

## Tình trùng Globozoospermia: Cơ chế hình thành và hướng tiếp cận điều trị

Võ Minh Tuấn<sup>1</sup>, Đặng Thị Huyền Trang<sup>1</sup>, Phan Thị Kim Anh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IVFMD - Bệnh viện Đa khoa Mỹ Đức

doi:10.46755/vjog.2021.2.1214

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Võ Minh Tuấn, email: tuan.vm@myduchospital.vn

Nhận bài (received): 15/7/2021 - Chấp nhận đăng (accepted): 10/9/2021

### Tóm tắt

Tình trùng đầu tròn và không có acrosome hay còn gọi globozoospermia là một trong những bất thường nặng về hình dạng tinh trùng, chiếm tỉ lệ 0,1% trường hợp vô sinh do nam giới. Nguyên nhân của tình trùng globozoospermia do đột biến hoặc thiếu hụt các gen chịu trách nhiệm chính trong việc hình thành và liên kết acrosome ở tinh trùng. Cho đến nay, đã có 4 gen được xác định là nguyên nhân của tình trùng globozoospermia bao gồm các gen có liên quan đến sự hình thành acrosome (PICK1, SPATA16) và gen có chức năng liên kết acrosome và nhân tinh trùng (DPY19L2 và SPACA1). Trong đó, sự thiếu hụt gen mã hóa protein DYPY19L2 ở người được cho là nguyên nhân chính dẫn đến trường hợp globozoospermia. Đối với những trường hợp này thì kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) kết hợp kỹ thuật hỗ trợ hoạt hóa noãn (AOA) là phương pháp tối ưu giúp cải thiện kết quả điều trị. Tuy nhiên, ảnh hưởng của kỹ thuật AOA đến chất lượng trẻ sinh sống vẫn chưa được làm rõ và các nghiên cứu về kết quả lâm sàng của trường hợp globozoospermia vẫn còn hạn chế. Bài tổng quan này sẽ giúp ta hiểu rõ hơn về cơ chế hình thành tình trùng globozoospermia và hướng tiếp cận hiện nay đối với trường hợp này.

**Từ khóa:** Globozoospermia, hỗ trợ hoạt hóa noãn, DYPY19L2, PICK1, SPATA16, SPACA1.

## Sperm Globozoospermia: Mechanism of formation and management

Vo Minh Tuan<sup>1</sup>, Dang Thi Huyen Trang<sup>1</sup>, Phan Thi Kim Anh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IVFMD - My Duc General Hospital

### Abstract

Round-headed spermatozoa without acrosomes – globozoospermia is a rare and severe form of monomorphic teratozoospermia (less than 0.1% of male infertility). Studies have suggested mutations or deficiencies in genes are responsible for acrosome formation and binding in sperm. Until now, four genes have been identified as causes of globozoospermia, including genes involve in acrosome formation (SPATA16, PICK1) and genes involve in sperm nucleus-acrosome binding (DPY19L2, SPACA1). Especially, DYPY19L2 is believed to be the main cause. The technique "Intracytoplasmic Sperm Injection" (ICSI) combines with "Assisted Oocyte Activation" (AOA) has been shown to improve treatment results. However, the effect of the AOA technique on the quality of live birth has not been clarified and studies on the clinical outcome of globozoospermia are still limited. This review will help you learn more about the mechanism of globozoospermia spermatogenesis and the current approach to this case.

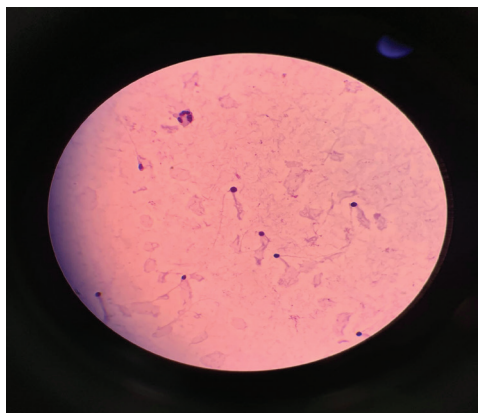
**Keywords:** Globozoospermia, Artificial Oocyte Activation, DYPY19L2, PICK1, SPATA16, SPACA1.

### 1. GIỚI THIỆU

Globozoospermia là một dạng điển hình của tình trùng dị dạng và là nguyên nhân vô sinh hiếm gặp ở nam giới (0,1%), hình dạng đặc trưng là tinh trùng đầu tròn và không có acrosome. Trường hợp này được ghi nhận đầu tiên vào năm 1973 bởi Schirren và cộng sự [1]. Sự bất thường này thường dẫn đến kết quả là tinh trùng thường không có khả năng thụ tinh bình thường với noãn. Thụ tinh là một quá trình đa yếu tố giúp hợp nhất các giao tử để bắt đầu sự phát triển của một cá thể mới. Một trong những bước chính của quá trình này là phản ứng cực đầu, trong đó thể cực đầu của tinh trùng

chứa các enzyme cần thiết để phá vỡ lớp màng bảo vệ của tế bào noãn và cho phép tinh trùng thụ tinh với noãn [2].

