

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG SAU XỬ LÝ BẰNG KỸ THUẬT MICROFLUIDIC Ở CÁC TRƯỜNG HỢP THỤ TINH TRONG ống NGHIỆM

Hồ Nguyệt Minh¹, Đỗ Thị Minh Tâm², Chu Thị Ly² và Đỗ Thuỳ Hương^{2,3,✉}

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Trong những năm gần đây, ngoài các phương pháp lọc rửa thông thường, chọn lọc tinh trùng bằng hệ thống microfluidic đang được áp dụng và dần trở nên phổ biến hơn trong IVF, tuy nhiên hiệu quả của phương pháp này vẫn còn chưa thống nhất. Nghiên cứu thử nghiệm so sánh trên 30 mẫu tinh dịch được lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ (đối chứng) và phương pháp sử dụng hệ thống microfluidic (can thiệp) nhằm so sánh chất lượng tinh trùng thu được ở hai phương pháp này. Kết quả cho thấy, tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng của nhóm thử nghiệm ($0,67 \pm 0,53\%$) thấp hơn đáng kể so với nhóm đối chứng ($1,18 \pm 13,73\%$). Khả năng thu hồi tinh trùng di động tiến tới cao hơn ở nhóm sử dụng hệ thống microfluidic ($39,75 \pm 19,20$ so với $32,14 \pm 18,14$). Ngoài ra tỷ lệ sống của tinh trùng ở nhóm can thiệp cũng cao hơn so với nhóm đối chứng ($97,9 \pm 2,21$ và $96,56 \pm 4,11\%$). Tỷ lệ di động cũng có sự khác biệt rõ rệt giữa nhóm can thiệp ($96,36 \pm 2,60\%$) và nhóm còn lại ($95,06 \pm 2,35\%$). Tuy nhiên, không có sự khác biệt tỷ lệ di động tiến tới và tỷ lệ hình thái bình thường giữa hai nhóm. Như vậy, sử dụng hệ thống microfluidic là cách tiếp cận tiềm năng dành cho việc cải thiện tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng.

Từ khóa: Thang nồng độ, microfluidic, DFI, thụ tinh trong ống nghiệm, chuẩn bị tinh trùng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo tổ chức y tế thế giới (WHO) 2020, vô sinh ảnh hưởng đến hàng triệu người trong độ tuổi sinh sản trên toàn thế giới - và có ảnh hưởng đến gia đình cũng như cộng đồng của họ. Các ước tính cho thấy có khoảng 48 triệu cặp vợ chồng và 186 triệu cá nhân sống chung với tình trạng vô sinh trên toàn cầu.¹ Khoảng 15 - 20% các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản bị vô sinh và xấp xỉ 50% các trường hợp có yếu tố nam giới. Hơn nữa, trong 30 - 40% trường hợp vô sinh nam là vô căn.² Chính vì vậy, chọn lọc được những tinh trùng tốt, hay lọc rửa tinh trùng là một bước quan trọng, góp phần vào

thành công của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản, đặc biệt là kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (In vitro fertilization - IVF).

Hiện nay, hầu hết các trung tâm hỗ trợ sinh sản tại Việt Nam đều xử lý tinh trùng trong thụ tinh trong ống nghiệm bằng hai phương pháp chính là rửa đơn thuần hoặc thang nồng độ. Kỹ thuật xử lý tinh trùng truyền thống như vậy cần trải qua một số bước ly tâm tinh trùng cùng với hạt silica dạng keo để loại bỏ các tinh trùng bất thường, tinh trùng bất động cũng như các mảnh vụn tế bào có trong mẫu tinh dịch ban đầu. Tuy nhiên, quá trình ly tâm đã được chứng minh là gây ra tổn thương DNA tinh trùng và tạo ra các gốc oxy tự do, do đó có khả năng ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng và kết quả của thụ tinh trong ống nghiệm như tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi.³ Tổn thương DNA của tinh

Tác giả liên hệ: Đỗ Thuỳ Hương

Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Email: dothuyluong@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 09/05/2023

Ngày được chấp nhận: 30/05/2023

trùng có thể liên quan đến tỷ lệ thụ tinh thấp, tạo phôi bất thường, ảnh hưởng tới khả năng sống của phôi và thai sau này.

