

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN CHỜ LỌC RỬA TINH TRÙNG VÀ THỜI GIAN CẤY SAU LỌC RỬA ĐẾN TỶ LỆ THAI LÂM SÀNG CỦA BƠM TINH TRÙNG VÀO BUỒNG TỬ CUNG (IUI)

Nguyễn Thị Liên Thị⁽¹⁾, Nguyễn Thị Mai⁽¹⁾, Hồ Mạnh Tường⁽²⁾

(1) Bệnh viện Đa khoa Mỹ Đức, (2) Khoa Y Đại học quốc gia TP HCM

Tóm tắt

Giới thiệu: Kết quả của IUI phụ thuộc vào nhiều yếu tố gồm các đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân và các yếu tố thuộc về kỹ thuật chuẩn bị tinh trùng. Trong kỹ thuật chuẩn bị tinh trùng, thời gian chờ trước lọc rửa và thời gian cấy sau lọc rửa đến khi IUI có thể điều chỉnh được và có thể có ảnh hưởng đến tỷ lệ thành công của IUI.

Mục tiêu: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian chờ trước lọc rửa và thời gian cấy sau lọc rửa đến tỷ lệ thai lâm sàng của IUI.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu trên 437 chu kỳ IUI tại BV Mỹ Đức từ tháng 4/2014 đến tháng 7/2014. Bệnh nhân được kích thích buồng trứng bằng hMG hoặc FSH tái tổ hợp, lọc rửa tinh trùng bằng phương pháp ly tâm thang nồng độ và thực hiện IUI sau khi tiêm hCG 36-40 giờ. Yếu tố đánh giá kết quả là thai lâm sàng/chu kỳ.

Kết quả: Tỷ lệ thai lâm sàng là 22,4% (98/437). Nhóm có thời gian chờ trước khi lọc rửa $T0 \leq 60$ phút có tỷ lệ thai không khác biệt so với nhóm $T0 > 60$ phút (23,6% và 13,7%, $p=0,113$). Tỷ lệ thai của ba nhóm có thời gian cấy sau lọc rửa $T2 \leq 15$ phút, 16-60 phút và $T2 > 60$ phút không khác biệt, tuy nhiên tỷ lệ thai của $T2 \leq 15$ phút cao hơn đáng kể so với $T2 > 15$ phút (28,8% và 19,7%, $p=0,036$).

Kết luận: Kết quả của IUI không bị ảnh hưởng bởi thời gian chờ trước lọc rửa. Sau khi lọc rửa, tinh trùng cấy ở 37°C nên được tiến hành IUI trong vòng 15 phút đầu tiên để làm tăng tỷ lệ thai lâm sàng.

Từ khoá: Bơm tinh trùng vào buồng tử cung, thai lâm sàng, chuẩn bị tinh trùng, thời gian.

Abstract

THE INFLUENCE OF TIME INTERVALS BETWEEN EJACULATION AND SPERM PREPARATION AND BETWEEN

SPERM PREPARATION AND INSEMINATION ON THE CLINICAL PREGNANCY RATE OF INTRAUTERINE INSEMINATION

Introduction: The results of IUI depend on many factors including patient characteristics and the sperm preparation technique. In sperm preparation technique, the time intervals between ejaculation and washing and time culture before insemination are adjustable and may affect the successful rate of IUI.

Objective: to examine the influence of time intervals between ejaculation and sperm preparation ($T0$) and between sperm preparation and insemination ($T2$) on clinical pregnancy rate (CPR) of IUI.

Methods: This was a retrospective cohort study conducted at My Duc Hospital from April 2014 to July 2014. HMG or recombinant FSH was used for mild ovarian stimulation. After liquefaction, semen specimens were processing using density gradient centrifugation method. Insemination was carried out 36-40 hours after ovulation triggering. Outcome measure was clinical pregnancy rate /cycle (CPR).

Results: Total clinical pregnancy rate was 22.4% (98/437). CPR of two groups had $T0 \leq 60$ mins and $T0 > 60$ mins weren't significant different (23.6% versus 13.7%, $p=0.113$). CPR of groups had $T2 \leq 15$ mins, 16-60 mins and $T2 > 60$ mins weren't different. However, in cycles with $T2 \leq 15$ mins CPR was significant higher than cycles with $T2 > 15$ mins (28.8% versus 19.7%, $p=0.036$).

