

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

..... ๓ ๖ ๘

DƯƠNG THỊ NHÀN

**ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN HỆ GIỮA
MỨC ĐỘ PHÂN MẢNH DNA TINH TRÙNG
VÀ CÁC CHỈ SỐ TINH DỊCH ĐỒ Ở NAM GIỚI VÔ SINH
ĐẾN KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ TẠI BỆNH VIỆN A THÁI NGUYÊN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN, 2020

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC
..... 

DƯƠNG THỊ NHÀN

**ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN HỆ GIỮA
MỨC ĐỘ PHÂN MẢNH DNA TINH TRÙNG
VÀ CÁC CHỈ SỐ TINH DỊCH ĐỒ Ở NAM GIỚI VÔ SINH
ĐẾN KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ TẠI BỆNH VIỆN A THÁI NGUYÊN**

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học

Mã số: 84 20 201

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Phú Hùng

THÁI NGUYÊN, 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các số liệu và kết quả trình bày trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào. Mọi kết quả thu được không chỉnh sửa, sao hoặc chép từ các nghiên cứu khác. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc.

Tác giả

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành được luận văn này, em xin trân trọng được gửi lời cảm ơn sâu sắc nhất tới TS. Nguyễn Phú Hùng đã định hướng khoa học, tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện tốt nhất trong suốt quá trình em tiến hành nghiên cứu.

Em xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo và cán bộ Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên đã tận tình dạy dỗ, chỉ bảo và truyền cho em niềm đam mê nghiên cứu khoa học.

Em xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo và cán bộ Bộ phận Sau đại học – Phòng Đào tạo & QHQT, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên đã tạo mọi điều kiện thuận lợi về thủ tục, văn bản trong suốt quá trình học tập.

Tôi xin chân thành cảm ơn ban lãnh đạo Bệnh viện A Thái Nguyên, đặc biệt các anh chị, các bạn, các em trong Khoa Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện A Thái Nguyên nơi tôi đang công tác, đã chia sẻ và giúp đỡ tôi trong thời gian tôi tiến hành làm luận văn.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn bố mẹ, anh chị em trong gia đình luôn động viên và cho tôi thêm động lực hoàn thành tốt quá trình học tập và nghiên cứu khoa học.

Thái Nguyên, 09 tháng 07 năm 2020

Tác giả

Dương Thị Nhân

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	ii
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
1. Lý do chọn đề tài.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	3
3. Nội dung nghiên cứu.....	3
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Sơ lược sinh lý sinh sản nam.....	4
1.1.1. Cấu tạo hệ sinh dục nam.....	4
1.1.2. Cấu tạo tinh trùng người.....	4
1.1.2. Cấu tạo nhiễm sắc chất tinh trùng người.....	7
1.2. Tình hình vô sinh ở nam giới.....	8
1.2.1. Sơ lược vô sinh nam.....	8
1.2.2. Nguyên nhân vô sinh ở nam giới.....	9
1.2.3. Sơ lược tinh dịch đồ.....	9
1.3. Sự phân mảnh DNA tinh trùng người.....	10
1.3.1. Khái niệm về sự phân mảnh DNA tinh trùng.....	11
1.3.2. Một số nguyên nhân chính gây tổn thương DNA của tinh trùng.....	11
1.3.3. Ảnh hưởng của sự phân mảnh DNA tinh trùng tới khả năng sinh sản của nam giới.....	13
1.3.4. Các phương pháp xác định sự phân mảnh DNA tinh trùng.....	15
1.3.5. Phương pháp khảo sát cấu trúc nhiễm sắc chất tinh trùng.....	16
1.4. Tình hình khám và điều trị vô sinh tại khoa Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện A Thái Nguyên.....	18
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP	21
NGHIÊN CỨU	21
2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	21
2.2. Hóa chất và thiết bị.....	22
2.2.1. Hóa chất.....	22

2.2.2. Dụng cụ và thiết bị	22
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	23
2.3.1. Phương pháp thu nhận mẫu bệnh phẩm.....	23
2.3.2. Phương pháp phân tích tinh dịch đồ	23
2.3.3. Quy trình phân tích sự phân mảnh DNA tinh trùng bằng phương pháp khảo sát cấu trúc nhiễm sắc chất (SCSA)	24
2.3.4. Phân tích số liệu	25
2.4. Đạo đức trong nghiên cứu.....	25
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	26
3.1. Đặc điểm lâm sàng và đặc điểm tinh dịch đồ của đối tượng nghiên cứu	26
3.1.1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu.....	26
3.1.2. Đặc điểm tinh dịch đồ của đối tượng nghiên cứu	28
3.2. Kết quả phân tích mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng.....	29
3.3. Kết quả mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với đặc điểm lâm sàng và chỉ số tinh dịch đồ của đối tượng nghiên cứu	31
3.3.1. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với các đặc điểm lâm sàng.....	32
3.3.2. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng và chỉ số tinh dịch đồ của đối tượng nghiên cứu	39
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	49
1. Kết luận	49
2. Kiến nghị	50

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AO	Acridine orange	
AOT	Acridine orangetest	Phương pháp nhuộm acridine orange
ART	Assited reproductive techniques	Kỹ thuật hỗ trợ sinh sản
BN		Bệnh nhân
DFI	DNA fragmentation index	Chỉ số phân mảnh DNA
dsDNA	Double – stranded DNA	DNA mạch đôi
FCM	Flow cytometer	Máy phân tích dòng chảy tế bào
FSH	Follice stimulating hormone	Hormon kích thích nang noãn
HTSS		Hỗ trợ sinh sản
LH	Luteinizing hormone	Hormon kích thích hoàng thể
ICSI	Intra cytoplasmic sperm injection	Kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng
IUI	Intra uterine insemination	Kỹ thuật bơm tinh trùng vào buồng tử cung
IVF	Invitro fertilization	Thụ tinh trong ống nghiệm
NST		Nhiễm sắc thể
ROS	Reactive oxygen species	Các tác nhân oxy hóa
GTMĐT		Giãn tĩnh mạch thừng tinh
TTTON		Thụ tinh trong ống nghiệm

