

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN THỊ MINH KHAI

**ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG
CHO BỆNH NHÂN THỤ TINH ỒNG NGHIỆM
TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG
GIAI ĐOẠN 2012 - 2014**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2017

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN THỊ MINH KHAI

**ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG
CHO BỆNH NHÂN THỤ TINH ÓNG NGHIỆM
TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG
GIAI ĐOẠN 2012 - 2014**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 62720131

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

GS.TS. Nguyễn Viết Tiến

HÀ NỘI - 2017

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Minh Khai nghiên cứu sinh khóa 31 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Sản phụ khoa xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Nguyễn Việt Tiến.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 20 tháng 9 năm 2017

Tác giả

Nguyễn Thị Minh Khai

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (TTON) đã mang lại niềm hạnh phúc làm cha mẹ cho nhiều cặp vợ chồng gặp khó khăn trong việc sinh con. Cùng với sự phát triển của kỹ thuật TTON, nhiều kỹ thuật phụ trợ khác cũng phát triển theo, một trong các kỹ thuật hỗ trợ cho kỹ thuật TTON là kỹ thuật trữ đông phôi. Trữ đông phôi giúp bảo quản được các phôi dư thừa, các phôi của bệnh nhân vì một lý do nào đó không thể chuyển phôi được như quá kích buồng trứng, niêm mạc tử cung không tốt cũng như các trường hợp không đưa được phôi vào buồng tử cung.

Hiện nay, chuyển phôi trữ đông là một trong những kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (HTSS) đang được áp dụng rộng rãi vì hiệu quả cao về cả tỷ lệ thành công cũng như tính kinh tế. Năm 1983, sự ra đời của em bé đầu tiên trên thế giới từ phôi trữ đông bằng kỹ thuật hạ nhiệt độ chậm (slow-freezing) đã đánh dấu một bước ngoặt lớn trong lĩnh vực TTON [1]. Cho đến nay, có hàng triệu trẻ sinh ra từ phôi trữ đông. Người ta nhận thấy, với chuyển phôi trữ đông, tỷ lệ có thai cộng dồn của một chu kỳ có kích thích buồng trứng (KTBT) được cải thiện đáng kể. Trong một báo cáo phân tích kết quả 3 năm liên tục tại Nhật, số liệu cho thấy tỷ lệ có thai tăng lên 8% khi kết hợp chu trình IVF có kích thích với chuyển phôi trữ đông [2]. Tiến bộ này làm chuyển phôi trữ đông ngày càng được áp dụng rộng rãi trong các trung tâm IVF (In vitro fertilization- thụ tinh ống nghiệm) trên toàn thế giới.

Tại Việt Nam, trữ đông phôi được triển khai thành công từ năm 2002 và cho đến nay ước tính đã có 2500 trẻ sơ sinh được ra đời từ chuyển phôi trữ đông tại các trung tâm IVF trên toàn quốc [3]. Đây là một con số đáng mừng, cho thấy chuyển phôi trữ đông đã và đang mang lại những cơ hội thành công lớn hơn cho những đợt điều trị IVF và sau thất bại của chuyển phôi tươi. Tại

Bệnh viện Phụ sản Trung ương (BVPSTW), một trong những trung tâm IVF lớn nhất Việt Nam, sự thành công của kỹ thuật này được đánh dấu bởi sự ra đời của hai em bé song sinh vào năm 2004 với tỉ lệ có thai là khoảng 30% mỗi năm. Có thể nói, chuyển phôi trữ đông là một kỹ thuật có nhiều ưu điểm, làm tăng tỷ lệ tận dụng phôi, tăng tỷ lệ có thai tích lũy, ngăn chặn hội chứng quá kích buồng trứng nặng trong chu kỳ kích thích buồng trứng. Tuy nhiên, kỹ thuật này cũng chịu nhiều ảnh hưởng của các yếu tố liên quan như: đặc điểm của bệnh nhân, các kỹ năng của bác sỹ lâm sàng, các yếu tố labo.

Tính đến nay, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu đề cập đến hiệu quả và các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của chuyển phôi trữ đông, trong khi vấn đề này là hết sức cần thiết đối với các ứng dụng thực tiễn của kỹ thuật, để có thể đưa ra các kiến nghị phù hợp, để nâng cao tối đa hiệu quả của chuyển phôi trữ đông. Xuất phát từ mục đích cũng như yêu cầu cấp thiết trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: ***“Đánh giá hiệu quả chuyển phôi trữ đông cho bệnh nhân thụ tinh ống nghiệm tại BVPSTW giai đoạn 2012 -2014”***, với ba mục tiêu nghiên cứu sau:

- Mục tiêu 1: Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng bệnh nhân chuyển phôi trữ đông được thực hiện tại BVPSTW giai đoạn 2012-2014.
- Mục tiêu 2: Đánh giá kết quả của chuyển phôi trữ đông.
- Mục tiêu 3: Phân tích một số yếu tố liên quan đến kết quả chuyển phôi trữ đông.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. TRỮ ĐÔNG PHÔI

1.1.1. Khái niệm về trữ phôi

Trữ đông là kỹ thuật nhằm lưu trữ các tế bào, các mô trong điều kiện nhiệt độ âm sâu, thường là -196°C . Tại nhiệt độ này, các hoạt động chuyển hóa, tổng hợp của tế bào sẽ bị ngưng trệ hoàn toàn.

Kỹ thuật đông lạnh và lưu trữ phôi trong ni-tơ lỏng được thực hiện thành công ở Việt Nam từ năm 2002. Năm 2003, trường hợp thai lâm sàng đầu tiên từ phôi trữ lạnh ở Việt Nam đã được báo cáo [4].

Phôi sẽ được cho tiếp xúc với các môi trường bảo vệ với nồng độ tăng dần. Sau đó, phôi sẽ được đưa vào buồng hạ nhiệt độ khoảng 2 giờ trước khi cho vào ni-tơ lỏng (phương pháp đông lạnh chậm) hoặc cho thẳng vào ni-tơ lỏng (phương pháp thủy tinh hóa).

Kỹ thuật trữ đông phôi giúp lưu trữ phôi ở giai đoạn trước khi làm tổ, trong ni-tơ lỏng trong thời gian nhiều năm.

1.1.2. Nguyên lý về trữ phôi

Nguyên tắc của trữ đông phôi là làm giảm nhiệt độ của môi trường chứa mẫu tế bào hay mẫu mô xuống nhiệt độ rất thấp, thường là 77K (độ Kelvin) hoặc -196°C (ni-tơ lỏng). Ở nhiệt độ thấp này, hầu hết các hoạt động sinh học bên trong tế bào bao gồm các phản ứng sinh hóa và hoạt động trao đổi chất bị ngừng lại. Nhờ đó, tế bào sống ở dạng tiềm sinh (không phát triển) và được bảo quản trong thời gian rất dài. Trong quá trình làm lạnh và rã đông, một số thay đổi trong môi trường chứa tế bào và cả trong bản thân tế bào có thể ảnh

hưởng đến cấu trúc, chức năng, sự toàn vẹn và khả năng sống của phôi sau rã đông.

Tương tự những loại tế bào khác, phôi cũng bị ảnh hưởng bởi ba dạng tổn thương chính xảy ra ở những khoảng nhiệt độ khác nhau trong suốt quá trình đông lạnh và rã đông. Trong khoảng nhiệt độ 15°C đến -5°C , nhiệt độ lạnh là yếu tố chính gây tổn thương tế bào, do làm phá hủy những giọt lipid trong bào tương và các cấu trúc vi ống (bao gồm thoi vô sắc). Từ -5°C đến -80°C , sự hình thành tinh thể đá nội bào và ngoại bào là nguyên nhân chính gây tổn thương tế bào. Tổn thương này được xem là nguy hiểm nhất đối với các loại tế bào được trữ đông nói chung, và đối với phôi nói riêng. Ở nhiệt độ từ -50°C đến -150°C , sự đứt gãy màng trong suốt (zona pellucida) hay màng bào tương là những tổn thương mà phôi phải trải qua trong giai đoạn này.

Trong quá trình rã đông, những dạng tổn thương đối với tế bào cũng xảy ra tương tự như trong quá trình đông lạnh nhưng theo trình tự ngược lại. Trong đó, quan trọng nhất là khả năng tái kết tinh (recrystallization), mà hậu quả là sự xuất hiện trở lại của các tinh thể đá nội bào khi nhiệt độ tăng trên -120°C . Do đó, trong quá trình rã đông, đa số các tác giả đều cho rằng cần phải vượt qua giai đoạn này một cách nhanh chóng để hạn chế việc gây thêm tổn thương cho tế bào.

Các biện pháp để hạn chế tổn thương cho phôi và làm tăng tỷ lệ sống của phôi sau rã đông cũng dựa trên hai yếu tố chính là sử dụng chất bảo vệ đông lạnh (cryoprotectant agents - CPA) và điều khiển tốc độ đông lạnh – rã đông. Sự hoạt động kết hợp của hai hay nhiều loại CPA (có khả năng thẩm thấu và không có khả năng thẩm thấu) giúp hạn chế được sự hình thành tinh thể đá nội bào, ổn định cấu trúc tế bào và màng tế bào trong quá trình hạ nhiệt độ [5].

1.1.3. Chỉ định trữ đông phôi

Phôi được chỉ định trữ đông trong các trường hợp:

- Trữ đông những phôi tốt còn dư sau khi đã chọn lựa phôi để chuyển cho bệnh nhân trong một chu kì điều trị IVF.
- Trữ đông trong chu kì KTBT bằng phác đồ antagonist có trường thành noãn bằng agonist.
- Tránh các chu kì có hội chứng quá kích buồng trứng (QKBT).
- Niêm mạc tử cung không thuận lợi cho việc chuyển phôi trong chu kì điều trị IVF, IVM, niêm mạc tử cung mỏng, dịch BTC, Polip BTC.
- Cải thiện tỉ lệ thành công của kĩ thuật trường thành noãn trong ống nghiệm (In vitro maturation- IVM) [6].
- Xin phôi.
- Với những phụ nữ chưa có điều kiện mang thai (do bệnh lý, do nghề nghiệp) xin lưu trữ phôi.
- Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ [7].
- Thành lập ngân hàng phôi.

1.1.4. Phương pháp trữ đông phôi

Một chu trình đông lạnh - rã đông bao gồm các công đoạn chính như (1) tiếp xúc với môi trường có CPA, (2) hạ nhiệt độ, (3) lưu trữ, (4) rã đông và (5) loại bỏ CPA để đưa tế bào về điều kiện sinh lý [8]. Dựa vào nồng độ CPA được sử dụng và tốc độ hạ nhiệt trong quá trình đông lạnh, về mặt kĩ thuật, người ta thường chia trữ đông phôi làm hai nhóm là hạ nhiệt độ chậm (slow – freezing) và thủy tinh hóa (vitrification).

a. Hạ nhiệt độ chậm (slow – freezing): Hạ nhiệt độ chậm còn được gọi là phương pháp trữ đông có kiểm soát tốc độ làm lạnh (controlled-rate freezing). Phương pháp này được Whittingham giới thiệu đầu tiên vào những năm đầu

thập niên 70 trên mô trình phôi chuột. Em bé đầu tiên từ phôi người trữ đông trên thế giới ra đời bằng phương pháp này được ghi nhận và năm 1983 [1].

Trong phương pháp hạ nhiệt độ chậm, mẫu tế bào được làm lạnh với tốc độ hạ nhiệt độ chậm ($1-3^{\circ}\text{C}/\text{phút}$) từ nhiệt độ sinh lý xuống nhiệt độ rất thấp (khoảng -80°C) trước khi đưa mẫu vào lưu trữ trong ni-tơ lỏng.

b. Thủy tinh hóa (vitrification)

- *Khái niệm:*

Trong kĩ thuật thủy tinh hóa, mẫu tế bào được cho thẳng vào ni-tơ lỏng ngay sau khi được cho trao đổi với CPA mà không qua giai đoạn hạ nhiệt độ từ từ. Em bé đầu tiên trên thế giới ra đời bằng kĩ thuật này được báo cáo vào năm 2002 [9].

Nguyên lý của kĩ thuật này được dựa trên tốc độ làm lạnh cực nhanh, do đó thể tích môi trường còn lại xung quanh phôi trước khi đông lạnh phải ở mức tối thiểu để mẫu tế bào nhanh chóng đạt nhiệt độ mong muốn [9]. Khi cần sử dụng phôi sẽ được rã đông.

1.1.5. Xu hướng lựa chọn phương pháp trữ đông hiện nay

Việc lựa chọn phương pháp nào phụ thuộc vào nhiều yếu tố như (1) hạn chế tối đa các thương tổn cho tế bào (2) khả năng hồi phục hoạt động sinh lý của tế bào (3) tính thuận tiện (4) tính đơn giản và khả năng chuyển giao kĩ thuật dễ dàng và (4) điều kiện cụ thể của từng labo.

Trong một thời gian khá dài, dù có những hạn chế về mặt hiệu quả nhưng hạ nhiệt độ chậm đã được xem là một phương pháp trữ đông chuẩn mực trong ngành công nghiệp chăn nuôi cũng như trong IVF trên người. Tuy nhiên, gần đây, trong hơn 500 bài tổng quan về kĩ thuật trữ lạnh, thủy tinh hóa chỉ không được ủng hộ trong một bài báo [10]. Ngày nay, thủy tinh hóa đã

được triển khai thường qui tại nhiều trung tâm IVF lớn trên thế giới và ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy thủy tinh hóa có hiệu quả hơn hạ nhiệt độ chậm trong trữ đông noãn, tinh trùng, hay phôi ở các giai đoạn khác nhau.

Trong một nghiên cứu so sánh hiệu quả của trữ lạnh tinh trùng bằng phương pháp hạ nhiệt độ chậm và thủy tinh hóa, đã cho thấy tỉ lệ tinh trùng di động sau rã đông là 72% (thủy tinh hóa) và 49% (hạ nhiệt độ chậm), $p < 0,05$ [11]. Hiệu quả vượt trội của thủy tinh hóa so với hạ nhiệt độ chậm trong trữ đông noãn cũng được chứng minh. Trong một nghiên cứu ngẫu nhiên có nhóm chứng, Cao và cộng sự năm 2009 cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ sống sau rã đông giữa hai nhóm noãn trữ lạnh bằng hạ nhiệt độ chậm và thủy tinh hóa (61% so với 91,8%, $p < 0,01$). Tỉ lệ thụ tinh ở hai nhóm là tương đương, nhưng tỉ lệ phôi phân chia ở nhóm hạ nhiệt độ chậm là 54.5%, thấp hơn so với 78% ở nhóm thủy tinh hóa. Kết quả cũng cho thấy tỉ lệ phôi có chất lượng tốt và tỉ lệ phôi nang cao hơn đáng kể ở nhóm sử dụng phương pháp thủy tinh hóa. Ngoài ra, khi đánh giá cấu trúc của thoi vô sắc, có 39,1% noãn bất thường ở nhóm hạ nhiệt độ chậm, so với 16.7% ở nhóm thủy tinh hóa [12].

Số liệu trong y văn thế giới cũng cho thấy trữ đông phôi bằng thủy tinh hóa có kết quả cao hơn hạ nhiệt độ chậm. Trong một báo cáo tổng quan hệ thống gần đây nhất, tỉ lệ phôi sống sau rã đông bằng thủy tinh hóa cao hơn so với hạ nhiệt độ chậm (OR=15.57; 95% CI=3.68-65,82; $p < 0.001$). Tỉ lệ có thai không được ghi nhận trong báo cáo này do số liệu chưa đủ [13]. Tuy nhiên, kết quả từ hai nghiên cứu ngẫu nhiên lâm sàng có nhóm chứng được báo cáo cho đến thời điểm hiện nay đều cho thấy tỉ lệ thai lâm sàng từ phôi trữ đông bằng thủy tinh hóa cao hơn so với hạ nhiệt độ chậm [10]. Sự phổ biến của thủy tinh hóa không chỉ thể hiện qua việc ngày càng có nhiều chu kì thủy tinh hóa được báo cáo, mà số trung tâm IVF có triển khai kĩ thuật này cũng đang

tăng nhanh [14]. Tất cả những dữ liệu trên cho thấy vai trò của thủy tinh hóa ngày càng được khẳng định.

Tại Việt Nam, trữ đông tinh trùng người trong tinh dịch đã được thực hiện từ những năm 1995. Việc triển khai trữ đông mô tinh hoàn trong các trường hợp vô sinh do bế tắc cũng đã được thực hiện thường qui, và các trẻ đầu tiên ra đời từ kỹ thuật này được báo cáo vào năm 2009 [15].