Conclusion: the time interval between ejaculation and sperm preparation has no influence on the clinical pregnancy rate of intrauterine insemination. After preparation, sperm specimens are incubated in 37°C should be performed in the first 15 minutes to improve CPR.

Key words: Intrauterine insemination, clinical pregnancy, sperm preparation, time interval

lâm sàng của bệnh nhân và các yếu tố thuộc về kỹ thuật chuẩn bị tinh trùng. Trong kỹ thuật chuẩn bị tinh trùng, thời gian là yếu tố có thể điều chỉnh được và có thể có ảnh hưởng đến tỷ lệ thành công của IUI [1], [2].

1. Đặt vấn đề

Bơm tinh trùng vào buồng tử cung (IUI) là một kỹ thuật đơn giản và hiệu quả được áp dụng rộng rãi nhất trong điều trị vô sinh hiện nay. Kết quả của IUI phụ thuộc vào nhiều yếu tố gồm các đặc điểm

Khả năng di động của tinh trùng trong tinh dịch có thể bị giảm theo thời gian do sự mất nước, thay đổi pH và ảnh hưởng của nhiệt độ. Tinh trùng sau khi lọc rửa xong được cấy ở 37°C trước khi IUI. Tuy nhiên, nếu thời gian cấy tinh trùng kéo dài có thể làm tinh trùng hao tổn năng lượng và có thể chưa đến được vị trí thụ tinh trong vòi trứng sau khi IUI [2].

Theo hướng dẫn của WHO [3], tinh trùng nên được lọc rửa trong vòng 60 phút từ lúc xuất tinh. Tuy nhiên, vẫn chưa có một hướng dẫn cụ thể về khoảng thời gian tốt nhất cho cấy tinh trùng sau lọc rửa. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự ảnh hưởng của thời gian từ lúc xuất tinh đến khi tiến hành lọc rửa ($T0$), thời gian từ lúc lọc rửa xong đến khi thực hiện bơm tinh trùng ($T2$) lên tỷ lệ thai lâm sàng của IUI.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu
Đối tượng nghiên cứu: bệnh nhân thoả các tiêu chuẩn nhận mẫu.

- **Tiêu chuẩn nhận:** Bệnh nhân thuộc nhóm chỉ định: vô sinh chưa rõ nguyên nhân, PCOS, rối loạn phóng noãn, tinh trùng OAT nhẹ (tổng tinh trùng di động sau lọc rửa $\geq 1 \times 10^6$)

- Tuổi người vợ ≤ 35
- Số chu kỳ điều trị ≤ 3
- Được kích thích buồng trứng với gonadotropins
- **Tiêu chuẩn loại:**
- IUI sử dụng tinh trùng trữ lạnh
- Có thực hiện IUI hai lần trong cùng một chu kỳ kích thích buồng trứng

Địa điểm và thời gian tiến hành nghiên cứu: nghiên cứu được thực hiện tại đơn vị hỗ trợ sinh sản, Bệnh viện Mỹ Đức từ tháng 4/2014 đến tháng 7/2014.

Phương pháp tiến hành

- **Kích thích buồng trứng:** Bệnh nhân được kích thích buồng trứng bằng hMG hoặc FSH tái tổ hợp. Nang noãn được theo dõi bằng siêu âm ngã âm đạo. Khi có nang đạt kích thước ≥ 18 mm, bệnh nhân được tiêm hCG để kích thích rụng trứng. Chu kỳ bị huỷ khi có > 5 nang phát triển để loại trừ nguy cơ quá kích buồng trứng và đa thai.

- **Chuẩn bị tinh trùng:** mẫu tinh dịch được thu nhận vào lọ vô trùng bằng phương pháp thủ dâm. Tinh dịch sau khi ly giải được đánh giá mật độ và độ di động trước khi được lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ không liên tục theo quy trình chuẩn (WHO 2010). Môi trường lọc sử dụng là Sil-select 45% và 90%, môi trường rửa là Ferticult Flushing

(FertiPro – Bi). Tinh trùng được lọc rửa và cô đặc ở thể tích 0,3ml. Trộn đều, tính mật độ và độ di động của tinh trùng sau lọc rửa và đặt trong tủ ấm 37°C trước khi IUI. Ghi nhận các mốc thời gian: giờ xuất tinh, giờ tiến hành lọc rửa, giờ hoàn thành lọc rửa, giờ bơm tinh trùng.

