

MỐI TƯƠNG QUAN CỦA CHỈ SỐ PHÂN MẢNH DNA TINH TRÙNG VÀ KẾT QUẢ TIÊM TINH TRÙNG VÀO BÀO TƯƠNG NOÃN

Nguyễn Thị Quỳnh Tiên⁽¹⁾, Mã Phạm Quế Mai⁽²⁾, Dương Nguyễn Duy Tuyền⁽¹⁾, Nguyễn Minh Tài Lộc⁽²⁾, Nguyễn Trương Thái Hà⁽²⁾
(1) Bệnh viện Mỹ Đức, (2) Khoa Y, Đại học Quốc gia TP.HCM

DOI 10.46755/vjog.2018.4.499

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định mối tương quan giữa chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DNA Fragment Index – DFI) được đo bằng phương pháp khảo sát độ phân tán nhiễm sắc chất (Sperm Chromatin Dispersion – SCD) và kết quả tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intracytoplasmic Sperm Injection – ICSI).

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đây là nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu, thực hiện trên 160 bệnh nhân điều trị ICSI tại Đơn vị Hỗ trợ sinh sản IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức từ tháng 06/2016 đến tháng 05/2017.

Kết quả: Không có mối tương quan giữa chỉ số phân mảnh DNA và kết quả ICSI, bao gồm: tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 3 và tỷ lệ phôi hữu dụng ($p > 0,05$). Kết quả: thai lâm sàng ở ba nhóm DFI ($< 15\%$, $15-30\%$, $> 30\%$) không có khác biệt, bao gồm: tỷ lệ thai beta-hCG > 25 mIU/mL (tương ứng là 49%, 57% và 60%), tỷ lệ thai lâm sàng (tương ứng là 33%, 47% và 20%) và tỷ lệ sẩy thai (tương ứng là 6,5%, 13,3% và 0%) ($p > 0,05$).

Kết luận: Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng không ảnh hưởng đến kết quả điều trị của ICSI.

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
Nguyễn Thị Quỳnh Tiên,
email: quynhtien271291@gmail.com
Ngày nhận bài (received): 22/12/2017
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
05/01/2018
Ngày bài báo được chấp nhận đăng
(accepted): 12/01/2018

1. Đặt vấn đề

Có khoảng 30-40% các trường hợp hiếm muộn có nguyên nhân từ cả hai vợ chồng và khoảng 20% do bất thường về tinh trùng của người chồng[1]. Trong đó, các yếu tố được quan tâm trong chẩn đoán vô sinh nam thường chỉ dựa vào các thông số tinh dịch đồ, bao gồm: thể tích tinh dịch, pH, mật độ, độ di động và hình dạng tinh trùng. Tuy nhiên, khoảng

15% trường hợp vô sinh nam có tinh dịch đồ bình thường[2]. Nồng độ ROS quá mức trong tinh dịch có thể là một trong những yếu tố tiên lượng tỉ lệ thụ tinh kém trong ống nghiệm (In vitro fertilization - IVF). Các gốc oxy hóa tác động làm giảm độ di động, khả năng sống và gây phân mảnh DNA của tinh trùng. Sự phân mảnh DNA tinh trùng gây ảnh hưởng đến việc đảm nhận chức năng thụ tinh bình thường, cũng như trong quá trình phát triển phôi thai sau này[3]. Mặc dù có mối liên quan giữa mức độ dị dạng của tinh trùng với sự phân mảnh DNA[4], nhưng hình dạng tinh trùng không phải là yếu tố dự đoán cho sự phân mảnh DNA tinh trùng[5], thậm chí những tinh trùng có hình dạng bình thường cũng có thể bị phân mảnh DNA. Avendano và cộng sự năm 2010 cho rằng có mối tương quan nghịch, có ý nghĩa lớn trong y học, giữa những tinh trùng hình dạng bình thường nhưng bị phân mảnh DNA và chất lượng phôi, tỷ lệ thai sau phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intracytoplasmic Sperm Injection-ICSI) [6,7]. Trong ICSI, tiêu chí để chọn lọc tinh trùng để tiêm vào bào tương trứng là có di động tốt, hình dạng bình thường cao, tuy nhiên, tỉ lệ phân mảnh DNA trong những tinh trùng đó mới là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến kết quả điều trị.