Sự bất thường về cấu trúc và chức năng của acrosome dẫn đến việc tinh trùng không thể xâm nhập vào tế bào noãn, do đó dẫn đến thất bại trong quá trình thụ tinh. Globozoospermia được chia làm hai loại: loại 1 được gọi là globozoospermia toàn phần với tỷ lệ tinh trùng đầu tròn, không có acrosome chiếm 100%, loại 2 được gọi là globozoospermia một phần với tỷ lệ khoảng từ 20% đến 90% [3].



**Hình 1.** Hình thái đặc trưng của tinh trùng *globozoospermia* (Nguồn: IVFMD)

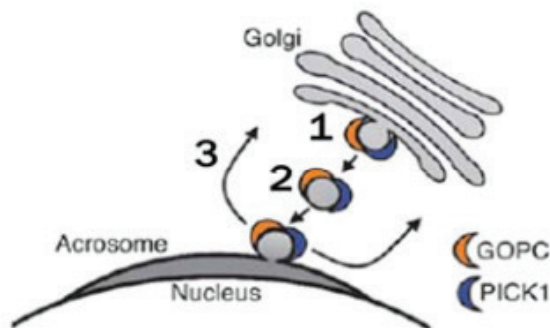
Những hiểu biết về nguyên nhân gây nên tình trạng này vẫn chưa được hiểu rõ. Những bất thường ở các gen kể trên được xác định là nguyên nhân dẫn đến 75% trường hợp *globozoospermia* ở người, 25% còn lại vẫn chưa xác định rõ nguyên nhân. Hiện nay, có khoảng 13 gene được cho nguyên nhân của *globozoospermia*, chúng đều liên quan đến cấu trúc mạng lưới Golgi, sự hình thành acrosome và hình dạng đầu tinh trùng. Tuy nhiên, chỉ có 4 gene đã được nghiên cứu kỹ và xác định rõ là nguyên nhân chính gây ra trường hợp này trên người bao gồm SPATA16, PICK1 (chịu trách nhiệm trong việc hình thành acrosome) và gen DPY19L2 (đóng vai trò quan trọng trong việc gắn kết acrosome và vùng nhân tinh trùng), mới nhất là vai trò của gen SPACA1 ở tinh trùng *globozoospermia* vừa được làm rõ. Trong số các gen trên, đột biến gen DPY19L2 được xem là nguyên nhân chủ yếu gây ra *globozoospermia* [4].

## 2. CƠ CHẾ HÌNH THÀNH TINH TRÙNG GLOBOZOOSPERMIA PICK1

Gen mã hóa protein tương tác với C-kinase 1 (protein interacting with C kinase 1 – PICK1) nằm ở nhiễm sắc thể 22q13.1, được biết đến với vai trò quan trọng trong quá trình hình thành tinh trùng, là một protein màng ngoại vi được biểu hiện cao ở não, tuyến tụy và tinh hoàn. Thành phần quan trọng của protein này là vùng PDZ, một trình tự chứa 80 – 90 acid amin, đóng vai trò chính trong việc tương tác giữa các protein với nhau, cụ thể vùng PDZ sẽ liên kết với vùng trình tự đầu C của một protein khác, giúp hình thành sự liên kết và giữ các protein lại với nhau [2]. Một số nghiên cứu cho rằng sự có mặt của protein này ở tinh hoàn có vai trò quan trọng trong quá trình hình thành tinh trùng. Trong pha Golgi của quá trình sinh tinh trùng, các hạt pro-acrosomal (PAGs) có nguồn gốc từ lưới nội chất (endoplasmic reticulum – ER), chứa các phân tử protein cực đầu như proacrosin và acrogranin. Các PAGs được vận chuyển đến túi Golgi thông qua con đường ngoại bào để liên kết với một vùng chứa actin – keratin được gọi là acroplaxome.

Protein được mã hóa bởi gen PICK1 có chức năng như protein vận chuyển, chúng sẽ gắn kết các PAGs lại

với nhau, vận chuyển chúng đến màng acroplaxome để chuẩn bị cho bước đầu trong việc hình thành acrosome ở tinh trùng.

