

## SO SÁNH CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG SAU BẢO QUẢN LẠNH SÂU Ở NHỮNG MẪU NHƯỢC TINH ĐƯỢC LỌC RỬA VÀ KHÔNG ĐƯỢC LỌC RỬA TRƯỚC BẢO QUẢN

Nguyễn Khang Sơn\*; Phạm Thị Thu Thủy\*\*

### TÓM TẮT

So sánh chất lượng tinh trùng (TT) của 30 mẫu tinh dịch nhược tinh theo tiêu chuẩn của WHO (1999) (tỷ lệ TT di động a+b < 50%), mỗi mẫu được chia thành 2 phần để lọc rửa và không lọc rửa, bảo quản lạnh (BQL) sâu trong 1, 10, 30 ngày. Sử dụng các chỉ tiêu nghiên cứu để đánh giá và so sánh chất lượng TT trước và sau BQL giữa mẫu tinh dịch tươi và mẫu tinh dịch được lọc rửa. Kết quả: sau BQL sâu, các chỉ số chất lượng TT ở mẫu tinh dịch tươi cao hơn có ý nghĩa thống kê so với những mẫu được lọc rửa trước bảo quản, đặc biệt thể hiện rõ ở những mẫu tinh dịch có tỷ lệ TT di động tiến tới < 32%. Việc lọc rửa trước bảo quản đã ảnh hưởng đến chất lượng TT sau BQL ở mẫu nhược tinh.

\* Từ khoá: Nhược tinh; Lọc rửa tinh trùng; Bảo quản lạnh tinh trùng.

## COMPARING THE QUALITY OF WASHED AND UNWASHED HUMAN ASTHENOSPERMIC SPERM CRYOPRESERVED

### SUMMARY

The authors compared the quality of washed and unwashed human asthenospermic sperm cryopreserved in 30 asthenospermic semen samples according to the standard of WHO (1999) (motility a+b under 50%). Each sample was divided into two aliquots for washed and unwashed spermatozoa. All samples were cryopreserved in 1, 10 and 30 days. Evaluating and comparing the quality of sperm before and after which is washed, the quality of sperm after which cryopreserved between washed and unwashed semen samples. Results showed that: The quality of sperm after washing was more significantly improved than before washing, the indexes of quality of sperm after cryopreservation in unwashed samples were significantly more than that in washed samples, especially in samples which had rate of progressive motility under 32%. The washing sperm before cryopreservation effected on the quality of sperm post-cryopreservation. The quality of cryopreserved sperm in unwashed samples was better than that in washed samples.

\* Key words: Asthenospermia; Sperm washing; Sperm cryopreservation.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Để đảm bảo thành công, trước khi thực hiện các biện pháp hỗ trợ sinh sản, những bệnh nhân có TT di động kém (nhược tinh)

rất cần được BQL TT. Sau BQL, TT phải đảm bảo năng lực thụ tinh và cho ra đời những em bé khỏe mạnh. Để đảm bảo mẫu tinh dịch không bị tạp nhiễm vi sinh vật, nhất là

\* Trường Đại học Y Hà Nội

\*\* Trường Đại học Y Hải Phòng

Phản biện khoa học: PGS. TS. Quân Hoàng Lâm  
PGS. TS. Nguyễn Đình Tảo

HCV, HIV... do lây nhiễm chéo trong quá trình trữ lạnh trong nitơ lỏng, một số nghiên cứu đã khuyến cáo nên lọc rửa TT trước BQL. Vấn đề đặt ra là với những mẫu nhược tinh, việc lọc rửa trước bảo quản thực sự có mang lại hiệu quả tốt hơn so với những mẫu không được lọc rửa hay không? Trường hợp nào nên chỉ định lọc rửa TT trước BQL? Chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: *So sánh chất lượng TT sau một số khoảng thời gian BQL sâu ở những mẫu tinh dịch nhược tinh đã lọc rửa và những mẫu không được lọc rửa trước bảo quản.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng và cỡ mẫu.

30 mẫu tinh dịch người có kết quả tinh dịch đồ nhược tinh theo tiêu chuẩn của WHO (1999) (tỷ lệ TT di động a+b < 50%). Các mẫu tinh dịch được lọc rửa và BQL sâu trong nitơ lỏng.

### 2. Phương pháp nghiên cứu.

Nghiên cứu can thiệp, đánh giá trước - sau.

\* *Xử lý số liệu:* theo phần mềm SPSS 16.0. Kiểm định bằng t-test ghép cặp và test phi tham số.

