76,4)%. Mức gắn kết HA thấp hơn ngưỡng tham khảo: HBA = $47,19 \pm 28,71$ < 60%. Nhóm tinh trùng gắn kết cao HBA > 60% có tỷ lệ hình thái bình thường cao hơn so với nhóm gắn kết thấp, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p=0,14$. Mật độ sau lọc rửa ở nhóm HBA > 60% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm HBA ≤ 60% ($32,08 \pm 17,25$ vs $20,81 \pm 9,61$, $P=0,00$). Có mối tương quan dương giữa khả năng gắn kết HA của tinh trùng và mật độ tinh trùng sau lọc rửa ($r=0,308$, $P=0,003$). Không có mối tương quan giữa HBA, hình thái, độ di động và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng. **Kết luận:** Khả năng gắn kết HA của tinh trùng không có mối liên quan với các thông số tinh dịch đồ và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong mẫu tinh dịch tươi, nhưng có mối tương quan dương với mật độ tinh trùng sau lọc rửa. Đánh giá gắn kết HA của tinh trùng có vai trò tiềm năng định hướng thực hiện kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

Từ khóa: thông số tinh dịch, phân mảnh DNA tinh trùng, gắn kết hyaluronic acid.

Abstract

The relationship between the ability of sperm to bind hyaluronic acid with the DNA fragmentation and sperm parameters

Nguyen Thi Hiep Tuyet^{1*}, Nguyen Van Trung², Nguyen Thi Thai Thanh²,
Dang Thi Hong Nhan², Dang Cong Thuan⁴, Le Minh Tam^{2,3}

(1) PhD Student of University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Center for Reproductive Endocrinology & Infertility, University of Medicine and Pharmacy Hospital

(3) Dept. of Obstetrics and Gynecology, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(4) Dept. of Histology, Embryology, Pathology and Forensic, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Objectives: To evaluate the relationship between the ability of sperm to bind hyaluronic acid with the level of DNA fragmentation and sperm parameters. **Material and methods:** A cross-sectional descriptive study of 90 semen samples from husbands of infertile couples in the Center for Reproductive Endocrinology and Infertility, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital. The values evaluated: sperm parameters, sperm DNA fragmentation index (DFI), Hyaluronan Binding Assay (HBA). **Results:** The mean of progressive motility (PR) and normal morphology of sperm were lower than the threshold of the WHO reference value (PR = $31.59 \pm 10.14\%$ < 32%; normal morphology = $3.86 \pm 2.12\%$ < 4%), the mean of DFI was 23.88 ± 15.56 (4.4 - 76.4)%. The mean of HBA was lower than the reference threshold: HBA = 47.19 ± 28.71 < 60%. The group of high HA binding (HBA > 60%) had a higher percentage of normal morphology than the low binding group (HBA ≤ 60%), but the difference was not statistically significant, $p=0.14$. The concentration of sperm after washing in the HBA group > 60% was statistically significantly higher than in the HBA group ≤ 60% (32.08

± 17.25 vs 20.81 ± 9.61 , $P=0.00$). There was a positive correlation between the HBA and sperm concentration after washing ($r=0.308$, $P=0.003$). There was no correlation between the HBA and the morphology, motility, and sperm DNA fragmentation. **Conclusion:** The ability of sperm to bind HA was no relationship with sperm parameters and the sperm DNA fragmentation in fresh semen samples. But, it was positively correlated with sperm concentration after washing. Evaluation of sperm HA binding has a role potential in assisted reproductive techniques.

Keywords: semen parameters, sperm DNA fragmentation, hyaluronic acid binding.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hyaluronic acid (HA) hay còn gọi là hyaluronan, là một hoạt chất hiện diện ở rất nhiều loại mô trong cơ thể như các tổ chức da, biểu bì, khớp, mắt... HA còn là một thành phần quan trọng trong các dịch tiết của đường sinh dục. Đây là một hợp chất thuộc nhóm glycosaminoglycans, và có nhiều đặc tính giúp ích cho quá trình kết dính cũng như quá trình lành sẹo của vết thương [1]. Ngoài ra, HA còn có ở chất nền ngoại bào tế bào hạt ở xung quanh noãn bào, và sự có mặt của thụ thể HA trong màng sinh chất đầu tinh trùng cho phép tinh trùng có khả năng gắn kết HA trong chất nền ngoại bào quanh noãn, từ đó có thể thực hiện được quá trình thụ tinh [2]. Nhiều chứng cứ cho thấy các thụ thể với HA chỉ xuất hiện ở những tinh trùng đã qua giai đoạn trưởng thành thông qua quá trình sắp xếp lại cấu trúc của màng tế bào tinh trùng, và do đó, chỉ những tinh trùng trưởng thành mới có khả năng gắn kết chặt với HA [3].