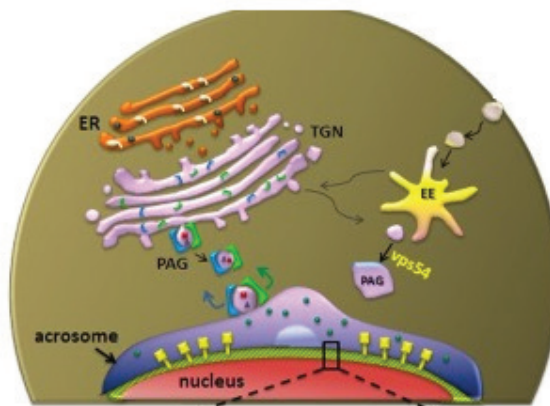


**Hình 2.** Chức năng của PICK1 trong việc hình thành acrosome [2]

Liu và cộng sự (2010) phát hiện một đột biến đồng hợp tử ở exon 13 trên gen PICK1 [5], việc thiếu protein PICK1 khiến quá trình hình thành acrosome bị gián đoạn do PAGs không được dung hợp thành một thể thống nhất trên màng nhân tinh trùng, từ đó gây ra tình trạng *globozoospermia* [6].

### SPATA16

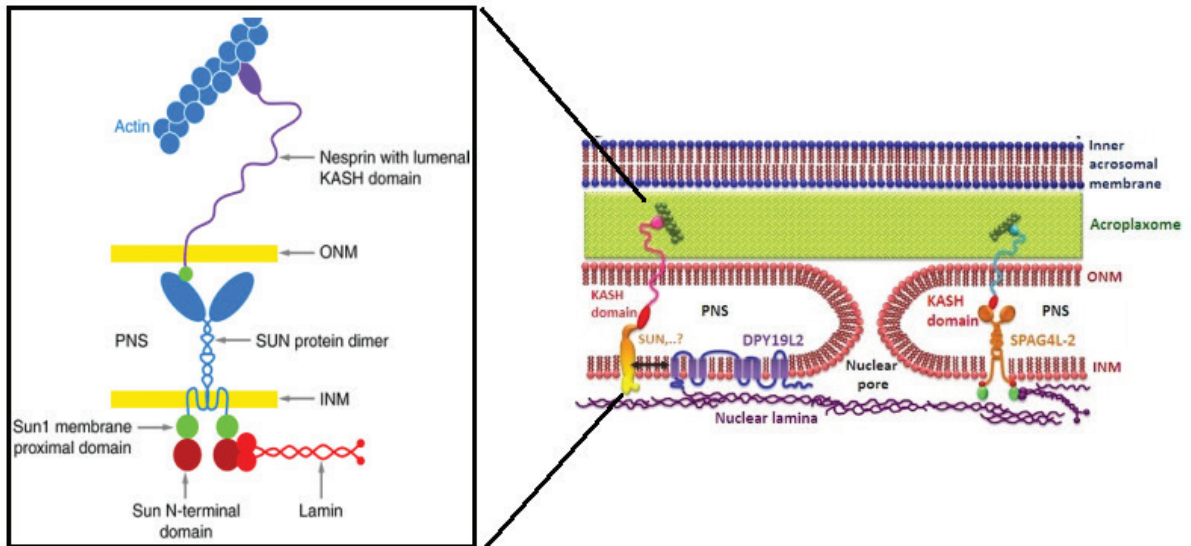
Gen SPATA16 (spermatogenesis associated 16) hay được biết đến là NYD-SP12 nằm ở vị trí nhiễm sắc thể 3q26.31, biểu hiện nhiều trong tinh hoàn. Protein mã hóa bởi gen SPATA16 có liên quan đến acrosome trong quá trình vận chuyển túi PAGs giữa bộ máy Golgi và acroplaxome. Gen này có vùng trình tự tetratricopeptide (TPR), là vùng có chức năng tương tác với các protein. Protein mã hóa bởi gen này có mặt trong PAGs, đóng vai trò là thụ thể giúp các protein vận chuyển như PICK1 và GOPC nhận diện và gắn vào PAGs. Năm 2007, một dạng đột biến đồng hợp ở gen SPATA16 lần đầu được phát hiện ở người trên các thành viên cùng huyết thống, trong những năm gần đây Ellnati và cộng sự (2016) đã phát hiện thêm 2 dạng đột biến mất đoạn trên exon 2 của gen này là nguyên nhân gây ra *globozoospermia* toàn phần [7, 8].



