

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU CHUẨN BỊ TINH TRÙNG BẰNG LỌC THANG NỒNG ĐỘ NGẮN VÀ LỌC ĐƠN LỚP TRÊN MẪU THIỂU TINH

Nguyễn Thanh Hoa^{1,2,✉}, Trần Thị Phương Hoa², Mai Thị Giang², Nguyễn Mạnh Hà^{1,2}

¹Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và CNMG, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu so sánh khả năng thu hồi và tỷ lệ đứt gãy DNA của mẫu thiếu tinh sau lọc rửa bằng thang nồng độ ngắn và lọc đơn lớp cho IUI. 30 mẫu tinh dịch có mật độ dưới 15 triệu/ml được lọc bằng 3 phương pháp mini-gradient, đơn lớp 90%, đơn lớp 45%. Đánh giá tỷ lệ di động, tỷ lệ thu hồi tinh trùng và đứt gãy DNA trước và sau lọc rửa. Kết quả thấy mật độ tinh trùng ở nhóm lọc đơn lớp 45% cao hơn 2 nhóm còn lại ($p < 0,05$). Tỷ lệ tinh trùng di động thu được trong lọc đơn lớp 45% thấp hơn 2 nhóm còn lại ($p < 0,05$). Nhưng khả năng thu hồi của phương pháp lọc đơn lớp 45% cao hơn 2 nhóm còn lại. Tỷ lệ đứt gãy DNA của nhóm mini-gradient và lọc đơn lớp 90% thấp hơn lọc đơn lớp 45% và trước lọc ($p < 0,05$). Ba phương pháp đều có thể dùng để chuẩn bị tinh trùng cho IUI. Tùy vào chất lượng tinh trùng đầu vào mà chọn phương pháp phù hợp để thu được số lượng tinh trùng di động, toàn vẹn DNA tốt nhất.

Từ khóa: Lọc rửa tinh trùng, IUI, thang nồng độ ngắn, lọc đơn lớp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuẩn bị tinh trùng là một bước rất quan trọng trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản nói chung. Các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản có những yêu cầu khác nhau về chất lượng tinh trùng. Đối với kỹ thuật bơm tinh trùng vào buồng tử cung (Intrauterine insemination - IUI), tổng số lượng tinh trùng di động là yếu tố tiên lượng khả năng có thai của bệnh nhân.^{1,2} Hiện nay, các phương pháp xử lý tinh trùng phổ biến gồm phương pháp sử dụng thang nồng độ không liên tục để lọc rửa (Discontinuous density gradient centrifugation) và phương pháp bơi lên (Swim up). Trong đó, phương pháp thang nồng độ vẫn được coi là giúp thu hồi được tinh trùng tốt, tỷ lệ tinh trùng cô đặc nhiễm sắc thể bình thường cao hơn so với phương pháp bơi lên.³

Với những mẫu tinh dịch thiếu tinh, khi mật độ trong lần xuất tinh dưới 15 triệu tinh trùng/ml, phương pháp thang nồng độ vẫn được ưu tiên sử dụng. Tuy nhiên, không phải lúc nào phương pháp thang nồng độ chuẩn cũng giúp thu được số lượng tinh trùng di động đạt hiệu quả cho thụ tinh nhân tạo. Để nâng cao khả năng thu hồi tinh trùng cho mẫu thiếu tinh, trung tâm chúng tôi hiện sử dụng một số cải tiến phương pháp gradient nồng độ như sử dụng thang nồng độ ngắn (mini - gradient) hay lọc đơn lớp nồng độ (90 hoặc 45). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đánh giá hiệu quả thực sự của 3 phương pháp này trên mẫu tinh trùng có mật độ thấp. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm đánh giá khả năng thu hồi tinh trùng và loại bỏ tinh trùng đứt gãy DNA của 3 phương pháp này trên các mẫu thiếu tinh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

30 mẫu tinh trùng tươi được thu nhận tại

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thanh Hoa

Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Email: nguyenthanhhoa@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 27/09/2022