Xác định tình trạng vô sinh nguyên nhân do nam được đánh giá bằng phân tích tinh dịch với các thông số như mật độ, khả năng di động và hình thái của tinh trùng [4]. Tuy nhiên, những thông số này không thể đo lường chính xác khả năng thụ tinh của tinh trùng. Ngoài tinh dịch đồ, cần thực hiện các xét nghiệm khác cung cấp thông tin chính xác hơn về khả năng trưởng thành và thụ tinh của tinh trùng để các cặp vợ chồng hiếm muộn có hướng điều trị phù hợp. Xét nghiệm gắn kết HA - Hyaluronan Binding Assay (HBA) được bắt nguồn từ ý tưởng về việc tinh trùng trưởng thành có chọn lọc gắn kết với HA, xét nghiệm này lần đầu tiên được áp dụng cho kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) được thực hiện để điều trị vô sinh do yếu tố nam giới. Một số các nghiên cứu đã chứng minh được có mối liên quan giữa khả năng gắn kết của tinh trùng và kết quả thụ tinh trong ống nghiệm [5], [6], HBA có mối liên quan đến khả năng có thai ở phương pháp bơm tinh trùng vào buồng tử cung (IUI) [7], nhưng có báo cáo cho thấy HBA không có giá trị trong dự đoán kết quả của IUI [8]. Nghiên cứu đánh giá HBA áp dụng quy trình ICSI chỉ ra rằng tinh trùng có khả năng gắn kết với HA

có hình thái bình thường mà không có phân mảnh DNA [3]. Hiện nay, đa số nghiên cứu về khả năng gắn kết HA của tinh trùng tập chung vào đánh giá hiệu quả của kỹ thuật chọn lọc tinh trùng gắn kết HA đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm, chưa có báo cáo riêng rẽ mối liên quan về khả năng gắn kết HA của tinh trùng với các chỉ số tinh trùng. Tại Việt Nam chưa có báo cáo nào về khả năng gắn kết hyaluronic acid của tinh trùng, do đó, với năng lực thực hiện được kỹ thuật này trong lab, nhóm nghiên cứu nhận thấy kỹ thuật đánh giá khả năng gắn kết HA của tinh trùng có thể là một xét nghiệm sàng lọc để góp phần đưa ra lựa chọn phương pháp điều trị cho những trường hợp vô sinh chưa rõ nguyên nhân. Từ đó bổ sung thêm bằng chứng giúp bác sĩ lâm sàng có chỉ định đúng trong điều trị hỗ trợ sinh sản, nhóm nghiên cứu thực hiện với mục tiêu: *đánh giá mối liên quan giữa khả năng gắn kết hyaluronic acid của tinh trùng với mức độ phân mảnh DNA và các thông số tinh trùng.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu: mẫu tinh dịch được thu nhận từ người chồng của cặp vợ chồng vô sinh đến khám và điều trị tại Trung tâm Nội tiết sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Mẫu tinh trùng được bảo quản lạnh hoặc thu nhận từ phẫu thuật tinh hoàn, bệnh nhân có số lượng tinh trùng rất thấp ($< 1 \times 10^6$ /ml) hoặc không có tinh trùng.

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 90 mẫu tinh dịch

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 10 năm 2019 đến tháng 10 năm 2021

- Phương pháp nghiên cứu:

+ Mẫu tinh dịch được thu nhận thời điểm sau kiêng xuất tinh 3 - 5 ngày. Sau 30 phút hóa lỏng trong tủ ấm ở 37°C , mẫu được đánh về nồng độ, khả năng di động, sức sống và hình thái của tinh trùng theo các tiêu chí của Tổ chức Y tế Thế giới 2010 [4].