Vào năm 2002, trữ đông noãn, phôi trên người đã được triển khai và em bé đầu tiên tại Việt Nam từ phôi trữ đông được báo cáo vào năm 2003 [16], [17]. Trong giai đoạn này, phương pháp hạ nhiệt độ chậm được áp dụng rộng rãi tại Việt Nam. Đến năm 2006, thủy tinh hóa với phương pháp cryoleaf và cryotop được bắt đầu triển khai [16]. Từ năm 2007, kỹ thuật trữ đông phôi/noãn bắt đầu được thực hiện một cách thường qui tại các trung tâm IVF trong cả nước. Các ưu điểm của thủy tinh hóa so với hạ nhiệt độ chậm cũng đã được ghi nhận [18], [19]. Năm 2010, hệ thống kín trong thủy tinh hóa (cryopette) cũng bắt đầu được đưa vào sử dụng [4].

1.1.6. Tính an toàn của trữ đông phôi

Tính an toàn của trữ đông phôi cũng được khảo sát trong nhiều nghiên cứu. Những báo cáo về đặc điểm của trẻ ngay sau khi chào đời cho đến giai đoạn phát triển từ tháng thứ 5 đến tháng thứ 8 giữa nhóm trẻ sinh ra từ các chu kì phôi trữ đông và phôi tươi cho thấy tương đương nhau. Ngoài ra, hai cuộc khảo sát khác tập trung vào khả năng mắc dị tật và khả năng phát triển ở 254 trẻ từ 1-9 tuổi sinh ra từ phôi trữ đông cũng cho thấy không có sự khác biệt so với trẻ sinh ra tự nhiên [20]. Trữ đông phôi hiện nay được xem là một phần rất quan trọng và không thể thiếu trong một chương trình điều trị vô sinh bằng IVF. Tại Việt Nam, trữ đông phôi đã được triển khai thành công lần đầu tiên vào năm 2002 [4]. Đến nay, ước tính đã có trên 2.500 trẻ sinh ra từ phôi trữ đông tại Việt Nam.

1.1.7. Những rủi ro thường gặp trong trữ đông - rã đông phôi

- Kiểm soát chất lượng: là một vấn đề quan trọng trong labo IVF, giúp đảm bảo các hoạt động trong labo ở trạng thái ổn định, đúng chức năng.
- Kiểm tra lượng ni-tơ lỏng định kì trong thùng chứa phôi: cần có hệ thống báo động trong bình chứa khi mức ni-tơ thấp hơn mức an toàn.
- Hệ thống ghi tên bệnh nhân lên dụng cụ chứa phôi: chắc chắn, không bị phai, mất màu.
 - Vấn đề lây nhiễm chéo
 - Mất phôi trong khi thao tác.

1.2. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG PHÔI

1.2.1. Quá trình phát triển của phôi

Sau khi thụ tinh, hợp tử bắt đầu quá trình phân chia, tạo thành các tế bào nhỏ gọi là phôi bào. Quá trình này tương tự với quá trình nguyên phân ở tế bào sinh dưỡng trưởng thành. Tuy nhiên, giữa hai quá trình này có một điểm khác biệt quan trọng. Đó là sau khi phân chia, các tế bào sinh dưỡng con sẽ tiếp tục tăng trưởng cho đến khi đạt kích thước bằng với tế bào mẹ ban đầu. Sau đó, chúng mới bắt đầu phân chia tiếp tục. Ở tế bào phôi, các phôi bào phân cắt thành các phôi bào nhỏ hơn. Các phôi bào này lại tiếp tục phân chia mà không có sự tăng trưởng về kích thước.

Sau khi phân chia được khoảng 8 phôi bào, hiện tượng nén (compaction) giữa các phôi bào bắt đầu xuất hiện. Các phôi bào chuyển từ dạng hình cầu thành dạng hình cái nôm, nén chặt nhằm làm tăng sự tiếp xúc giữa các phôi bào. Sau đó, chúng hình thành các kênh liên kết, nối liền giữa các phôi bào với nhau. Phôi phân chia đến khoảng 16 phôi bào được gọi là phôi dâu (morula). Sau đó, bên trong khối phôi bào nén chặt này bắt đầu xuất hiện khoang chứa đầy dịch (blastocoele). Khoang này nở rộng nhanh chóng. Phôi ở giai đoạn này được gọi là phôi nang (blastocyst).

1.2.2. Đánh giá chất lượng phôi bằng hình thái

Tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản, việc chọn lựa phôi tiềm năng để chuyển phôi là mối quan tâm hàng đầu của các chuyên viên phôi học. Phôi tiềm năng được định nghĩa là phôi hội tụ đủ 04 yếu tố sau:

- Có thể phát triển thành phôi nang vào ngày 05
- Có khả năng làm tổ trong buồng tử cung
- Có thể phát triển thành thai lâm sàng, diễn tiến
- Sẽ phát triển và tạo thành một em bé khỏe mạnh

Việc lựa chọn phôi để chuyển được dựa trên một số đặc điểm của trứng và phôi bào, gồm hình thái trứng, đặc điểm tiên nhân, tốc độ trao đổi chất, sự biến dưỡng, chẩn đoán tiên làm tổ. hình thái phôi, hình ảnh phát triển của phôi được ghi nhận bằng hệ thống time-lapse,... Trong các đặc điểm này, hình thái phôi được xem là tiêu chuẩn phổ biến nhất được dùng để đánh giá và phân loại phôi.

1.2.2.1. Giai đoạn phân chia sớm

Khoảng 23 – 29 giờ sau khi ICSI, hợp tử bắt đầu phân chia lần thứ nhất tạo ra phôi hai tế bào. Nhiều nghiên cứu ghi nhận rằng những phôi phân chia sớm thành hai tế bào (khoảng 25 giờ sau ICSI (Intracytoplasmic sperm injection- Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn) và có hình thái tốt thường có khả năng thụ thai cao.

Theo nghiên cứu của Lundin và cs (2001) [21], Sakkas và cs (1998 và 2001) [22]: giai đoạn phân chia sớm có liên quan đến hình thái phôi và số lượng phôi nhiều hơn vào ngày chuyển phôi.

Warnes và cs (2004) thấy rằng giai đoạn phân chia phôi sớm là tiêu chuẩn tiên đoán sự phát triển đến phôi nang và có thai. Sự đánh giá phôi giai đoạn phân chia sớm được thực hiện vào khoảng 23 – 26 giờ sau ICSI và 25

– 28 giờ sau IVF. Trung bình khoảng 1% phôi có tiền nhân sẽ tiến đến giai đoạn 2 tế bào khoảng 20 giờ sau thụ tinh, 5% vào lúc 24 sau thụ tinh và 38% vào lúc 27 giờ. Phôi xuất hiện tiền nhân sớm có thể ngày một sẽ phân chia thành hai tế bào sớm (trước 24 giờ sau thụ tinh).

Ngoài ra, sự hiện diện của nhiều nhân trong phôi bào cũng là một tiêu chuẩn đánh giá quan trọng. Theo lý thuyết, mỗi phôi bào chỉ chứa một nhân. Tuy nhiên, trong giai đoạn phân chia sớm vẫn có sự hiện diện của phôi bào đa nhân (Multinucleated Blastomere –MNB). Phôi bào đa nhân có thể xuất hiện trong bất kì thời điểm nào trong giai đoạn phân chia đầu tiên, ở phôi 2 tế bào nhiều hơn phôi ở giai đoạn sau. Phôi bào đa nhân có thể là kết quả của phân chia nhiễm sắc thể nhưng không phân chia bào tương hoặc từ mảnh vỡ của nhân hoặc sự di chuyển bất thường của nhiễm sắc thể trong suốt giai đoạn anaphase. Khả năng làm tổ của những phôi này thấp và nguy cơ sảy thai cao nếu những phôi này có làm tổ, do đó, người ta thường không sử dụng các phôi có chứa phôi bào đa nhân để chuyển vào buồng tử cung người phụ nữ [23], [24].

1.2.2.2. Phôi ngày hai:

Việc đánh giá chất lượng phôi dựa trên tiêu chuẩn: số lượng phôi bào, kích thước, độ đồng đều của các phôi bào, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương [25], [26]. Tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản tại Việt Nam, phôi được đánh giá qua việc chấm điểm phôi (theo tiêu chuẩn đồng thuận Alpha 2010) [27].

- Phôi độ I: + Các phôi bào đều - số lượng từ 2 đến 6
+ Ít mảnh vỡ, bào tương sáng
- Phôi độ II: + Số phôi bào lẻ, hình dáng không đều
+ Màu sáng bào tương hơi sậm
+ Tỷ lệ mảnh vỡ < 15%

- Phôi độ III: + Kích thước phôi bào không đều nhau
- + Tỷ lệ mảnh vỡ $\geq 20\%$
- + Không chia, phôi bào đa nhân

1.2.2.3. Phôi ngày 3

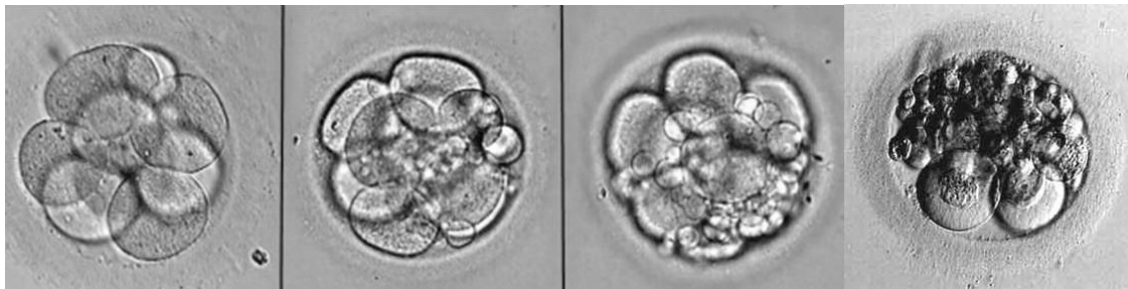
Phôi được phân độ từ 1 - 4 dựa trên hình thái phôi qua các tiêu chuẩn như số lượng phôi bào, độ đồng đều của phôi bào và tỉ lệ mảnh vỡ tương tự phôi ngày 2 (Hình 3) [28].

- Độ 1: phôi 8 tế bào, $< 10\%$ mảnh vỡ, các phôi bào liên kết rất tốt, không có phôi bào nào đa nhân.

- Độ 2: phôi 8 tế bào, 10 - 20% mảnh vỡ các mối liên kết yếu, không có phôi bào nào đa nhân.

- Độ 3: phôi 6, 7 hoặc 8 tế bào, 20% mảnh vỡ hoặc các phôi bào không đều nhau, không có phôi bào nào đa nhân.

- Độ 4: hơn 8 tế bào, hoặc 4 - 6 tế bào hoặc 8 tế bào với trên 20% mảnh vỡ hoặc các phôi bào không đều nhau hoặc có phôi bào đa nhân.



Độ 1

Độ 2

Độ 3

Độ 4

Hình 1.1: Phân độ phôi ngày 3 [28]

1.2.2.4. Phôi giai đoạn nén

Vào ngày thứ 4 sau thụ tinh, phôi bắt đầu nén hoặc đã hoàn tất quá trình nén chặt (compacted). Ở giai đoạn này không thể đếm được số lượng phôi bào. Phôi đang nén được đánh giá là C1, hoàn tất quá trình nén chặt là C2. Ở

phôi đang nén chặt, quá trình nén chưa hoàn tất, một vài phôi bào có thể quan sát được. Ở phôi C2 không thể quan sát được từng phôi bào. Trong một số trường hợp, hiện tượng nén có thể được quan sát thấy vào chiều ngày 3 sau thụ tinh. Tuy nhiên vào ngày 3 các phôi bào vẫn có thể được quan sát, đếm số lượng tế bào và được đánh giá theo tiêu chuẩn của phôi giai đoạn nén [29].

1.2.2.5. Phôi nang

- *Đánh giá bước 1: dựa vào khoang phôi nang và hiện tượng thoát màng.*
 - Giai đoạn 1: phôi nang giai đoạn sớm (early blastocyst): Khoang dịch chiếm dưới $\frac{1}{2}$ tổng thể tích của phôi.
 - Giai đoạn 2: phôi nang (blastocyst): Khoang dịch chiếm trên $\frac{1}{2}$ tổng thể tích của phôi.
 - Giai đoạn 3: phôi nang đầy (full blastocyst) : Khoang dịch chiếm hầu hết thể tích của phôi.
 - Giai đoạn 4: phôi nang rộng (expanded blastocyst): Khoang dịch phát triển rộng làm cho màng trong suốt bắt đầu mỏng dần.
 - Giai đoạn 5: phôi nang đang thoát màng (hatching blastocyst): nguyên bào lá nuôi bắt đầu thoát ra khỏi màng trong suốt.
 - Giai đoạn 6: phôi nang đã thoát màng (hatched blastocyst): phôi nang đã hoàn toàn thoát ra khỏi màng trong suốt.
- *Đánh giá bước 2:*

Đối với phôi nang từ độ 2 đến độ 6, cần phải đánh giá bước 2 dưới kính hiển vi đảo ngược về đặc điểm mầm phôi và nguyên bào lá nuôi như sau:

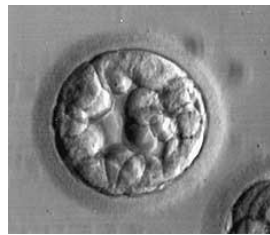
➤ Đánh giá mầm phôi:

- ✓ Loại A: = khi có rất nhiều tế bào liên kết chặt chẽ;
- ✓ Loại B: = khi vài tế bào liên kết lỏng lẻo.

- ✓ Loại C: = khi có rất ít tế bào.
- ✓ Loại D: = không nhìn thấy mầm phôi.

➤ Đánh giá tế bào lá nuôi:

- ✓ Loại A: = nhiều tế bào liên kết tạo thành biểu mô kết.
- ✓ Loại B: = vài tế bào tạo thành biểu mô rời rạc.
- ✓ Loại C: = có vài tế bào lớn.



Phôi nang giai đoạn sớm



Phôi nang



Phôi nang đầy



Phôi nang rộng



Phôi nang đang thoát màng



Phôi nang đã thoát màng

Hình 1.2. Các giai đoạn của phôi nang [29]

Trong điều kiện lý tưởng nhất, phôi được xem là có chất lượng tốt khi:

- 18 - 19 giờ sau ICSI, hợp tử được kiểm tra các tiêu chuẩn: tính đối xứng, sự hiện diện của các tiền nhân (NPBs), vị trí của thể cực và có chất lượng được ghi nhận là Z1.
- 25 - 26 giờ sau ICSI, phôi đã hoàn tất quá trình phân bào đầu tiên và có hai tế bào. Mỗi tế bào chứa một nhân bên trong.

- 42 - 44 giờ sau ICSI, phôi có 4 phôi bào trở lên, tỉ lệ phân mảnh nhỏ hơn 20% không có phôi bào đa nhân.
- 66 - 68 giờ sau ICSI, phôi có 8 tế bào trở lên, không có phôi bào đa nhân tỉ lệ phân mảnh nhỏ hơn 20%.
- 106 - 108 giờ sau khi ICSI, khoang phôi nang chứa đầy dịch, khối tế bào bên trong nén chặt, lá nuôi phôi gồm nhiều tế bào dính chặt với nhau.

1.2.3. Đánh giá chất lượng phôi sau trữ đông

Phôi có thể được trữ đông ở 3 giai đoạn: giai đoạn tiền nhân, giai đoạn phân chia (ngày 2 hay ngày 3), giai đoạn phôi nang. Ngoài những đặc tính khách quan như loại CPA sử dụng, tốc độ làm lạnh và rã đông, thì tỉ lệ giữa diện tích bề mặt (Surface area-S) và thể tích (Volume-V) của phôi là một đặc tính sinh học chủ quan có vai trò rất lớn trong việc quyết định tỉ lệ sống của phôi sau rã đông. Tỷ lệ S/V của tế bào phôi càng thấp thì khả năng sống của phôi càng cao [30]. Những phôi ở giai đoạn phân chia càng muộn thì sức sống càng kém sau rã đông [30], [31]:

- *Phôi giai đoạn tiền nhân*: có tỷ lệ sống sau rã đông cao hơn nhưng khả năng làm tổ lại thấp hơn so với phôi ở giai đoạn phân chia và phôi nang [31], [32].

- *Phôi giai đoạn phân chia (2-8 tế bào)*: phôi trữ đông ở giai đoạn này có tỷ lệ sống và làm tổ sau rã đông khá tốt, đồng thời tương đối thuận lợi cho người thực hiện vì không đòi hỏi chính xác thời điểm trữ đông phôi. Tỷ lệ thành công với phôi giai đoạn phân chia được ghi nhận từ 11 -30% [6], [33].