Từ đó, vấn đề về sự nguyên vẹn của cấu trúc DNA và chức năng của tinh trùng được quan tâm nhiều hơn. Đề tài được thực hiện với mục tiêu đánh giá mối tương quan của tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và kết quả tạo phôi và tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai diễn tiến trong các trường hợp thụ tinh bằng phương pháp ICSI.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Đây là một nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu với kết quả sau ICSI bao gồm: tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 3, tỷ lệ tạo phôi tốt, thai lâm sàng và thai diễn tiến liên quan tới chỉ số DFI khác nhau của bệnh nhân.

Thu nhận mẫu tinh dịch (theo chỉ dẫn của WHO, 2010)

Có 160 cặp vợ chồng tham gia nghiên cứu sẽ lấy mẫu tinh dịch. Mẫu được thu nhận tại IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức từ tháng 06/2016 đến tháng

05/2017. Mẫu tinh dịch sau khi xuất tinh được thu nhận vào lọ đựng mẫu chuyên dụng và chờ ly giải 15-60 phút. Sau đó, mẫu được đánh giá mật độ và độ di động theo qui trình chuẩn (WHO, 2010).

Tinh trùng được chuẩn bị bằng phương pháp thang nồng độ không liên tục, ly tâm 1.200 vòng/phút trong 10 phút. Môi trường lọc là AllGrad® 45% và AllGrad® 90% (LifeGlobal). Phần cặn được rửa với 3 mL môi trường AllGrad® Wash (LifeGlobal), ly tâm 1.200 vòng/phút trong 5 phút. Tinh trùng sau khi lọc rửa được cô đặc trong 0,1-0,2 mL sử dụng cho ICSI.

Chuẩn bị noãn

Noãn được chọc hút 36-40 giờ sau khi tiêm hCG. Khối noãn-cumulus (Oocyte-cumulus complex - OCC) được rửa vào đĩa chứa môi trường Collect Medium (LifeGlobal). Noãn sau đó được cấy trong hộp 4 giếng chứa môi trường Global total LP for Fertilization (LifeGlobal) có phủ dầu. Sau 2-3 giờ nuôi cấy ở 37°C, 6% CO₂ và 5% O₂. Noãn được tách ra khỏi khối OCC bằng môi trường Hyaluronidase và được tiếp tục nuôi cấy 1-2 giờ trong giọt môi trường Global total LP for Fertilization trước khi thực hiện ICSI.

Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Tiến hành ICSI 40-42 giờ sau giờ tiêm hCG theo quy trình kích thích buồng trứng thường qui. Noãn sau khi ICSI được nuôi cấy trong điều kiện 37°C, 6% CO₂ và 5% O₂. Thụ tinh được xác định sau 16-20 giờ tiêm tinh trùng vào bào tương trứng khi xuất hiện hai tiền nhân và đẩy ra thể cực thứ hai. Vào ngày 3, các phôi được đánh giá vào thời điểm 66-68 giờ sau ICSI. Phôi ngày 3 được xác định khi có từ 6 tế bào trở lên, trong đó, phôi loại I được xác định có số phôi bào 7-9 tế bào với tỉ lệ phân mảnh 0-10%. Việc đánh giá và phân loại dựa trên đồng thuận alpha (2011)[8].

Tiến hành quy trình phát hiện sự phân mảnh DNA tế bào tinh trùng bằng phương pháp SCD

Quy trình phát hiện phân mảnh DNA tế bào tinh trùng bằng phương pháp SCD được xây dựng tại Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, dựa theo quy trình của Frenandez (năm 2003 và 2005), với một số chi tiết được cải tiến để phù hợp với điều kiện áp dụng tại Việt Nam.

Đầu tiên, tinh dịch được pha loãng với PBS đến mật độ 20 triệu tinh trùng/mL. Tiếp theo, 25 µL

mẫu sau khi được pha loãng trộn với 50 µL agarose trong eppendorf (1%). Sau đó, 15 µL thể tích hỗn hợp được nhỏ lên slide. Slide sẽ được đặt bằng coverslip rồi giữ lạnh ở 4°C / 5 phút. Sau 5 phút, slide được bỏ coverslip sẽ tiếp tục được ngâm trong dung dịch HCl 0,08 N trong 7 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, slide được ngâm trong dung dịch ly giải 20 phút ở nhiệt độ phòng và rửa với nước cất trong 5 phút. Slide lần lượt được rửa trong loạt dung dịch ethanol có nồng độ 70%, 100% trong 2 phút mỗi lần và nhuộm mẫu với giemsa trong 7 phút. Sau khi rửa với nước cất, mẫu được để khô ở nhiệt độ phòng. Cuối cùng, mẫu được phân tích kết quả hình ảnh ở vật kính 100X

Phân tích số liệu

Các chỉ số được phân tích gồm: số mật độ, độ di động, chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng, số noãn chọc hút, số noãn trưởng thành, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi phân chia, số phôi tốt ngày 3, tỷ lệ beta-hCG, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ của phôi. Các số liệu sẽ được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn hay dưới dạng phần trăm. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm định bằng Student's t-test cho dữ liệu theo luật phân phối chuẩn, giá trị phần trăm được kiểm định sự khác biệt bằng Chi-square test, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi p < 0,05.