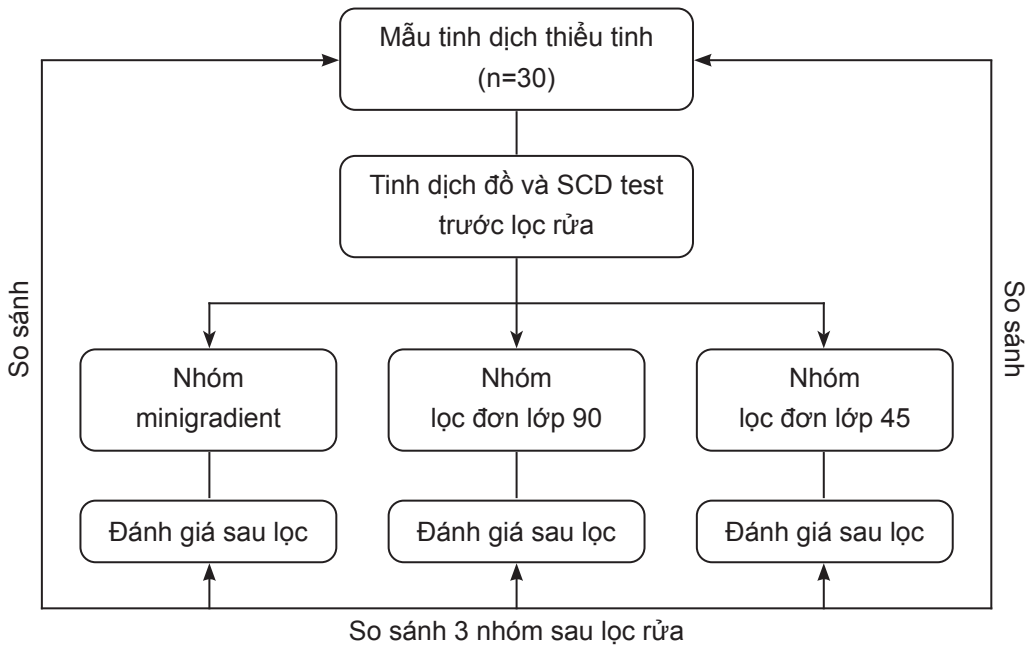
Ngày được chấp nhận: 25/10/2022

Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và Công nghệ mô ghép, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội có:

- Mật độ < 15 triệu/ml.
- Thể tích từ 2ml.

Tiêu chuẩn loại trừ

Mô hình nghiên cứu



Hình 1. Mô hình nghiên cứu

Quy trình nghiên cứu

Chuẩn bị tinh trùng

Mẫu tinh dịch của bệnh nhân được lấy bằng phương pháp thủ dâm xuất tinh toàn bộ ra lọ lấy mẫu. Sau khi tinh dịch ly giải, tiến hành đánh giá mật độ tinh trùng bằng buồng đếm Makler. Thu nhận những mẫu tinh dịch có mật độ < 15 triệu tinh trùng/ml. Đánh giá chất lượng tinh dịch gồm mật độ tinh trùng, di động, hình thái và sự hiện diện của tế bào tròn. Các chỉ tiêu đặc điểm tinh dịch đồ được đánh giá theo tiêu chuẩn của WHO 2010. Đánh giá sự phân tán chất nhuộm sắc của tinh trùng (Sperm chromatin dispersion - SCD) ban đầu.

Lọc rửa tinh trùng

Những mẫu tinh trùng thu từ mào tinh hay tinh hoàn.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả.

Mẫu chia làm 3 nhóm, mỗi nhóm 0,5ml. Môi trường được sử dụng là môi trường lọc Sil-select upper 45%/lower 90%, môi trường rửa Ferticult (Fertipro, Bỉ).

- **Nhóm Mini-gradient:** Tiến hành tạo thang nồng độ 0,5ml 45%/ 0,5ml 90%; Phủ 0,5ml tinh dịch lên trên; Quay ly tâm 1500 vòng quay/ phút x 10 phút; Loại bỏ dịch nổi để 0,2ml; Bổ sung 2ml Ferticult, trộn đều; Ly tâm 1500 vòng quay/ phút x 10 phút; Loại bỏ dịch nổi, để 0,2ml môi trường chứa cặn tinh trùng. Trộn đều.