Những năm trở lại đây, chọn lọc tinh trùng bằng hệ thống vi lỏng (Microfluidic) đang được áp dụng và cũng dần trở nên phổ biến hơn trong lĩnh vực thụ tinh ống nghiệm. Xử lý tinh trùng với hệ thống vi lỏng có khả năng phân lập chọn lọc những tinh trùng bình thường về hình thái, khả năng di động tốt với tính toàn vẹn DNA cao. Nguyên lý của kỹ thuật vi lỏng để phân lập tinh trùng dựa trên dòng chảy tầng, tạo độ dốc qua các kênh, và có giới hạn về kích thước màng lọc được thiết kế trong hệ thống. Tinh dịch thô được đưa vào đầu tiếp nhận mẫu và chỉ những tinh trùng bình thường về hình thái và khả năng di động tốt mới có thể bơi đến đầu ra là nơi tinh trùng được thu thập và sử dụng. Với hệ thống vi lỏng, việc xử lý tinh trùng không cần đến hóa chất lọc và thao tác ly tâm như các phương pháp truyền thống. Sử dụng hệ thống vi lỏng được chứng minh là có hiệu quả trong việc thu tinh trùng từ các mẫu tinh dịch để thực hiện các kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm, tăng cơ hội thu nhận được tinh trùng có bộ nhiễm sắc thể bình thường từ đó tăng cơ hội có phôi chính bội. Tuy nhiên, các nghiên cứu về ứng dụng hệ thống vi lỏng trong thụ tinh trong ống nghiệm vẫn còn rất ít, cỡ mẫu nghiên cứu nhỏ nên chưa đủ sức thuyết phục. Cần có thêm các bằng chứng lâm sàng về chất lượng tinh trùng, chất lượng phôi cũng như tỷ lệ có thai khi sử dụng hệ thống vi lỏng để chọn lọc tinh trùng trong thụ tinh trong ống nghiệm ở các trường hợp vô sinh. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “*Đánh giá chất lượng tinh trùng sau xử lý bằng kỹ thuật microfluidic ở các trường hợp thụ tinh trong ống nghiệm*” với mục tiêu: So sánh chất lượng tinh trùng được xử lý bằng kỹ thuật microfluidic và kỹ thuật thang nồng độ ở các trường hợp làm thụ tinh trong ống nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

30 mẫu tinh dịch của các cặp vợ chồng làm thụ tinh trong ống nghiệm tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và Công nghệ mô ghép, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Tiêu chuẩn lựa chọn

Mẫu tinh dịch của các cặp vợ chồng làm thụ tinh trong ống nghiệm tại Trung tâm hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép, bệnh viện Đại học Y Hà Nội, có thể tích $\geq 2,5$ ml.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Các trường hợp xin tinh trùng.
- Các trường hợp tinh trùng trích xuất từ tinh hoàn.
- Các trường hợp tinh trùng trích xuất từ mào tinh.
- Các trường hợp mẫu tinh dịch Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) nặng không đủ điều kiện để lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu thử nghiệm so sánh.

Quy trình nghiên cứu

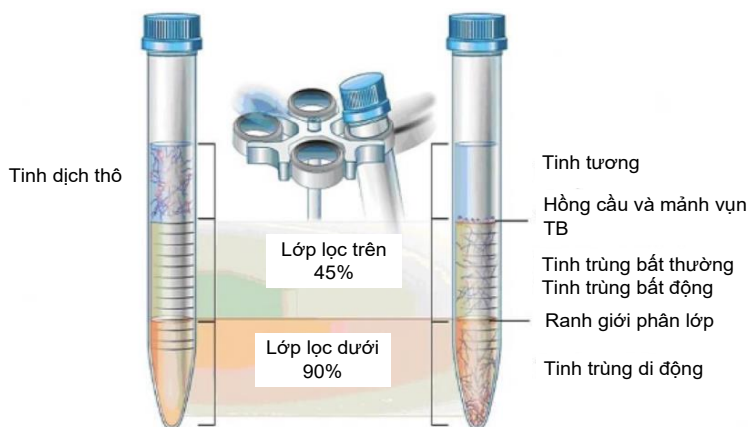
- Mẫu tinh trùng của các cặp vợ chồng làm thụ tinh trong ống nghiệm được kiểm tra đánh giá các tiêu chí theo tiêu chuẩn WHO 2010 và đánh giá tỷ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng.

- Sau đó, mẫu tinh dịch sẽ được lọc rửa bằng hai phương pháp là thang nồng độ không liên tục và microfluidic.

