

# NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ PHƯƠNG PHÁP BƠI LÊN VÀ THANG NỒNG ĐỘ TRONG LỌC RỬA TINH TRÙNG THỤ TINH NHÂN TẠO

*Lê Minh Tâm, Nguyễn Văn Trung, Nguyễn Thị Tâm An,  
Phan Quang Trung, Cao Ngọc Thành  
Trung tâm Nội tiết sinh sản và vô sinh, Bệnh viện Đại học Y Dược Huế*

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Thụ tinh nhân tạo bằng lọc rửa tinh trùng bơm vào buồng tử cung là một phương pháp phổ biến trong điều trị vô sinh. Hiện nay hai phương pháp lọc rửa tinh trùng được sử dụng phổ biến là phương pháp bơi lên và phương pháp ly tâm theo thang nồng độ. **Phương pháp nghiên cứu:** mô tả cắt ngang trên 166 chu kỳ điều trị thụ tinh nhân tạo tại Bệnh viện Đại học Y Dược Huế từ 04/2012 đến 03/2013 nhằm so sánh hiệu quả lọc rửa giữa phương pháp bơi lên và phương pháp ly tâm theo thang nồng độ. Thu nhận mẫu ngẫu nhiên, xen kẽ 2 phương pháp. **Kết quả:** Hiệu quả lọc rửa tinh trùng của cả hai phương pháp là tương đương nhau xét về các thông số sau lọc như tổng số tinh trùng thu được, tổng số tinh trùng di động PR, tổng số tinh trùng có hình dạng tốt. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi tinh trùng di động tiến tới của phương pháp thang nồng độ cao hơn khi tinh dịch đồ di động kém (38,3% so với 26,1%) hay khi có hình dạng bất thường (34,9% so với 19,7%) so với phương pháp bơi lên. Tỷ lệ có thai sau thụ tinh nhân tạo tương đương nhau giữa hai phương pháp lọc rửa. **Kết luận:** Với những trường hợp có tinh dịch đồ di động yếu và hình dạng bất thường, nên chọn phương pháp thang nồng độ để tăng số lượng tinh trùng di động tiến tới. Kết quả có thai phụ thuộc nhiều yếu tố khác hơn là phương pháp lọc rửa.

**Từ khóa:** Thụ tinh nhân tạo, lọc rửa tinh trùng, điều trị vô sinh.

## Abstract

### EFFECTIVENESS OF “SWIM-UP” AND “GRADIENT” METHODS IN SPERM PREPARATION FOR ARTIFICIAL INSEMINATION

*Le Minh Tam, Nguyen Van Trung, Nguyen Thi Tam An,  
Phan Quang Trung, Cao Ngoc Thanh  
Hue Center for Reproductive Endocrinology and Infertility, Hue University Hospital*

**Objectives:** Artificial insemination with sperm preparation and inseminate to the uterus is a common method of infertility treatment. Currently two methods used for sperm washing is “swim-up” and “gradient”. **Materials and methods:** cross-sectional description in 166 cycles of artificial insemination in Hue University Hospital from April, 2012 to March, 2013 in order to compare effectiveness between “swim-up” and “gradient” methods. Samples were collected randomly into two methods. **Results:** Results of sperm preparation in both methods are equivalent in terms of the following parameters total sperm count, total number of progressive sperm, total good morphology sperm. However, “gradient” method results in higher number of progressive sperm in case with slow motility (38.3% vs. 26.1%) or abnormal morphology (34.9% vs. 19.7 %) compared with “swim-up” method. Pregnancy rates after artificial insemination were similar between two preparation methods. **Conclusion:** In case of slow motility sperm and abnormal morphology, “gradient” method should be used to increase the number of progressive sperms. Pregnancy outcome depends on many factors other than preparation methods. **Key words:** Artificial insemination, sperm preparation, infertility treatment.

- Địa chỉ liên hệ: Lê Minh Tâm, email: leminhtam.vn@gmail.com

DOI: 10.34071/jmp.2013.6.4

- Ngày nhận bài: 10/10/2013 \* Ngày đồng ý đăng: 5/11/2013 \* Ngày xuất bản: 15/1/2014