$T0$ = giờ bắt đầu lọc rửa – giờ xuất tinh (phút)
 $T2$ = giờ bơm tinh trùng – giờ hoàn thành lọc rửa (phút)
Tổng tinh trùng di động được IUI = $0.3 \times$ mật độ tinh trùng di động sau lọc rửa ($\times 10^6$)

- **Bơm tinh trùng vào buồng tử cung:** Sau khi tiêm hCG 36-40 giờ, bệnh nhân được bơm mẫu tinh trùng đã lọc rửa bằng catheter (Gynetics, Bi). Bơm tinh trùng được thực hiện bởi bác sỹ được đào tạo về IUI và có ít nhất 2 năm kinh nghiệm. Sau khi bơm tinh trùng 14 ngày, bệnh nhân được làm xét nghiệm máu định lượng nồng độ beta-hCG trong máu. Bệnh nhân có thai được thực hiện siêu âm 3 tuần sau đó. Thai lâm sàng trong nghiên cứu của chúng tôi được ghi nhận khi có ít nhất một tim thai khi siêu âm ở tuần thứ 8.

- **Hỗ trợ hoàng thể:** Bệnh nhân được chỉ định dùng thuốc progesterone đường âm đạo (Cyclogest, ACTAVIS UK LTD, United Kingdom) 100mg hai lần một ngày từ lúc IUI đến ngày thử thai

Yếu tố đánh giá kết quả: Tỷ lệ thai lâm sàng/chu kỳ.
Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 19.0. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Đạo đức nghiên cứu: Đây là một nghiên cứu hồi cứu số liệu, thông tin của bệnh nhân được ghi nhận và bảo mật do đó không gây ảnh hưởng đến bệnh nhân.

3. Kết quả

Từ tháng 4/2014 đến tháng 07/2014 có 437 chu kỳ điều trị IUI của 395 bệnh nhân đạt tiêu chuẩn nhận mẫu.

Đặc điểm bệnh nhân

Tuổi trung bình của bệnh nhân là $29,5 \pm 3,1$. Chỉ định IUI gồm vô sinh chưa rõ nguyên nhân (19,2%), PCOS (6,4%), rối loạn phóng noãn (7,3%), OAT nhẹ (67,1%). Vào ngày tiêm hCG, độ dày nội mạc tử cung là $10,8 \pm 1,9$ (mm), số nang có kích thước ≥ 14 mm là $1,8 \pm 1,1$. Trước khi lọc rửa, đặc điểm tinh trùng gồm thể tích $2,9 \pm 1,2$ (ml), mật độ trung bình $44,3 \pm 29,1$ ($\times 10^6$ /ml), di động tiến tới $33,8 \pm 10,4$ (%). Thời gian lọc rửa trung bình là $66,2 \pm 17,7$ (phút). Tổng tinh trùng di động được IUI, thời gian chờ trước lọc rửa và thời gian cấy sau lọc rửa có trung vị và khoảng tứ phân vị là lần lượt là $6,6 \times 10^6$ (4,8-12,0); $T0$: 33 (20-45) phút, $T2$: 22 (12- 40) phút. Tỷ lệ thai lâm sàng đạt được là 22,4%.

So sánh tỷ lệ thai của nhóm có thời gian chờ trước lọc rửa T0≤60 phút và T0>60 phút

Các chu kỳ được chia làm 2 nhóm có thời gian chờ trước lọc rửa T0 ≤60 phút và T0>60 phút. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về độ tuổi người vợ, độ dày nội mạc tử cung, số nang >14mm và tổng số tinh trùng di động được IUI (bảng 1). Tỷ lệ thai lâm sàng của nhóm T0 ≤60 phút cao hơn nhóm T0>60 phút. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Bảng 1. So sánh nhóm có thời gian chờ trước lọc rửa T0 >60 phút và ≤60 phút

Đặc điểm	≤60 phút n=386	>60 phút n=51	Pvalue
Tuổi vợ	29,5 ± 3,1	29,7 ± 3,3	0,565*
Độ dày nội mạc tử cung (mm)	10,8 ± 1,9	10,8 ± 2,0	0,895*
Số nang có kích thước ≥ 14mm	1,8 ± 1,1	1,8 ± 1,2	0,791*
Tổng tinh trùng di động sau lọc rửa (x10 ⁶ tinh trùng)	6,6 (4,8-12,0)	6,0 (3,3-11,4)	0,974**
Tỷ lệ thai lâm sàng (n, %/ chu kỳ)	91 (23,6%)	7 (13,7%)	0,113***

*Phép kiểm t-student; **Số liệu được mô tả bằng trung vị (khoảng tứ phân vị). Giá trị P được tính bằng Mann-Whitney U test. ***So sánh tỷ lệ thai giữa hai nhóm bằng chi bình phương.