Sử dụng phần mềm thống kê R (ver 3.2.4) để kiểm định hệ số tương quan r (theo Pearson) cho so sánh chỉ số DFI và các giá trị điều trị với khoảng tin cậy là 95%.

3. Kết quả

Đặc điểm bệnh nhân tham gia nghiên cứu được thể hiện ở bảng 1. Trong đó, tuổi vợ trong nghiên cứu là 31,65 ± 3,96. Nồng độ hormone kháng ống Müller (AMH) là 5,2 ± 3,02 ng/mL, nồng độ E₂ và P₄ trước khi tiêm hCG tương ứng là 5.896 ± 4.684,5 pg/mL, 1,3 ± 0,74 ng/mL. Tuổi chồng tham gia nghiên cứu là 33,43 ± 3,9, tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng là 14,74% ± 10,62%. Các chỉ số tinh dịch đồ bao gồm mật độ tinh trùng: 43,64 x 10⁶/mL ± 32,23 x 10⁶/mL, di động tiến tới: 31,01% ± 13,46%, hình dạng bình thường: 0,10% ± 0,03%.

Mối tương quan của DFI và các chỉ số trong ICSI

Tỷ lệ thụ tinh là tỷ lệ giữa số noãn thụ tinh trong tổng số noãn tiến hành ICSI, tỷ lệ thụ tinh trung bình của 160 cặp vợ chồng là 84,76% ± 14,32%. Khi đánh giá mức độ tương quan giữa chỉ số DFI và tỷ lệ thụ tinh, chúng tôi không ghi nhận được sự tương quan có ý nghĩa thống kê (r = 0,02, p = 0,98), kết quả được thể hiện ở biểu đồ 1A và bảng 2.

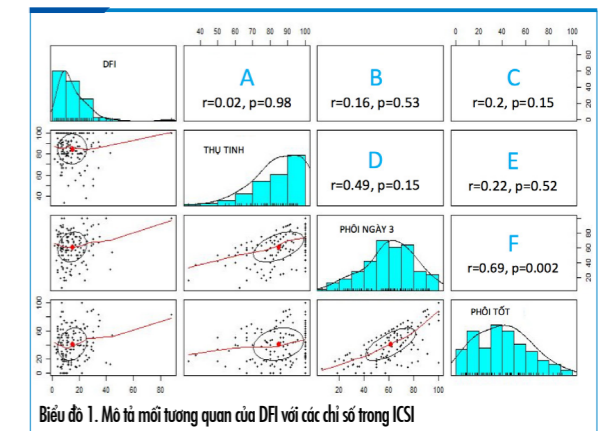
Tỷ lệ tạo phôi ngày 3 là tỷ lệ giữa số phôi ngày 3 trong tổng số trứng thụ tinh. Tỷ lệ tạo phôi ngày 3 trung bình là 72,81% ± 21,19%. Kết quả ghi nhận không tìm thấy mối tương quan giữa tỷ lệ tạo phôi ngày 3 và chỉ số DFI (r = 0,16, p = 0,53, biểu đồ 1B).

Bảng 1. Các chỉ số nền của bệnh nhân được thu nhận vào nghiên cứu

Các chỉ số	Giá trị (n = 160)	Giới hạn
Tuổi vợ (năm)	31,65 ± 3,96	23-40
Tuổi chồng (năm)	33,43 ± 3,91	24-40
AMH (ng/mL)	5,20 ± 3,02	0,95-14,63
Thời gian vô sinh (năm)	3,61 ± 3,35	0,5-12
Loại vô sinh (%)		Loại 1: 82% Loại 2: 18%
Nồng độ E ₂ (pg/mL)	5.896 ± 4.684,5	872-26.020
Nồng độ P ₄ (ng/mL)	1,3 ± 0,74	0,09-6,72
Các chỉ số tinh dịch đồ		
Mật độ tinh trùng (x 10 ⁶ /mL)	43,64 ± 32,23	5-180
Di động (%)	31,01 ± 13,46	5-68
Hình dạng bình thường (%)	0,10 ± 0,03	0-1
DFI (%)	14,74 ± 10,62	2-88