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thụ tinh nhân tạo (IUI-Intrauterine insemination) là một phương pháp được ra đời từ những năm 1970 và đã được ứng dụng rộng rãi trong điều trị vô sinh. Bơm tinh trùng vào buồng tử cung được hiểu là tinh trùng đã được chuẩn bị bằng các phương pháp lọc rửa để đạt được chất lượng tốt nhất, cô đặc trong một thể tích nhỏ, được bơm trực tiếp vào buồng tử cung nhằm giảm đi các ảnh hưởng có hại lên tinh trùng như pH acid của âm đạo, các bất thường tại cổ tử cung... Tinh trùng có thể là của người chồng hay của người cho. Người vợ có thể theo dõi noãn trong chu kỳ tự nhiên hay được kích thích buồng trứng và gây phóng noãn. Bơm tinh trùng vào buồng tử cung là một phương pháp thụ tinh nhân tạo đơn giản, dễ thực hiện, ít tốn kém được sử dụng rộng rãi trong hỗ trợ sinh sản ở hầu hết các trung tâm điều trị. Hiện nay hai phương pháp lọc rửa tinh trùng được sử dụng phổ biến là phương pháp bơi lên (swim-up) và phương pháp ly tâm theo thang nồng độ (density-gradient centrifugation) (Mortimer, 2000). Mỗi phương pháp có ưu điểm và nhược điểm khác nhau do đó hiệu quả của mỗi phương pháp cũng khác nhau. Đề tài "*Nghiên cứu hiệu quả phương pháp bơi lên và thang nồng độ trong lọc rửa tinh trùng thụ tinh nhân tạo*", nhằm đánh giá chất lượng tinh trùng qua các phương pháp lọc rửa và tìm hiểu một số yếu tố liên quan giữa tinh dịch đồ và hiệu quả phương pháp lọc rửa.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu thực hiện theo phương pháp thống kê mô tả trên 166 cặp vợ chồng vô sinh, được chỉ định điều trị bằng phương pháp thụ tinh nhân tạo tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế trong thời gian từ tháng 4 năm 2012 đến tháng 3 năm 2013. Tiêu chuẩn nhận vào mẫu nghiên cứu là các trường hợp đã có xét nghiệm tinh dịch đồ trước đó theo tiêu chuẩn Tổ chức Y tế thế giới 2010, người vợ có buồng trứng còn hoạt động và ít nhất một vòi tử cung thông, đồng ý tham gia nghiên cứu.

Các trường hợp nghiên cứu được thu nhận theo mẫu thuận lợi và tiến hành lọc ngẫu nhiên xen kẽ bằng hai phương pháp: 83 mẫu cho phương pháp bơi lên và 83 mẫu cho phương pháp ly tâm theo thang nồng độ. Các bước chi tiết được mô tả cụ thể như sau:

- Lọc mẫu bằng phương pháp bơi lên: Mẫu tinh dịch và đặt vào tủ ấm 37°C để tiến hành ly giải mẫu trong vòng 15-30 phút, lắc đều và chia đôi mẫu làm hai phần có thể tích bằng nhau, đặt nhẹ nhàng phía dưới môi trường bằng pipet Pasteur vào hai tube môi trường có chứa 2,5ml Ferticul flushing/mỗi tube falcon đáy tròn 14ml sao cho mẫu được phân bố đều vào 2 tube. Đặt tube chứa mẫu vào tủ ấm 37°C với tư thế nghiêng một góc 45°. Sau khi ủ 60 phút nhẹ nhàng thu dịch nổi và chuyển sang tube falcon đáy nhọn có chứa 3ml môi trường Ferticult flushing đã được ủ ấm ở 37°C. Trộn đều dung dịch trong tube và ly tâm với lực ly tâm là 250xG trong 5 phút để trong tủ ấm trong 45 phút trước khi rửa lại bằng môi trường Ferticult flushing và ty tâm với lực ly tâm 250xG trong 5 phút. Sau khi ly tâm phần dịch nổi sẽ được loại bỏ cho đến khi thể tích dung dịch trong tube còn lại khoảng 300µL. Cuối cùng cặn lắng sẽ được tái huyền phù, ủ trong tủ ấm 37°C trước khi bơm vào tử cung.

- Lọc mẫu bằng phương pháp ly tâm theo thang nồng độ: Chuẩn bị hai tube lọc là tube falcon 15ml chứa 1,5ml Sil-select 45% (Upper) và 1,5 ml Sil-select 90% (Lower) đã được ủ ở 37°C. Tinh dịch sau khi ly giải được nhẹ nhàng đặt phía trên của lớp lọc đã được chuẩn bị trước. Tube lọc sẽ được ly tâm với lực ly tâm là 250xG trong 15 phút. Sau khi ly tâm các lớp dịch nổi phía trên sẽ được loại bỏ và cặn lắng sẽ được giữ lại. Sau đó cặn lắng sẽ được rửa hai lần bằng cách ly tâm ở 250xG trong 10 phút với 3ml môi trường Ferticul flushing. Cuối cùng cặn lắng sẽ được tái huyền phù trong 300 µL, ủ trong tủ ấm 37°C trước khi bơm.

Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm SPSS 19. Độ di động của tinh trùng trước, sau lọc rửa, độ thu hồi tinh trùng sau lọc rửa được tính bằng tỷ lệ phần trăm. So sánh tỷ lệ tinh trùng trước và sau rửa bằng phép kiểm định student's test đối với 2 mẫu độc lập.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**Bảng 1.** Thông số tinh dịch đồ trước lọc của mẫu tinh trùng được thực hiện phương pháp bơi lên và phương pháp ly tâm theo thang nồng độ

Thông số trước lọc	Bơi lên	Thang nồng độ	p
Mật độ (x10 <sup>6</sup> /ml)	31,1 ± 19,2	28,8 ± 20,1	0,45
Tổng số tinh trùng (x10 <sup>6</sup> )	134,2 ± 106,6	115,7 ± 95,6	0,24
Tổng số tinh trùng PR (x10 <sup>6</sup> )	46,7 ± 47,5	45,6 ± 58,2	0,16
Tổng số tinh trùng hình dạng tốt (x10 <sup>6</sup> )	8,5 ± 11,9	6,6 ± 13,3	0,33

Kết quả phân tích tinh dịch đồ của các mẫu tinh dịch trước khi thực hiện lọc rửa theo phương pháp bơi lên và phương pháp thang nồng độ được mô tả trong bảng 1 không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.** So sánh kết quả lọc rửa tinh trùng của phương pháp lọc bơi lên và phương pháp lọc ly tâm theo thang nồng độ

Thông số sau lọc	Bơi lên	Thang nồng độ	p
Mật độ (x10 <sup>6</sup> /ml)	30,5 ± 21,4	34,1 ± 18,9	0,25
Tổng số tinh trùng (x10 <sup>6</sup> )	9,1 ± 6,4	10,2 ± 5,7	0,25
Tổng số tinh trùng PR (x10 <sup>6</sup> )	7,5 ± 6,4	8,5 ± 5,6	0,31
Tổng số tinh trùng hình dạng tốt (x10 <sup>6</sup> )	1,2 ± 1,6	0,9 ± 0,9	0,11

Bảng 2 so sánh hiệu quả lọc rửa của hai phương pháp bằng cách đối chiếu các thông số sau lọc gồm tổng số tinh trùng thu được, tổng số tinh trùng di động PR (PR- progression – tiến tới), tổng số tinh trùng có hình dạng tốt. Kết quả không có sự khác biệt có ý nghĩa của hai phương pháp ( $p > 0,05$ ).

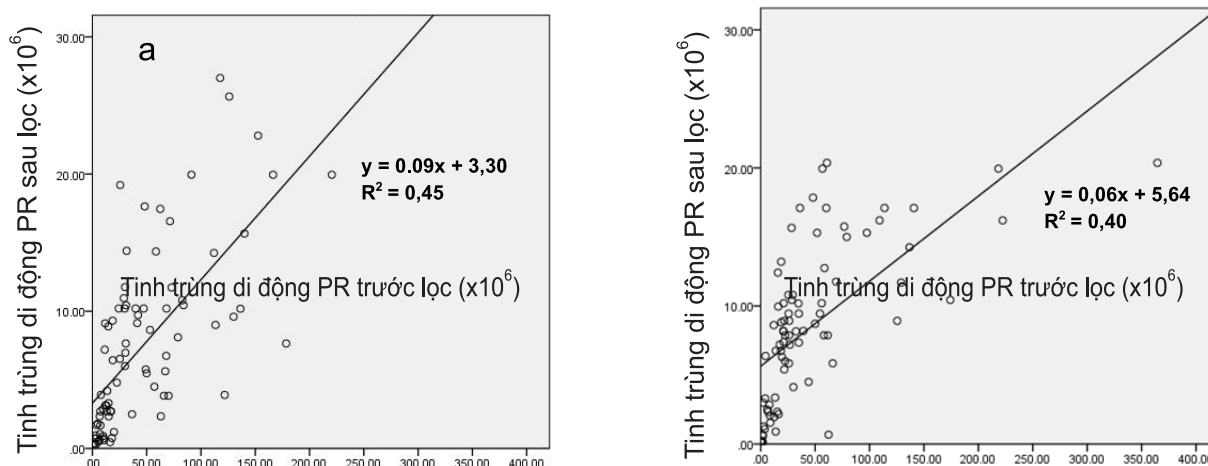
**Bảng 3.** So sánh hiệu suất thu hồi tinh trùng di động PR (%) theo hai phương pháp đối với từng loại mẫu