- **Nhóm đơn lớp 90:** Dùng Sil-select lower 90% 0,5ml; phủ 0,5ml tinh dịch lên trên.

- **Nhóm đơn lớp 45:** Dùng Sil-select upper 45% 0,5ml; phủ 0,5ml tinh dịch lên trên.

Quay ly tâm 1500 vòng quay/phút x 10 phút. Loại bỏ dịch nổi để lại 0,2ml; Bổ sung 2ml Ferticult, trộn đều; Ly tâm 1500 vòng quay/phút x 10 phút; Loại bỏ dịch nổi, để 0,2ml môi trường chứa cặn tinh trùng. Trộn đều.

Đánh giá tinh trùng đứt gãy DNA (Sperm chromatin dispersion test - SCD test)

Sử dụng Bộ xét nghiệm phân mảnh DNA tinh trùng LensHooke® SCD (Bonraybio, Đức). Sử dụng HCl gây biến tính DNA tinh trùng, ly giải bằng DTT và nhuộm bằng Wright-Giemsa. Sau nhuộm, đánh giá tinh trùng dưới kính hiển vi. Đánh giá ít nhất 500 tinh trùng/lam dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 400 lần.

Phân loại:

- Tinh trùng không phân mảnh: tinh trùng có quãng sáng lớn > 1/3 đường kính nhỏ nhất của đầu tinh trùng.

- Tinh trùng phân mảnh: tinh trùng có quãng sáng ≤ 1/3 đường kính nhỏ nhất của đầu tinh trùng/không có quãng sáng và/hoặc đầu có màu không đều hoặc nhạt màu.

- Tỷ lệ thu hồi tinh trùng

$$\text{Tỷ lệ thu hồi tinh trùng} = \frac{\text{Tổng số lượng tinh trùng thu được}}{\text{Tổng số lượng tinh trùng ban đầu}} \times 100\%$$

- Tỷ lệ tinh trùng di động thu hồi

$$\text{Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động} = \frac{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động thu được}}{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động ban đầu}} \times 100\%$$

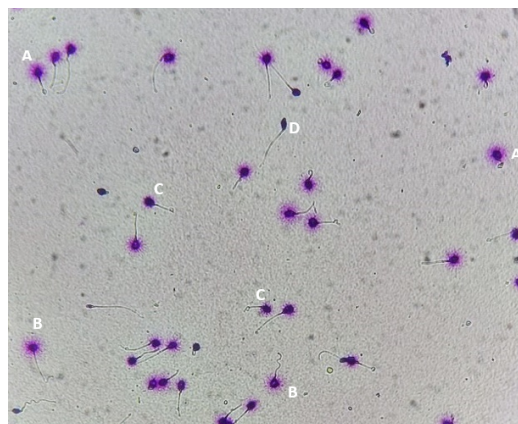
- Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới

$$\text{Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới} = \frac{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động tiến tới thu được}}{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động tiến tới ban đầu}} \times 100\%$$

- Chỉ số DNA phân mảnh (DFI)

$$\text{DFI} = \frac{\text{Số lượng tinh trùng có DNA phân mảnh}}{\text{Số lượng tinh trùng được đánh giá}} \times 100\%$$

Lấy giá trị tiên lượng về tình trạng vô sinh của nam giới với tỷ lệ đứt gãy DNA là 26,1% theo Wikeko và cộng sự (2017).⁴



Hình 2. Đánh giá tinh trùng đứt gãy DNA

(A,B) - Tinh trùng không phân mảnh; (C,D) - Tinh trùng phân mảnh

Biến số và chỉ số nghiên cứu

- Mật độ tinh trùng (triệu/ml).
- Tỷ lệ di động tiến tới (PR-progressive motility).
- Tỷ lệ di động (PR + NP) (%).
- Tỷ lệ tinh trùng sống (%).
- Tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường (%).

3. Xử lý số liệu

- Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để thu thập và xử lý số liệu.

- Các giá trị tính theo $\bar{X} \pm SD$.

- Sử dụng T-test để so sánh các giá trị trung bình của các nhóm lọc rửa và trước - sau lọc rửa ($p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê).