• *Phương pháp thang nồng độ không liên tục*

Tiến hành tạo thang nồng độ 1ml 45%/ 1ml 90%. Phủ 1ml tinh dịch lên trên và quay ly tâm 345G x 8 phút. Sau đó loại bỏ dịch nổi, để lại 0,2ml. Tiếp tục bổ sung 3ml Sperm Rinse, trộn đều và quay ly tâm 345G x 5 phút. Loại bỏ dịch

nổi, để lại 0,3 - 0,5ml môi trường chứa cận tinh trùng và trộn đều.



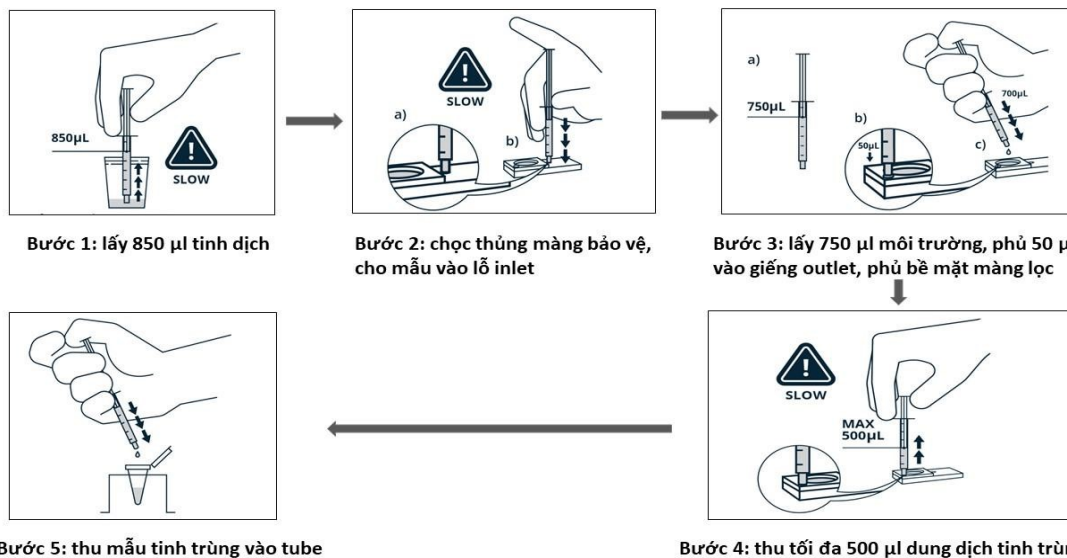
Hình 1. Phương pháp lọc rửa thang nồng độ không liên tục

• *Phương pháp sử dụng hệ thống Microfluidic:*

Sử dụng kit lọc ZyMōt™ Multi (850μL), Zymot Fertility - DxNow do Mỹ sản xuất

Bổ sung 850μL tinh dịch vào giếng inlet để bơm mẫu vào buồng lọc. Thêm 50μL dung

dịch rửa Sperm Rinse lấp đầy giếng outlet và tràn ra bề mặt của màng. Tiếp tục thêm 700μL dung dịch rửa Sperm Rinse phủ kín bề mặt của màng. Ủ thiết bị trong 30 phút. Thu lấy tối đa 500μL dung dịch tinh trùng ở giếng outlet.



Sơ đồ 1. Thao tác chuẩn bị tinh trùng với chip microfluidic

Tinh trùng thu được sau lọc của hai phương pháp sẽ được đánh giá lại các tiêu chí theo tiêu chuẩn WHO 2020 và đánh giá tỷ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng.

Cuối cùng so sánh sự khác biệt về chất lượng tinh trùng thu được từ 2 phương pháp chọn lọc tinh trùng.

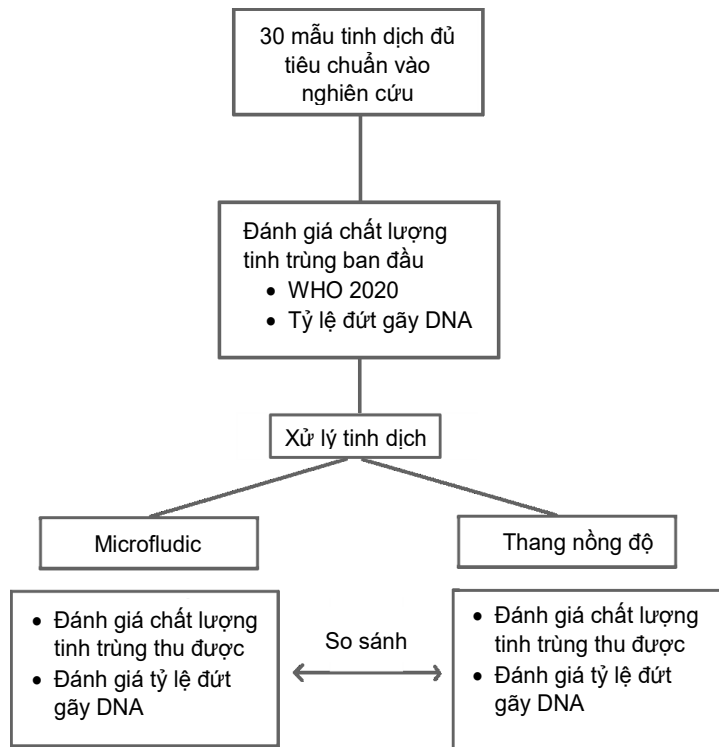
Đánh giá tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng

Bộ sinh phẩm PhacoSperm® DNA Fragmentation Kit được sử dụng trong kỹ thuật đánh giá tỷ lệ phân mảnh DNA. Kỹ thuật này dựa trên nguyên tắc phát màu khác nhau của thuốc nhuộm huỳnh quang Acridine orange khi

bám lên mạch đôi DNA (dsDNA) hay mạch đơn DNA (ssDNA). Các tín hiệu huỳnh quang được phân tích bằng hệ thống đếm tế bào dòng chảy flow cytometry DxFlex. Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng được đánh giá thông qua chỉ số DFI (tỷ lệ đứt gãy DNA của tinh trùng).

$$DFI = \frac{\text{Tín hiệu huỳnh quang màu đỏ}}{\text{Tổng tín hiệu huỳnh quang (đỏ+xanh lá)}} (\%)$$

Mô hình nghiên cứu



Sơ đồ 2. Mô hình nghiên cứu

Biến số và chỉ số nghiên cứu

Tuổi người chồng: tính bằng năm.
 BMI: tính bằng cân nặng (kg)/chiều cao² (m).
 Thời gian vô sinh: tính bằng năm.
 Loại vô sinh: được phân thành các nhóm: nguyên phát; thứ phát.
 Tiền sử hút thuốc lá, rượu bia, các thuốc chống oxy hoá: được phân thành các nhóm: có sử dụng; không sử dụng.
 Mật độ tinh trùng trong mẫu tinh dịch trước

lọc và sau lọc.
 Khả năng di động của tinh trùng trong mẫu tinh dịch trước lọc và sau lọc.
 Hình thái tinh trùng trong mẫu tinh dịch trước lọc và sau lọc.
 Tỷ lệ đứt gãy ADN của tinh trùng trong mẫu tinh dịch trước lọc và sau lọc.
 Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới sau lọc bằng thang nồng độ và sau lọc bằng microfluidic.

Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới

$$= \frac{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động tiến tới thu được}}{\text{Tổng số lượng tinh trùng di động tiến tới ban đầu}} (\%)$$

Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0.

Các biến định lượng được trình bày dưới dạng giá trị trung bình và dùng test Wilcoxon - Signed Rank để kiểm định sự khác biệt ($p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê)