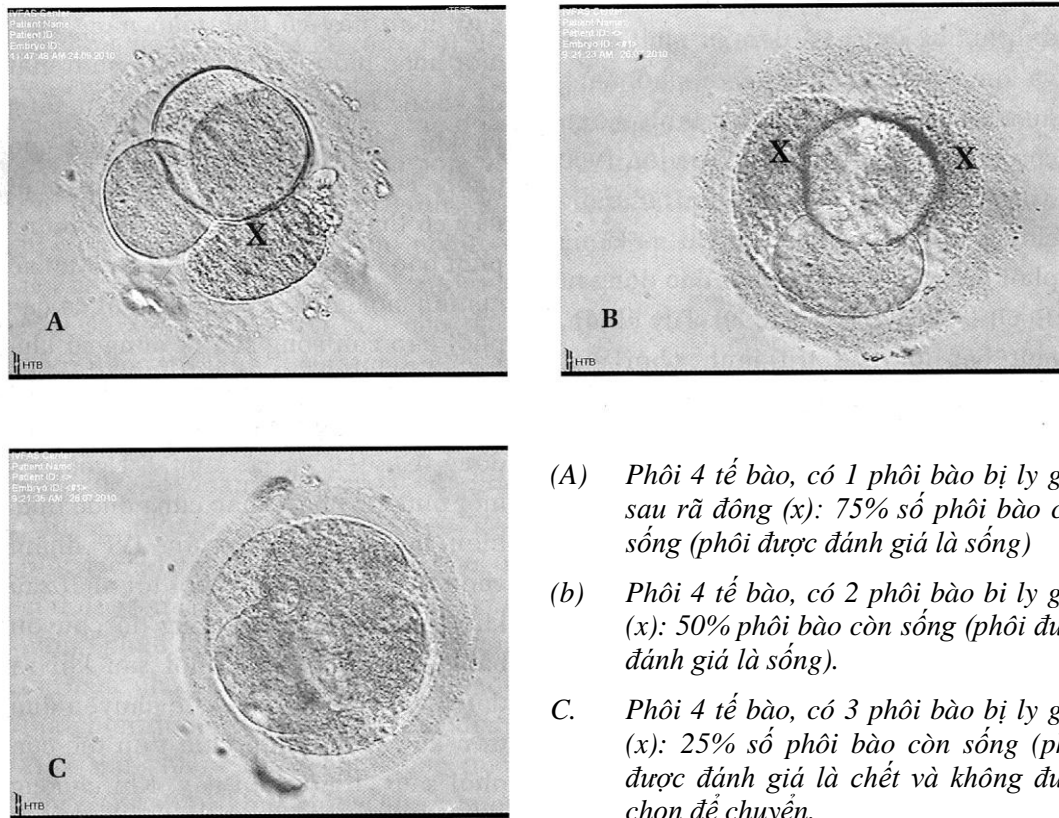
- *Phôi giai đoạn phôi nang (blastocyst)*: tỷ lệ thai lâm sàng chung trên thế giới sau khi rã đông phôi nang và chuyển phôi giao động từ 30-50% [6], [34]. Tuy nhiên, một bất lợi của trữ lạnh phôi giai đoạn ngày 5 là phải

xây dựng được qui trình nuôi cấy phôi đến phôi nang hiệu quả và có nguy cơ không có phôi chuyển hay phôi dư để trữ lạnh [35].

Việc đánh giá chất lượng phôi sau rã đông dựa vào tỷ lệ phôi sống sau rã đông, tỷ lệ chu kì có phôi sống sau rã đông, và phương pháp đông phôi. Trong một báo cáo tổng quan hệ thống gần đây nhất, tỷ lệ phôi sống sau rã đông bằng phương pháp thủy tinh hóa cao hơn so với phương pháp hạ nhiệt độ chậm. Tỷ lệ thai lâm sàng bằng thủy tinh hóa cũng cao hơn so với hạ nhiệt độ chậm. Theo kết quả khảo sát của những phôi có tỉ lệ mảnh vỡ tế bào lớn (từ 20% trở lên so với thể tích tổng thể của phôi), cho thấy trên 70% số phôi này mang những đặc điểm và hình thái của sự chết tế bào theo chương trình [36].

- *Đối với phôi giai đoạn tiền nhân (2 pronuclear-2PN):* phôi được xem là còn sống sau rã đông khi phôi còn giữ được màu sắc vàng sáng và hình ảnh hai tiền nhân rõ như trước khi trữ đông, đồng thời phôi 2PN có khả năng hòa nhân và phân chia thành 2 hay nhiều hơn 2 tế bào sau 24 giờ nuôi cấy tiếp theo [32].

- *Đối với phôi giai đoạn phân chia:* Một phôi ở giai đoạn phân chia được xem là còn sống sau rã đông khi có từ 50% số phôi bào còn nguyên vẹn trở lên. Các nghiên cứu trên phôi người sau trữ đông và rã đông của tỷ lệ làm tổ và có thai của những phôi sống 100% cao gấp 3 lần so với những phôi sống nhưng có 1 hoặc một vào phôi bào bị ly giải (11,4% so với 3,5%) [6]. Tỷ lệ làm tổ của những phôi này tương tự với tỷ lệ làm tổ của phôi tươi.



- (A) Phôi 4 tế bào, có 1 phôi bào bị ly giải sau rã đông (x): 75% số phôi bào còn sống (phôi được đánh giá là sống)
- (b) Phôi 4 tế bào, có 2 phôi bào bị ly giải (x): 50% phôi bào còn sống (phôi được đánh giá là sống).
- C. Phôi 4 tế bào, có 3 phôi bào bị ly giải (x): 25% số phôi bào còn sống (phôi được đánh giá là chết và không được chọn để chuyển).

Hình 1.3. Phôi bào bị ly giải sau trữ đông [3]

Ngoài ra, việc đánh giá chất lượng phôi còn dựa trên khả năng phân chia tiếp tục của phôi sau 24 giờ nuôi cấy.

Đối với phôi nang: phôi giai đoạn này không thể đánh giá được khả năng sống dựa vào số phôi bào trong phôi còn sống. Một phôi nang được đánh giá là sống khi kích thước khoang phôi nang (Blastocoel) phình to trở lại như trước khi trữ đông khoảng 1 giờ sau rã đông [35].

1.3. CHUẨN BỊ NIÊM MẠC TỬ CUNG TRONG CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

1.3.1. Sinh lý NMTC

Niêm mạc tử cung (NMTC) là tổ chức đích của hormone sinh dục, cho nên nó chỉ hoạt động dưới tác động trực tiếp của hormone này. Nếu thiếu các

hormone sinh dục, NMTC chỉ là một mô nghi ngại, gần như teo, chỉ dày 1/10 đến 1/20mm, cấu tạo gồm vài tuyến rải rác trong mô đệm chứa các tế bào nằm yên và không phân bào. Sự tiến triển của NMTC chịu ảnh hưởng của estradiol (E2) thường trực xen kẽ với progesterone (P4). Hai hormone này có tác dụng đối kháng nhau trên NMTC qua trung gian các thụ thể nội tiết đặc hiệu: 17β – Estradiol và P4. Số lượng thụ thể của hai loại tăng dần trong giai đoạn tiền phóng noãn dưới ảnh hưởng của 17β – Estradiol bùng nổ và giảm dần trong giai đoạn hoàng thể dưới tác dụng của P4 hoàng thể.

Estrogens là nội tiết tăng trưởng, có khả năng tác động lên NMTC ngay cả khi không bị kích thích vì dưới ảnh hưởng của 17β – Estradiol, các thụ thể riêng biệt dành cho nó xuất hiện. Estrogens làm cho NMTC tăng trưởng về chiều dày, tăng sinh và kéo dài các ống tuyến nhưng vẫn thẳng, tăng sinh mô đệm, kích thích biệt hóa các mao mạch để cung cấp máu. Cường độ các thay đổi này có lẽ phụ thuộc vào số lượng estrogens lưu hành trong máu.

P4 ngược lại không có tác động trên NMTC nghi ngại, muốn có P4 có tác dụng thì NMTC phải được estrogens tác động trước đó. Chính 17β - Estradiol ở pha tiền phóng noãn trước làm hình thành và gia tăng thụ thể với P4.

Estrogens còn được chế tiết ở giai đoạn hoàng thể và thực tế, tác động của P4 trên NMTC là kết quả của tác động kép Estro - Progestatif. Sự xuất hiện của P4 ở giai đoạn hoàng thể sẽ làm giảm thụ thể với cả hai loại hormone này.

Tác động kép của P4 trên NMTC bao gồm:

- *Tác dụng kháng estrogens, kháng tăng trưởng*: biểu hiện trên các tuyến cũng như trên mô đệm, làm ngưng phân bào ở tất cả các mức độ. Tác dụng này là do giảm thụ thể với 17β - Estradiol.

- Tác dụng đặc hiệu ở 3 vị trí:

Tuyến: Gây chế tiết trong tế bào tuyến. Glycogen hình thành ở đáy tế bào, tiến dần về cực đỉnh, tăng dần thể tích đẩy nhân tế bào về cực đáy và cuối cùng đổ vào lòng tuyến.

Mô đệm: gây phù nề mô đệm, tế bào bề mặt mô đệm phồng lên như chuyển dạng thành màng rưng, đẩy các gai liên kết nâng được biểu mô ống tuyến khiến chúng có dạng răng cưa.

Mạch máu: làm thành các tiểu động mạch dày lên giống các vòi xoắn nên có tên là tiểu động mạch xoắn.

Tóm lại dưới tác động của Estro - progestatif đầy đủ thì NMTC chịu một chuỗi các biến đổi theo hai mặt: một mặt có khả năng để phôi làm tổ vài ngày sau thụ tinh, mặt khác nếu không có thụ tinh thì chuẩn bị cho NMTC rụng đi (estradiol được BTC tiết chế liên tục với hàm lượng thay đổi còn P4 chỉ được tiết khi có hoàng thể sau phóng noãn).

1.3.2. Giai đoạn “cửa sổ làm tổ của phôi”

Sự chấp nhận của NMTC là điều kiện cần để tiếp nhận phôi bám dính và làm tổ. Không phải bất cứ thời điểm nào trong giai đoạn phát triển của NMTC phôi cũng có thể bám dính và phát triển, ngoại trừ một giai đoạn ngắn gọi là “cửa sổ làm tổ của phôi” [37]. Trong chuyển phôi trữ đông, việc theo dõi sự phát triển của NMTC có một vai trò quan trọng đối với sự thành công của kỹ thuật.

Phôi làm tổ cần có sự chấp nhận của NMTC. Sự chấp nhận của NMTC đòi hỏi phải có sự hiện diện của 2 hormone E2 và P4 với một tỷ lệ thích hợp nào. NMTC phải ở giai đoạn tiết chế (progestational phase) với sự hỗ trợ của hoàng thể. Có thể nhận thấy tác động của P4 lên NMTC 2 – 3 ngày sau phóng noãn. Mô đệm niêm mạc sung mọng, các ống tuyến và các cuộn xoắn chia

niêm mạc ra thành 3 lớp: lớp kết đặc (compact layer) ở bề mặt, lớp xốp (spongy layer) ở giữa và lớp đáy mỏng (basal layer). Các tuyến niêm mạc thường hoạt động tiết chế, trong đó có mucin, glycogen. Các cuộn xoắn tạo thành giương mao mạch dày đặc bên dưới niêm mạc. Niêm mạc lúc này trở nên phù nề, có màu xám hồng và sẵn sàng cho việc chuẩn bị NMTC vì rõ ràng có nhiều trường hợp có sự chế tiết của 2 hormone nhưng lại là bất thường như giai đoạn tăng sinh bình thường nhưng giai đoạn tiết chế ngắn, có hiện tượng hoàng thể hóa ở BTC mà không có hiện tượng phóng noãn (hoàng thể hóa nang noãn) hoặc giai đoạn hoàng thể hóa ngắn hoặc giai đoạn tăng sinh ngắn hoặc do có một nang noãn quá mắn cảm mà hậu quả gây ra là rối loạn xuất huyết tử cung [38].

Nhiều nghiên cứu đã cho thấy tỉ lệ thích hợp trong giai đoạn “cửa sổ làm tổ” của phôi giữa E2 và P4 là 7.63 ± 12.22 (pmol/l và nmol/l). Mốc để tính thời điểm “cửa sổ làm tổ của phôi” bắt đầu có sự sản xuất hay sử dụng P4. Độ dài của cửa sổ này thay đổi khoảng 48 – 84 giờ kể từ mốc trên.

Việc phôi vào làm tổ trong NMTC vào đúng giai đoạn “cửa sổ làm tổ” sẽ làm tăng tỷ lệ có thai, qua đó tăng tỷ lệ thành công của các kỹ thuật HTSS nói chung và chuyển phôi trữ lạnh nói riêng, biểu hiện độ dày và hình thái NMTC.

Trong quá trình chuẩn bị NMTC, cần phải có đánh giá và theo dõi NMTC bằng việc sử dụng siêu âm đầu dò âm đạo. Phương pháp này chính xác, thuận tiện, đơn giản và dễ áp dụng. NMTC được đánh giá theo hai tiêu chuẩn là độ dày và hình ảnh của NMTC. Ngoài ra còn đánh giá bằng các đo thể tích buồng tử cung, nếu thể tích trên 0,8ml thì tỉ lệ thụ thai thấp.

- Về độ dày của NMTC: ở đầu chu kỳ kinh, hay thời điểm bắt đầu sử dụng E2, NMTC mỏng, chỉ khoảng 5mm sau đó phát triển dần lên, tăng dần vào giữa chu kỳ và thời điểm có phóng noãn hay thời điểm bắt đầu sử

dụng P4, nội mạc dày 10 -14mm và dày lên thêm ở giai đoạn sau. Phương pháp đo nội mạc thường là đo trên mặt phẳng siêu âm theo trục dọc giữa của tử cung, đo từ chỗ tiếp giáp với lớp đáy của NMTC với cơ tử cung của một bên đối xứng với bên kia.

- Ngưỡng độ dày NMTC trên thực tế phải trên 10mm mới có thể chấp nhận cho chuyển phôi. Nếu dưới ngưỡng này thì tỉ lệ thai lâm sàng giảm còn một nửa. Ngoài ra người ta còn đo độ dày của lớp màng đáy của NMTC (lớp tiếp giáp với cơ tử cung), nếu lớp này dày trên 2 - 3mm là không tốt.

- Hình ảnh NMTC: hình ảnh đẹp nhất là hình “hạt cà phê” hay dạng ba lá với 3 đường tăng âm và 2 vùng giảm âm. Trường hợp lòng tử cung có xuất huyết hoặc ứ dịch thì coi như kỹ thuật chuẩn bị thất bại. Người ta cho rằng, xuất huyết hoặc ứ dịch sẽ làm mất các pinopod - các điểm nhận để cho phôi bám dính. Lúc này phải tìm ra nguyên nhân do sử dụng thuốc, do viêm nhiễm,... trước đó có thể đã bỏ sót trong quá trình khảo sát.

Một phương pháp nữa để đánh giá NMTC mà ngày nay không còn sử dụng là sinh thiết NMTC do tính xâm lấn cao của phương pháp, gây đau và có thể ảnh hưởng đến quá trình chuyển phôi cũng như làm tổ của phôi (do nhiễm trùng, tổn thương NMTC). Ta cũng có thể xét nghiệm nội tiết để xác định tỷ lệ E2/P4 xem có phù hợp giai đoạn cửa sổ làm tổ của phôi hay không.

Một phương pháp khác trong theo dõi sự phát triển của NMTC là siêu âm màu Doppler. Phương pháp này cho phép xác định sự tưới máu tới các vùng của NMTC từ động mạch tử cung bằng cách đo các chỉ số RI (Resistance Index – chỉ số trở kháng) và chỉ số PI (Pulsatility Index). Nếu chỉ số RI thấp thì đó là dấu hiệu tốt [39], [40], [41].

1.3.3. Các phác đồ chuẩn bị NMTC

Chuẩn bị NMTC được xem là một khâu quan trọng trong qui trình chuyển phôi trữ đông. Đây là một kỹ thuật sử dụng nội tiết ngoại sinh hay theo dõi sự thay đổi nội tiết nội sinh của cơ thể để tạo được sự chấp nhận của NMTC đối với phôi trữ đông sau khi được rã đông và chuyển vào buồng tử cung.

Trong cơ thể người, NMTC là nơi duy nhất mà không phải ở bất kỳ thời điểm nào, phôi cũng có thể bám dính và phát triển, ngoại trừ ở một giai đoạn ngắn có sự chấp nhận của NMTC hay còn gọi là “cửa sổ làm tổ” của phôi. Do đó, xác định thời điểm chuyển phôi để trùng vào thời điểm “cửa sổ làm tổ” của phôi vào NMTC là mấu chốt của kỹ thuật chuẩn bị NMTC.

Có nhiều phương pháp để chuẩn bị NMTC trong một chu kỳ chuyển phôi trữ đông, trong đó có 3 phương pháp chính: chu kỳ tự nhiên, sử dụng nội tiết ngoại sinh, và kích thích buồng trứng.