Ảnh hưởng của thời gian cấy sau lọc rửa lên tỷ lệ thai

Không có sự khác biệt nào được ghi nhận về đặc điểm người vợ và tổng số tinh trùng di động được IUI (p>0,05). Tỷ lệ thai của ba nhóm lần lượt là 28,8%, 20,6% và 16,1% (p=0,084). So sánh hai nhóm có T2 ≤ 15 phút và T2 > 15 phút cho thấy, tỷ lệ thai lâm sàng của nhóm T2 ≤ 15 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với T2 >15 (28,8% và 19,7%, p=0,036).

Bảng 2. So sánh ba nhóm có T2≤15 phút 16-60 và >60 (phút)

Đặc điểm	≤15 phút (n=132)	16-60 phút (n=243)	>60 phút (n=62)	P
Tuổi vợ	29,1 ± 3,1	29,8 ± 3,2	29,1 ± 2,9	0,087*
Độ dày nội mạc tử cung (mm)	11,0 ± 1,9	10,7 ± 1,9	10,8 ± 1,9	0,305*
Số nang có kích thước ≥ 14mm	1,7 ± 1,1	1,9 ± 1,2	1,8 ± 1,2	0,205*
Tổng tinh trùng di động sau lọc rửa (x10 ⁶ tinh trùng)	6,6 (4,8-10,6)	6,6 (4,5-11,4)	9,0 (5,4-15,0)	0,213**
Tỷ lệ thai lâm sàng (n, %/ chu kỳ)	38 (28,8%)	50 (20,6%)	10 (16,1%)	0,084***

*Phép kiểm one way ANOVA; **Số liệu được mô tả bằng trung vị (khoảng tứ phân vị). Giá trị p được tính bằng Mann-Whitney U test. ***So sánh tỷ lệ thai giữa các nhóm bằng chi bình phương.

Bảng 3. So sánh nhóm có T2 ≤ 15 phút T2 > 15 (phút)

	≤15 phút	>15 phút	Pvalue
Số chu kỳ	132	305	
Tỷ lệ thai lâm sàng (n, %/ chu kỳ)	38 (28,8%)	60 (19,7%)	0,036

So sánh tỷ lệ thai giữa hai nhóm bằng chi bình phương.

4. Bàn luận

Ảnh hưởng của thời gian chờ trước lọc rửa lên tỷ lệ thai

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ thai không khác biệt khi thời gian chờ trước lọc rửa ≤ 60 phút và >60 phút (23,6% và 13,7%, p=0,113). Mặc dù, tỉ lệ có thai có khuynh hướng cao hơn ở nhóm thời gian trước rửa dưới 60 phút, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Chúng tôi kỳ vọng tỷ lệ thai của nhóm T0≤60 cao hơn so với nhóm T0>60 phút. Tuy nhiên, T0 của cả hai nhóm đều <120 phút, dường như quá ngắn để có ảnh hưởng bất lợi đến khả năng di động của tinh trùng. Theo nghiên cứu của Schulte và cộng sự (2008) [4] khảo sát trên 2313 mẫu tinh dịch, trong thời gian 2 giờ đầu tiên sau khi xuất tinh, độ di động của tinh trùng giảm trong khoảng 16% các trường hợp. Các nghiên cứu khác cũng cho rằng sự tăng độ phân mảnh tinh trùng có thể ảnh hưởng đến kết quả của IUI. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu ban đầu tại Trung tâm Nghiên cứu di truyền và sức khỏe sinh sản (Khoa Y-Đại học quốc gia TP.HCM, số liệu chưa công bố) cho thấy, độ phân mảnh của tinh trùng hầu như không có sự thay đổi trong 2 giờ đầu tiên sau khi xuất tinh. Điều này cho thấy tỷ lệ thai có thể không bị ảnh hưởng khi thời gian chờ lọc rửa trong vòng 2 giờ sau khi xuất tinh. Ngoài ra, sự khác biệt cũng có thể không đủ lớn để có ý nghĩa về mặt thống kê với cỡ mẫu ở 2 nhóm.