3. Đạo đức nghiên cứu

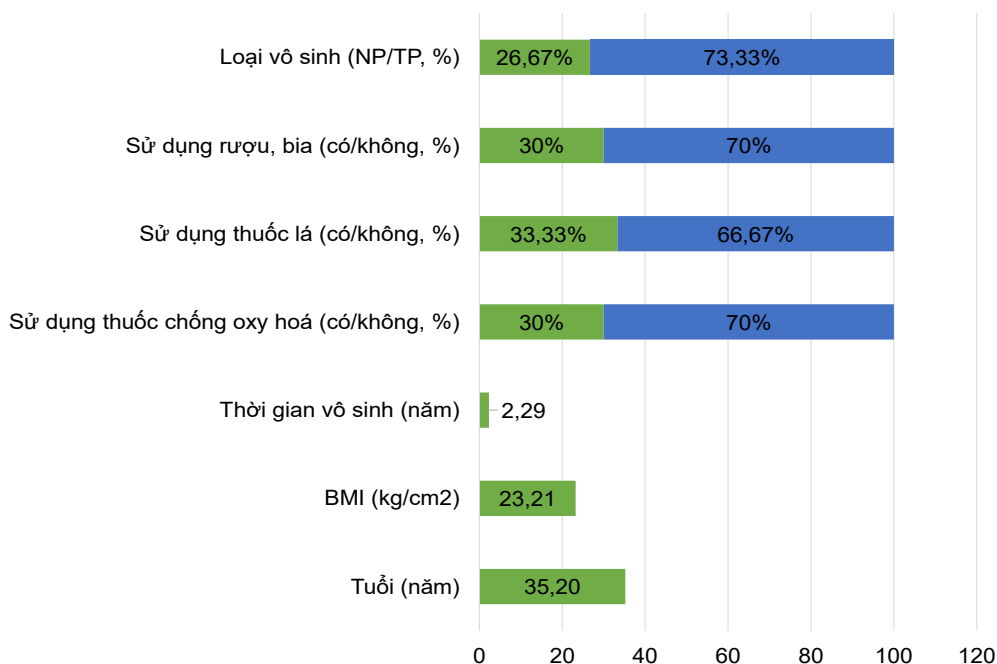
Thông tin bệnh nhân được mã hoá, giữ bí

mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Nghiên cứu chỉ được tiến hành khi có sự đồng ý của bệnh nhân.

Nghiên cứu thuộc loại thử nghiệm so sánh và được sự cho phép của lãnh đạo Trung tâm HTSS & CNMG, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và đã được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức Trường đại học Y Hà Nội (IBR-VN01.001/IRB00003121/FWA 00004148).

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu



Biểu đồ 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Trong thời gian từ tháng 2/2023 tới tháng 4/2023, tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và Công nghệ mô ghép có 30 cặp vợ chồng đáp ứng đủ tiêu chuẩn được đưa vào nghiên cứu, trong đó vô sinh nguyên phát chiếm 26,67%. Tuổi trung bình của người chồng là $35,20 \pm 3,82$ (năm)

với BMI và thời gian vô sinh trung bình lần lượt là $23,21 \pm 2,34$ (kg/cm²) và $2,29 \pm 1,66$ (năm). Ngoài ra, số người có tiền sử sử dụng các thuốc chống oxy hóa chiếm 30% tổng số cặp vợ chồng trong nghiên cứu.

Bảng 2. Chất lượng tinh dịch của mẫu nghiên cứu

Biến số	Trung bình $\bar{x} \pm SD$	Min	Max	Mẫu bất thường (n,%)
Mật độ (triệu/ml)	107,13 \pm 55	36	238	0 (0%)
Tỷ lệ sống (%)	84,17 \pm 8,20	65	96	0 (0%)
Tỷ lệ di động tiến tới (%)	57,20 \pm 13,04	26	79	2 (6,66%)
Tỷ lệ di động (%)	67,60 \pm 11,97	40	85	0 (0%)
Tỷ lệ hình thái bình thường (%)	3,56 \pm 1,45	1	6	14 (46,66%)
Tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng (%) (DFI)	10,31 \pm 6,73	3,02	29,43	6 (20%)
Tổng số tinh trùng (triệu)	329,46 \pm 229,75	108,00	1051,20	0 (0%)

Mật độ tinh trùng của các mẫu tinh dịch được đưa vào nghiên cứu trung bình là 107,13 \pm 54,90 (triệu/ml). Có 2 mẫu bất thường về di động tiến tới, chiếm 6,66% và 14 mẫu bất thường về hình thái, chiếm 46,66%. Tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng trung bình là 10,31 \pm 6,73%, trong đó có 6

mẫu có chỉ số đứt gãy cao hơn 15%. Chỉ số đứt gãy DNA cao nhất trong nghiên cứu là 29,43%. Không có mẫu nào bất thường về mật độ, tỷ lệ sống, tỷ lệ di động và tổng số tinh trùng

2. So sánh chất lượng mẫu tinh dịch sau xử lý bằng hai phương pháp

Bảng 3. Chất lượng mẫu tinh dịch sau lọc rửa bằng hai phương pháp

Biến số	Trước xử lý (1)	Thang nồng độ (2) $\bar{x} \pm SD$	Microfluidic (3) $\bar{x} \pm SD$	p
Tỷ lệ sống (%)	84,17 \pm 8,20	96,56 \pm 4,11	97,90 \pm 2,21	$p_{1,2} < 0,0001$ $p_{1,3} < 0,0001$ $p_{2,3} < 0,0001$
Tỷ lệ di động tiến tới (%)	57,20 \pm 13,04	89,56 \pm 4,61	89,96 \pm 6,82	$p_{1,2} < 0,0001$ $p_{1,3} < 0,0001$ $p_{2,3} = 0,367$
Tỷ lệ di động (%)	67,60 \pm 11,97	95,06 \pm 2,35	96,36 \pm 2,60	$p_{1,2} < 0,0001$ $p_{1,3} < 0,0001$ $p_{2,3} = 0,012$
Tỷ lệ hình thái bình thường (%)	3,56 \pm 1,45	6,73 \pm 2,90	7,10 \pm 3,85	$p_{1,2} < 0,0001$ $p_{1,3} < 0,0001$ $p_{2,3} = 0,878$
Tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng (%)	10,31 \pm 6,73	1,18 \pm 13,73	0,67 \pm 0,53	$p_{1,2} < 0,0001$ $p_{1,3} < 0,0001$ $p_{2,3} = 0,007$