Nghiên cứu được thực hiện tại Labo Bảo quản Mô, Trường Đại học Y Hà Nội, từ tháng 2 - 2011 đến 10 - 2011.

### 3. Kỹ thuật và chỉ tiêu nghiên cứu.

\* *Xét nghiệm tinh dịch:*

Đánh giá mẫu tinh dịch các chỉ số theo tiêu chuẩn của WHO (1999) và tham khảo tiêu chuẩn của WHO (2010).

- Xác định độ ly giải, độ quánh, màu sắc, thể tích, độ pH của tinh dịch.

- Đánh giá mật độ TT (triệu TT/ml) và tỷ lệ di động (% loại a, b, c, d).

- Đánh giá hình thái vi thể TT.

\* *Kỹ thuật chuẩn bị TT:*

Mỗi mẫu tinh dịch được chia làm 2 phần:

+ Phần không lọc rửa (A): 1,5 ml tinh dịch, được chuẩn bị để BQL.

+ Phần lọc rửa (B): 1,5 ml tinh dịch, được lọc rửa bằng phương pháp gradient nồng độ; sử dụng silselect để lọc và ferticult để rửa TT [1, 2, 3].

\* *Bảo quản tinh TT:*

Môi trường BQL: Sperm Freeze (Ferti-Pro, Bỉ); tỷ lệ: 0,7 ml/1 ml tinh dịch.

Chia mỗi phần tinh dịch A và B thành 3 phần đều nhau, BQL trong nitơ lỏng. Các mẫu được rã đông ở 3 thời điểm: 1 ngày, 10 ngày và 30 ngày.

Hạ nhiệt mẫu ở cổ bình nitơ lỏng, theo kinh nghiệm của Labo Bảo quản Mô, Trường Đại học Y Hà Nội: từ 25°C đến -10°C trong 6 phút, -10°C đến -120°C trong 20 phút, -120°C đến -196°C trong 5 phút [2].

\* *Các biến số nghiên cứu:*

- Các chỉ số xét nghiệm tinh dịch đồ.

- Chỉ số CSF (chỉ số sống lạnh - cryosurvival factor) TT di động = (% TT di động sau BQL: % TT di động trước BQL) × 100%.

- Chỉ số CSF TT di động tiến tới = (% TT di động tiến tới sau BQL: % TT di động tiến tới trước BQL) × 100%.

- Tỷ lệ TT hình thái bình thường trước và sau BQL.

So sánh các chỉ số giữa 2 cách bảo quản: TT tươi và TT sau lọc rửa.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Chất lượng TT sau BQL ở mẫu tươi và mẫu được lọc rửa trước BQL.

\* Sau BQL 1 ngày:

**Bảng 1:** So sánh chỉ số chất lượng TT sau BQL 1 ngày giữa nhóm không được lọc rửa và nhóm được lọc rửa trước BQL.

NHÓM NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ (%)	MẪU KHÔNG LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	MẪU LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	p
CSF TT di động	28,33 ± 10,65	24,20 ± 13,90	< 0,05
CSF TT di động tiến tới (a+b)	14,77 ± 7,57	11,67 ± 9,77	< 0,05
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	10,53 ± 4,18	11,87 ± 4,85	> 0,05

\* Sau BQL 10 ngày:

**Bảng 2:** So sánh chỉ số chất lượng TT sau BQL 10 ngày giữa nhóm không được lọc rửa và nhóm được lọc rửa trước BQL.

NHÓM NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ (%)	MẪU KHÔNG LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	MẪU LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	p
CSF TT di động	22,33 ± 11,12	17,80 ± 11,25	< 0,01
CSF TT di động tiến tới (a+b)	10,43 ± 7,13	8,50 ± 7,24	< 0,05
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	8,30 ± 3,64	9,50 ± 4,08	> 0,05

\* Sau BQL 30 ngày:

**Bảng 3:** So sánh chỉ số chất lượng TT sau BQL 30 ngày giữa nhóm không được lọc rửa và nhóm được lọc rửa trước BQL.

NHÓM NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ (%)	MẪU KHÔNG LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	MẪU LỌC RỬA ( $\bar{X} \pm SD$ )	p
CSF TT di động	17,0 ± 10,32	12,77 ± 9,23	< 0,01
CSF TT di động tiến tới (a+b)	7,77 ± 6,54	5,80 ± 5,53	< 0,05
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	6,73 ± 3,14	7,47 ± 3,71	> 0,05

Sau BQL 1 ngày, 10 ngày và 30 ngày, các chỉ số CSF TT di động, CSF TT di động tiến tới ở mẫu không lọc rửa đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với mẫu được lọc rửa trước BQL. Tỷ lệ TT có hình thái bình thường diễn biến ngược lại, nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

## 2. So sánh chất lượng TT sau BQL ở mẫu tươi và mẫu đã được lọc rửa theo chất lượng mẫu tinh dịch ban đầu.

\* So sánh áp dụng với các mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới < 32%:

Bảng 4: So sánh chỉ số chất lượng TT sau BQL ở mẫu tươi và mẫu đã được lọc rửa theo chất lượng mẫu tinh dịch ban đầu, với những mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới < 32%.