Bảng 2. Các chỉ số ICSI và kết quả điều trị

Các chỉ số	Giá trị (n = 160)
Tỷ lệ thụ tinh (%)	84,76 ± 14,32
Tỷ lệ tạo phôi ngày 3 (%)	72,81 ± 21,19
Tỷ lệ phôi loại 1-2 ngày 3 (%)	65,6 ± 28,7
Tỷ lệ beta-hCG > 25 mIU/mL	52% (50/96)
Tỷ lệ thai lâm sàng (%)	36% (35/96)
Tỷ lệ sảy thai (%)	8% (8/96)



Biểu đồ 1. Mô tả mối tương quan của DFI với các chỉ số trong ICSI

Tỷ lệ phôi tốt là tỷ lệ phôi loại I và loại II (theo đồng thuận Alpha, 2011) trên tổng số phôi thu nhận được. Tỷ lệ phôi tốt trong nghiên cứu là $65,6\% \pm 28,7\%$. Khi tiến hành đánh giá mức độ tương quan giữa chỉ số DFI và tỷ lệ phôi tốt, chúng tôi cũng không ghi nhận được sự tương quan có ý nghĩa thống kê ($r = 0,2$, $p = 0,15$, biểu đồ 1C).

Chú thích: (A) Mối tương quan giữa tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng, (B) Mối tương quan giữa tỷ lệ tạo phôi ngày 3 và tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng, (C) Mối tương quan giữa tỷ lệ phôi tốt ngày 3 và tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng, (D) Mô tả tương quan giữa tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ tạo phôi ngày 3, (E) Tương quan giữa tỷ lệ phôi tốt ngày 3 và tỷ lệ thụ tinh, (F) Tương quan giữa tỷ lệ phôi tốt ngày 3 và tỷ lệ tạo phôi ngày 3.

Mối tương quan của kết quả điều trị với từng nhóm chỉ số DFI khác nhau

Kết quả lâm sàng thu nhận từ nghiên cứu của chúng tôi cho tỷ lệ thai beta-hCG > 25 mIU/mL là 52%, tỷ lệ thai lâm sàng là 36% và tỷ lệ sảy thai là 8% (Bảng 2). Dựa vào phân loại của Evenson và cộng sự (1999) chia mức độ phân mảnh DNA tinh trùng thành 3 nhóm DFI < 15% [Nhóm 1], 15% ≤ DFI ≤ 30% [Nhóm 2], DFI > 30% [Nhóm 3]. Kết quả từ nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ thai beta-hCG > 25 mIU/mL không có khác biệt giữa 3 nhóm DFI, 49% ở nhóm 1 (OR = 0,99 CI 0,84-1,17, $p = 0,89$), 57% ở nhóm 2 (OR = 1 CI 0,86-1,17, $p = 0,97$) và 60% ở nhóm 3 (OR = 0,84, CI 0,52-1,35). Kết quả ghi nhận không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thai lâm sàng ở ba nhóm chỉ số DFI, tương ứng là 33% (OR = 0,99, CI 0,83-1,18, $p = 0,92$), 47% (OR = 1,02, CI 0,87-1,20, $p = 0,77$) và 20% (OR = 0,75, CI 0,29-1,93, $p = 0,56$). Tỷ lệ sảy thai ở nhóm 1 là 6,5% (OR = 0,80 CI 0,55-1,17, $p = 0,25$), nhóm 2 là 13,3% (OR = 1,03, CI 0,82-1,29, $p = 0,99$), ở nhóm 3

có ít mẫu (4 mẫu trên tổng số 160 mẫu tinh trùng được phân tích DFI) nên không đủ số liệu sảy thai để đánh giá mối tương quan (Bảng 3).