+ Xét nghiệm phân mảnh DNA của tinh trùng

Kit xét nghiệm Halosperm® HT-HS10 được sử dụng để đánh giá mức độ phân mảnh DNA. Mẫu xét

nghiệm được nhuộm bằng giemsa và được đánh giá bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000. Chỉ số phân mảnh DNA (DFI) được tính bằng tỷ lệ phần trăm tinh trùng có phân mảnh DNA trên 500 tinh trùng đếm được, tinh trùng không phân mảnh DNA là tinh trùng có quầng lớn và tròn bình, những tinh trùng bị phân mảnh DNA được đánh giá là có quầng nhỏ, không có quầng hoặc thoái hóa.

+ Đánh giá khả năng gắn kết HA của tinh trùng:

Mẫu tinh dịch được lọc rửa bằng kỹ thuật ly tâm thang nồng độ, sử dụng 45% và 90% Sil-select plus (Fertipro, Beernem, Belgium), với 300-400g/15 phút. Mẫu được rửa hai lần với 3 mL môi trường Spermrinse (Vitrolife), ly tâm 300 - 400 g trong 10 phút. Kết thúc quá trình, thu nhận được 0,3 ml môi trường tinh trùng (4). Đĩa PICSI® (Origio, Malov, Đan Mạch) được chuẩn bị bằng cách ngâm các vi điểm HA ở đĩa PICSI với 10 μ l môi trường nuôi cấy (GMOPS, Vitrolife). 2 μ l dịch môi trường tinh trùng thêm vào các giọt các vi điểm HA. Các đĩa PICSI được phủ với 3 - 4 ml dầu khoáng (Irvine Scientific) và ủ ở 37°C trong 15 phút để tối đa hóa

sự gắn kết của tinh trùng với HA. Những tinh trùng có gắn kết với HA là những tinh trùng bám vào vi điểm HA, di động đuôi tại chỗ; những tinh trùng không có thụ thể với HA sẽ không bám vào vi điểm và di động tự do. Đánh giá khả năng gắn kết HA bằng chỉ số xét nghiệm HBA, HBA bằng tỷ lệ phần trăm tinh trùng gắn kết trên tổng số tinh trùng di động đếm được [6].

- Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS (phiên bản 22.0, SPSS Inc). Các biến số được biểu thị bằng giá trị trung bình. Đánh giá mối liên quan bằng so sánh giá trị trung bình giữa các nhóm. Hệ số tương quan của Pearson (r) được đánh giá theo giá trị của các biến về thông số tinh dịch và mức độ gắn kết HA của tinh trùng. Các phân nhóm được chia dựa theo giá trị bình thường và bất thường về hình thái, độ di động của tinh trùng [4], mức độ phân mảnh DNA tinh trùng (DFI < 30%, mức độ thấp và trung bình; DFI $\geq$ 30%, mức độ cao) [9], mức độ gắn kết HA ngưỡng HBA 60% được ghi nhận có mối liên quan đến kết quả ICSI (HBA $\leq$ 60%; HBA > 60%) [6].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

90 mẫu tinh dịch của người chồng của các cặp vợ chồng vô sinh được đánh giá các thông số với các kết quả như sau:

Bảng 1. Đặc điểm tinh trùng ở mẫu tinh dịch tươi và mẫu sau lọc rửa

Thông số	Giá trị trung bình	Nhỏ nhất	Lớn nhất
Thể tích (ml)	2,36 $\pm$ 1,15	1,0	6,0
pH	7,26 $\pm$ 0,46	5,5	8,3
Mật độ ($\times 10^6$ /ml)	35,06 $\pm$ 14,72	5	86
PR (%)	31,59 $\pm$ 10,14	5	58
Tỷ lệ sống (%)	82,40 $\pm$ 8,27	23	92
Hình thái bình thường (%)	3,86 $\pm$ 2,12	1	14
DFI (%)	23,88 $\pm$ 15,56	4,4	76,4
Mật độ sau lọc rửa (%)	25,44 $\pm$ 14,32	3	87
PR sau lọc rửa (%)	82,67 $\pm$ 14,42	24	96
HBA (%)	47,19 $\pm$ 28,71	1	90

DFI, DNA fragmentation index - chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng; HBA, HA-binding assay - điểm số gắn kết HA; PR, Progressive - độ di động tiến tới.