NHÓM NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ (%)	MẪU KHÔNG LỌC RỬA M (min-max)			MẪU LỌC RỬA M (min-max)			p
	1 ngày	10 ngày	30 ngày	1 ngày	10 ngày	30 ngày	
CSF TT di động	29 (17 - 38)	18 (11 - 29)	10 (4 - 22)	16 (5 - 25)	8 (3 - 15)	5 (1 - 14)	< 0,01
CSF TT di động tiến tới	10 (6 - 17)	6 (2 - 14)	3 (2 - 8)	3 (1 - 10)	3 (0 - 9)	1 (0 - 3)	< 0,01
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	9 (5 - 10)	7 (5 - 9)	5 (4 - 7)	9 (5 - 12)	7 (5 - 10)	5 (4 - 8)	> 0,05

(M: giá trị trung vị)

\* So sánh áp dụng với các mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới từ 32 - 50%:

Bảng 5: So sánh chỉ số chất lượng TT sau BQL ở mẫu tươi và mẫu đã được lọc rửa theo chất lượng mẫu tinh dịch ban đầu với những mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới từ 32 - 50%.

NHÓM NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ (%)	MẪU KHÔNG LỌC RỬA M (min-max)			MẪU LỌC RỬA M (min-max)			p
	1 ngày	10 ngày	30 ngày	1 ngày	10 ngày	30 ngày	
CSF TT di động	29 (21 - 37)	22 (15 - 33)	20 (10 - 23)	27 (17 - 42)	20 (13 - 31)	15 (10 - 22)	> 0,05
CSF TT di động tiến tới	15 (12 - 20)	10 (6 - 16)	8 (4 - 15)	15 (6 - 22)	9 (5 - 18)	7 (2 - 13)	> 0,05
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	10 (7 - 14)	9 (6 - 12)	8 (5 - 10)	14 (10 - 18)	10 (7 - 13)	7 (6 - 11)	< 0,05

(M: giá trị trung vị)

**BÀN LUẬN****1. Về chỉ số chất lượng TT sau BQL ở mẫu tươi và mẫu được lọc rửa.**

Ở nghiên cứu này, chúng tôi đưa ra mốc giá trị TT di động tiến tới (PR) bằng 32% để phân nhóm đối tượng nghiên cứu, vì 32% là ngưỡng giá trị của WHO (2010) sử dụng để phân loại mẫu tinh dịch bình thường và mẫu nhược tinh (trong khi WHO - 1999 lấy giá trị ngưỡng là 50%).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, TT giảm tỷ lệ di động theo thời gian bảo quản ở cả mẫu không lọc rửa và mẫu được lọc rửa. Thời gian bảo quản càng dài, chất lượng TT càng giảm. Ở cả 3 khoảng thời gian bảo quản, tỷ lệ di động của TT đều giảm có ý nghĩa thống kê.

So sánh chỉ số CSF TT di động và CSF TT di động tiến tới sau bảo quản giữa mẫu tươi và mẫu được lọc rửa, bước đầu nhận thấy, các chỉ số này ở mẫu tươi đều cao hơn mẫu lọc rửa ở cùng thời gian bảo quản, đặc biệt trên những mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới (PR) < 32%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (*bảng 1, 2, 3 và 4*). So sánh riêng trên các mẫu nhược tinh nhẹ (mẫu có tỷ lệ TT di động tiến tới từ 32 - 50%) thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (*bảng 5*). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Donnelly ET (2001) [5], Saritha KR (2001) [6], Sharma RK (1996) [7].

Như vậy, đánh giá của chúng tôi về tỷ lệ di động của TT sau BQL một lần nữa khẳng định chắc chắn thêm nhận định của Donnelly ET về khả năng đề kháng tốt hơn với hiện tượng sốc lạnh của mẫu tươi so với mẫu được lọc rửa [5].