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy sau lọc rửa đến tỷ lệ thai

Nghiên cứu gần đây của Fauque (2014) [1] chứng minh rằng thời gian chờ từ khi lọc rửa xong đến khi IUI trong khoảng 40-80 phút có ảnh hưởng tốt lên tỷ lệ thai của IUI. Một nghiên cứu khác của Kılıcđag (2012) lại cho rằng tinh trùng nên được cấy ít nhất 30 phút ở 37°C [5]. Các tác giả vẫn chưa đưa ra những giải thích cho các đề nghị về thời gian cấy sau lọc rửa. Những đề nghị này có thể do sự khác nhau về kỹ thuật thực hiện hoặc những yếu tố khác thuộc về điều kiện phòng labo Nam học.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ thai lâm sàng của ba nhóm T2 ≤ 15, T2 16-60 và T2>60 lần lượt là 28,8%, 20,6% và 16,1% (p=0,084). Tuy nhiên, khi so sánh giữa hai nhóm có thời gian cấy T2 ≤ 15 phút và >15 phút, tỷ lệ thai của nhóm T2 ≤ 15 phút cao hơn đáng kể so với nhóm có T2 >15 phút (28,8% và 19,7%, p<0,05).

Thời gian nuôi cấy tinh trùng sau lọc rửa có thể cần thiết để thúc đẩy hiện tượng giải xoắn DNA

chuẩn bị cho sự thụ tinh của tinh trùng. Hiện tượng này có thể đạt trên 80% tinh trùng sau khi nuôi cấy 60 phút [6]. Nếu thời gian nuôi cấy quá dài có thể gây ảnh hưởng bất lợi cho tinh trùng. Quá trình lọc rửa giúp tinh trùng có thể được hoạt hoá sau lọc rửa trong môi trường in vitro. Nuôi cấy kéo dài làm tinh trùng tăng động sớm, hao tổn năng lượng và phản ứng khả năng hóa xảy ra quá sớm làm giảm hiệu quả thụ tinh (Yavas, 2004).

Điểm mạnh và điểm yếu của nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, tinh trùng được thu nhận và thực hiện bơm tinh trùng sau lọc rửa tại phòng IUI gần labo Nam học để tránh ảnh hưởng của sự thay đổi nhiệt độ. Tinh dịch được phân tích và lọc rửa cũng như thực hiện IUI bởi chuyên viên

labo/bác sỹ có kinh nghiệm. Tuy nhiên, do nghiên cứu hồi cứu nên những yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ thai như thời gian kiêng xuất tinh, ảnh hưởng của thời gian tiêm mũi rụng trứng và cặp vợ chồng có giao hợp hay không trước và sau ngày IUI đã không được ghi nhận lại.

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian chờ trước lọc rửa không có ảnh hưởng đến tỷ lệ thai. Sau khi lọc rửa, tinh trùng cấy ở 37°C nên được thực hiện IUI trong vòng 15 phút đầu tiên. Tuy nhiên, để đạt được độ mạnh, nghiên cứu nên được tiếp tục thực hiện với thiết kế ngẫu nhiên có nhóm chứng và loại trừ ảnh hưởng của các yếu tố khác.

Tài liệu tham khảo

1. Fauque P, Lehert P, Lamotte M, Bettahar-Lebugle K, Bailly A, Diligent C, Clédat M, Pierrot P, Guénédal ML, Sagot P. Clinical success of intrauterine insemination cycles is affected by the sperm preparation time. Fertil Steril. 2014 Jun;101 (6):1618-23
2. Yavas Y, Selub MR. Intrauterine insemination (IUI) pregnancy outcome is enhanced by shorter intervals from semen collection to sperm wash, from sperm wash to IUI time, and from semen collection to IUI time. Fertil Steril. 2004 Dec;82 (6):1638-47.
3. World Health Organisation. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 2010. 5th ed. WHO Press.
4. Schulte RT, Keller LM, Hiner MR, Ohi DA, Smith GD. Temporal decreases in sperm motility: which patients should have motility checked at both 1 and 2 hours after collection? J Androl. 2008 Sep-Oct;29 (5):558-63.
5. Kılıcđag EB, Bağış T, Haydardeđeođlu B, Tarım E, Aslan E, Erkanlı S, et al. The prognostic factors that could be effect pregnancy rates in intra uterine insemination (IUI) cycles. J Turk Soc Obstet Gynecol. 2005;2:223-8.
6. Hammadeh ME, Strehler E, Zeginiadou T, Rosenbaum P, Schmidt W (2001). Chromatin decondensation of human sperm in vitro and its relation to fertilization rate after ICSI. Arch Androl 47:83-7.