Nhận xét: Trong các thông số tinh trùng, giá trị trung bình về khả năng di động tiến tới và hình thái bình thường của tinh trùng thấp hơn ngưỡng giá trị tham khảo của Tổ chức Y tế Thế giới (PR = 31,59 $\pm$ 10,14% < 32%; hình thái bình thường = 3,86 $\pm$ 2,12% < 4%). Khả năng gắn kết HA của tinh trùng có giá trị trung bình thấp hơn ngưỡng tham khảo: HBA = 47,19 $\pm$ 28,71 < 60%.

Bảng 2. Mối liên quan giữa các thông số tình trạng với khả năng gắn kết HA

Thông số	HBA $\leq 60\%$	HBA $> 60\%$	P
Hình thái bình thường (%)	3,58 $\pm$ 1,64	4,24 $\pm$ 2,61	0,14
HAB (%)	26,98 $\pm$ 18,71	76,14 $\pm$ 8,32	0,00
DFI (%)	23,83 $\pm$ 15,09	23,14 $\pm$ 16,43	0,97
PR trước lọc rửa (%)	30,51 $\pm$ 10,79	33,14 $\pm$ 9,05	0,22
PR sau lọc rửa (%)	82,72 $\pm$ 10,66	82,59 $\pm$ 18,70	0,96
Mật độ trước lọc rửa ($\times 10^6/\text{ml}$)	33,85 $\pm$ 15,62	36,78 $\pm$ 13,35	0,59
Mật độ sau lọc rửa ($\times 10^6/\text{ml}$)	20,81 $\pm$ 9,61	32,08 $\pm$ 17,25	0,00

DFI, DNA fragmentation index - chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng; HBA, HA-binding assay - điểm số gắn kết HA; PR, Progressive - độ di động tiến tới.

Nhận xét: Tình trạng trong nhóm gắn kết HA cao (HBA $> 60\%$) có tỷ lệ hình thái bình thường cao hơn so với nhóm gắn kết thấp, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p=0.14$. Không có sự khác biệt về khả năng di động của tinh trùng trước và sau lọc rửa và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng ở hai nhóm HBA. Mật độ sau lọc rửa ở nhóm HBA $> 60\%$ cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm HBA $\leq 60\%$ ($32,08 \pm 17,25$ so với $20,81 \pm 9,61$, $P=0,00$).

Bảng 3. Mối liên quan giữa khả năng gắn kết HA với độ di động, hình thái và phân mảnh DNA tinh trùng bình thường và bất thường

	Nhóm	HAB (Mean $\pm$ SD)	P
PR	$\geq 32\%$ (n=47)	47,74 $\pm$ 29,29	0,84
	$< 32\%$ (n=43)	46,58 $\pm$ 28,15	
Hình thái bình thường	$\geq 4\%$ (n=44)	51,52 $\pm$ 24,58	0,16
	$< 4\%$ (n=46)	43,04 $\pm$ 29,45	
DFI	$< 30\%$ (n=67)	46,78 $\pm$ 29,14	0,87
	$\geq 30\%$ (n=22)	47,86 $\pm$ 28,54	

DFI, DNA fragmentation index - chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng; HBA, HA-binding assay - điểm số gắn kết HA; PR, Progressive - độ di động tiến tới.

Nhận xét: nhóm tinh trùng di động nhanh (PR $\geq 32\%$) có khả năng gắn kết HA cao hơn so với nhóm tinh trùng di động chậm, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nhóm tinh trùng có hình thái bình thường ($\geq 4\%$) có khả năng gắn kết HA cao hơn so với nhóm tinh trùng có hình thái bất thường, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về khả năng gắn kết HA ở hai nhóm tinh trùng phân mảnh DNA cao và thấp.