	Mật độ		Di động		Hình dạng	
	Ít	Bình thường	Bất thường	Bình thường	Bất thường	Bình thường
Bơi lên	26,9 ± 12,8 %	21,5 ± 16,7 %	26,1 ± 17,8 %	18,6 ± 13,0 %	19,7 ± 12,9 %	26,6 ± 19,0 %
Thang nồng độ	48,7 ± 41,3 %	27,5 ± 16,9 %	38,3 ± 29,2 %	23,4 ± 15,2 %	34,9 ± 30,8 %	27,5 ± 12,7 %
p	0,052	0,043	0,017	0,152	0,002	0,827

Tiến hành khảo sát hiệu suất thu hồi tinh trùng di động tiến tới của hai phương pháp lọc rửa đối với các mẫu tinh dịch có tinh dịch đồ khác nhau, chúng tôi nhận thấy chúng có sự khác biệt khá rõ nét. Theo đó đối với các mẫu có thông số tinh dịch đồ di động kém (tỉ lệ di động PR dưới 32%) hoặc có hình dạng bất thường (có tỉ lệ tinh trùng hình dạng bình thường dưới 4%) được lọc rửa theo phương pháp ly tâm theo thang nồng độ có hiệu suất thu hồi cao hơn hẳn so với phương pháp bơi

lên (38,3% so với 26,1%; 34,9% so với 19,7% tương ứng với loại mẫu) và các khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Từ các số liệu thu được về tổng số tinh trùng di động PR trước và sau lọc của hai phương pháp lọc rửa chúng tôi tiến hành xây dựng đồ thị tuyến tính về sự phụ thuộc của tổng số tinh trùng di động PR sau lọc vào tổng số tinh trùng di động PR trước lọc. Đồ thị tuyến tính được thể hiện trong hình 1.



**Hình 1.** Đồ thị tuyến tính về sự phụ thuộc của tổng số tinh trùng đi động PR sau lọc vào tổng số tinh trùng đi động PR trước lọc. Hình a: phương pháp boi lên. Hình b: phương pháp ly tâm theo thang nồng độ.

**Bảng 4.** Kết quả có thai lâm sàng của hai phương pháp lọc rửa dựa theo số lượng tinh trùng đi động PR sau lọc

Tổng số tinh trùng đi động PR	Boi lên			Thang nồng độ		
	Số ca có thai	Tổng số	Tỉ lệ (%)	Số ca có thai	Tổng số	Tỉ lệ (%)
≤ 5 triệu	2	37	5,4	3	24	12,5
5 – 15 triệu	6	35	17,1	8	43	18,6
≥ 15 triệu	4	11	36,4	6	16	37,5

Tỉ lệ có thai giữa hai phương pháp lọc rửa dựa vào số lượng tinh trùng đi động PR thu được sau lọc là tương đương nhau.

#### 4. BÀN LUẬN

Một số nghiên cứu trước đó cho thấy rằng lọc rửa tinh trùng sử dụng phương pháp ly tâm theo thang nồng độ cho kết quả thu hồi tinh trùng đi động tốt hơn so với phương pháp boi lên (Sharma và cs., 1997, Moohand và Lindsay, 1995; Tucker và cs., 1996; Lozano và cs., 2009). Tuy nhiên theo như nghiên cứu của chúng tôi hiệu quả sử dụng của hai phương pháp chuẩn bị tinh trùng cho thụ tinh nhân tạo cho thấy không có sự khác biệt trong sự thu hồi tinh trùng sau lọc rửa. Kết quả này cũng phù hợp với một số báo cáo trước đó của Zini và cs., 2000; Tucker KE và Jansen CAM, 2002; Shamsi và cs., 2008.

Một điều đáng lưu ý, đối với từng loại mẫu tinh dịch cụ thể theo phân loại của Tổ chức Y tế thế giới (WHO 2010) thì phương pháp lọc rửa theo thang nồng độ tỏ ra ưu thế hơn hẳn so với phương pháp boi lên trong trường hợp mẫu đi động yếu và hình dạng bất thường. Tuy nhiên đối

với các mẫu có tỉ lệ đi động tốt và hình dạng bình thường thì kết quả lọc rửa theo hai phương pháp không có khác biệt đáng kể. Điều này cho thấy phương pháp ly tâm theo thang nồng độ đặc biệt có hiệu quả đối với các mẫu có tổng số tinh trùng đi động PR thấp trong khi phương pháp boi lên thì ngược lại. Kết quả này phù hợp với báo cáo của Lozano và cộng sự công bố năm 2009 (Lozano và cs., 2009).