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu lấy tinh dịch sau xét nghiệm không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm của bệnh nhân. Mẫu sau lọc rửa được hủy không sử dụng cho bất kì quy trình nào khác. Việc sử

dụng mẫu tinh dịch sau xét nghiệm được sự chấp thuận của lãnh đạo Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và Công nghệ Mô ghép, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

- Kết quả nghiên cứu nhằm nâng cao hiệu quả điều trị cho bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

Đặc điểm mẫu trước lọc rửa

Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành trên 30 mẫu tinh trùng có mật độ dưới 15 triệu với các đặc điểm được tổng kết trong bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu

Đặc điểm	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị (Min - Max)	Mẫu bình thường (n, %)
Mật độ ($10^6/ml$)	9,9 \pm 3,2	9 (4 - 14)	
Di động tiến tới (PR, %)	46,5 \pm 13,1	47,5 (17,0 - 69,0)	25 (86,7%)
Tổng di động (PR + NP, %)	56,8 \pm 13,7	56,0 (28,0 - 83,0)	26 (83,3%)
Hình thái bình thường (%)	2,3 \pm 1,1	2 (1 - 5)	4 (13,3%)
Sống (%)	63,3 \pm 13,7	64,5 (35,0 - 91,0)	22 (73,3%)
Tỷ lệ đứt gãy DNA (%)	23,7 \pm 10,9	21,3 (6,0 - 47,6)	19 (63,3%)

Mật độ tinh trùng của các mẫu tinh dịch trong nghiên cứu trung bình là 9,9 \pm 3,2 (triệu/ml). Có 4 mẫu chiếm 13,3% kèm bất thường về di động; 26 mẫu chiếm 86,7% kèm bất thường về mặt hình thái. Có 8 mẫu chiếm 26,7% có tỷ lệ tinh trùng sống thấp dưới 58%. Tỷ lệ đứt gãy DNA trung bình là 23,7 \pm 10,9%, nhóm nghiên

cứu có 11 mẫu chiếm 36,7% có tỷ lệ đứt gãy DNA cao.

So sánh tinh trùng di động sau lọc rửa bằng 3 phương pháp

Sau khi lọc rửa bằng 3 phương pháp tỷ lệ tinh trùng thu được có đặc điểm mô tả trong bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm của các mẫu sau lọc rửa bằng 3 phương pháp

Đặc điểm	Mini-gradient (1) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 90 (2) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 45 (3) $\bar{X} \pm SD$	p
Mật độ (10^6)	10,8 \pm 4,8	12,0 \pm 5,5	19,2 \pm 8,0	0,372 0,0001 < 0,0001

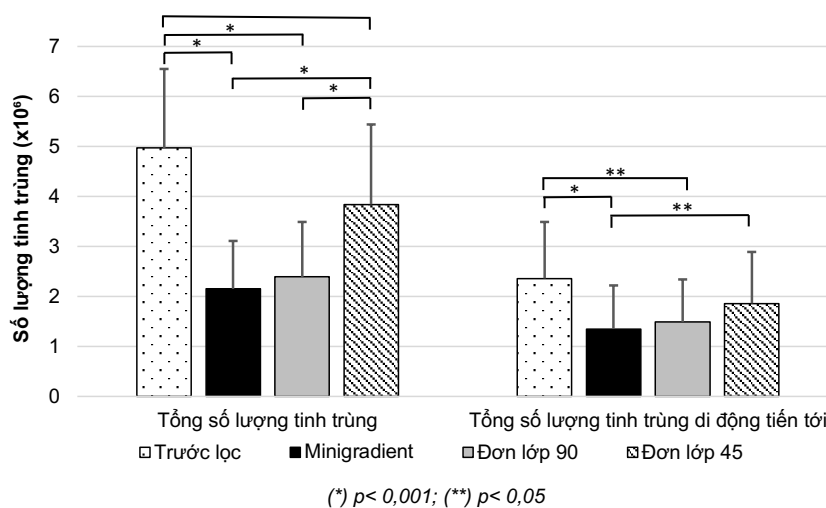
Đặc điểm	Mini-gradient (1) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 90 (2) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 45 (3) $\bar{X} \pm SD$	p
Di động tiến tới (PR, %)	61,3 ± 21,8	61,7 ± 18,5	47,8 ± 15,8	0,939 0,0027 0,008
Tổng di động (PR + NP, %)	72,3 ± 15,4	72,8 ± 15,1	58,7 ± 13,0	0,899 0,0003 0,0005
Sống (%)	81,4 ± 11,6 ^a	80,1 ± 12,0 ^a	67,6 ± 11,5 ^b	0,671 0,0001 < 0,0001