Bảng 4. Đánh giá mối tương quan giữa khả năng gắn kết HA và các đặc điểm tinh trùng

Thông số	HBA	
	r	P
Hình thái bình thường	0,084	0,43
DFI	-0,029	0,78
PR trước lọc rửa	0,069	0,51
PR sau lọc rửa	-0,006	0,95
Mật độ trước lọc rửa	0,086	0,42
Mật độ sau lọc rửa	0,308	0,003

DFI, DNA fragmentation index - chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng; HBA, HA-binding assay - điểm số gắn kết HA; PR, Progressive - độ di động tiến tới.

Nhận xét: có mối tương quan dương giữa khả năng gắn kết HA của tinh trùng và mật độ tinh trùng sau lọc rửa, $r=0,308$, $P=0,003$. Không có mối tương quan giữa khả năng gắn kết HA và các đặc điểm hình thái, độ di động và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.

4. BÀN LUẬN

Xét nghiệm tinh dịch đồ là xét nghiệm căn bản để đánh giá khả năng sinh sản của nam giới, mặc dù được thực hiện quan sát dưới kính hiển vi quang học, nhưng theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới các thông số được đánh giá một cách nghiêm ngặt. Các giá trị về mật độ, khả năng di động và đặc điểm hình thái tinh trùng là những thông số quan trọng, nếu thấp đều ảnh hưởng đến khả năng sinh sản [4]. Kết quả của nghiên cứu cho thấy đặc điểm hình thái và đặc điểm di động đều thấp hơn ngưỡng, do đó phản ánh một phần về khả năng sinh sản của nam giới ở các cặp vợ chồng vô sinh hiếm muộn. Tuy nhiên, có nhiều trường hợp các thông số tinh trùng bình thường nhưng khả năng thụ thai và làm tổ của phôi giảm, các nguyên nhân có thể dẫn đến về phía nam giới đó là tinh trùng chưa trưởng thành, tinh trùng không có thụ thể gắn kết với noãn, tinh trùng bị tổn thương DNA [10], [11].... Đó đó, cần phải có nhiều hơn các xét nghiệm đánh giá chất lượng tinh trùng, từ đó có phương pháp điều trị phù hợp cho cặp vợ chồng hiếm muộn.

Đánh giá mối liên quan giữa các giá trị thông số tinh trùng và khả năng gắn kết HA của tinh trùng, kết quả của nghiên cứu này chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, cũng như không thấy có mối tương quan giữa các giá trị. Tuy nhiên, một số nghiên cứu trước đây báo cáo cho thấy có mối tương quan rõ rệt, nghiên cứu của Nasr-Esfahani và cộng sự cho thấy mối tương quan thuận có ý nghĩa giữa khả năng di chuyển của tinh trùng với HBA ($r=0,47$, $P=0,000$), và tương quan nghịch với phần trăm hình thái bất thường ($r=-0,431$, $P=0,001$) [12]. Ye và cộng sự cũng cho thấy rằng khả năng gắn kết HA của tinh trùng tương quan với tổng số, di động tiến tới và hình thái bình thường, gợi ý rằng gắn kết HA có thể phản ánh chất lượng tinh dịch [13]. Có sự khác nhau về kết quả nghiên cứu có thể do chất lượng và số lượng mẫu được đưa vào nghiên cứu khác nhau, như trong nghiên cứu của Nasr-Esfahani và cộng sự, mặc dù cùng phương pháp nghiên cứu, nhưng cỡ mẫu của chúng tôi nhiều gấp 4,5 [12]. Đối với nghiên cứu của Ye và cộng sự thì chất lượng mẫu tinh dịch giá trị các thông số cao hơn nhiều so với mẫu của chúng tôi [13]. Một nghiên cứu gần đây của tác giả Ghaleno và cộng sự, cũng ghi nhận HBA tương quan thuận với di động tiến tới (hệ số $\beta = 0,449$, $P < 0,05$) và hình thái bình thường (hệ số $\beta = 2,722$, $P < 0,01$) [14], nghiên cứu này có số lượng mẫu tương đồng với chúng tôi, tuy nhiên đánh giá HBA trên mẫu tinh dịch tươi, còn của chúng tôi là đánh giá ở mẫu sau lọc rửa, đồng thời 2 kỹ thuật đánh giá khác nhau, có

thể đã dẫn đến kết quả chênh lệch.