Tinh trùng thu được sau chuẩn bị bằng hai phương pháp thang nồng độ không liên tục và hệ thống microfluidic đều có sự cải thiện rõ rệt so với chất lượng mẫu ban đầu, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tỷ lệ hình thái bình thường, tỷ lệ di động tiến tới của mẫu tinh dịch sau 2 phương pháp lọc rửa không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Tuy nhiên, có sự tăng nhẹ về tỷ lệ sống và tỷ lệ di động ở tinh dịch sau khi lọc rửa bằng hệ thống microfluidic ($97,9 \pm$

$2,21$ so với $96,56 \pm 4,11\%$) và ($96,36 \pm 2,60$ so với $95,06 \pm 2,35\%$), sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Đặc biệt, nghiên cứu ghi nhận được tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng sau khi lọc rửa bằng phương pháp sử dụng hệ thống microfluidic giảm đáng kể so với phương pháp lọc rửa bằng thang nồng độ ($p < 0,05$).

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

Bảng 4. So sánh khả năng thu hồi tinh trùng di động tiến tới của hai phương pháp

Biến số	Thang nồng độ $\bar{x} \pm SD$	Microfluidic $\bar{x} \pm SD$	p
Thể tích đầu vào (ml)	1	0,85	
Mật độ đầu vào (triệu/ml)	$107,13 \pm 54,90$	$107,13 \pm 54,90$	
Tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới (%)	$32,14 \pm 18,14$	$39,75 \pm 19,20$	$p = 0,005$

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thu hồi tinh trùng di động tiến tới giữa hai phương pháp, trong đó tỷ lệ này ở phương pháp sử dụng hệ thống microfluidic cao hơn so với ở phương pháp thang nồng độ ($39,75 \pm 19,20$ so với $32,14 \pm 18,14\%$) ($p < 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Tất cả các mẫu tinh dịch đưa vào nghiên cứu đều được xử lý đồng thời bằng hai phương pháp lọc rửa thang nồng độ và phương pháp sử dụng hệ thống microfluidic. Với mỗi bệnh nhân, mẫu tinh dịch trước và sau xử lý bằng hai phương pháp được khảo sát tỷ lệ đứt gãy DNA và đánh giá chất lượng theo tiêu chuẩn WHO 2010. Điều này giúp đồng nhất đối tượng nghiên cứu, loại bỏ các yếu tố gây ảnh hưởng và tăng tính khách quan khi so sánh kết quả của hai phương pháp chuẩn bị tinh trùng.

Khả năng thu hồi tinh trùng là một thông

số quan trọng đánh giá hiệu quả của quá trình lọc rửa. Tuy nhiên, kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm thường không yêu cầu cao về số lượng tinh trùng. Mặt khác, chúng ta quan tâm nhiều hơn đến các yếu tố về chất lượng tinh trùng như: tỷ lệ sống, khả năng di động, hình thái và tỷ lệ đứt gãy DNA. Đây là những yếu tố liên quan mật thiết đến khả năng hoạt hoá noãn của tinh trùng, kết quả thụ tinh, tạo phôi, chất lượng phôi và tỷ lệ có thai. Trong nghiên cứu của chúng tôi, lọc rửa bằng hệ thống microfluidic cho kết quả không khác biệt về tỷ lệ hình thái bình thường và tỷ lệ di động tiến tới so với lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ. Tuy nhiên, mẫu tinh dịch được xử lý bằng hệ thống microfluidic có tỷ lệ sống và tỷ lệ di động cao hơn so với phương pháp thang nồng độ ($97,9 \pm 2,21$ so với $96,56 \pm 4,11$) và ($96,36 \pm 2,60$ so với $95,06 \pm 2,35$), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đặc biệt, chúng tôi ghi nhận tỷ lệ