Tinh dịch được lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ ngắn và lọc đơn lớp 90 có mật độ sau lọc khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mật độ tinh trùng trung bình lọc bằng phương pháp đơn lớp 45 cao hơn có ý nghĩa thống kê với 2 phương pháp còn lại ($p < 0,001$). Tuy nhiên, tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới và tổng di động trung bình thu được lọc bằng đơn lớp 45 thấp hơn có ý nghĩa thống kê với 2 phương pháp còn lại ($p < 0,05$). Tỷ lệ tinh trùng sống của 2 nhóm lọc thang nồng độ ngắn và đơn lớp 90 cao hơn nhóm lọc đơn lớp 45 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

2. So sánh hiệu quả của 3 phương pháp

Số lượng tinh trùng thu được

Đối với xử lý tinh trùng sử dụng cho kĩ thuật IUI, số lượng tinh trùng thu được đặc biệt là tinh trùng di động có ý nghĩa quan trọng. Số lượng tinh trùng và tinh trùng di động thu được sau 3 phương pháp được mô tả trong biểu đồ 1. Sau lọc rửa, tổng số lượng tinh trùng thu được đều giảm có ý nghĩa thống kê so với trước lọc. Trong đó, tổng số tinh trùng thu được của nhóm lọc đơn lớp 45 là cao hơn so với 2 nhóm còn lại ($p < 0,001$). Tổng số tinh trùng thu được giữa 2 nhóm thang nồng độ ngắn và lọc đơn lớp 90 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Biểu đồ 1. So sánh số lượng tinh trùng và số lượng tinh trùng di động

Tổng số tinh trùng di động của nhóm lọc đơn lớp 45 là cao nhất và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với trước lọc ($p > 0,05$). Số lượng tinh trùng lọc thang nồng độ ngắn và lọc đơn lớp 90 đều ít hơn có ý nghĩa thống kê so với trước lọc ($p < 0,05$).

Khả năng thu hồi tinh trùng của 3 phương pháp

Mỗi phương pháp lọc rửa có khả năng thu hồi tinh trùng khác nhau được mô tả trong bảng 3.

Bảng 3. So sánh khả năng thu hồi tinh trùng của 3 phương pháp

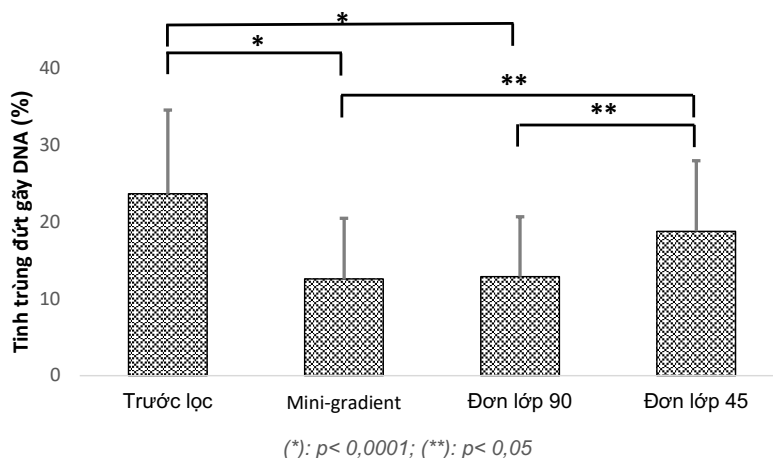
Đặc điểm	Mini-gradient (1) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 90 (2) $\bar{X} \pm SD$	Đơn lớp 45 (3) $\bar{X} \pm SD$	p
Tỷ lệ thu hồi tinh trùng (%)	44,3 ± 14,1	48,8 ± 15,3	76,2 ± 15,4	0,241 < 0,0001 < 0,0001
Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động (%)	58,2 ± 24,6 ^a	64,2 ± 19,5 ^a	78,1 ± 17,6 ^c	0,299 0,0007 0,0053
Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới (%)	57,6 ± 20,6 ^a	62,8 ± 18,5 ^a	78,7 ± 12,4 ^b	0,308 0,0002 < 0,0001