4. Bàn luận

Nhiều nghiên cứu trên thế giới khẳng định rằng phân mảnh DNA tinh trùng có mối tương quan nghịch với khả năng có con tự nhiên của người nam. Trong khi các xét nghiệm về sự phân mảnh DNA có khả năng tiên lượng tốt về kết quả có thai tự nhiên, thì việc đánh giá trong IVF và ICSI còn nhiều tranh luận. Theo Saleh và cộng sự (2003), chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng tương quan nghịch với tỷ lệ thụ tinh ($r = -0,70$) và chất lượng phôi ($r = -0,70$)[9]. Kết quả của Muriel và cộng sự (2006) cho thấy tỷ lệ thụ tinh trong điều trị ICSI có mối tương quan nghịch với phân mảnh DNA tinh trùng được xét nghiệm bằng phương pháp SCD (sperm chromatin dispersion) ($r = -0,245$, $P = 0,045$). Theo Benchaib và cộng sự, phân mảnh DNA tinh trùng khảo sát bằng TUNEL cho tỷ lệ thai lâm sàng thấp khi thực hiện ICSI và hầu như không có thai lâm sàng khi DFI > 20%[10].

Kết quả thu nhận được từ SCD có mối tương quan tốt với các xét nghiệm DNA khác như là SCSA và TUNEL[11,12]. Mặc dù SCSA (sperm chromatin structure assay) là phương pháp đánh giá phân mảnh DNA tinh trùng tốt nhất, nhưng những phương pháp khác như là TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated terminal uridine nick-end labeling), Comet, SCD đã được triển khai xét nghiệm lâm sàng. SCD là phương pháp đơn giản và rẻ tiền nhất có thể thực hiện khi sử dụng kính hiển vi quang học để đánh giá.

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, mức độ phân mảnh DNA tinh trùng được đánh giá bằng phương pháp SCD, không tìm thấy khác biệt ở tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 3, tỷ lệ tạo phôi hữu dụng giữa ba nhóm DFI. Qua kết quả này, có thể thấy rằng tiềm năng phát triển phôi không chịu ảnh hưởng bởi tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng cho đến giai đoạn phôi ngày 3, đây là giai đoạn bộ gen phôi được hoạt hóa, phôi có thể sửa chữa những tổn thương của DNA tinh trùng[13]. Hiện tại, trung tâm của chúng tôi chuyển phôi ngày 3 được chỉ định ban đầu cho cặp vợ chồng điều trị

nên trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá hiệu quả điều trị đến phôi ngày 3. Hơn nữa, đánh giá hiệu quả điều trị đến giai đoạn phôi nang cho số liệu ít, không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cũng trùng khớp với một số các nghiên cứu khác khi sử dụng phương pháp khác nhau để đánh giá phân mảnh DNA tinh trùng. Karydis và cộng sự (2005) thực hiện trên 154 chu kỳ ICSI, phân mảnh DNA tinh trùng được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang sau khi nhuộm bằng Chromomycin A3, kết quả nghiên cứu cho thấy phân mảnh DNA tinh trùng không ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt và tỷ lệ thai lâm sàng ($P > 0,05$)[14]. Một nghiên cứu khác của Benchaib và cộng sự (2003) thực hiện trên 104 bệnh nhân điều trị bằng phương pháp IVF (50 bệnh nhân) và ICSI (54 bệnh nhân), kết quả cho thấy không có mối tương quan giữa phân mảnh DNA (được đánh giá bằng phương pháp TUNEL) và chất lượng phôi[10,15].

Ngoài ra, chúng tôi có đánh giá mối tương quan giữa phân mảnh DNA tinh trùng và kết quả thai lâm sàng. Trong nghiên cứu này, ở ba nhóm DFI đều không cho thấy có khác biệt ở kết quả thai lâm sàng sau khi thực hiện ICSI. Nghiên cứu của Muriel và cộng sự (2006) sử dụng xét nghiệm SCD và Halosperm cho thấy không có tương quan giữa phân mảnh DNA tinh trùng và thai lâm sàng[16].

Điều này có thể giải thích là trong quá trình lựa chọn phôi trước khi chuyển, những phôi được đánh giá kém chất lượng sẽ không được lựa chọn để chuyển phôi. Vì vậy, chỉ số DFI của mẫu tinh trùng sẽ không ảnh hưởng đến kết quả thai lâm sàng. Tuy nhiên, DFI > 27% (đánh giá bằng phương pháp SCSA) là giá trị tiên lượng cho chu kỳ điều trị không có kết quả thai lâm sàng[17]. Một nghiên cứu khác cũng cho kết quả tương tự, DFI đánh giá bằng phương pháp TUNEL có tương quan nghịch với tỷ lệ thai lâm sàng ($P = 0,034$)[18]. Nhóm DFI > 30% có ít ca ($n = 4$) và không có ca nào sảy thai nên không đánh giá được mối tương quan giữa ba nhóm DFI. Một nghiên cứu tổng hợp của Bellver và cộng sự (2010) thực hiện trên 2.969 bệnh nhân cho thấy tỷ lệ sảy thai cao hơn đáng kể ở những mẫu có chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng cao ($P < 0,00001$, $r = 2,16$).