**Hình 3.** Chức năng của SPATA16 trong quá trình hình thành acrosome [9]

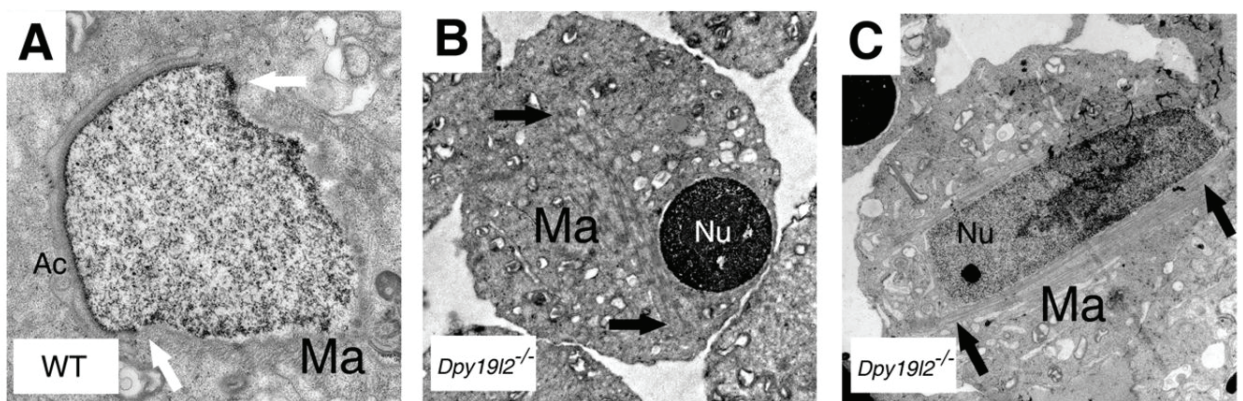
## DPY19L2

Frohnert và cộng sự, (2010) đã cho thấy các protein xuyên màng nằm bên trong nhân của tinh trùng đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình sinh tinh, trong đó những protein này có chức năng liên kết acrosome và vùng nhân với nhau, giúp cho acrosome được cố định và bao phủ đầu của tinh trùng. Phần lớn những protein này được mã hóa bởi gen DPY19L2 và SPAG4L-2 [10]. DPY19L2 là đoạn gen dài 200kb ở nhiễm sắc thể 12q14.2. Sự thiếu hụt gen này được cho là nguyên nhân chính gây nên trường hợp tinh trùng đầu tròn và không có acrosome (trên 70%) [11].



Hình 4. Cơ chế liên kết acrosome và nhân của DPY19L2

Protein được mã hóa từ gen DPY19L2 nằm trên vùng perinuclear space (PNS) có đầu N liên kết với Nuclear lamina (NL) thông qua sự trợ giúp của protein SUN1 và SUN2 ở màng trong. Còn đuôi C của protein SUN sẽ tương tác với vùng KASH nằm ở màng ngoài nhân. Sự liên kết của protein SUN và KASH tạo thành một cầu nối giữa màng nhân và vùng acroplaxome. Lúc này, Nesprin – một protein màng ngoài nhân lớn liên kết với KASH sẽ tương tác với các sợi actin trong acroplaxome thông qua các vùng tương đồng Klarsicht, kết quả là màng nhân và acroplaxome gắn chặt với nhau giúp acrosome sau khi hình thành không bị trượt khỏi màng nhân [2]. Khi acrosome gắn trên màng nhân, acrosome sẽ tiến hành kéo dài và quá trình kéo dài đầu tinh trùng cũng sẽ diễn ra sau đó. Khi quá trình hình thành acrosome không diễn ra do đột biến gen này thì sẽ hình thành những tinh trùng đầu tròn, không có acrosome đặc trưng của *globozoospermia* [12].

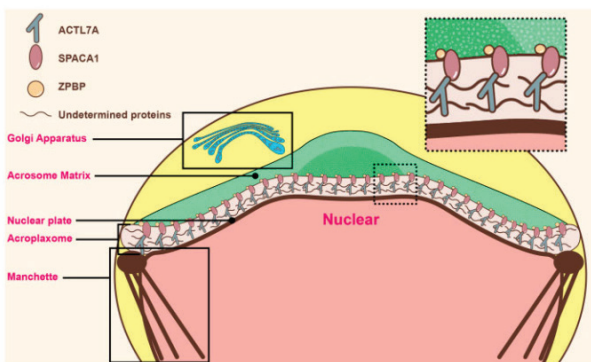


Hình 5. Sự trượt khỏi màng nhân của acrosome trong trường hợp thiếu hụt gen DPY19L2 [12]

## SPACA1

Năm 2012, Yoshitaka và cộng sự tình cờ phát hiện gen SPACA1 (sperm acrosome membrane-associated protein 1) có liên quan đến trường hợp *globozoospermia* trên mô hình chuột. Những phát hiện này cho thấy sự tồn tại của các gen gây ra tinh trùng đầu tròn không có acrosome đang dần được tiết lộ. Mãi cho đến năm 2021, vai trò của SPACA1 trong *globozoospermia* ở người mới được làm rõ. Hai bệnh nhân có cùng huyết thống đều có kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ là *globozoospermia* toàn phần. Kết quả giải trình tự cho thấy một đột biến vô nghĩa (NM\_030960.2:

c.53G>A; p. Trp18\*) ở gen SPACA1 được xác định là biến thể gây nên trường hợp *globozoospermia* của hai bệnh nhân và di truyền từ bố mẹ mang gen dị hợp tử. Các nhà nghiên cứu cho rằng đột biến vô nghĩa này đã dẫn đến việc dừng phiên mã sớm ở gen SPACA1, vì vậy mức độ biểu hiện của protein này giảm hơn so với những người bình thường. Dựa trên kết quả phân tích proteomics bằng phương pháp khối phổ (Mass spectrometry – MS), protein ACTL7A là một thành phần quan trọng trong phức hợp acrosome – acrophlaxome được xác định là protein tương tác với SPACA1 trong tinh trùng. Việc protein SPACA1 tương tác với ACTL7A góp phần giúp cho acrosome có thể định vị và gắn lên màng acrophlaxome trên nhân tinh trùng. Trong tinh trùng ở người bình thường, kết quả nhuộm miễn dịch huỳnh quang cho thấy phức hợp protein SPACA1 – ACTL7A đều xuất hiện ở phần đầu tinh trùng. Tuy nhiên, trong tinh trùng của hai bệnh nhân nói trên, các tín hiệu của phức hợp protein này gần như không biểu hiện ở đầu tinh trùng. Kết quả quan sát dưới kính hiển vi điện tử (Transmission Electron Microscopy – TEM) cho thấy, tinh trùng ở hai bệnh nhân đều có cấu trúc acrosome – acrophlaxome dị dạng, đây là bất thường cấu trúc đặc trưng ở nhóm chuột khiếm khuyết gen SPACA1 trong các nghiên cứu trước đó. Các kết quả trên giúp củng cố thêm về nhận định gen SPACA1 là nguyên nhân gây ra trường hợp *globozoospermia* [13].



**Hình 6.** Vai trò của SPACA1 trong quá trình hình thành acrosome [13]

### 3. ẢNH HƯỞNG CỦA *GLOBOZOOSPERMIA* ĐẾN TÍNH TOÀN VẸN DNA CỦA TINH TRÙNG

Như chúng ta đã biết, phân tích tinh dịch đồ thông thường không thể phản ánh chính xác khả năng sinh sản của một người đàn ông vì tinh trùng với các thông số bình thường vẫn có thể có mức độ phân mảnh DNA cao [14]. John Aiken – chuyên gia về nam học và cộng sự của mình cho rằng việc kiểm tra phân mảnh DNA tinh trùng không chỉ dùng để đánh giá khả năng sinh sản ở hiện tại mà còn giúp dự phòng các vấn đề ảnh hưởng đến sức khỏe của thế hệ sau.

Nhiều nghiên cứu cho thấy tinh trùng *globozoospermia* có chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DNA fragmentation index – DFI) cao hơn so với người bình thường [15, 16].

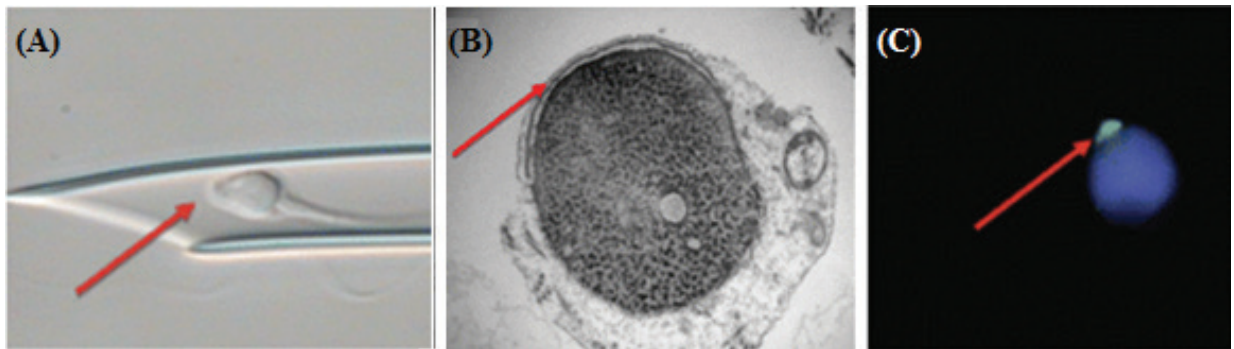
Hiện nay, các nghiên cứu so sánh mức độ ảnh hưởng của các dạng đột biến gen đến DFI ở tinh trùng vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu của Ghédir và cộng sự (2019) cho thấy đột biến gen SPATA16 làm tăng tỉ lệ tinh trùng lệch bội DNA so với gen DPY19L2, tuy nhiên chỉ số DFI ở hai dạng đột biến là như nhau [17]. Mới đây nhất, nghiên cứu của Fabiana và cộng sự (2021) đánh giá ảnh hưởng của ba gen DPY19L2, PICK1 và SPATA16 đến vật chất di truyền của tinh trùng ở những trường hợp *globozoospermia*. Kết quả cho thấy chỉ số DFI ở nhóm tinh trùng *globozoospermia* cao hơn so với người bình thường và không có sự khác biệt về chỉ số DFI ở nhóm *globozoospermia* toàn phần so với một phần [18]. Tuy nhiên, nghiên cứu này vẫn còn hạn chế do chưa so sánh mức độ ảnh hưởng của từng gen đến vật chất di truyền của tinh trùng.