Trong 3 phương pháp, lọc đơn lớp 45 cho tỷ lệ thu hồi tinh trùng, tinh trùng di động và di động tiến tới là cao nhất (76,2 ± 15,4 (%); 78,1 ± 17,6 (%); 78,7 ± 12,4 (%)) và cao hơn có ý nghĩa thống kê với 2 phương pháp còn lại ($p < 0,05$).

Tỷ lệ đứt gãy DNA của tinh trùng sau lọc

rửa bằng 3 phương pháp

Để đánh giá khả năng loại bỏ các tinh trùng có tổn thương DNA của các phương pháp lọc rửa, chúng tôi sử dụng test đánh giá sự phân tán chất nhuộm sắc của tinh trùng (Sperm chromatin dispersion test - SCD test). Kết quả được mô tả trong biểu đồ 2.



Biểu đồ 2. Tỷ lệ tinh trùng phân mảnh DNA sau 3 phương pháp lọc rửa

Sau khi lọc rửa bằng thang nồng độ ngắn, đơn lớp 90 và đơn lớp 45, tỷ lệ tinh trùng phân mảnh DNA lần lượt là $12,6 \pm 7,9$ (%); $12,9 \pm 7,8$ (%); $18,8 \pm 9,2$ (%). Tỷ lệ đứt gãy DNA của phương pháp đơn lớp 45 khác biệt không có ý nghĩa thống kê với trước lọc rửa ($p > 0,05$) và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với 2 phương pháp lọc thang nồng độ ngắn và lọc đơn lớp 90 ($p < 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Lọc rửa tinh trùng bằng thang nồng độ được coi là một kĩ thuật hiệu quả chuẩn bị tinh trùng khi thực hiện IUI. Trong IUI, khả năng di động tiến tới và tổng số lượng tinh trùng di động là yếu tố có liên quan chặt chẽ nhất đến khả năng mang thai của bệnh nhân.⁵ Các nghiên cứu chỉ ra rằng, tổng số lượng tinh trùng di động trước rửa khoảng từ 5 triệu, đặc biệt là 10 triệu đem lại hiệu quả cao cho quá trình thụ tinh trong IUI.¹ Tổng số tinh trùng di động sau lọc rửa từ hơn 1 triệu được khuyến cáo có hiệu quả gây thụ tinh. Hơn nữa, tổng số tinh trùng di động thu được tăng lên làm tỷ lệ có thai tăng. Tỷ lệ có thai ổn định khi lượng tinh trùng di động sau rửa đạt từ 4 triệu.¹

Mặc dù lọc rửa tinh trùng bằng thang nồng độ được đánh giá có khả năng thu hồi tinh trùng tốt hơn so với phương pháp bơi lên.^{6,7} Tuy nhiên, đối với những mẫu tinh trùng có mật độ thấp, việc sử dụng phương pháp thang nồng độ chuẩn có thể sẽ không thu được đủ lượng tinh trùng đạt hiệu quả thụ tinh tốt. Đồng thời, với những mẫu tinh trùng có sức bền kém, việc tinh trùng đi xuống cột môi trường lọc dài có thể ảnh hưởng đến khả năng phục hồi tinh trùng di động sau ly tâm. Do đó, phương pháp mini-gradient đã được phát triển từ sớm nhằm xử lý các mẫu tinh trùng thiếu tinh.⁸ Gần đây, kĩ thuật cải tiến của kĩ thuật thang nồng độ là phương pháp lọc đơn lớp cũng được đề xuất như một kĩ

thuật giúp thu nhận được lượng tinh trùng chất lượng cao. Đồng thời, việc thu được những tinh trùng toàn vẹn nhiễm sắc thể cũng có ý nghĩa quan trọng trong thụ tinh.⁹