Dựa trên nhận định trên và đồ thị tuyến tính về sự phụ thuộc của tổng số tinh trùng đi động PR sau lọc vào tổng số tinh trùng đi động PR trước lọc của các phương pháp lọc (hình 1) chúng ta có thể ước lượng số lượng tinh trùng đi động PR sau lọc rửa dựa vào kết quả phân tích tinh dịch đồ của bệnh nhân. Tỉ lệ có thai là một thông số quan trọng để đánh giá hiệu quả của phương pháp lọc rửa tinh trùng trong các chu kỳ điều trị thụ tinh nhân tạo (IUI). Do đó chúng tôi đã tiến hành khảo sát đánh giá tỉ lệ có thai giữa hai phương pháp lọc rửa dựa vào số

lượng tinh trùng di động PR thu được sau lọc. Kết quả cho thấy tỉ lệ có thai của hai phương pháp là tương đương nhau. Số lượng tinh trùng di động PR là một thông số khá quan trọng khi ước lượng khả năng có thai của bệnh nhân khi thực hiện phương pháp thụ tinh nhân tạo. Mỗi liên quan này được thể hiện trong bảng 4, khi đó nếu số lượng tinh trùng di động PR giảm xuống dưới 15 triệu thì tỉ lệ có thai sau khi thực hiện thụ tinh nhân tạo giảm đi đáng kể. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu các nghiên cứu trước đó (Berg và cs.,1997; Weert và cs., 2004).

## 5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu hiệu quả hai phương pháp lọc rửa tinh trùng để bơm vào tử cung trong thụ tinh nhân tạo, các thông số sau lọc như tổng số tinh trùng thu được, tổng số tinh trùng di động tiến tới, tổng số tinh trùng có hình dạng tốt không có sự khác biệt. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi tinh trùng di động tiến tới của phương pháp thang nồng độ tốt hơn trong trường hợp mẫu di động kém hoặc có hình dạng bất thường so với phương pháp bơi lên. Tỉ lệ có thai sau thụ tinh nhân tạo tương đương nhau giữa hai phương pháp lọc rửa.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Berg U, Brucker C, Berg F. D. 1997. Effect of motile sperm count after swim-up on outcome of intrauterine insemination. *Fertility And Sterility*; 67(4).
2. Lozano G.M., Bejarano I, Espino J, González D, Ortiz A, García J. F., Rodríguez A. B., Pariente J.A. 2009. Density gradient capacitation is the most suitable method to improve fertilization and to reduce DNA fragmentation positive spermatozoa of infertile men. *Anatol J Obstet Gynecol* ; 3(1): 1-6.
3. Moohan J. M., Lindsay K.S. 1995. Spermatozoa selected by a discontinuous percoll density gradient exhibit better motion characteristic và cs., more hyperactivation, and longer survival than direct swim-up. *Fertil Steril* 64: 160-6.
4. Mortimer D. 2000. Sperm preparation methods. *J Androl*; 21(3): 357-66.
5. Mushayandebvu T. I., Santoro N.F., Lipetz K. J., Colon J. M. 1995. Comparison of Percoll and swim-up techniques for sperm recovery in patients with male factor infertility. In: IX World Congress on In Vitro Fertilization and Alternative Assisted Reproduction, Monduzzi Editore, Bologna, Italy: 577-580.
6. Sharma R. K., Seifarth K, Agrawal A. 1997. Comparison of single- and two-layer Percoll separation for selection of motile spermatozoa. *Int J Fertil Womens Med* 42: 412-417
7. Shamsi M. B., Kumar R., Dada R. 2008. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. *Indian J Med Res.* 127: 115-123
8. Tucker K. E., Jansen C. A. M. 2002. Sperm Separation Techniques: Comparison And Evaluation Of Gradient Products. International workshop for Embryologists: Troubleshooting Activities in the ART lab. Ed. R. Basuray và D Mortimer.
9. Weert J. M., Repping S. V., Veen F, Bossuyt P. M. M., Mol B. V. J. 2004. Performance of the postwash total motile sperm count as a predictor of pregnancy at the time of intrauterine insemination: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 82(3): 612-620
10. World Health Organization. 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Fifth edition. 2010, Geneva
11. Zini A, Finelli A, Phang D, Jarvi K. 2000. Influence of semen processing technique on human sperm integrity. *Urology.* 56(6):1081-1085.