1.3.3.1. Chu kỳ tự nhiên

Phương pháp này không cần sử dụng nội tiết ngoại sinh để chuẩn bị NMTC, thường được áp dụng cho những bệnh nhân trẻ tuổi, có phóng noãn đều đặn và có điều kiện theo dõi nội tiết và siêu âm mỗi ngày. Từ ngày thứ 6 của chu kỳ kinh, bệnh nhân được bắt đầu định lượng LH trong máu hay trong nước tiểu mỗi ngày vào một giờ nhất định, thường là vào buổi sáng. Kết quả sẽ được điền vào một biểu đồ để có thể kịp thời phát hiện thời điểm khởi phát đỉnh LH. Khi có xuất hiện nang vượt trội ở buồng trứng, bệnh nhân được siêu âm theo dõi bằng đầu dò âm đạo và kết hợp với định lượng LH để xác định đỉnh LH và sự phóng noãn, Khi nồng độ LH trong máu tăng đến 20mIU/ml cần định lượng LH mỗi 12 tiếng để xác định đỉnh LH và chuyển phôi trữ sẽ được tiến hành vào khoảng 84 giờ sau thời điểm khởi phát đỉnh LH.

Phương pháp này tiết kiệm được chi phí sử dụng thuốc để chuẩn bị NMTC. Tuy nhiên, đối tượng áp dụng được chu kỳ tự nhiên là rất ít vì tốn thời gian, phiền hà do cần phải theo dõi sát mỗi ngày và quan trọng là kết quả định lượng nội tiết phải chính xác, ổn định và có kết quả ngay.

1.3.3.2. Sử dụng nội tiết ngoại sinh

Phương pháp này sử dụng kết hợp estradiol và progesterone để chuẩn bị NMTC, cách này thường thuận tiện cho cả bệnh nhân và bác sĩ do không cần phải theo dõi thường xuyên và chi phí cũng không cao.

Liều estradiol trong pha nang noãn được sử dụng có thể thay đổi cho giống với chu kỳ tự nhiên (Provames, Progynova từ 2-6mg/ngày) hay liều được giữ cố định suốt pha nang noãn với tỉ lệ thai lâm sàng không khác nhau. Thời gian sử dụng estradiol thông thường là 10-12 ngày để tạo điều kiện cho NMTC được tiếp nhận và phát triển đầy đủ với estradiol.

Progesterone có thể được sử dụng đường đặt âm đạo (Utrogestan 300 – 600mg/ngày) hay đường tiêm bắp (Progesterone 50-100mg/ngày).

NMTC được đánh giá qua siêu âm đầu dò âm đạo. Để đánh giá sự đáp ứng của NMTC và thăm dò liều nội tiết sử dụng cho từng bệnh nhân, có thể thực hiện chu kỳ sử dụng nội tiết thử nghiệm để chuẩn bị tốt hơn cho chu kỳ chuyển phôi thực sự.

Chuyển phôi trữ đông được thực hiện sau sử dụng progesterone 2-3 ngày.

Ở những phụ nữ có chu kỳ có phóng noãn, với cách sử dụng nội tiết như trên, đôi khi các bệnh nhân bị xuất huyết giữa chu kỳ làm giảm tỉ lệ có thai. Đối với những trường hợp này có thể sử dụng kết hợp GnRH agonist gây tác dụng down-regulation trước khi sử dụng nội tiết.

1.3.3.3. Kích thích buồng trứng

Phương pháp này được thực hiện bằng cách sử dụng thuốc KTBT để tạo sự phát triển nang noãn và phóng noãn. Từ đó, NMTC được chuẩn bị bằng estradiol và progesterone do quá trình phát triển nang noãn tạo thành.

Chuyển phôi trữ sẽ được tiến hành vào thời điểm như một trường hợp chuyển phôi sau TTON thông thường.

Phương pháp này có chi phí cao và có thể có các biến chứng của KTBT nên ít khi được sử dụng. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu cho thấy nồng độ cao của estradiol trong pha hoàng thể, phá vỡ tỉ lệ thích hợp của estradiol và progesterone sẽ làm giảm sự chấp nhận của NMTC và tỉ lệ có thai thấp. Tuy nhiên, với các nhà lâm sàng chưa có kinh nghiệm theo dõi sự thay đổi nội tiết nội sinh dẫn đến bỏ qua giai đoạn “cửa sổ chuyển phôi” và sử dụng nội tiết ngoại sinh chuẩn bị dẫn đến xuất huyết tử cung chức năng, phương pháp này sẽ dễ dàng hơn cho việc chuẩn bị NMTC và xác định thời điểm chuyển phôi trữ đông.

1.3.4. Đánh giá sự chấp nhận của NMTC

1.3.4.1. Đánh giá về mô học, nội tiết và các nhân tố ảnh hưởng

Đã có nhiều nghiên cứu bằng KHV điện tử về sự thay đổi bề mặt biểu mô NMTC vào ngày chuyển phôi. Hình ảnh được gọi là “pinopods” là một siêu cấu trúc đặc trưng của NMTC ở giữa chu kì và được coi là dấu hiệu đáng tin cậy của sự làm tổ, nó phát triển và thoái hóa trong thời gian ngắn giữa giai đoạn hoàng thể từ ngày 4 đến ngày 7 sau hCG (Human Chorionic Gonatropin). Sự xuất hiện của “pinopods” được xem là đánh dấu thời gian cửa sổ làm tổ của phôi [42], [43].

Theo Reddy và cộng sự, thực hiện sinh thiết ở các chu kì trước điều trị trên 40 bệnh nhân TTON (xin trứng), tỉ lệ 83% có thai ở những người có hiện diện “pinopods”, còn ở những người không có “pinopods” thì không có thai. Kỹ thuật tiên đoán sự làm tổ của phôi này đầy hứa hẹn nếu được xác nhận thêm bởi các nghiên cứu khác. Tuy nhiên kỹ thuật trên đòi hỏi phải sinh thiết NMTC vì có thể gây tổn thương và chảy máu làm giảm cơ hội có thai của bệnh nhân [37].

Nồng độ hormone sinh sản trong máu ít có giá trị trong việc tiên đoán sự trưởng thành của NMTC mặc dù có sự liên quan giữa độ dày NMTC và nồng độ estrogen trong chu kì tự nhiên lẫn chu kì có KTBT. Nồng độ estrogen đơn thuần thể diễn sự hoạt động của các tế bào hạt chứ không thể diễn sự trưởng thành của NMTC. Sự trưởng thành của NMTC phụ thuộc vào sự phát triển của receptor estrogen. Nó được mã hóa bởi đặc điểm di truyền ở từng cá nhân và do đó cùng nồng độ estrogen có thể có những mức độ trưởng thành NMTC khác nhau ở những cá thể khác nhau. Sự không đồng nhất này được tìm thấy ở chu kì tự nhiên lẫn chu kì có HTSS [37].

Rõ ràng sự đánh giá mô học và nội tiết không phải là yếu tố tiên đoán tình trạng NMTC có thể tin cậy được. Mặc dù đánh giá “pinopods” đầy hứa hẹn nhưng lại đắt tiền và cần thử nghiệm thêm. Do đó cần thiết phải có phương pháp đánh giá sự chấp nhận NMTC khác mà không xâm lấn. Chính vì thế, những năm sau này, siêu âm được xem là công cụ đánh giá sự chấp nhận NMTC có giá trị.

1.3.4.2. Đánh giá bằng siêu âm

Hai kỹ thuật siêu âm để đánh giá sự chấp nhận NMTC là đánh giá dạng xuất hiện của NMTC và sự tưới máu của NMTC bằng siêu âm Doppler màu. Đánh giá dạng xuất hiện của NMTC bằng hai yếu tố: độ dày và dạng của NMTC.

Độ dày NMTC: được định nghĩa là khoảng cách xa nhất giữa vùng cản âm giữa cơ tử cung và NMTC đo trên mặt phẳng vuông góc trục dọc giữa trung tâm của tử cung. Độ dày NMTC không liên quan đến dạng NMTC. Ở các chu kỳ tự nhiên độ dày NMTC ở chu kỳ có thai dày hơn có ý nghĩa. Độ dày NMTC là yếu tố tiên đoán sự thành công cho chu kỳ IVF [44], [40]. Tất cả kết quả sinh thiết NMTC ở giai đoạn thích hợp đều có NMTC #7mm.

Trong một nghiên cứu hồi cứu, Gonen và cộng sự đã sử dụng siêu âm đầu dò ngả âm đạo, kết luận rằng độ dày NMTC ngày trước chọc hút dày hơn có ý nghĩa ở những bệnh nhân có thai và điều này có thể tiên đoán được sự làm tổ của phôi [45].

- Glissant và cộng sự, Fleichre và cộng sự, Welker và cộng sự: cho rằng NMTC không có giá trị tiên đoán thai kỳ [46], [47], [48].

- Dickey và cộng sự: nhóm bệnh nhân có NMTC <6mm hoặc >13mm thì tỉ lệ sảy thai sớm gia tăng [49].

- Yoeli và cộng sự: không thấy có sự liên quan [50].

- Gonen và cộng sự: NMTC <6mm thì thai kỳ không xảy ra [45].

- Vương Thị Ngọc Lan nghiên cứu trên 314 bệnh nhân: khi NMTC < 8mm thì thai kỳ hiếm khi xảy ra và NMTC < 7mm thai kỳ không xảy ra [44].

Tóm lại, mặc dù ít nghiên cứu cho rằng có sự liên quan giữa độ dày NMTC và tỉ lệ thành công trong các chu kỳ TTON, NMTC < 7mm được xem là dấu hiệu đáng tin cậy để tiên đoán khả năng không làm tổ của phôi. Bước tiến bộ chủ yếu của đo độ dày NMTC là giá trị tiên đoán âm tính cao ở những trường hợp độ dày NMTC mỏng.

Dạng NMTC: được định nghĩa là mối liên quan về độ cản âm của NMTC và cơ tử cung lân cận và được đo trên mặt cắt dọc thân tử cung của siêu âm. Ngày nay, để đơn giản người ta phân biệt hai dạng NMTC: dạng

phân lớp (multilayered hay triple line appearance) và dạng không phân lớp (non – multilayer).

Trong nghiên cứu tiền cứu, Serafini và cộng sự báo cáo dạng NMTC 3 đường có giá trị tiên đoán sự làm tổ của phôi hơn bất kì phương pháp đo đạc nào khác [51]. Sher và cộng sự cũng khẳng định có sự liên quan giữa dạng không phân lớp NMTC với tuổi tác và sự bất thường tử cung [52].

Freidler tổng hợp 25 nghiên cứu tìm kiếm mối liên quan giữa dạng NMTC và tiên đoán thai kì thì có 17 nghiên cứu là không thấy có sự liên quan. Nhấn mạnh rằng NMTC xấu không loại trừ thai kì. Nhiều tác giả đã chứng minh thai kì có thể xảy ra ở chu kì có dạng NMTC xấu dù tỉ lệ thấp. Tuy nhiên khi NMTC < 7mm và dạng NMTC xấu (non – multilayered) chính là dấu hiệu không làm tổ của phôi [53].

Sử dụng siêu âm Doppler màu giúp đánh giá đặc điểm tưới máu của NMTC [47], [54], [55]. Siêu âm Doppler màu ngả âm đạo chính là phương pháp không xâm lấn đánh giá tuần hoàn trong tử cung. Doppler màu đã chứng minh sự thay đổi tưới máu trong tử cung và buồng trứng trong suốt chu kì kinh và kháng trở mạch máu này khác nhau giữa những phụ nữ vô sinh, không vô sinh và những phụ nữ bị sảy thai liên tiếp. Kháng trở dòng chảy ở động mạch tử cung được xem là yếu tố tiên đoán của sự làm tổ của phôi trong những ca làm TTON. Tuy nhiên, sử dụng kĩ thuật này cũng còn mới mẻ và các ứng dụng lâm sàng còn chưa chắc chắn.

1.4. CÁC KỸ THUẬT HỖ TRỢ TRONG CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

1.4.1. Hỗ trợ phôi thoát màng (Assisted hatching - AH).

1.4.1.1. Màng trong suốt

Ở người, bình thường noãn và tinh trùng thụ tinh để tạo thành hợp tử trong 1/3 ngoài vòi tử cung. Sau đó, hợp tử sẽ đi theo vòi tử cung vào buồng

tử cung. Trong quá trình di chuyển vào buồng tử cung, hợp tử bắt đầu phân chia thành phôi. Sau khi đến tử cung phôi tiếp tục phát triển trong tử cung trong vài ngày tiếp, đến khoảng ngày thứ 7 sau khi thụ tinh phôi bắt đầu làm tổ vào tử cung để phát triển thành thai nhi trong tử cung [56].

Trong quá trình di chuyển, phôi được bảo vệ bằng một màng gọi là màng trong suốt (Hình 1.4). Màng này được tạo thành bởi một phức hợp các glycoprotein do noãn tiết ra. Dưới kính hiển vi, màng trong suốt (Zona pellucida-ZP) là một tầng trong suốt bao xung quanh noãn và phôi. Để có thể tiếp xúc với niêm mạc tử cung (MNTC) và bám vào để làm tổ vào khoảng ngày thứ 6 sau thụ tinh, phôi phải thoát ra khỏi lớp màng bảo vệ này, hiện tượng làm tổ mới có thể xảy ra [57].

Chức năng chính của màng ZP là ngăn ngừa hiện tượng đa thụ tinh, bảo vệ phôi trong những giai đoạn đầu phát triển và giúp các phôi bào không rời ra và áp sát vào nhau trong quá trình phôi nén.



Hình 1.4. Phôi nang giai đoạn sớm

1.4.1.2. Nguyên lý hiện tượng phôi thoát màng

Trong giai đoạn phôi nang, phôi phát triển bên trong màng trong suốt. Để có thể làm tổ, phôi phải thoát ra khỏi màng glycoprotein này để có thể bám vào nội mạc tử cung. Bản chất của hiện tượng thoát màng (hatching) chưa được hiểu rõ. Màng trong suốt bị thoát hóa dần từ lúc tinh trùng bắt đầu tiếp xúc cho đến khi chuẩn bị làm tổ do tác động của nhiều loại men.

Các men ly giải màng trong suốt có thể có nguồn gốc từ phôi nang, lớp tế bào lá nuôi, hoặc từ các chất tiết của nội mạc tử cung. Bên cạnh đó, sự gia tăng áp lực bên trong màng trong suốt do phôi nang tăng nhanh về thể tích, sẽ góp phần giúp phôi thoát khỏi màng trong suốt [57].

Hiện tượng thoát màng thường xảy ra vào ngày thứ 5 hay 6, lúc này phôi đã về tới buồng tử cung. Ở người hiện tượng này xảy ra tại một vùng trên bề mặt của phôi nang [56]. Phôi dần dần thoát ra khỏi màng trong suốt bằng cách lòi qua một lỗ nhỏ. Hiện tượng thoát màng hoàn toàn là lúc phôi chui ra khỏi màng trong suốt, thường xảy ra vào ngày thứ 6 hay 7 (Hình 1.5).

Mặc dù phôi nang người dễ nở rộng trong ống nghiệm, nhưng có khoảng 20% phôi nang gặp trở ngại trong vấn đề giãn nở hay chỉ giãn rộng ở một vài chỗ hoặc không thể giãn nở hoàn toàn để thoát khỏi màng ZP, cuối cùng nang xẹp xuống và thoái hóa [57].



Hình 1.5. Phôi thoát màng in-vitro [56]

Sau khi phôi thoát ra ngoài hoàn toàn để lại lớp màng trong suốt trống. Hiện tượng thoát màng có thể diễn ra bình thường trong môi trường in vitro, vì thế có tác giả cho rằng việc phôi thoát màng có thể không cần sự hỗ trợ của

môi trường trong lòng tử cung [57]. Tuy nhiên, tỉ lệ phôi thoát màng bình thường của các phôi in vitro giảm so với phôi in vivo [57].

Về cơ chế của hiện tượng phôi thoát màng, các nhà nghiên cứu cho thấy có sự phối hợp giữa cơ chế cơ học và hóa học. Một số tế bào lá nuôi ở phía đối diện cực phôi có men tiêu hủy protein và có vai trò quan trọng trong hiện tượng phôi thoát màng [58]. Các tác giả cũng cho rằng hiện tượng phôi không thoát màng được trong in vitro có thể do màng trong suốt trở nên cứng chắc hoặc phôi nang mất khả năng tiêu hủy màng trong suốt.