Có thể thấy, mức độ phân mảnh DNA ở tinh trùng *globozoospermia* một phần và toàn phần không có sự khác biệt, mức độ ảnh hưởng của gen SPATA16 và DPY19L2 cũng tương tự nhau. Mặc dù vậy, các nghiên cứu tiếp cận với vấn đề này vẫn còn hạn chế.

### 4. TIẾP CẬN VỚI TRƯỜNG HỢP *GLOBOZOOSPERMIA*

Kể từ khi đưa bé đầu tiên ra đời bằng kỹ thuật IVF vào năm 1978 thì cho đến nay, các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản đang ngày càng phát triển và đã đem lại hy vọng cho rất nhiều cặp vợ chồng trên toàn thế giới. Sự ra đời của kỹ thuật ICSI cung cấp phương pháp hỗ trợ điều trị khả năng sinh sản cho những bệnh nhân có tinh trùng chất lượng kém, bất thường nặng, đặc biệt là tinh trùng *globozoospermia*. Năm 1994, trường hợp mang thai và sinh con đầu tiên sau khi tiêm tinh trùng *globozoospermia* vào tế bào noãn đã được báo cáo bởi Lundin và cộng sự (1994).

Đối với những nhóm tinh trùng *globozoospermia* một phần, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ trẻ sinh sống sau ICSI là tương đương nhau nhờ vào phương pháp lựa chọn tinh trùng bình thường. Bên cạnh việc phân tích hình thái tinh trùng thông thường, Motile Sperm Organelle Morphology (MSOME) cung cấp một xét nghiệm hình thái tinh trùng chi tiết hơn, đặc biệt là đầu tinh trùng, giúp hỗ trợ lựa chọn tinh trùng ở độ phóng đại cao hơn [19]. Đối với phương pháp này, độ phóng đại cao có thể giúp chúng ta tối ưu hóa quá trình chọn lọc tinh trùng trước khi tiêm vào bào tương noãn (IMSI), giúp cải thiện tỷ lệ thụ tinh, phát triển phôi và tỷ lệ thai diễn tiến [20, 21]. Năm 2011, Sermondade và cộng sự đã báo cáo một trường hợp sinh sống đầu tiên sau IMSI ở bệnh nhân tinh trùng *globozoospermia* [22]. Phân tích hình thái bào quan tinh trùng qua MSOME ở độ phóng đại x10.000 đã cho thấy 100% tinh trùng đầu tròn, tuy nhiên có khoảng 1% tinh trùng có một phần chồi nhỏ acrosome (Hình 7). Nghiên cứu đã được thực hiện IMSI để lựa chọn những tinh trùng không có chồi nhỏ và có sự hiện diện của một phần nhỏ acrosome ở đầu tinh trùng. Kết quả thu được 2 phôi và sinh ra một bé trai khỏe mạnh. Đây cũng là báo cáo đầu tiên về việc sử dụng IMSI lựa chọn tinh trùng *globozoospermia* mà không sử dụng các phương pháp hỗ trợ hoạt hoá.



**Hình 7.** Tinh trùng đầu tròn có một lượng nhỏ acrosome và được chọn lọc cho IMSI. (A) xét nghiệm MSOME; (B) sử dụng TEM; (C) nhuộm màu với anti-CD46 và DAPI 4 (6-diamidino-2-phenylindole) [22]

Việc lựa chọn tinh trùng chất lượng tốt, hình thái bình thường bằng cách sử dụng IMSI có thể hỗ trợ cho việc chọn lựa tinh trùng ở nhóm *globozoospermia* [23]. Tuy nhiên, hiệu quả của IMSI vẫn còn gây tranh cãi, tỷ lệ thụ tinh cũng còn thấp cũng như chỉ áp dụng cho một số đối tượng cụ thể. Do đó, việc sử dụng các kỹ thuật IMSI có thể là lựa chọn ưu thế hơn ở nhóm *globozoospermia* một phần. Bảng 1 thống kê về tỷ lệ trẻ sinh sống từ các phương pháp khác nhau với tinh trùng *globozoospermia*.