Tinh trùng để sử dụng trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản là mẫu đã được xử lý (lọc rửa). Kỹ thuật lọc rửa tinh trùng với mục đích loại bỏ hết phần dịch tinh, tinh trùng chết và các tế bào lạ. Kết quả sau khi lọc rửa thu được 1 thể tích nhỏ dịch môi trường tinh trùng được cô đặc (0,3 ml), là những tinh trùng sống, được hoạt hóa, có khả năng di động tốt (tương đồng với tinh trùng khi di chuyển trong đường sinh dục nữ đến gặp noãn) [4]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá HBA là mẫu tinh trùng sau khi lọc rửa, kết quả ghi nhận được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa HBA và mật độ tinh trùng sau lọc rửa, đồng thời mối tương quan dương được ghi nhận giữa 2 giá trị. Như vậy, có thể thông qua mật độ tinh trùng sau lọc rửa dự đoán khả năng gắn kết HA của tinh trùng, từ đó có thể áp dụng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm phù hợp là ICSI thường quy; IVF cổ điển; HA - ICSI hoặc PICSI - là các kỹ thuật cải tiến trong chọn lọc tinh trùng có gắn kết HA. Tác giả Mokanszki và cộng sự (2014), đánh giá hiệu quả của PICSI dựa trên ngưỡng HBA $\leq 60\%$ và $> 60\%$. Kết quả cho thấy tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ cao hơn đáng kể ở nhóm có chọn lọc tinh trùng gắn kết HA so với nhóm thực hiện ICSI thường quy [6]. Các tác giả đề nghị HBA có thể được sử dụng để tiên lượng khả năng thành công của kỹ thuật điều trị. Nếu HBA $\leq 60\%$, nên được thực hiện ICSI, HBA $\geq 80\%$ có thể tiến hành thụ tinh nhân tạo (IUI - bơm tinh trùng vào buồng tử cung) và trong khoảng 60 - 80%, có thể tiến hành IVF cổ điển [15].

Đánh giá về mối liên quan giữa khả năng gắn kết HA với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng, kết quả của chúng tôi không tìm thấy mối tương quan nào. Trong nghiên cứu của tác giả Ghaleno và cộng sự cũng báo cáo cho thấy không có mối tương quan giữa HBA và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng ($r=-0,102$, $P=0,319$), mặc dù HBA có mối tương quan âm với mức độ ổn định DNA tinh trùng $r=-0,319$, $P<0,01$ [14]. Tuy nhiên, cũng phương pháp nghiên cứu như của chúng tôi, nhưng kết quả của nhóm tác giả Nasr-Esfahani và cộng sự ghi nhận có mối tương quan âm giữa HBA và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng ($r=-0,29$, $P=0,035$) [12]. Các nghiên cứu cho thấy kỹ thuật gắn kết HA có khả năng chọn lọc những tinh trùng không bị tổn thương DNA [12], [15] có mối tương quan nghịch giữa tỉ lệ gắn kết HA với thiếu hụt protamine, phân mảnh DNA và hình dạng bất thường của tinh trùng. Trong nghiên cứu của Parmegiani và cộng sự năm 2010 báo cáo cho thấy những tinh trùng gắn HA có mức độ phân mảnh DNA thấp hơn đáng kể so với những tinh trùng sau lọc rửa và tinh trùng thu thập trong Polyvinylpyrrolidone - dung

dịch làm chậm di chuyển tinh trùng thực hiện trong ICSI thường quy, cũng như là tinh trùng từ mẫu tinh dịch tươi, lần lượt là 5,3%, 11,0%, and 16,5% ($P < 0,001$) [5]. Như vậy, thực hiện khảo sát khả năng gắn kết HBA của tinh trùng để phản ánh được mức độ phân mảnh DNA tinh trùng còn chưa rõ ràng, tuy nhiên những tinh trùng có gắn kết với HA được chọn lọc để tiêm bào tương noãn có thể là những tinh trùng không bị phân mảnh DNA, từ đó nâng cao kết quả của thụ tinh trong ống nghiệm.