Sau khi thoát màng, lớp nguyên bào nuôi có khả năng bám vào nội mạc tử cung để làm tổ và môi trường bên trong tử cung hỗ trợ trực tiếp cho sự phát triển tiếp theo của phôi và các bước của hiện tượng làm tổ [56]. Sau khi thoát màng, trên bề mặt các tế bào nuôi đã biệt hóa có các phân tử kết dính và các thụ thể đối với các yếu tố tăng trưởng có trong lòng tử cung. Các yếu tố này giúp khởi phát hiện tượng làm tổ, diễn ra vào ngày thứ 7 sau phóng noãn. Cửa sổ làm tổ (implantation window) là khoảng thời gian mà nội mạc tử cung ở giai đoạn có thể chấp nhận phôi làm tổ, cửa sổ làm tổ ở người được ghi nhận là khoảng 48 giờ [57].

1.4.1.3. Các phương pháp hỗ trợ phôi thoát màng

a. Nguyên tắc chung

Hỗ trợ thoát màng có thể được thực hiện bằng cách tạo lỗ thủng trên màng ZP hay làm mỏng màng ZP [57]. Trong phương pháp tạo thành lỗ trên màng ZP của phôi trong giai đoạn phân chia, nguy cơ mất phôi bào có thể xảy ra do tác động cơ thắt của tử cung, còn nếu làm mỏng màng ZP, cơ hội phôi bào bị tác động bởi acid hay bởi nhiệt lượng từ tia laser có thể được giảm thiểu. Trong các nghiên cứu ngẫu nhiên có nhóm chứng trên phôi trữ lạnh, Ng và cộng sự cho thấy tỉ lệ thai lâm sàng ở nhóm làm mỏng màng ZP cao hơn so

với nhóm đục lỗ trên màng ZP [59]. Nghiên cứu của Mantoudis năm 2001 cũng cho kết quả tương tự [60].

b. Các phương pháp hỗ trợ phôi thoát màng

Hiện nay trên thế giới có 4 phương pháp được áp dụng để hỗ trợ phôi thoát màng [56]:

- Làm thủng màng trong suốt bằng cơ học
- Làm mỏng màng trong suốt bằng men pronase
- Làm mỏng màng trong suốt bằng acid Tyrode
- Làm mỏng màng trong suốt bằng tia laser

1.4.1.4. Chỉ định hỗ trợ phôi thoát màng

Các báo cáo trên thế giới cho thấy kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng được thực hiện rộng rãi cho tất cả các trường hợp. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, tỉ lệ có thai có thể cải thiện rất nhiều nhờ hỗ trợ phôi thoát màng. Một số chỉ định thường gặp của AH:

- Bệnh nhân thất bại nhiều lần mặc dù chất lượng phôi tốt
- Bệnh nhân chuyển phôi trữ đông
- Bệnh nhân ít phôi, lớn tuổi (>38 tuổi)
- Bệnh nhân có FSH cơ bản cao ($\geq 10\text{mIU/mL}$, buồng trứng suy giảm chức năng)
- Bệnh nhân có phôi có màng trong suốt dày bất thường ($>15\mu\text{m}$)
- Bệnh nhân thực hiện kỹ thuật trưởng thành trứng trong ống nghiệm (IVM)
- Các trường hợp hỗ trợ sinh thiết phôi chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD)
- Bệnh nhân có màng trong suốt không đàn hồi [61].

1.4.2. Kỹ thuật chẩn đoán di truyền tiền làm tổ

Về mặt kỹ thuật, PGD gồm hai công đoạn (1) sinh thiết phôi và (2) chẩn đoán di truyền. Sinh thiết phôi nhằm mục đích lấy được tế bào để kiểm tra di truyền. Sinh thiết phôi có thể được tiến hành ở giai đoạn trước thụ tinh (sinh thiết thể cực), giai đoạn phôi phân chia (6-8 tế bào) hay blastocyst. Để chẩn đoán về mặt di truyền, các kỹ thuật huỳnh quang (Flourescent Institu Hybridization – FISH) hay PCR thường được sử dụng.

1.5. QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

1.5.1. Khái niệm

Chuyển phôi trữ đông là một qui trình yêu cầu cần có sự phối hợp nhuần nhuyễn giữa các nhân viên labo và lâm sàng nhằm đem lại kết quả có thai tối ưu nhất. Đây là bước cuối cùng trong quá trình chuyển phôi nhưng có ý nghĩa quyết định đến kết quả của chuyển phôi trữ lạnh.

1.5.2. Chỉ định chuyển phôi trữ đông

- Bệnh nhân muốn có thai thêm sau chu kì IVF đã có thai và còn phôi trữ đông.
- Bệnh nhân muốn có thai sau chu kì IVF/ chuyển phôi tươi thất bại mà vẫn còn phôi trữ đông.
- Bệnh nhân chu kì IVF có QKBT không thể chuyển phôi tươi.
- Bệnh nhân xin phôi.

1.5.3. Điều kiện và nguyên tắc chuyển phôi trữ đông

a. Chuyển phôi trữ đông cần đảm bảo các nguyên tắc chung sau:

- Đảm bảo nguyên tắc vô trùng khi chuyển phôi.
- Đảm bảo phôi được chuyển cho đúng bệnh nhân.
- Đảm bảo phôi được chuyển đúng vị trí trong buồng tử cung.

b. Các điều kiện chuyển phôi trữ đông

- Đối với điều kiện lab:
 - Chọn lựa phôi và thời điểm chuyển phôi phù hợp.
 - Hạn chế tối đa sự phơi nhiễm phôi trong điều kiện ngoài tủ cấy:
Thao tác hút phôi nhẹ nhàng, nhanh chóng
Chuyển catheter đã được hút phôi cho bác sỹ lâm sàng trong thời gian ngắn nhất.
 - Lượng môi trường chứa phôi đưa vào BTC phù hợp. Loại môi trường chuyển phôi phù hợp
- Đối với điều kiện lâm sàng:
 - Tránh làm co thắt tử cung gây tống xuất phôi sau khi chuyển phôi.
Thao tác nhẹ nhàng
Hạn chế sử dụng các dụng cụ hỗ trợ như pozzi, nong cổ tử cung
Tránh chạm catheter vào đáy tử cung
 - Hạn chế làm tổn thương nội mạc kênh cổ tử cung và nội mạc tử cung.
Thao tác nhẹ nhàng
Sử dụng catheter chuyển phôi mềm
 - Lấy sạch chất nhày cổ tử cung, do nếu chất nhày còn sót lại, sẽ gây khó khăn trong việc bơm phôi, dễ làm sót phôi và có thể ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi khi bơm phôi vào BTC.
 - Đặt phôi vào BTC ở vị trí cách đáy 1,5cm.

1.5.4. Quy trình chuyển phôi trữ đông

- Chuẩn bị hồ sơ bệnh án và hội chẩn
Bệnh nhân trước khi hoàn thành hồ sơ đã được điều trị phụ khoa về tình trạng viêm nhiễm, các bệnh lý BTC (u xơ dưới niêm mạc, polip BTC,...).

- Chuẩn bị NMTC sao cho NMTC phù hợp với giai đoạn làm tổ của phôi (dựa theo đánh giá hình thái học).
- Rã đông phôi – tiến hành đánh giá chất lượng phôi, chọn lựa phôi chuyển
- Tiến hành chuyển phôi vào thời điểm cụ thể
- Hỗ trợ hoàng thể
- Xét nghiệm máu β hCG thực hiện sau 14 ngày chuyển phôi.

1.6. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KỸ THUẬT CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

Chuyển phôi là một quá trình qua nhiều khâu nhiều bước cùng tác động đến kết quả. Các tác nhân này gồm các yếu tố trên lâm sàng, các yếu tố trong labo và các yếu tố liên quan đến kỹ thuật chuyển phôi đông.

1.6.1. Các yếu tố trên lâm sàng

- Tuổi của người vợ: theo nghiên cứu của William SB Yeung và cs. (2009), tỷ lệ thành công của của các ca chuyển phôi đông có liên quan đến tuổi của người mẹ và số phôi bào của phôi được chuyển.

Với tuổi mẹ ≤ 35 tuổi, tỷ lệ có thai tiến triển cao hơn so với độ tuổi >35 (38% và 33%, với $p=0,001$). Với phôi chuyển ở giai đoạn phân chia với 4 phôi bào, tỷ lệ có thai lâm sàng là 41%, tỷ lệ có thai tiến triển là 36%, trong khi tỷ lệ sảy thai chiếm 13%, và có ý nghĩa thống kê so với chuyển phôi có ít hơn 4 phôi bào (tương ứng là 20%, 15%, và 23%, với $p < 0,001$) [62].

Trong nghiên cứu của Kassab A và cs., 2009, nồng độ FSH cơ bản được sử dụng ở 127 phụ nữ (25,2%) có chuyển phôi là thấp hơn đáng kể so với nhóm không có chuyển phôi. Nghiên cứu này đã chỉ ra một mối tương quan trọng giữa nồng độ FSH cơ bản được sử dụng trong chu kỳ chuyển phôi đông và tỉ lệ có thai lâm sàng [63].

- Loại FSH sử dụng trong chu kì KTBT không làm ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng của chuyển phôi trữ.

- Phác đồ KTBT, liều FSH sử dụng. Tính đến nay, chưa có nhiều nghiên cứu chỉ ra rõ ràng về mức độ ảnh hưởng của phác đồ kích thích buồng trứng và liều FSH sử dụng đối với chất lượng phôi.

Tuy nhiên, một nghiên cứu hồi qui của Ku tại Hàn Quốc vào năm 2005 đã bước đầu khẳng định rằng việc sử dụng phác đồ dài GnRHa và liều lượng từ 33 – 25 microgram sẽ mang lại kết quả cao hơn với bệnh nhân có nồng độ FSH cơ bản cao ($2,9 \pm 1,7$ với $3,7 \pm 2,0$ với $p = 0,027$; $1,8 \pm 1,4$ với $2,7 \pm 2,0$ với $p = 0,020$) [64].

- Phác đồ chuẩn bị niêm mạc tử cung không mang lại khác biệt đáng kể nào đến tỷ lệ có thai lâm sàng. Điều này đã được khẳng định trong nghiên cứu hồi qui của Gelbaya TA, Nardo LG và cộng sự vào năm 2006 trên 212 phụ nữ sử dụng chu kì tự nhiên và chu kì có sử dụng hormone (13,5% so với 10,2%, với $p < 0,08$) [65]. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Lan, Đặng Quang Vinh, Lê Thụy Hồng Khả và Hồ Mạnh Tường cũng đã khẳng định điều này vào năm 2010 [19].

Tuy nhiên, độ dày và hình thái niêm mạc tử cung có giá trị tiên lượng tốt cho kết quả chuyển phôi.

Một số nghiên cứu cũng đề cập đến thể tích niêm mạc tử cung như là một tiêu chuẩn để đánh giá khả năng làm tổ của phôi. 180 cặp vợ chồng đã được điều trị bằng IVF với ICSI và chuyển phôi đông (68 cặp được thực hiện bằng chu kì tự nhiên và 40 cặp được thực hiện bằng chu kì nhân tạo) trong một nghiên cứu của Zollner U và cộng sự năm 2012. Kết quả đã có 20 (18,5%) trường hợp mang thai lâm sàng. Từ 3-5 ngày sau rụng trứng (chu kì tự nhiên) hoặc sau khi NMTC đạt đến độ dày $\geq 8\text{mm}$ (chu kì nhân tạo), trung

bình có 3 phôi được chuyển. Trong chu kỳ tự nhiên, không có sự khác biệt đáng kể giữa độ dày NMTC, thể tích niêm mạc giữa những phụ nữ mang thai (11,9mm, 2,9ml) và phụ nữ không mang thai (10,7mm, 3,4ml). Trong chu kỳ nhân tạo, thể tích NMTC cao hơn đáng kể giữa phụ nữ có thai và phụ nữ không mang thai (3,9ml so với 2,5ml, $p < 0,05$); trái lại, độ dày NMTC lại không có khác biệt đáng kể giữa hai nhóm này (10,7mm so với 10,2mm) [66]. Theo nghiên cứu của Vương Thị Ngọc Lan và Lê Văn Điển vào năm 2002, khi NMTC có độ dày > 10 mm vào ngày cho hCG thì tỉ lệ có thai tăng gấp đôi so với nhóm có độ dày ≤ 10 mm [44]. Ngoài ra, trong nghiên cứu của Isaacs và cộng sự vào năm 1996, khi NMTC có độ dày < 7 mm thì khả năng có thai của các chu kỳ này rất kém, hầu như không ghi nhận trường hợp nào có thai [67].

- Số ngày E2 trong phác đồ nhân tạo. Nồng độ E2 tại ngày điều trị bằng hCG đã được khẳng định là không có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng ($r=0,05$, $p = 0,481$) sau một nghiên cứu qui hồi trên 180 bệnh nhân trải qua KTBT có kiểm soát và chuyển phôi trữ đông.

1.6.2. Các yếu tố labo

Các yếu tố trong phòng thí nghiệm liên quan trực tiếp đến kết quả chuyển phôi trữ đông như:

- Số phôi chuyển.
- Khả năng phân chia tiếp của phôi sau rã đông.
- Chất lượng phôi trước chuyển

Những yếu tố này ngoài sự chi phối bởi các yếu tố khách quan như: kỹ thuật đông và rã đông, môi trường chất bảo vệ, còn chịu sự chi phối bởi yếu tố chủ quan là chất lượng phôi trước trữ đông. Phôi trữ đông phải đảm bảo được tiêu chuẩn giới hạn đã nêu ở mục 2.

- Thời gian lưu trữ phôi không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sau rã phôi cũng như tỷ lệ mang thai lâm sàng, sảy thai, làm tổ, và tỷ lệ sinh sống.

- Số phôi chuyển: theo một nghiên cứu của Berin I, Engmann LL, Benadiva CA, Schmidt DW, Nulsen JC, Maier DB vào năm 2010 thì không có sự khác biệt giữa tỷ lệ mang thai giữa 2 nhóm chuyển 2 phôi và 3 phôi ở lứa tuổi <35, nhưng tỷ lệ đa thai cao hơn ở nhóm chuyển 3 phôi. Còn từ 35 - 39 tuổi tỷ lệ mang thai cũng như tỷ lệ đa thai là tương đương ở 2 nhóm chuyển 2 phôi và 3 phôi [68].

- Khả năng phân chia của phôi sau rã đông: nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, phôi phân chia sau rã đông làm tăng tỷ lệ thai lâm sàng.

Chuyển phôi thành công phụ thuộc nhiều vào chất lượng phôi, sự phát triển của phôi trước khi chuyển vào buồng tử cung [69], [70], [71]. Nghiên cứu của Hsu và cộng sự trên 211 cặp vợ chồng làm ICSI thấy rằng: Tỷ lệ có thai tăng lên khi chuyển những phôi có hình thái đẹp cũng như có hình thái tăng trưởng tốt. Sự hiện diện của phôi hình thái xấu và khả năng phân chia kém là dấu hiệu tiên lượng xấu cho khả năng có thai [72].

1.6.3. Các yếu tố trong kỹ thuật chuyển phôi

- Kỹ thuật chuyển phôi: dùng catheter chuyển phôi Stylet và Tulip (Pháp) dưới siêu âm đường bụng.

- Để hạn chế nguy cơ tổng phát xuất phôi khỏi buồng tử cung cũng như nguy cơ thai ngoài tử cung, chỉ nên hút phôi sao cho thể tích chuyển phôi dưới 30 μ L. Tuy nhiên, thể tích chuyển phôi dưới 10 μ L thì khả năng làm tổ có thể bị ảnh hưởng [73].

- Mức độ chuyển phôi khó hay dễ: qui trình chuyển phôi được xem là khó khi tốn thời gian nhiều hơn 5 phút hoặc sử dụng các dụng cụ nong, kẹp cổ tử cung để đưa được catheter vào buồng tử cung.

Một nghiên cứu của Tomas C và Tikkinen K (2002) đã kết luận rằng các phôi chuyển vừa và dễ có tỷ lệ mang thai cao gấp 1,7 lần so với các ca chuyển phôi khó ($p < 0,0001$). Các nhà lâm sàng cần hạn chế tối đa các ca chuyển phôi khó vì đây là một yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ mang thai của các ca IVF/ICSI [74].

- Độ sạch của catheter: máu và chất nhầy của tử cung có thể hiện diện ở chóp đầu của catheter.

Hai nghiên cứu độc lập của Marikinti K. và Brinsden P.R. (2005) và Alvero R. và cộng sự (2003) đều thống nhất rằng sự hiện diện của máu và chất nhầy trên chóp đầu của catheter là dấu hiệu của một ca chuyển phôi khó, làm giảm tỉ lệ làm tổ của phôi ($p=0.015$) và tỷ lệ mang thai lâm sàng ($p=0.04$). Phân tích đa biến trong các nghiên cứu cũng khẳng định rằng độ sạch của catheter là một trong những dấu hiệu quan trọng để tiên lượng tỷ lệ làm tổ của phôi ($p=0,042$) và tỷ lệ mang thai lâm sàng ($p=0,018$) [75], [5].