**Bảng 1.** Số liệu về tỷ lệ trẻ sinh sống đối với tinh trùng *globozoospermia* [22]

Kỹ thuật	ICSI	ICSI + AOA	IMSI
Số cặp vợ chồng/số trẻ sinh sống	11/15	11/12	1/1
Tỷ lệ thụ tinh	47,5%	72,9%	63,6%
Xét nghiệm TEM tinh trùng	+/-	+/-	+
Xét nghiệm FISH tinh trùng	+/-	+/-	+
Nhuộm CD46 tinh trùng	-	-	+
Xét nghiệm SDF	-	-	+
MSOME	-	-	+
Nhiễm sắc đồ	+/-	+/-	+
Xét nghiệm gen	-	-	+

Đối với các trường hợp *globozoospermia* toàn phần thì phương pháp hỗ trợ hoạt hoá noãn được ưu tiên sử dụng. Hỗ trợ hoạt hóa noãn (AOA) là kỹ thuật mô phỏng quá trình hoạt hóa noãn của tinh trùng sau khi xâm nhập vào bào tương noãn bằng các phương pháp khác nhau. Hiện nay, phương pháp AOA được biết đến và sử dụng nhiều nhất là phương pháp hóa học (calcium ionophore A213187, ionomycin, strontium chloride,...) để tạo ra sự gia tăng nồng độ  $Ca^{2+}$  và khởi động phản ứng hoạt hóa noãn. Những phân tử này sẽ xúc tiến sự giải phóng  $Ca^{2+}$  nội bào nhờ đó mà nồng độ  $Ca^{2+}$  bên trong tế bào tăng lên và kết quả là hoạt hóa noãn xảy ra. Sự thất bại trong điều trị bằng ICSI đối với trường hợp *globozoospermia* được cho là do tinh trùng không có khả năng hoạt hóa noãn. Do đó, thực hiện ICSI – AOA ở những trường hợp này nhằm tăng tỉ lệ thụ tinh và tăng cơ hội có phôi để chuyển cho các trường hợp tinh trùng *globozoospermia* [24-26].

Hiện nay, việc lựa chọn phương pháp điều trị đối với những bệnh nhân có tinh trùng *globozoospermia* sẽ cần được cá thể hoá từng trường hợp [27]. Mặc dù, phương pháp ICSI – AOA có khả năng tăng tỷ lệ thụ tinh đối với tinh trùng *globozoospermia*, tuy nhiên, vẫn nên cân nhắc sử dụng cho những bệnh nhân *globozoospermia* một phần vì vẫn có thể mang thai bằng cách sử dụng phương

pháp lựa chọn tinh trùng (IMSI). Đến nay, đã có những nghiên cứu chứng minh không có khác biệt đáng kể về đặc điểm chu sinh và dị tật bẩm sinh ở nhóm trẻ sinh ra từ ICSI – AOA so với nhóm ICSI thông thường [28, 29] nhưng số liệu vẫn còn khá ít và vẫn cần nhiều nghiên cứu hơn nữa. Vì vậy, nên sử dụng một cách thận trọng và cần có thêm những đánh giá trên cỡ mẫu lớn về sức khỏe lâu dài của trẻ từ nhóm ICSI – AOA.

## 5. KẾT LUẬN

*Globozoospermia* là trường hợp vô sinh hiếm gặp ở nam giới (0,1%) đặc trưng bởi tinh trùng đầu tròn và không có acrosome, điều này dẫn đến việc tinh trùng không thể thực hiện phản ứng cực đầu để thụ tinh với noãn. Nguyên nhân chính của trường hợp tinh trùng *globozoospermia* là đột biến gen DPY19L2, đây là một dạng đột biến gen lặn trên người. Hiện nay, phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn kết hợp AOA là phương pháp điều trị ưu tiên đối với trường hợp này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Holstein A, Schirren C, Schirren C, Mauss JJDmW (1973), "Round headed spermatozoa: a cause of male infertility", 98(2),61-2.