5. KẾT LUẬN

Thực hiện đánh giá 90 mẫu tinh dịch thông qua các xét nghiệm tinh dịch đồ, đánh giá phân mảnh DNA tinh trùng, đánh giá khả năng gắn kết HA của tinh trùng, kết quả cho thấy: Khả năng gắn kết HA của tinh trùng không có mối liên quan với các thông số tinh dịch đồ và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong mẫu tinh dịch tươi. Khả năng gắn kết HA của tinh trùng có mối tương quan dương với mật độ tinh trùng sau lọc rửa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cowman M, Lee H, Schwertfeger K, McCarthy J, Turley E. The content and size of hyaluronan in biological fluids and tissues. *Frontiers in immunology*. 2015;6:261.
2. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure, distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. *Human Reproduction*. 1992;7(3):391-8.
3. Huszar G, Ozenci C, Cayli S, Zavaczki Z, Hansch E, Vigue L. Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. *Fertility and sterility*. 2003;79 Suppl 3:1616-24.
4. Tổ chức Y tế Thế giới. Tinh dịch đồ. Cẩm nang của Tổ chức Y tế thế giới cho xét nghiệm chẩn đoán và xử lý tinh dịch người (bản dịch của Hosrem): Nhà xuất bản Y học 2011. 7- 102.
5. Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, Ciampaglia W, Filicori M. "Physiologic ICSI": hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertility and sterility*. 2010;93(2):598-604.
6. Mokanszki A, Tothne EV, Bodnar B, Tandor Z, Molnar Z, Jakab A, et al. Is sperm hyaluronic acid binding ability predictive for clinical success of intracytoplasmic sperm injection: PICSI vs. ICSI? *Systems biology in reproductive medicine*. 2014;60(6):348-54.
7. Roudebush W, Davis A, Mitchell-Leef D, Elsner C, Massey J, Kort H. Relationships between the sperm and the hyaluronan binding assay (HBA™) and intrauterine insemination pregnancy rates. *Fertility Sterility*. 2005;84:288-9.
8. Yildirim M, Duvan C, Pekel A, Ayrim A, Kafali H. Can hyaluronan binding assay predict the outcome of intrauterine insemination in couples with unexplained or mild male factor infertility? *Journal of Reproduction Infertility*. 2015;16(1):18.
9. Sivanarayana T, Ravi Krishna C, Jaya Prakash G, Krishna KM, Madan K, Sudhakar G, et al. Sperm DNA fragmentation assay by sperm chromatin dispersion (SCD): correlation between DNA fragmentation and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Reproductive medicine and biology*. 2014;13(2):87-94.
10. Borges E, Zanetti B, Setti A, Braga D, Provenza R, Iaconelli A. Sperm DNA fragmentation is correlated with poor embryo development, lower implantation rate, and higher miscarriage rate in reproductive cycles of non-male factor infertility. *Fertility and sterility*. 2019;112(3):483-90.
11. Erberelli R, Salgado R, Pereira D, Wolff P. Hyaluronan-binding system for sperm selection enhances pregnancy rates in ICSI cycles associated with male factor infertility. *JBRA assisted reproduction*. 2017;21(1):2.
12. Nasr-Esfahani M, Razavi S, Vahdati A, Fathi F, Tavalaei M. Evaluation of sperm selection procedure based on hyaluronic acid binding ability on ICSI outcome. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2008;25(5):197-203.
13. Ye H, Huang G, Gao Y, Liu D. Relationship between human sperm-hyaluronan binding assay and fertilization rate in conventional in vitro fertilization. *Human Reproduction*. 2006;21(6):1545-50.
14. Ghaleno L, Valojerdi M, Chehrizi M, Samani F, Yazdi R. Hyaluronic acid binding assay is highly sensitive to select human spermatozoa with good progressive motility, morphology, and nuclear maturity. *Gynecologic Obstetric Investigation*. 2016;81(3):244-50.
15. Huszar G, Jakab A, Sakkas D, Ozenci C, Cayli S, Delpiano E, et al. Fertility testing and ICSI sperm selection by hyaluronic acid binding: clinical and genetic aspects. *Reproductive biomedicine online*. 2007;14(5):650-63.