1.7. CÁC NGHIÊN CỨU YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG HƯỚNG ĐẾN CHUYỂN PHÔI

1.7.1. Trên thế giới

Trên thế giới có khá nhiều các nghiên cứu đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của chuyển phôi trữ lạnh.

Karlstrom và cs (1997) đánh giá 623 chu kỳ chuyển phôi trữ đông cho thấy số lượng phôi chuyển càng nhiều thì tỷ lệ có thai lâm sàng càng lớn (27% với 3 phôi, 23% với 2 phôi và 14% với 1 phôi). Tỷ lệ có thai lâm sàng không phụ thuộc vào giai đoạn phân cắt nhưng thấp hơn ở những phôi chất lượng kém. Cũng như phụ nữ có tuổi < 40 cho kết quả chuyển phôi trữ tốt hơn [76]. Nghiên cứu của Salumets thì thấy rằng tỷ lệ có thai trong chuyển phôi trữ lạnh phụ thuộc vào tuổi người phụ nữ và chất lượng phôi chuyển nhưng không ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị IVF hay ICSI [77].

Veleva và cs (2013) tổng kết 1972 chu kỳ chuyển phôi trữ đông với phôi đông ngày 2 với các yếu tố: tuổi người vợ, tuổi phôi đông, BMI, nguyên nhân vô sinh, kỹ thuật thụ tinh, chất lượng phôi trước rã và phôi sau rã đến tỷ lệ sinh sống của trẻ. Kết quả cho thấy tỷ lệ sinh sống tăng lên khi có ≥ 1 phôi tốt tại thời điểm đông phôi hoặc sau nuôi cấy. Chuyển 2 phôi trở lên làm cải thiện tỷ lệ sinh sống sau chuyển phôi trữ đông [78]. Takahashi phân tích 210 chu kỳ chuyển phôi thấy rằng kết quả phụ thuộc vào tuổi mẹ, số chu kỳ điều trị hỗ trợ sinh sản trước cũng như số lượng phôi chuyển cũng như số phôi phát triển tiếp sau nuôi cấy [79].

1.7.2. Tại Việt Nam

Tại Việt Nam cũng có một số các nghiên cứu cũng đánh giá đa yếu tố tác động đến chuyển phôi nói chung.

Tác giả Nguyễn Đình Hợi nghiên cứu 294 bệnh nhân thực hiện IVF/ICSI theo phác đồ dài tại trung tâm Hỗ trợ sinh sản bệnh viện Phụ Sản 2006-2009 cho thấy độ dày niêm mạc tử cung, hàm lượng progesterone ngày tiêm hCG và chất lượng phôi có liên quan có ý nghĩa thống kê tới tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ của phôi [80].

Tác giả Phạm Thúy Nga đã nghiên cứu 105 bệnh nhân vô sinh sử dụng phác đồ GnRH antagonist trong năm 2012 tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản Quốc gia. Kết quả cho thấy nồng độ progesterone ngày tiêm hCG và tổng điểm chuyển phôi (gồm điểm chất lượng phôi, điểm kỹ thuật chuyển phôi và điểm độ dày niêm mạc tử cung) có liên quan đến tỷ lệ thành công trong chuyển phôi [81].

Tác giả Đào Lan Hương trong nghiên cứu hiệu quả của phác đồ ngắn/hMG và phác đồ ngắn/rFSH trên 110 bệnh nhân cho mỗi phác đồ thấy rằng chất lượng niêm mạc tử cung, nồng độ P4 ngày hCG và chất lượng phôi là yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai [82].

Phan Thị Thanh Lan và cs năm 2015 khi nghiên cứu so sánh hiệu quả phôi đông ngày 2 và ngày 3 với 162 chu kỳ mỗi nhóm nhận định rằng tỷ lệ có thai giữa hai nhóm không có sự khác biệt và phụ thuộc vào chất lượng phôi độ III trước khi đông và được chuyển/chu kỳ FET [83].

Trong nghiên cứu kết quả chuyển phôi trữ đông với 134 hồ sơ tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng của tác giả Vũ Văn Tâm nhận thấy: tỷ lệ thai lâm sàng của nhóm trữ lạnh phôi dưới 12 tháng gấp 1,32 lần so với nhóm trữ lạnh trên 12 tháng. Phôi có chất lượng càng tốt thì tỷ lệ thai lâm sàng càng cao, và nên chuyển từ 2 phôi trở lên cho kết quả có thai lâm sàng cao hơn 1,54 lần [84].

Như vậy các tác giả cũng nhận thấy và rất quan tâm đến tác động cộng gộp của nhiều nhân tố lên thành công của chuyển phôi nói chung và chuyển phôi trữ đông nói riêng. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu có phạm vi tương đối hẹp với cỡ mẫu nhỏ và giới hạn các yếu tố nghiên cứu.

1.8. XU HƯỚNG HIỆN NAY

1.8.1. Xu hướng hiện nay đang dần thay thế chuyển phôi tươi bằng chuyển phôi trữ đông

Kỹ thuật đông lạnh phôi thành công gần 30 năm qua bắt đầu bằng kỹ thuật đông phôi chậm. Khoảng 10 năm trở lại đây, kỹ thuật thủy tinh hóa được phổ biến và thay thế dần kỹ thuật đông phôi chậm. Tỷ lệ phôi sống sau rã đông với thủy tinh hóa tối thiểu là 95%. Tỷ lệ có thai sau chuyển phôi với thủy tinh hóa cao hơn gấp rưỡi so với chuyển phôi đông lạnh chậm.

Bên cạnh đó, tỷ lệ có thai khi chuyển phôi trữ đông cũng tăng nhanh, so với chuyển phôi tươi. Gần đây, nhiều báo cáo trên thế giới cho thấy kết quả chuyển phôi trữ đông cao hơn so với chuyển phôi tươi.

Kỹ thuật thủy tinh hóa thành công ở Việt Nam vào năm 2006. Chỉ vài năm sau đó, tất cả trung tâm IVF ở Việt Nam đã thay thế hoàn toàn đông phôi

chậm bằng thủy tinh hóa. Hiện nay, một số chu kỳ chuyển phôi trữ đông đều tăng nhanh ở các trung tâm IVF ở Việt Nam. Ở một số trung tâm, số chuyển phôi trữ đông đã vượt qua số chuyển phôi tươi. Chỉ định đông phôi toàn bộ và chuyển phôi trữ đông ngày càng được mở rộng.

1.8.2. Các lý do để thay thế chuyển phôi tươi bằng chuyển phôi trữ đông:

Nhiều báo cáo lớn gần đây dựa trên các cơ sở dữ liệu lớn từ các khu vực khác nhau trên thế giới cho thấy [85], [86], [87], [88], [89]:

- Tỷ lệ có thai cao hơn khi chuyển phôi trữ đông so với chuyển phôi tươi
- Chuyển phôi tươi có thể có tỷ lệ thai bất thường tăng so với chuyển phôi trữ đông
- Thai từ phôi trữ đông có tỷ lệ tử vong chu sinh thấp hơn
- Thai từ phôi trữ đông có tỷ lệ nhẹ cân và sinh non thấp hơn
- Thai từ phôi trữ đông có tỷ lệ xuất huyết trong thai kỳ ít hơn.
- Tuy nhiên, trẻ sinh ra từ phôi trữ đông cũng có tỷ lệ thai to cao hơn.

Nói chung, dữ liệu y văn quan trọng gần đây trên thế giới đều cho thấy khả năng có thai, diễn tiến thai kỳ và kết quả sản khoa là tốt hơn hoặc có khuynh hướng tốt hơn khi chuyển phôi trữ đông.

1.8.3. Cơ sở của các lý do trên có thể là:

- Môi trường tử cung trong chu kỳ KTBT không bình thường

Khả năng có thai và sự phát triển của thai phụ thuộc vào các hiện tượng diễn ra trước và sau khi phôi làm tổ trong BTC.

Trong chu kỳ KTBT, nồng độ nội tiết tố tăng lên rất cao trong suốt pha nang noãn và có thể tăng trong pha hoàng thể. Hiện tượng này dẫn đến NMTC phát triển bất thường ảnh hưởng đến sự làm tổ và phát triển của bánh nhau, từ đó dẫn đến phát triển bất thường của thai và kết quả sản khoa.

Bình thường, ở giai đoạn trước khi làm tổ, trong cơ thể gần như không có hCG. Việc sử dụng hCG liều cao một cách thường qui khi KTBT trong IVF cũng ảnh hưởng xấu đến NMTC trước khi làm tổ.

- NMTC trong chu kì chuyển phôi trữ gần với sinh lý hơn

Trong chu kì chuyển phôi trữ đông, nội tiết thường được sử dụng với liều thấp hơn nhiều chu kì KTBT. Ngoài ra, chúng ta cũng có thể chuyển phôi trữ đông trong chu kì tự nhiên, hoàn toàn không sử dụng nội tiết ngoại sinh. Đây được xem là nguyên nhân chính khiến hiện tượng làm tổ, sự phát triển nhau thai và thai nhi tốt hơn trong chu kì chuyển phôi trữ đông so với chuyển phôi tươi.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Đề tài được tiến hành nghiên cứu tại Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản Quốc Gia – Bệnh viện Phụ sản Trung ương.

2.2. THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Đề tài được tiến hành nghiên cứu trong thời gian ba năm: từ tháng 1 năm 2012 đến tháng 12 năm 2014.

2.3. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.3.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu

Các bệnh nhân điều trị IVF – IVF/ICSI tại Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện Phụ sản Trung ương từ 2012 – 2014 và có các đặc điểm sau:

- Hồ sơ có đầy đủ các thông tin điền vào phiếu điều tra: tuổi, thời gian vô sinh, loại vô sinh, nguyên nhân vô sinh, phương pháp kích trứng, phương pháp thụ tinh và FSH cơ bản.

- Có phôi trữ lạnh
- Được theo dõi các đặc điểm về niêm mạc tử cung, ngày sử dụng E2 trong chu kỳ chuyển phôi trữ
- Sau rã đông có phôi chuyển
- Được tiến hành chuyển phôi
- Có đủ thông tin theo dõi trong quá trình chuyển phôi: mức độ khó dễ của chuyển phôi và độ sạch catheter
- Được xét nghiệm β hCG sau chuyển phôi 14 ngày
- Siêu âm đánh giá túi ối, tim thai và số lượng thai

2.3.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân chuyển phôi trữ đông do xin phôi hoặc IVF/xin trứng.
- Bệnh nhân làm PGD/PGS (do phôi bất thường sau PGD/PGS sẽ bị loại bỏ, điều này làm việc đánh giá số lượng/ chất lượng phôi ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai bị nhiều).
- Bệnh nhân có tổn thương vùng tử cung như u xơ tử cung, Polyp BTC, dính BTC.
- Bệnh nhân không có đủ thông tin trong hồ sơ.

2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.4.1. Thiết kế nghiên cứu

Phương pháp: Mô tả cắt ngang

2.4.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

- Cỡ mẫu: các bệnh nhân thực hiện chuyển phôi trữ đông đã trải qua chu kỳ IVF/có phôi trữ.

Công thức tính cỡ mẫu cho việc ước tính một tỷ lệ trong quần thể được sử dụng trong nghiên cứu:

$$n \geq Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{P(1-P)}{\Delta^2}$$

P: tỷ lệ thai lâm sàng của nhóm bệnh nhân được chuyển phôi trữ đông

Δ : khoảng sai lệch mong muốn giữa tỷ lệ bệnh thu được từ mẫu (P) và tỷ lệ quần thể (P)

α : mức ý nghĩa thống kê, là xác suất của việc phạm sai lầm loại 1 (loại bỏ H_0 khi nó đúng)

$Z_{1-\alpha/2}^2$: giá trị Z thu được từ bảng Z tương ứng với giá trị α được chọn

- Chúng tôi lựa chọn:

$P = 0,355$ theo nghiên cứu tổng kết về chuyển phôi trữ đông của Hàn Quốc năm 2011 (do Hàn Quốc là nước châu Á, có xu hướng chuyển phôi đông lạnh tương đối giống Việt Nam).

$$\Delta=0,05$$

$$\alpha=0,05 \rightarrow Z^2_{1-\alpha/2} = 1,96$$

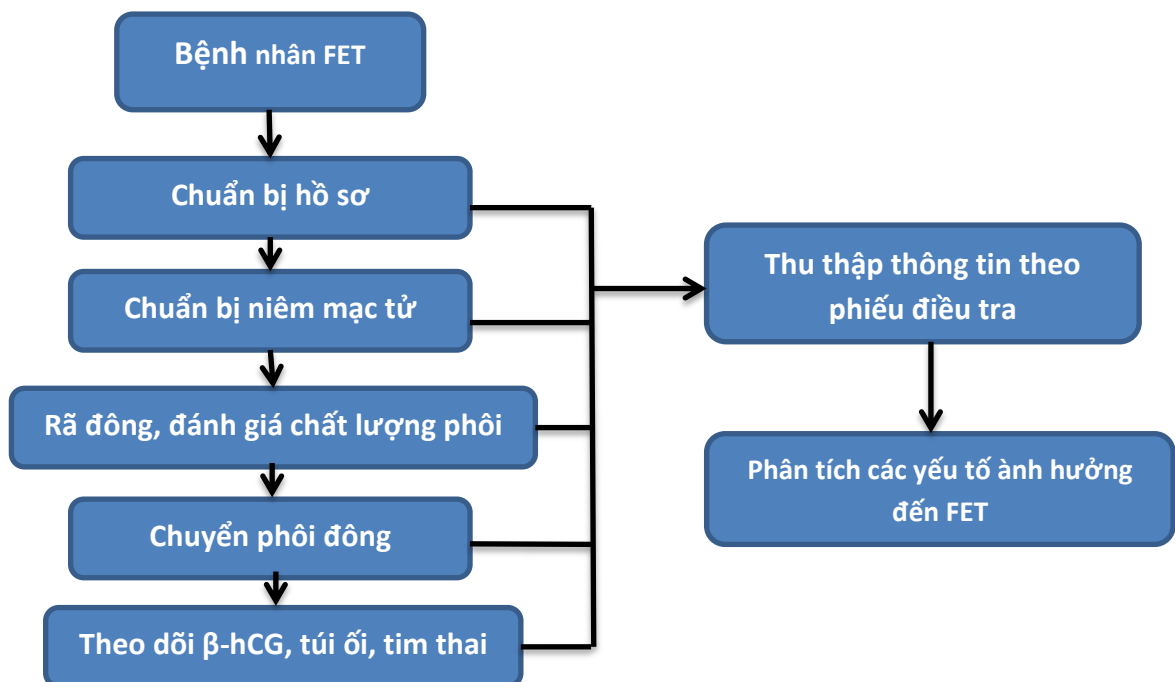
Thay vào công thức ta có cỡ mẫu nghiên cứu là:

$$n \geq 1,96^2 \times \frac{0,355 (1-0,355)}{0,05^2}$$

$$n \geq 351$$

Nghiên cứu lấy cỡ mẫu tối thiểu là 351. Thực tế chúng tôi thu thập tối đa các bệnh nhân có đầy đủ thông tin và phù hợp với tiêu chuẩn nghiên là 1208 bệnh nhân với 1251 chu kỳ chuyển phôi.

2.4.3. Mô hình nghiên cứu



Biểu đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu

2.4.4. Các định nghĩa được dùng trong nghiên cứu

* Vô sinh nguyên phát: Hai vợ chồng chưa bao giờ có thai, mặc dù đã sống với nhau trên một năm và không có biện pháp tránh thai nào.

* Vô sinh thứ phát: Hai vợ chồng trước kia đã có con hoặc đã có thai, nhưng sau đó không thể có thai lại dùng sống với nhau trên một năm và không sử dụng biện pháp tránh thai nào.

* Thời gian vô sinh: số năm mà cặp vợ chồng chung sống thường xuyên, không áp dụng biện pháp tránh thai nào mà không có thai.

* Nguyên nhân vô sinh: nguyên nhân chính gây nên tình trạng vô sinh, dựa trên các xét nghiệm cơ bản của cả hai vợ chồng gồm:

- Vô sinh do vợ
- Vô sinh do chồng
- Vô sinh do cả hai vợ chồng
- Vô sinh không rõ nguyên nhân

* Nồng độ FSH cơ bản (baseline plasma FSH - bFSH) là nồng độ FSH trong máu tại thời điểm ngày 2-3 của chu kỳ kinh.

* Nồng độ E2: định lượng vào ngày bổ sung progesterone trong chu kỳ chuẩn bị niêm mạc bằng E2 & P4.

* Ngày sử dụng E2: Tính từ ngày bắt đầu sử dụng E2 đến ngày cho bổ sung P4.