đứt gãy DNA tinh trùng chọn lọc bằng hệ thống microfluidic thấp hơn đáng kể so với phương pháp lọc rửa bằng thang nồng độ ($0,67 \pm 0,53$ so với $1,18 \pm 13,73$; $p = 0,007$). Nghiên cứu của D.P.Makwana và cộng sự (2021), M.Bastuba và cộng sự (2020), Molly M Quinn và cộng sự (2018) cũng cho kết quả tương tự khi so sánh DFI của tinh trùng chọn lọc bằng hai phương pháp này.⁴

Điều này có thể giải thích do sự khác biệt về nguyên lý của hai phương pháp. Phương pháp thang nồng độ chọn lọc tinh trùng dựa trên tỷ trọng: những tinh trùng trưởng thành, di động tốt có tỷ trọng cao hơn do sự cô đặc DNA sẽ được tách khỏi lớp lọc và lắng xuống đáy ống nghiệm dưới tác động của lực ly tâm. Quá trình này giúp loại bỏ tinh tương, bạch cầu, vi khuẩn, các tinh trùng di động kém, chưa trưởng thành... nhưng đồng thời cũng loại bỏ cả những chất chống oxy hoá trong tinh dịch. Mặt khác, quá trình ly tâm lại sinh ra các gốc oxy hoá hoạt động (ROS), gây stress oxy hoá, có thể làm tổn thương màng tinh trùng và tăng phân mảnh DNA. Trong khi đó, hệ thống microfluidic phân tách tinh trùng dựa vào khả năng di động: những tinh trùng di động nhanh có thể bơi qua các dòng phân lớp, do đó thu được quần thể tinh trùng có khả năng di động tốt hơn và tỷ lệ sống cao hơn. Đặc biệt, tinh trùng không chịu ảnh hưởng của lực ly tâm, được xử lý trong môi trường rửa (Sperm rinse) là môi trường không độc với tinh trùng, nên tỷ lệ đứt gãy DNA rất thấp ($0,67 \pm 0,53$) và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với phương pháp lọc rửa thang nồng độ.

Hơn nữa, theo quan sát của chúng tôi trên 30 mẫu tham gia nghiên cứu, có 6 mẫu tinh dịch có giá trị DFI ban đầu cao ($> 15\%$), đa số tương ứng với đặc điểm lâm sàng: vô sinh nguyên phát lâu năm hoặc có tiền sử sảy thai, thai lưu nhiều lần. Trên những mẫu tinh dịch này, hệ thống microfluidic cho kết quả DFI sau

lọc rửa giảm đáng kể so với mẫu ban đầu, và giảm vượt trội hơn so với mẫu lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ. Sự cải thiện giá trị DFI sau quá trình xử lý tinh trùng rất có ý nghĩa vì đứt gãy DNA gây tổn thương bộ máy di truyền làm giảm khả năng tham gia tạo hợp tử và gây đột biến làm tăng tỷ lệ sảy thai, thai lưu. Theo nghiên cứu của Alvarez Sedo và cộng sự (2017), khi tỷ lệ đứt gãy DNA trên 15% , có mối tương quan nghịch giữa giá trị DFI với tỷ lệ phôi nang và tỷ lệ có thai, kể cả với chất lượng noãn tốt.⁷ Nghiên cứu của Avendano và cộng sự (2009) cũng chứng minh tỷ lệ có thai tự nhiên giảm khi DFI trên 20% và gần như bằng không với DFI $30 - 40\%$.⁸ Như vậy, giá trị DFI có ý nghĩa tiên lượng khả năng có thai. Do đó, hệ thống microfluidic, với khả năng cải thiện giá trị DFI vượt trội, sẽ là một lựa chọn tốt hơn phương pháp lọc rửa thang nồng độ để xử lý những mẫu tinh dịch có tỷ lệ đứt gãy DNA cao, giúp cải thiện tiên lượng điều trị của bệnh nhân.

Như vậy, tinh trùng sau xử lý bằng hệ thống microfluidic có sự cải thiện một số yếu tố về chất lượng, đặc biệt là giảm tỷ lệ đứt gãy DNA so với phương pháp lọc rửa thang nồng độ truyền thống, góp phần cải thiện việc chọn lựa tinh trùng để sử dụng cho IVF.