Trong nghiên cứu này, sau BQL, tỷ lệ TT hình thái bình thường ở mẫu tươi thấp hơn mẫu đã lọc rửa trước bảo quản. Nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (*bảng 1, 2 và 3*). Nhận xét của chúng tôi khác của Nguyễn Phương Thảo Tiên (2007) [2] có thể do sự khác nhau về tiêu chuẩn chọn mẫu và cỡ mẫu nghiên cứu.

**2. Về ảnh hưởng của việc lọc rửa trước BQL sâu đối với TT.**

Mặc dù các tác giả đều thống nhất khẳng định, việc lọc rửa TT trước BQL đã giúp hạn chế tạp nhiễm và lây chéo trong quá trình trữ lạnh. Tuy nhiên, hiệu quả của phương pháp BQL mẫu TT đã lọc rửa vẫn còn nhiều tranh luận và chưa thống nhất [3, 5, 6, 7].

Một số tác giả nhận định, việc mất các chất bảo vệ tự nhiên trong tinh dịch do quá trình lọc rửa có thể làm giảm khả năng chống sốc lạnh của TT, từ đó dẫn đến giảm chất lượng TT sau BQL [5, 6]. Nghiên cứu của Saritha KR và CS (2001) cho thấy tỷ lệ di động của TT sau bảo quản ở mẫu TT đã lọc rửa giảm đáng kể so với mẫu tươi [6]. Donnelly ET và CS (2001) cũng khẳng định sự nguyên vẹn của ADN sau rã đông ở mẫu TT tươi cao hơn có ý nghĩa thống kê so với mẫu được lọc rửa [5].

Nghiên cứu của chúng tôi trên các mẫu nhược tinh cũng thu được kết quả tương tự. Các chỉ số CSF di động, CSF di động tiến tới sau BQL ở mẫu tươi (không lọc rửa) đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với mẫu được lọc rửa (*bảng 1, 2 và 3*). Sự khác biệt này đặc biệt rõ ở những mẫu nhược tinh có tỷ lệ TT di động tiến tới < 32% (*bảng 4*).

Từ nghiên cứu này cho thấy, chất lượng của TT sau BQL ở mẫu nhược tinh đã lọc rửa không tốt hơn so với mẫu tươi không được lọc rửa. Phương pháp này lại phức tạp, tốn kém và TT có thể bị ảnh hưởng bởi sự ly tâm. Do đó, theo chúng tôi, với mẫu tinh dịch nhược tinh, việc lọc rửa trước khi bảo quản chỉ nên thực hiện đối với trường hợp có nguy cơ lây nhiễm cao. Tuy nhiên, đây chỉ mới là nghiên cứu bước đầu. Từ định hướng này, cần có những nghiên cứu tiếp, trên cỡ mẫu lớn hơn.

### KẾT LUẬN

**Việc lọc rửa trước bảo quản đã ảnh hưởng đến chất lượng TT sau BQL ở những mẫu nhược tinh.**

Chất lượng TT sau BQL ở những mẫu tinh dịch nhược tinh không được lọc rửa tốt hơn so với những mẫu được lọc rửa trước BQL.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đào Thị Thuý Phượng. Nghiên cứu đánh giá 2 phương pháp lọc rửa TT: bơi lên và bậc thang nồng độ. Luận văn Thạc sỹ Y học. Trường Đại học Y Hà Nội. 2004.
2. Nguyễn Phương Thảo Tiên. Đánh giá chất lượng TT sau BQL sâu ở những mẫu TT người đã được lọc rửa. Luận văn Thạc sỹ Y học. Trường Đại học Y Hà Nội. 2007.

3. Allamaneni SR, Agarwal Ashok, Rama Sreedhar et al. Comparative study on density gradients and swim-up preparation techniques utilizing neat and cryopreserved spermatozoa. Asian J Androl. 2005, 7 (1), pp.86-92.

4. Counsel M, Bellinge R, Burton P. Vitality of oligozoospermic semen samples is improved by both swim-up and density gradient centrifugation before cryopreservation. Journal of Assited Reproduction and Genetics. 2004, 21 (5), pp.137-142.

5. Donnelly ET, Mc Clure N, Lewis Sheena EM. Cryopreservation of human semen and prepared sperm: effects on motility parameters and DNA integrity. Fertility and Sterility. 2001, 76 (5), pp.892-900.

6. Saritha KR, Ariff Bongso. Comparative evaluation of fresh and washed human sperm cryopreserved in vapor and liquid phases of liquid nitrogen. Journal of Andrology. 2001, 22 (5), pp.857-862.

7. Sharma RK, Agarwal A. Sperm quality improvement in cryopreserved human semen. J Urol. 1996, 156 (3), pp.1008-1012.