5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, kết quả không ghi nhận bất kỳ các chỉ số nào của ICSI bao gồm: tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 3, tỷ lệ phôi hữu dụng ngày 3, tỷ lệ beta-hCG > 25 mIU/mL, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ sảy thai chịu ảnh hưởng bởi mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.

Tài liệu tham khảo

- Mosher WD and Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril*. 1991; 56:192-3.
- Agarwal, Ashok, Gupta, Sajal, and Sharma, Rakesh K. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*. RB&E. 2005; 3:28.
- Aitken KT, Jones SA Robertson. Reactive oxygen species and sperm function-in sickness and in health. *Journal of Andrology*. 2012; 33(6):1096-1106.
- Aitken RJ, De Iulius GN. Origins and consequences of DNA damage in male germ cells. *Reprod Biomed Online*. 2007; 14(6):727-33.
- Celik-Ozenci C, Jakab A, Kovacs T, et al. Sperm selection for ICSI: shape properties do not predict the absence or presence of numerical chromosomal aberrations. *Hum Reprod*. 2004; 19(9):2052-9.
- Avendano C and Oehninger S. DNA fragmentation in morphologically normal spermatozoa: how much should we be concerned in the ICSI era? *J Androl*. 2011; 32(4):356-63.
- Ryan T. Schulte, Dana A and Gary D. Smith. Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes. *J Assist Reprod Genet*. 2010; 27(1):3-12.
- Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011; 26(6):1270 - 1283.
- Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, Nelson DR, Thomas AJ. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003; 3:1597-605.
- Mehdi Benchaib, Valerie Braun, Jacqueline Lorange, Samia Hadi, Bruno Salle, Herve Lejeune and Jean Francois Guerin. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod*.

2003;18(5):1023-1028.

- Fernández JL, Muriel L, Goyanes V, Segrelles E, Gosálvez J, Enciso M, et al. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion (SCD) test. *Fertil Steril*. 2005; 84(4):833-42.
- Chohan KR, Griffin JT, Lafromboise M, De Jonge CJ, Carrell DT. Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. *Andrology*. 2006; 27:53-9.
- Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four-and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature*. 1988; 332:459-461.
- Karydis S, Asimakopoulos B, Papadopoulos N, Vakalopoulos, Al-Hasani S, Nikolettos N. ICSI outcome is not associated with the incidence of spermatozoa with abnormal chromatin condensation. *In-Vivo*. 2005; 19(5):921-925.
- Abu-Hassan D, Koester F, Shoeffler B, Schultze-Mosgau A, Asimakopoulos B, Diedrich K et al. Comet assay of cumulus cells and spermatozoa DNA status, and the relationship to oocyte fertilization and embryo quality following ICSI. *Reprod Biomed Online*. 2006; 12(4): 447-452.
- Muriel L, Garrido N, Fernández JL, Remohí J, Pellicer A, de los Santos MJ, et al. Value of the sperm deoxyribonucleic acid fragmentation level as measured by the sperm chromatin dispersion test, in the outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2006; 85: 371-383.
- Larson-Cook KL, Brannian JD, Hansen KA, Kasper-son KM, Aamold ET, Evenson DP. Relationship between the outcomes of assisted reproductive techniques and sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril*. 2003; 80(4):895-902.
- Henkel R, Hajimohammad M, Staf T. Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy. *Fertil Steril*. 2004; 81:965-972.

Bảng 3. Tỷ lệ nguy cơ cho beta-hCG > 25 mIU/mL, thai lâm sàng và sảy thai khi chuyển phôi của các cặp vợ chồng ở 3 nhóm DFI

Nhóm DFI (%)	(Nhóm 1) < 15		(Nhóm 2) 15-30		(Nhóm 3) > 30	
	OR	p	OR	p	OR	p
BETA h-CG > 25 mIU/mL	0,99 (0,84-1,17)	0,89	1 (0,86-1,17)	0,97	0,84 (0,52-1,35)	0,48
Thai lâm sàng	0,99 (0,83-1,18)	0,92	1,02 (0,87-1,20)	0,77	0,75 (0,29-1,93)	0,56
Sảy thai	0,80 (0,55-1,17)	0,25	1,03 (0,82-1,29)	0,99	0%	