2. Theunissen M. Acrosome deficiency and male infertility; causes and treatment 2011.
3. Singh GJlJof (1992), "Ultrastructural features of round-headed human spermatozoa", 37(2),99-102.
4. Shang Y-L, Zhu F-X, Yan J, Chen L, Tang W-H, Xiao S, et al. (2019), "Novel DPY19L2 variants in globozoospermic patients and the overcoming this male infertility", 21(2),183.
5. Liu G, Shi Q-W, Lu G-X (2010), "A newly discovered mutation in PICK1 in a human with globozoospermia", Asian journal of andrology, 12(4),556.
6. Xiao N, Kam C, Shen C, Jin W, Wang J, Lee KM, et al. (2009), "PICK1 deficiency causes male infertility in mice by disrupting acrosome formation", 119(4),802-12.
7. Dam AH, Koscinski I, Kremer JA, Moutou C, Jaeger A-S, Oudakker AR, et al. (2007), "Homozygous mutation in SPATA16 is associated with male infertility in human globozoospermia", 81(4),813-20.
8. Ellnati E, Fossard C, Okutman O, Ghédir H, Iballa-Romdhane S, Ray PF, et al. (2016), "A new mutation identified in SPATA16 in two globozoospermic patients", Journal of assisted reproduction and genetics, 33(6),815-20.
9. Modarres P, Tavalae M, Ghaedi K, Nasr-Esfahani MH-JlJof, sterility (2019), "An Overview of The Globozoospermia as A Multigenic Identified Syndrome", 12(4),273-7.
10. Frohnert C, Schweizer S, Hoyer-Fender SJMhr (2010), "SPAG4L/SPAG4L-2 are testis-specific SUN domain proteins restricted to the apical nuclear envelope of round spermatids facing the acrosome", 17(4),207-18.
11. Tavalae M, Nomikos M, Lai FA, Nasr-Esfahani MH-JRbo (2018), "Expression of sperm PLC $\zeta$  and clinical outcomes of ICSI-AOA in men affected by globozoospermia due to DPY19L2 deletion", 36(3),348-55.
12. Pierre V, Martinez G, Coutton C, Delaroche J, Yassine S, Novella C, et al. (2012), "Absence of Dpy19l2, a new inner nuclear membrane protein, causes globozoospermia in mice by preventing the anchoring of the acrosome to the nucleus", 139(16),2955-65.
13. Chen P, Saiyin H, Shi R, Liu B, Han X, Gao Y, et al. (2021), "Loss of SPACA1 function causes autosomal recessive globozoospermia by damaging the acrosome-acroplaxome complex", Human Reproduction, 36(9),2587-96.
14. Agarwal A, Bragais FM, Sabanegh E (2008), "Assessing sperm function", Urologic Clinics of North America, 35(2),157-71.
15. Talebi AR, Ghasemzadeh J, Khalili MA, Halvaei I, Fesahat F (2018), "Sperm chromatin quality and DNA integrity in partial versus total globozoospermia", Andrologia, 50(1),e12823.
16. Eskandari N, Tavalae M, Zohrabi D, Nasr - Esfahani MH (2018), "Association between total globozoospermia and sperm chromatin defects", Andrologia, 50(2),e12843.
17. Ghédir H, Braham A, Viville S, Saad A, Iballa - Romdhane S (2019), "Comparison of sperm morphology and nuclear sperm quality in SPATA16 and DPY19L2 mutated globozoospermic patients", Andrologia, 51(6),e13277.
18. Faja F, Pallotti F, Cargnelutti F, Senofonte G, Carlini T, Lenzi A, et al. (2021), "Molecular Analysis of DPY19L2, PICK1 and SPATA16 in Italian Unrelated Globozoospermic Men", Life, 11(7),641.
19. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezo Y, Barak Y (2002), "Real time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF ICSI outcome", Journal of andrology, 23(1),1-8.
20. Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, d'Angelo D, et al. (2008), "Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial", Reproductive biomedicine online, 16(6),835-41.
21. Vanderzwalmen P, Hiemer A, Rubner P, Bach M, Neyner A, Stecher A, et al. (2008), "Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles", Reproductive biomedicine online, 17(5),617-27.
22. Sermondade N, Hafhouf E, Dupont C, Bechoua S, Palacios C, Eustache F, et al. (2011), "Successful childbirth after intracytoplasmic morphologically selected sperm injection without assisted oocyte activation in a patient with globozoospermia", Human reproduction, 26(11),2944-9.
23. Mangoli E, Khalili MA (2020), "The Beneficial role of intra cytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) in assisted reproduction", Journal of reproduction & infertility, 21(1),3.
24. Heytens E, GERRIS J, DHONT M, DE SUTTER P, PARRINGTON J, YOUNG C, et al. (2008), "First evidence of disturbed expression of the oocyte-activating factor PLC $\zeta$  in globozoospermic men",
25. Vương Đình Hoàng Dũng HMT, Nguyễn Thị Thu Lan, Trương Thị Thanh Bình, Nguyễn Thị Dung, Lê Thị Bích Trâm (2014 ), "Trường hợp thụ tinh ống nghiệm thành công bằng ICSI kết hợp AOA với globozoospermia", Tạp chí Phụ Sản, 12(4),
26. Kochhar PK, Ghosh PJJohrs (2018), "Intracytoplasmic sperm injection with assisted oocyte activation resulting in successful pregnancies and live birth in couples with globozoospermia: A report of two cases", 11(1),72.
27. Alqawasmeh OAM, Barratt CLR (2021), "Globozoospermia", Assisted Reproduction Techniques: Challenges and Management Options, 492-7.
28. Ebner T, Montag M, Montag M, Van der Ven K, Van der Ven H, Ebner T, et al. (2015), "Live birth after artificial oocyte activation using a ready-to-use ionophore: a prospective multicentre study", Reproductive biomedicine online, 30(4),359-65.
29. Mateizel I, Verheyen G, Van de Velde H, Tournaye H, Belva F (2018), "Obstetric and neonatal outcome following ICSI with assisted oocyte activation by calcium ionophore treatment", Journal of assisted reproduction and genetics, 35(6),1005-10.