Trong nghiên cứu của chúng tôi, lọc rửa đơn lớp 45 cho kết quả thu hồi tinh trùng tốt nhất với tỷ lệ thu hồi là $76,2 \pm 15,4$ (%) và tỷ lệ gần bằng tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới là $78,7 \pm 12,4$ (%) (Bảng 3). Điều này có thể giải thích do lớp lọc 45% chỉ giúp giữ tinh tương cùng các tế bào lạ nên khả năng các tinh trùng bất thường hay tinh trùng chết có thể cùng với các tinh trùng di động vượt qua mặt thoáng theo lực ly tâm là như nhau. Đồng thời, ta cũng thấy tỷ lệ đứt gãy DNA của nhóm lọc 45 là cao nhất, không khác biệt so với nhóm trước lọc. Trong nghiên cứu của Du và cộng sự (2020) chỉ ra rằng sử dụng đơn lớp nồng độ là phương pháp hiệu quả giúp lọc sạch các yếu tố gây nhiễm khuẩn.¹⁰ Đồng thời, loại bỏ các tế bào biểu mô, tế bào máu từ đó làm giảm hình thành gốc oxy hóa tự do có thể ảnh hưởng đến quá trình thụ tinh trong IUI.¹¹ Do đó, vẫn có thể áp dụng phương pháp lọc 45 cho chuẩn bị tinh trùng IUI khi lượng tinh trùng di động đầu vào quá thấp do khả năng thu hồi tinh trùng rất cao. Với mẫu tinh trùng ít có thể áp dụng phương pháp rửa đơn thuần. Nhưng phương pháp lọc đơn lớp 45 lại ưu điểm hơn phương pháp rửa đơn thuần do loại bỏ được phần lớn các yếu tố ngoài tinh trùng có thể ảnh hưởng xấu đến thụ tinh như tế bào không phải tinh trùng hay mảnh vụn bào tương.

Phương pháp thang nồng độ ngắn hay lọc đơn lớp 90 cho kết quả khác biệt không có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới ($57,6 \pm 20,6$ và $62,8 \pm 18,5$ (%); $p = 0,308$) và đều có khả năng loại bỏ bớt tinh trùng đứt gãy DNA với tỷ lệ tinh trùng đứt gãy DNA lần lượt là $12,6 \pm 7,9$ và $12,9 \pm 7,8$ (%) giảm có ý nghĩa thống kê so với trước lọc ($23,7 \pm 10,9$ (%)). Lớp lọc 90 giúp loại bỏ các tinh trùng chết

và bất thường về nhiễm sắc thể, do đó giúp thu được mẫu tinh trùng có chất lượng DNA tốt hơn. Đồng thời, lớp lọc 90 cũng vẫn có khả năng loại bỏ tinh trùng khỏi tinh trùng như lớp lọc 45. Có thể thấy, kết quả sơ bộ của nghiên cứu cho thấy hiệu quả của phương pháp thang nồng độ ngắn hay lọc đơn lớp 90 tương đương nhau trên mẫu thiếu tinh. Chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào so sánh kết quả lọc rửa giữa 2 phương pháp này. Tuy nhiên, do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi nhỏ nên cần một nghiên cứu có cỡ mẫu lớn hơn để xem xét việc có thể sử dụng thay thế phương pháp lọc đơn lớp 90 cho lọc thang nồng độ ngắn.

V. KẾT LUẬN

Cả 3 phương pháp lọc rửa tinh trùng đều có những ưu điểm nhất định. Phương pháp lọc đơn lớp 45 cho tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tốt nhất. Phương pháp lọc đơn lớp 90 và thang nồng độ ngắn có khả năng thu hồi tinh trùng di động như nhau và loại bỏ được các tinh trùng đứt gãy DNA.