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Giá trị bình thường của tinh dịch đồ [54], [81].....	10
Bảng 1.2. Một số phương pháp xác định sự phân mảnh DNA tinh trùng.....	15
Bảng 2.1. Danh mục hóa chất sử dụng cho nghiên cứu	22
Bảng 2.2. Danh mục dụng cụ sử dụng cho nghiên cứu	22
Bảng 2.3. Danh mục thiết bị sử dụng cho nghiên cứu.....	23
Bảng 3.1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu	26
Bảng 3.2. Đặc điểm tinh dịch đồ của đối tượng nghiên cứu	28
Bảng 3.3. Kết quả đánh giá mức độ phân mảnh DNA tinh trùng	30
Bảng 3.4. Mối liên hệ giữa việc sử dụng rượu bia với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng	32
Bảng 3.5. Mối liên hệ giữa việc sử dụng thuốc lá với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng	34
Bảng 3.6. Mối liên hệ giữa tiền sử bị quai bị với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.....	36
Bảng 3.7. Mối liên hệ giữa độ tuổi với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng	38
Bảng 3.8. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với thời gian kiêng xuất tinh.....	40
Bảng 3.9. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với độ pH của tinh dịch.....	41
Bảng 3.10. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với thể tích xuất tinh.....	42
Bảng 3.11. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với mật độ tinh trùng...	43
Bảng 3.12. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với độ di động của tinh trùng.....	44
Bảng 3.13. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với tỷ lệ sống của tinh trùng.....	45
Bảng 3.14. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với hình dạng của tinh trùng.....	47

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc tinh trùng trưởng thành	5
Hình 1.2. Sự sinh tinh	6
Hình 1.3. Cấu trúc chromatin của tinh trùng	8
Hình 1.4. Các cơ chế chính gây tổn thương DNA trong tinh trùng trong quá trình sản xuất hoặc vận chuyển các tế bào tinh trùng	11
Hình 3.1. Cường độ tín hiệu của tinh trùng sau khi nhuộm AO	29
Hình 3.2. Tần suất mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong tổng số 151 bệnh nhân được nghiên cứu	31
Hình 3.3. Mối liên hệ giữa tiền sử quai bị với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.....	37
Hình 3.4. Mối tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng và pH tinh dịch	41
Hình 3.5. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với mật độ tinh trùng	43
Hình 3.6. Mối liên hệ giữa mức độ phân mảnh DNA với độ di động của tinh trùng.....	45
Hình 3.7. Mối tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA với tỷ lệ sống của tinh trùng.....	46

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Lý do chọn đề tài

Vô sinh là tình trạng không có thai sau một thời gian 1 năm chung sống vợ chồng và không sử dụng một biện pháp tránh thai nào [110]. Vô sinh đã trở nên phổ biến trên toàn thế giới và ảnh hưởng đến hơn 70 triệu cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản [23]. Theo ghi nhận của y văn thế giới, tỷ lệ vô sinh nam chiếm từ 30 – 40% và cách đây hơn 10 năm, tỷ lệ nam giới điều trị hiếm muộn có liên quan đến bất thường tinh dịch chiếm 77,3% [7]. Có ý kiến cho rằng khả năng sinh sản của nam giới đã giảm trong nhiều thập kỷ qua [51] và tỷ lệ khuyết tật hạt nhân tinh trùng là nguyên nhân gây vô sinh được ước tính đại diện cho khoảng 3% các cặp vợ chồng vô sinh được hỗ trợ bằng phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm (IVF - In Vitro Fertilization) [62].

Trong hai thập kỷ qua, hình thái tinh trùng được công nhận là một yếu tố dự báo quan trọng về kết quả trong thụ tinh nhân tạo, thông thường là IVF và ICSI (Intra cytoplasmic sperm injection) [74]. Trong khi mối quan hệ giữa mật độ tinh trùng và sự phân mảnh DNA tinh trùng (SDF- Sperm DNA fragmentation) ở nam giới hiếm muộn có vẻ khác nhau, mối tương quan giữa SDF và khả năng sống của tinh trùng cũng đã được đánh giá [24]. Nhiều nghiên cứu cho thấy mức độ đứt gãy DNA tinh trùng ở những người nam vô sinh cao hơn ở người bình thường [21], [100] và có mối liên quan giữa mức độ dị dạng của tinh trùng với sự phân mảnh DNA tinh trùng [27], [77], nhưng yếu tố để dự đoán mức độ phân mảnh DNA tinh trùng không phải là hình dạng tinh trùng [27] và những tinh trùng bình thường vẫn có thể mang DNA bị phân mảnh [16].

Tinh trùng có tỷ lệ DNA phân mảnh cao sẽ làm ảnh hưởng tới chất lượng tinh trùng và kết quả có thai của các trường hợp bệnh nhân được điều trị bằng các phương pháp hỗ trợ sinh sản. DNA bị phân mảnh sẽ ảnh hưởng tới độ di động của tinh trùng [95], làm giảm tỷ lệ thụ tinh đối với các trường hợp làm ICSI [79], tăng nguy cơ sảy thai [108], giảm chất lượng phôi, giảm tỷ lệ tiền làm tổ [48]. Theo Aziz N (2008), thất bại của IUI (Intra uterine insemination) đòi