* Độ dày niêm mạc tử cung: khoảng cách xa nhất giữa vùng cản âm giữa cơ tử cung và NMTC đo trên mặt phẳng vuông góc với trục dọc giữa trung tâm của tử cung trên siêu âm. Được xác định trong ngày bổ sung P4. Tính bằng đơn vị mm.

* Hình thái NMTC/ Dạng NMTC: mối liên quan về độ cản âm của NMTC và cơ tử cung lân cận và được xác định trên mặt cắt dọc thân tử cung của siêu âm và được xác định trong ngày bổ sung P4. Trong nghiên cứu

chúng tôi phân biệt 3 dạng NMTC: Dạng ba lá, dạng trung gian và dạng tăng âm đồng nhất [90].

- NMTC dạng ba lá: nội mạc tử cung giảm âm, mặt tiếp giáp giữa lớp trước và sau của NMTC tăng âm tạo ra hình ảnh 3 lớp.

- NMTC dạng trung gian: nội mạc tử cung giảm âm nhưng đường tiếp giáp giữa 2 lớp trước sau của NMTC không rõ tăng âm.

- NMTC dạng tăng âm đồng nhất: nội mạc tử cung tăng âm, có biểu hiện thiếu máu.

$$* \text{ Tỷ lệ đông} = \frac{\text{Tổng số phôi trữ lạnh}}{\text{Tổng số chu kỳ chuyển phôi}} \times 100\%$$

$$* \text{ Tỷ lệ phôi sống sau rã} = \frac{\text{Tổng số lượng phôi sống sau rã}}{\text{Tổng số lượng phôi rã đông}} \times 100\%$$

* Phôi thoái hóa là phôi có >50% các phôi bào có bào tương đen, co nhỏ.

* Chuyển phôi khó: có sử dụng dụng cụ kẹp cổ tử cung/ nong cổ tử cung hoặc có sử dụng nòng trong hỗ trợ chuyển phôi hoặc mất hơn 5 phút để đưa catheter vào buồng tử cung.

$$* \text{ Tỷ lệ làm tổ} = \frac{\text{Tổng số túi thai siêu âm được}}{\text{Tổng số phôi chuyển vào tử cung}} \times 100\%$$

* Thai sinh hóa: được chẩn đoán khi xét nghiệm thấy $\beta\text{hCG} > 25\text{mIU}$ nhưng không phát triển thành thai lâm sàng.

$$* \text{ Tỷ lệ } \beta\text{-hCG (+)} = \frac{\text{Tổng số chu kỳ có } \beta\text{hCG (+)}}{\text{Tổng số chu kỳ chuyển phôi}} \times 100\%$$

* Thai lâm sàng được chẩn đoán khi siêu âm có túi ối trong BTC

$$* \text{ Tỷ lệ thai lâm sàng} = \frac{\text{Tổng số chu kỳ siêu âm thấy túi ối sau chuyển phôi}}{\text{Tổng số chu kỳ chuyển phôi}} \times 100\%$$

* Đa thai là hiện tượng có sự phát triển nhiều thai trong buồng tử cung

* Thai tiền triển: thai phát triển sau 12 tuần.

* Chửa ngoài tử cung: trường hợp trứng làm tổ và phát triển ở ngoài buồng tử cung.

2.4.5. Các biến số nghiên cứu

2.4.5.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

- Tuổi của người vợ: tính theo năm dương lịch từ năm sinh đến thời điểm chuyển phôi.
- Loại vô sinh: nguyên phát, thứ phát
- Nguyên nhân vô sinh
- Thời gian vô sinh.
- Lần chuyển phôi: 1,2,3
- bFSH
- Phác đồ KTBT được sử dụng.

2.4.5.2. Đặc điểm của chu kì chuyển phôi trữ đông

- Số ngày dùng E2, liều E2,
- Nồng độ E2 ngày phối hợp P4
- Độ dày niêm mạc tử cung
- Hình ảnh niêm mạc tử cung
- Chất lượng phôi trước trữ đông
- Chất lượng phôi sau rã đông
- Đánh giá chất lượng phôi theo 3 độ: độ III, độ II, độ I
- Số phôi chuyển
- Kỹ thuật chuyển phôi dễ/ khó
- Độ sạch của catheter chuyển phôi (máu, nhầy, sạch)
- Tỷ lệ phôi sống

- Tỷ lệ làm tổ
- Tỷ lệ β -hCG
- Tỷ lệ thai lâm sàng
- Tỷ lệ chữa ngoài tử cung
- Tỷ lệ đa thai

2.4.5.3. Các phương pháp và vật liệu nghiên cứu

- Máy siêu âm đầu dò âm đạo tần số 7,5 MHz. Hãng ALOKA SSD 1400 (Nhật Bản).
- Máy AXSIM ABBOTT (Mỹ) định lượng các hormon nội tiết bằng kỹ thuật E.I.A (Enzym Immuno Assay): FSH (IU/l), LH (IU/l), Estradiol (pg/ml), P4 (nmol/l), định lượng β hCG (IU/l).
- Tủ nuôi cấy phôi ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂: Thermoforma (Mỹ).
- Kính hiển vi soi nổi Olympus (Nhật).
- Kính hiển vi đảo ngược và bộ vi thao tác của hãng Olympus (Nhật): thực hiện ICSI, đánh giá chất lượng phôi.
- Môi trường rã phôi Kitazato.
- Bình trữ phôi
- Catheter long Frydman set để chuyển phôi của hãng Laboratoire C.C.P (Pháp).

2.4.6. Kỹ thuật thu thập thông tin và các bước tiến hành

Các đối tượng nghiên cứu sẽ được thực hiện quá trình chuyển phôi trữ đông theo những bước sau:

1. Chuẩn bị hồ sơ bệnh án và hội chẩn

Bệnh nhân trước khi hoàn thành hồ sơ đã được điều trị phụ khoa về tình trạng viêm nhiễm, các bệnh lý BTC (u xơ dưới niêm mạc, polip BTC,...).

Đối với những bệnh nhân không đủ tiêu chuẩn nghiên cứu hoặc có những yếu tố thuộc tiêu chuẩn loại trừ sẽ bị loại khỏi nghiên cứu.

2. Bệnh nhân có chỉ định chuyển phôi đông lạnh sẽ được chuẩn bị niêm mạc tử cung theo phác đồ sử dụng nội tiết ngoại sinh:

+ Ngày 2 của chu kỳ kinh bệnh nhân sẽ được siêu âm xác định tình trạng tử cung, buồng tử cung và hai buồng trứng. Nếu bình thường sẽ được sử dụng Estradiol 2mg, liều 4mg - 12 mg/ngày.

+ Theo dõi sự phát triển của độ dày NMTC và hình thái NMTC bằng siêu âm đầu dò âm đạo và xét nghiệm E2 từ ngày 7 của chu kỳ, sau đó kiểm tra lại mỗi 2 đến 3 ngày tùy theo độ dày và hình thái của niêm mạc. Khi niêm mạc trên 8mm và có dạng 3 lá điển hình là thời điểm lý tưởng để chuyển phôi. Ghi chép đầy đủ các thông tin về đặc điểm niêm mạc tử cung cũng như các chỉ số về nồng độ E2 trước thời điểm chuyển phôi.

+ Khi độ dày niêm mạc đủ điều kiện cho phôi hợp với prosgeterone liều 800mg/ngày, 2 - 3 ngày trước khi chuyển phôi.

3. Rã phôi tùy thuộc vào ngày đông phôi mà có thể rã phôi trước hoặc ngay tại ngày chuyển phôi.

Phôi lấy ra khỏi nitơ lỏng đưa qua các môi trường có nồng độ chất chuyển phôi giảm dần rồi đưa vào môi trường nuôi phôi ở nhiệt độ 37°C, nồng độ CO₂ 6%. Gồm các bước:

- Chuẩn bị môi trường rã:

+ Môi trường Warming: 2ml được cân bằng nhiệt trong tủ ấm 37°C ít nhất 2h tối đa 24h trước khi rã.

+ Môi trường 1ml mỗi loại Dilution, Washing 1 và Washinh 2 cân bằng ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi rã phôi.

+ Môi trường chuyển phôi trữ đông: môi trường G1 1ml cân bằng nhiệt độ và CO₂ ít nhất 8h.

- Lấy phôi trữ đông:

+ Lấy phôi trữ đông từ bình chứa phôi ra hộp chứa nitơ.

+ Kiểm tra, đối chiếu thông tin bệnh nhân trên cọng đông và trên hồ sơ.

- Rã phôi theo quy trình:

+ Nhúng cọng đông vào đĩa chứa môi trường Warming ở bệ nhiệt 37°C.

Để phôi từ từ rời khỏi cọng đông trong vòng 1 phút.

+ Sau 1 phút chuyển phôi sang giếng Dilution 1. Dìm phôi chìm xuống đáy giếng.

+ Sau 3 phút chuyển phôi sang giếng Washing 1. Dìm phôi xuống đáy giếng.

+ Sau 5 phút chuyển phôi sang giếng Washing 2. Dìm phôi xuống đáy giếng.

+ Sau 1 phút chuyển phôi sang đĩa chuyển phôi đã chuẩn bị từ trước.

4. Phôi được đánh giá chất lượng ngay sau rã đông:

- Phôi thoái hóa: các phôi bào có bào tương đen, co nhỏ.

- Phôi sống: có $\geq 50\%$ số phôi bào có bào tương sáng.

- Phôi phân chia tiếp: Sau khi nuôi qua đêm, số lượng phôi bào tăng lên so với ngay sau khi rã đông.

Đánh giá phân độ phôi dựa vào hình thái theo quy định của Trung tâm hỗ trợ sinh sản quốc gia đối với giai đoạn phôi phân cắt (có chuyển phôi hay không).

+ Phôi trước khi trữ lạnh:

• Độ III: Độ chiết quang sang, màng trong suốt còn nguyên vẹn, các tế bào đồng đều, không có mảnh vỡ bào tương hoặc dưới 10%, phôi ngày 2 có 4-5 tế bào, phôi ngày 3 có từ 6-8 tế bào.

- Độ II: ngày 2 có 3-4 tế bào, phôi ngày 3 có 6-8 tế bào, các tế bào tương đối đồng đều hoặc tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $\geq 10\%$, $< 25\%$.

- Độ Ia: ngày 2 có 2 tế bào hoặc ngày 3 có 3-4 tế bào hoặc mảnh vỡ bào tương $\geq 25\%$ hoặc tế bào không đồng đều.

- Độ Ib: fragments $\geq 50\%$

+ Phôi trước chuyển phôi:

- Độ III: phôi còn nguyên vẹn không bị thoái hóa, khi nuôi qua đêm có ít nhất 1 phôi bào phân chia tiếp.

- Độ II: Thoái hóa $< 25\%$, khi nuôi qua đêm có ít nhất 1 phôi bào phân chia hoặc các phôi bào tương đối không đồng đều.

- Độ Ia: không có phôi bào phân chia tiếp hoặc thoái hóa $\geq 25\%$ $< 50\%$, hoặc các phôi bào không đồng đều.

- Độ Ib: thoái hóa $> 50\%$.

5. Chuyển phôi được thực hiện sau khi đã chuẩn bị niêm mạc phù hợp với giai đoạn làm tổ của phôi, lý tưởng nhất là vào ngày 17 đến ngày 19 của chu kỳ. Số phôi chuyển tùy theo chất lượng phôi và các yếu tố tiên lượng trên bệnh nhân.

- Đánh giá về kỹ thuật chuyển phôi:

+ Chuyển phôi dễ: đưa catheter chứa phôi vào buồng tử cung dễ dàng, catheter sạch.

+ Chuyển phôi khó: phải cặp cổ tử cung kéo ra thì mới đưa được catheter vào buồng tử cung hoặc sau khi chuyển phôi kiểm tra thấy máu ở catheter chứa phôi hoặc sót phôi.

- Trong ngày chuyển phôi: ghi đầy đủ thông tin về mức độ chuyển phôi dễ khó, đồng thời mức độ sạch của catheter.

- Hỗ trợ giai đoạn hoàng thể. Sử dụng phối hợp progesterone (Urogestan 200mg, 2 đến 4 viên/ngày) đặt âm đạo và Estradol uống (Progynova 2mg, 4 đến 6 viên/ngày).

- Xác định có thai

Xét nghiệm β hCG sau 14 ngày sau chuyển phôi. β hCG dương tính khi có giá trị >25 mIU/ml.

Siêu âm thấy túi thai, phôi và tim thai sau chuyển phôi được xác định có thai lâm sàng, đa thai, chửa ngoài tử cung.

Theo dõi đến thai hơn 12 tuần để xác định thai tiến triển, thai thoái hóa.

2.4.7. Sai số và không chế sai số

Sai số được chọn không chế bằng cách chọn bệnh nhân vào nghiên cứu theo đúng tiêu chuẩn chọn mẫu, chọn bệnh nhân vào các phác đồ nghiên cứu theo đúng phương pháp chọn mẫu.

Các chỉ số và biến số cần cho nghiên cứu đều được định nghĩa và phân loại rõ ràng để tránh sai số hệ thống.

Người nghiên cứu trực tiếp thu thập thông tin và theo dõi bệnh nhân thông qua phiếu thu thập số liệu với đầy đủ thông tin phụ vụ cho nghiên cứu để tránh sai số phỏng vấn.

2.5. XỬ LÝ SỐ LIỆU

- Số liệu thu thập thông qua phiếu thu thập số liệu.
- Sau đó được nhập trên chương trình SPSS 16.0.
- Sử dụng các test thống kê trên SPSS 16.0 để phân tích và xử lý số liệu thu được.

- Các test thống kê y học được dùng:

- ✓ Test χ^2 để so sánh các tỉ lệ, Fisher test đối với số liệu có tần số mong đợi < 5 .
- ✓ Test T (student test) dùng để so sánh các giá trị trung bình, Fisher test đối với số liệu có tần số mong đợi < 5 .
- ✓ Tỷ suất chênh OR (CI 95%) đánh giá nguy cơ.
- ✓ Phân tích hồi quy đơn biến
- ✓ Phân tích hồi quy nhị biến logistics tính theo công thức:

$$\text{Ln} \left[\frac{P(Y=1)}{P(Y=0)} \right] = B_0 + \sum_{i=1}^n B_i X_i$$

Trong đó:

Ln: log của cơ số e

$P(Y=1)$ là tỷ lệ có thai lâm sàng; $P(Y=0) = 1 - P(Y=1)$ là tỷ lệ không có thai lâm sàng

$X\beta$ là các biến độc lập

$B\beta$ là hệ số tương quan

B_0 là hằng số

- ✓ Giá trị $p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

- Các biểu đồ của nghiên cứu được vẽ trên chương trình Excel 2010.

2.6. VẤN ĐỀ ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu nhằm đánh giá kết quả của chuyên phôi trữ lạnh. Qua đó, xác định các yếu tố liên quan ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai, mục đích làm tăng hiệu quả của phương pháp. Vì vậy, nghiên cứu nhằm bảo vệ quyền lợi của bệnh nhân, đồng thời còn có giá trị nhân văn cao cả, mang lại cơ hội lớn hơn cho những bệnh nhân hiếm muộn.

Các thông tin cá nhân về đối tượng tham gia đảm bảo bí mật trong khi tiến hành nghiên cứu và khi công bố nghiên cứu.

Đề tài được hội đồng khoa học và hội đồng y đức thông qua.

Chương 3

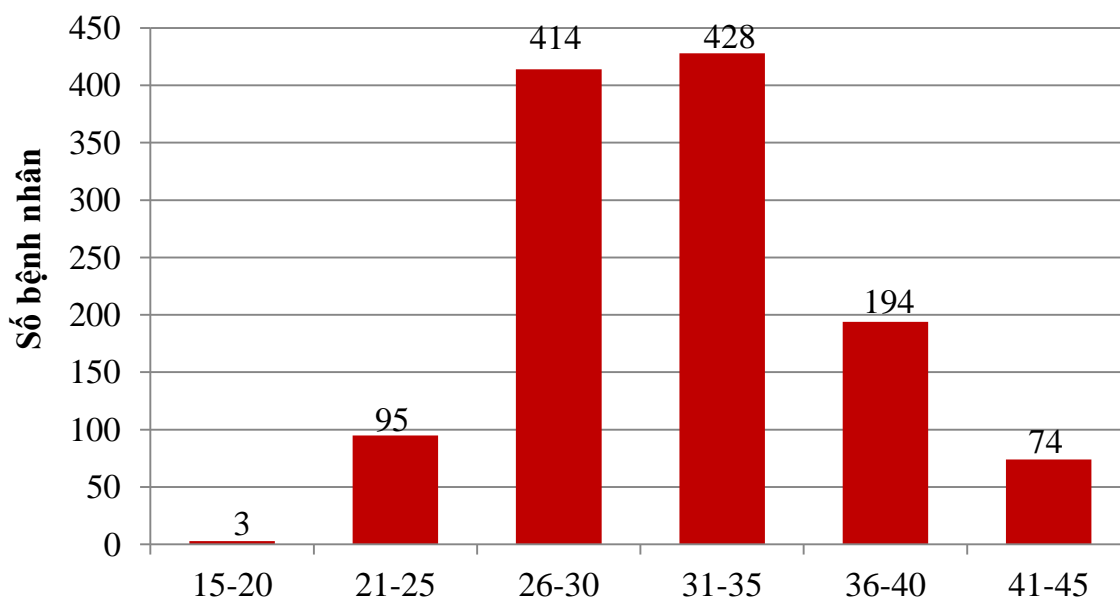
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong 3 năm (2012-2014), chúng tôi thu thập được 1208 bệnh nhân có chuyển phôi trữ đông tại bệnh viện Phụ sản Trung ương phù hợp với các tiêu chuẩn nghiên cứu với 1251 chu kỳ FET (Frozen embryo transfer- chuyển phôi trữ đông).