KHUYẾN NGHỊ

Lựa chọn phương pháp phù hợp tùy thuộc vào chất lượng đầu vào của tinh trùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang E, Tao X, Xing W, Cai L, Zhang B. Effect of sperm count on success of intrauterine insemination in couples diagnosed with male factor infertility. *Mater Sociomed*. Oct 2014; 26(5): 321-3. doi: 10.5455/msm.2014.26.321-323.
2. Jeong M, Kim SK, Kim H, Lee JR, Jee BC, Kim SH. Predictive value of sperm motility before and after preparation for the pregnancy outcomes of intrauterine insemination. *Clin Exp Reprod Med*. Sep 2021; 48(3): 255-261. doi: 10.5653/cerm.2021.04469.

3. Hernandez-Silva G, Lopez-Torres AS, Maldonado-Rosas I, et al. Effects of semen processing on sperm function: Differences between swim-up and density gradient centrifugation. *World J Mens Health*. Oct 2021; 39(4): 740-749. doi: 10.5534/wjmh.200115.

4. Wiweko B, Utami P. Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility. *Basic Clin Androl*. 2017; 27: 1. doi: 10.1186/s12610-016-0046-3.

5. Starosta A, Gordon CE, Hornstein MD. Predictive factors for intrauterine insemination outcomes: A review. *Fertil Res Pract*. Dec 11 2020; 6(1): 23. doi: 10.1186/s40738-020-00092-1.

6. Facio CL, Previato LF, Machado-Paula LA, Matheus PC, Araujo EF. Comparison of two sperm processing techniques for low complexity assisted fertilization: sperm washing followed by swim-up and discontinuous density gradient centrifugation. *JBRA Assist Reprod*. Dec 1 2016; 20(4): 206-211. doi: 10.5935/1518-0557.20160040.

7. Lemmens L, Kos S, Beijer C, et al. Techniques used for IUI: Is it time for a change?. *Hum Reprod*. Sep 1 2017; 32(9): 1835-1845. doi: 10.1093/humrep/dex223.

8. Ord T, Patrizio P, Marelllo E, Balmaceda JP, Asch RH. Mini-Percoll: A new method of semen preparation for IVF in severe male factor infertility. *Hum Reprod*. Nov 1990; 5(8): 987-9. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137233.

9. Yu W, Du N, Gu Y, Yan J, Hou W. Specific Ion Effects on the colloidal stability of layered double hydroxide single-layer nanosheets. *Langmuir*. Jun 16 2020; 36(23): 6557-6568. doi: 10.1021/acs.langmuir.0c01089.

10. Du Y. Single-layer density gradient centrifugation is a simple and effective sperm

preparation approach in decreasing the incidence of the contamination originated in the potential pathogens in human sperm samples during ivf practice. *Fertility and Sterility*. September 2020;114(3):137. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.08.406.

11. Gloria A, Carluccio A, Wegher L, Robbe D, Befacchia G, Contri A. Single and double layer centrifugation improve the quality of cryopreserved bovine sperm from poor quality ejaculates. *J Anim Sci Biotechnol*. 2016; 7:30. doi: 10.1186/s40104-016-0088-6.

Summary

INITIAL RESULTS OF SPERM PREPARATION USING DENSITY MINI-GRADIENT AND SINGLE-LAYER CENTRIFUGATION FOR OLIGOSPERMIA SAMPLES

This study compared sperm recovery rate and sperm DNA fragmentation index (DFI) by density mini-gradient and single layer centrifugation for intrauterine insemination (IUI). A total of 30 semen samples with concentration less than 15 million/ml were prepared by 3 methods: mini-gradient, 90% single lower layer, and 45% single upper layer. Total sperm motility, sperm recovery rate were compared before and after processing for each methods and also after processing among the three methods groups. Our data showed that sperm concentration of 45% single upper layer was significantly higher than the other two groups ($p < 0.05$). Motile sperm rate in the 45% single layer group was significantly lower than the other groups ($p < 0.05$). Motile sperm recovery rate of the 45% single layer group was higher than the other groups. All of these methods are viable options for preparing sperm for IUI. A suitable method can be chosen depending on initial sperm quality so that motile sperm with full DNA integrity are collected.

Keywords: Sperm preparation, IUI, mini-gradient, single layer centrifugation.