Mặt khác, nhược điểm chính của phương pháp microfluidic là tính chọn lọc tinh trùng cao dựa trên khả năng di động, do đó khó áp dụng với những mẫu tinh dịch thiếu tinh hoặc tinh trùng di động kém. Với những trường hợp này, phương pháp thang nồng độ ưu việt hơn nhờ khả năng linh hoạt điều chỉnh chiều cao cột môi trường, thời gian ly tâm giúp đảm bảo về số lượng tinh trùng thu hồi. Giá thành cao hơn và thiếu các nghiên cứu chứng minh sự cải thiện kết quả lâm sàng so với phương pháp thang nồng độ cũng là điểm hạn chế khiến microfluidic chưa được áp dụng rộng rãi trong hỗ trợ sinh sản.

Tuy nhiên, do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi nhỏ, nên cần có những nghiên cứu có cỡ mẫu lớn hơn, theo dõi dọc dài hơn trên cả kết quả thụ tinh, chất lượng phôi và tỷ lệ có thai để đánh giá hiệu quả của kỹ thuật microfluidic ở các trường hợp làm thụ tinh trong ống nghiệm.

V. KẾT LUẬN

Phương pháp lọc rửa bằng hệ thống microfluidic cho thấy làm tăng tỷ lệ tinh trùng sống, tỷ lệ di động và khả năng thu hồi tinh trùng di động tiến tới cũng như giảm được tỷ lệ đứt gãy DNA tinh trùng so với phương pháp thang nồng độ, tuy nhiên chưa cải thiện về hình thái và tỷ lệ di động tiến tới.

KHUYẾN NGHỊ

Hệ thống microfluidic có thể được xem xét như một hướng đi tiềm năng cho những mẫu có tỷ lệ đứt gãy DNA cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, et al. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012;9(12):e1001356. doi:10.1371/journal.pmed.1001356
2. Katz DJ, Teloken P, Shoshany O. Male infertility - The other side of the equation. *Aust Fam Physician*. 2017;46(9):641-646.
3. Asghar W, Velasco V, Kingsley JL, et

al. Selection of functional human sperm with higher DNA integrity and fewer reactive oxygen species. *Adv Healthc Mater*. 2014;3(10):1671-1679. doi:10.1002/adhm.201400058

4. Makwana DP, Makwana S, Sen T. P-069 microfluidic sperm sorting vs density gradient to yield sperm with reduced DFI for patients undergoing IVF-ICSI. *Hum Reprod*. 2021;36(Supplement_1):deab130.068. doi:10.1093/humrep/deab130.068

5. Bastuba M, Cohen M, Bastuba A, et al. Microfluidicspermseparationdevicedramatically lowers DFI. *Fertil Steril*. 2020;113:e44. doi:10.1016/j.fertnstert.2020.02.096

6. Quinn MM, Jalalian L, Ribeiro S, et al. Microfluidic sorting selects sperm for clinical use with reduced DNA damage compared to density gradient centrifugation with swim-up in split semen samples. *Hum Reprod*. 2018;33(8):1388-1393. doi:10.1093/humrep/dey239

7. Alvarez Sedó C, Bilinski M, Lorenzi D, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: clinical and biological aspects. *JBRA Assist Reprod*. 2017;21(4):343-350. doi:10.5935/1518-0557.20170061

8. Avendaño C, Franchi A, Taylor S, et al. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertil Steril*. 2009;91(4):1077-1084. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.01.015

Summary

EVALUATION OF SPERM QUALITY USING MICROFLUIDIC TECHNIQUE FOR IN VITRO FERTILIZATION

In recent years, in addition to conventional methods, sperm selection by microfluidic system is being applied and gradually becoming more popular in IVF. This is an experimental study on 30 semen samples to compare the quality of sperm preparation by 2 methods: density gradient method

(control group) and microfluidic sperm sorting chip (intervention group). The results showed that the sperm DNA fragmentation index (DFI) of the microfluidic group ($0.67 \pm 0.53\%$) was significantly lower than that of the density gradient group ($1.18 \pm 13.73\%$). The progressive motile sperm recovery rate was higher in the group using the microfluidic system (32.14 ± 18.14 vs 39.75 ± 19.20). Our data also showed that the vitality and mobility of sperm in the microfluidic group was higher than in the density gradient group (97.9 ± 2.21 vs $96.56 \pm 4.11\%$, 96.36 ± 2.60 vs $95.06 \pm 2.35\%$, respectively). However, there was no difference in the percentage of spermatozoa with progressive motility and sperm morphology between the two groups. Based on the aforementioned result, microfluidic system is a potential option for preparing sperm to improve the DNA fragmentation index.

Keywords: Density gradient, microfluidic, DFI, In vitro fertilization, sperm preparation.