3.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA NHÓM BỆNH NHÂN CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

3.1.1. Tuổi

Phân bố nhóm tuổi của bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu được thể hiện qua biểu đồ 3.1.



Biểu đồ 3.1. Phân bố nhóm tuổi bệnh nhân

Nhận xét:

- Tuổi bệnh nhân được chuyển phôi từ 19 đến 45.
- Trong đó, nhóm tuổi từ 26 đến 30 chiếm 34,3% và từ 31 đến 35 chiếm tỉ lệ lớn nhất với 428 bệnh nhân chiếm 35,4%.

- Chỉ có 3 bệnh nhân từ 20 tuổi trở xuống chiếm 0,2% và 74 bệnh nhân trên 40 tuổi chiếm 6,1%.

Sự phân bố các nhóm tuổi qua từng năm nghiên cứu được thể hiện trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi bệnh nhân theo năm

	Năm 2012 (n=315)	Năm 2013 (n=404)	Năm 2014 (n=489)	Tổng
Tuổi trung bình	31,44±4,64	32,01±5,01	32,17±4,96	31,93±4,90
Nhóm tuổi				
< 31 tuổi	47,3% (149)	42,3% (171)	39,3% (192)	42,4%
31-35 tuổi	34,9% (110)	34,2% (138)	36,8% (180)	35,4%
> 35 tuổi	17,8% (56)	23,5% (95)	23,9% (117)	22,2%

Nhận xét:

- Độ tuổi bệnh nhân trung bình chuyển phôi trữ đông có xu hướng tăng nhẹ từ năm 2012 đến 2014, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với >0,05.

- Bệnh nhân chuyển phôi trữ đông trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu nằm trong nhóm tuổi dưới 35 với 77,8%. Trong đó, chủ yếu là bệnh nhân dưới 31 tuổi. Nhóm tuổi trên 35 tuổi chiếm tỷ lệ nhỏ nhất với 22,2%.

3.1.2. Phân bố về thời gian vô sinh:

Thời gian vô sinh trung bình của nhóm nghiên cứu là $4,65 \pm 2,91$ (năm). Ít nhất là 1 năm, nhiều nhất là 15 năm. Phân bố về thời gian vô sinh được mô tả trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Phân bố về thời gian vô sinh

Thời gian vô sinh	Số bệnh nhân	Tỷ lệ
Dưới 5 năm	711	58,9%
Từ 5 đến 10 năm	415	34,3%
Trên 10 năm	82	6,8%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

Trong tổng số 1208 bệnh nhân, có 711 bệnh nhân có thời gian vô sinh dưới 5 năm chiếm 58,9%. Chỉ có 6,8% số bệnh nhân chuyển phôi trữ đông có thời gian vô sinh trên 10 năm.

3.1.3. Phân loại vô sinh (Bảng 3.3)

Bảng 3.3. Phân bố về loại vô sinh nguyên phát và thứ phát

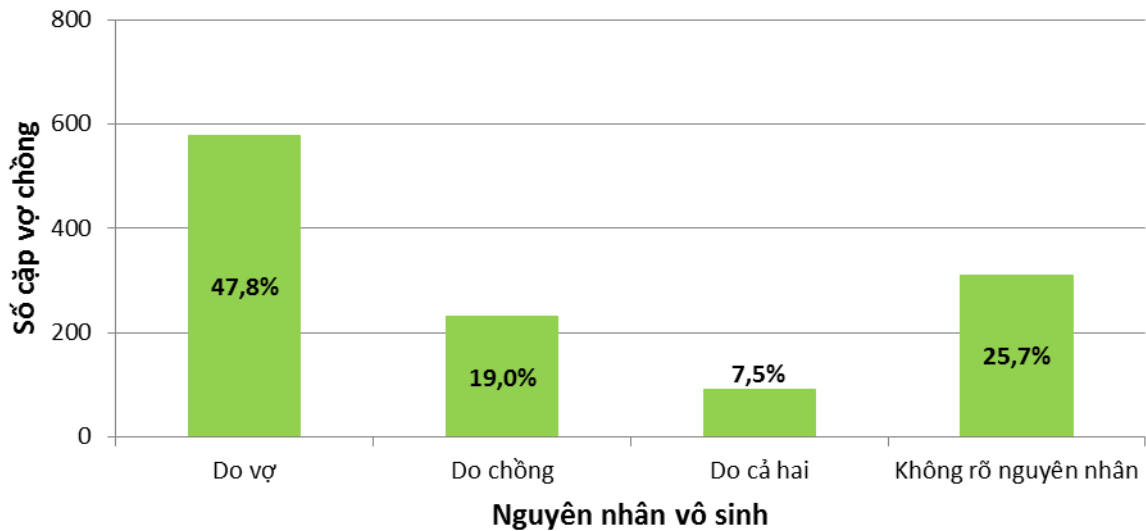
Loại vô sinh	Số lượng	Tỷ lệ
Nguyên phát	674	55,8%
Thứ phát	534	44,2%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

Trong nhóm nghiên cứu, các bệnh nhân vô sinh nguyên phát chiếm tỉ lệ 55,8 % nhiều hơn vô sinh thứ phát.

3.1.4. Nguyên nhân vô sinh

Có bốn nhóm nguyên nhân vô sinh chính là: vô sinh do vợ, vô sinh do chồng, vô sinh do cả hai vợ chồng và những trường hợp không rõ nguyên nhân (KRNN). Tỷ lệ của các nguyên nhân gây vô sinh trong nhóm nghiên cứu được thể hiện trong biểu đồ 3.2.

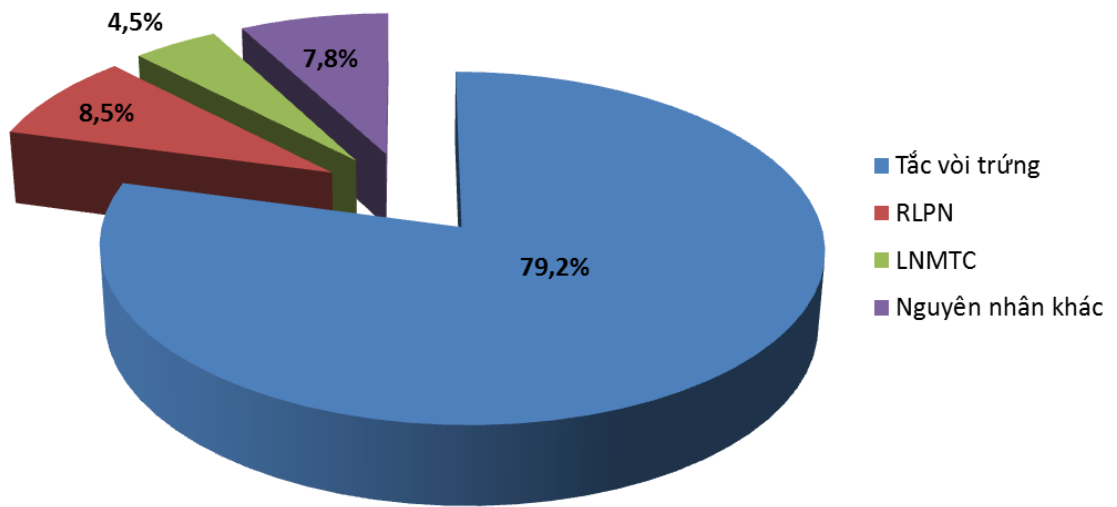


Biểu đồ 3.2. Nguyên nhân gây vô sinh

Nhận xét:

- Với những bệnh nhân có chu kỳ chuyển phôi trữ đông trong nghiên cứu nguyên nhân gây vô sinh chủ yếu là do vợ chiếm 47,8%. Nguyên nhân do chồng chiếm 19,0% và do cả hai chiếm 7,5%. Và có đến 25,7% các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân.

- Ở nhóm do vợ nguyên nhân do tắc vòi trứng chủ yếu chiếm 79,2%, ngoài ra là do rối loạn phóng noãn, lạc nội mạc tử cung, dính buồng tử cung... (Biểu đồ 3.3).



Biểu đồ 3.3. Các nguyên nhân vô sinh do vợ

3.1.5. Phương pháp thụ tinh

Đặc điểm của phương pháp thụ tinh được mô tả trong bảng 3.4.

Bảng 3.4. Phương pháp thụ tinh

	Số lượng	Tỷ lệ
IVF cổ điển	83	6,9%
IVF/ICSI	1125	93,1%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

- Từ năm 2012 đến 2014, phương pháp thụ tinh chủ yếu với những bệnh nhân có chu kỳ chuyển phôi trữ đông là IVF/ICSI chiếm đến 93,1%.
- Phương pháp IVF cổ điển chỉ thực hiện trên 83 bệnh nhân chiếm 6,9%.

3.1.6. Số lần thực hiện chuyển phôi trữ lạnh

Đặc điểm lần chuyển phôi được mô tả trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Đặc điểm lần chuyển phôi trữ đông

Lần chuyển phôi trữ	Số lượng	Tỷ lệ
Lần 1	1011	83,7%
Lần 2	120	9,9%
Từ lần 3 trở lên	77	6,4%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

- Trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu là các bệnh nhân chuyển phôi trữ lần đầu chiếm 83,7 %.

- Số bệnh nhân chuyển phôi trữ từ lần thứ 3 trở lên có 77 người chiếm 6,4%.

3.1.7. Nồng độ FSH cơ bản (bFSH)

Đặc điểm nồng độ FSH cơ bản của những bệnh nhân chuyển phôi trữ đông được mô tả ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Phân bố nồng độ FSH cơ bản

Nồng độ bFSH (mUI/mL)	Số lượng	Tỷ lệ
< 8	1117	92,5%
8-10	45	3,7%
>10	46	3,8%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

- Nồng độ bFSH trung bình $6,26 \pm 1,71$ (mUI/mL), giá trị nhỏ nhất 2,4 giá trị lớn nhất 14,7 mUI/mL.

- Nồng độ bFSH tập trung chủ yếu ở mức giá trị dưới 8 mUI/mL với 92,5%. Chỉ có 3,8% bệnh nhân có nồng độ bFSH tăng cao trên 10 mUI/mL.

3.1.8. Phác đồ kích thích buồng trứng được sử dụng

Bệnh nhân được sử dụng 3 phác đồ KTBT là GnRH agonist dài, GnRH agonist ngắn và GnRH antagonist. Các phác đồ kích thích buồng trứng được phân bố như bảng 3.7.

Bảng 3.7. Phân bố các phác đồ kích thích buồng trứng được sử dụng

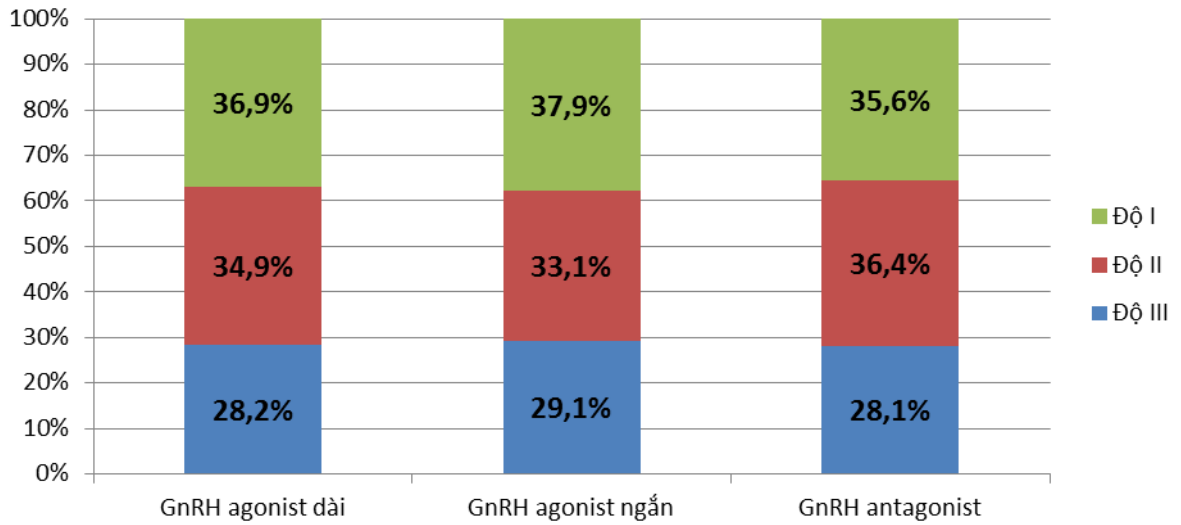
Phác đồ	Số lượng BN	Tỷ lệ
GnRH agonist dài	762	63,1%
GnRH agonist ngắn	176	14,6%
GnRH antagonist	270	22,3%
Tổng	1208	100%

Nhận xét:

Từ năm 2012 đến năm 2014, các bệnh nhân chuyển phôi trữ đông tại bệnh viện Phụ sản Trung ương chủ yếu được sử dụng phác đồ kích thích dài chiếm 63,1%. Nhóm sử dụng phác đồ Agonist chiếm tỷ lệ thấp nhất với 14,6%.

3.1.9. Chất lượng phôi trước trữ đông của các phác đồ kích thích buồng trứng

Đặc điểm của chất lượng phôi trước trữ đông theo các phác đồ KTBT được mô tả trong biểu đồ 3.4.



Biểu đồ 3.4. Đặc điểm chất lượng phôi trước trữ đông của các phác đồ kích thích

Nhận xét: Tỷ lệ phôi trữ đông độ III, độ II và độ I của cả ba phác đồ tương đương nhau sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2. KẾT QUẢ CỦA QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

3.2.1. Nồng độ E2 trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông

Các bệnh nhân trong nghiên cứu được chuẩn bị niêm mạc tử cung bằng sử dụng nội tiết ngoại sinh với E2 & P4. Đặc điểm của E2 trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh được mô tả trong bảng 3.8.

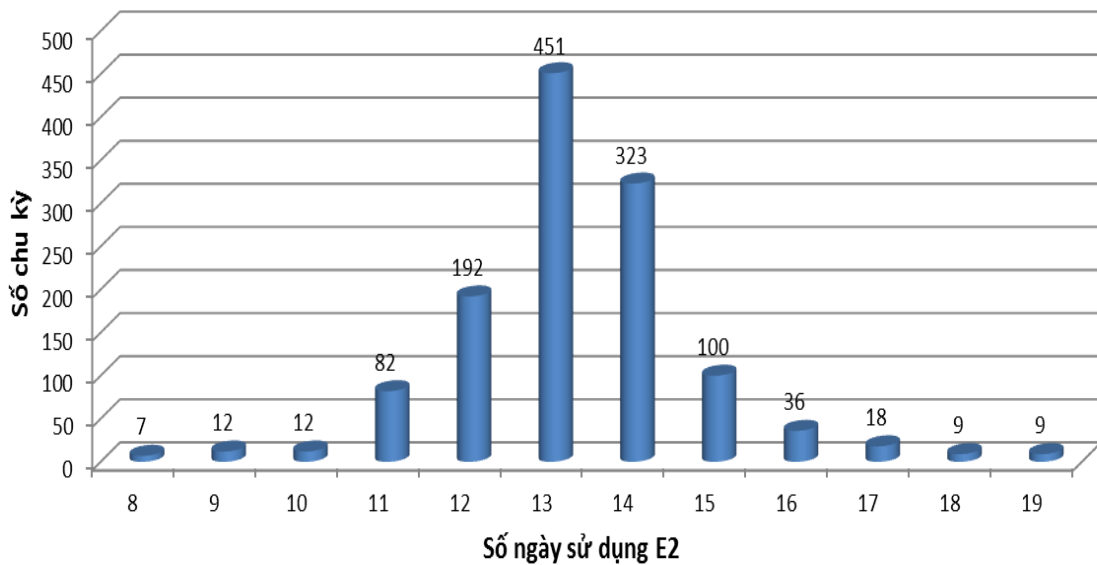
Bảng 3.8. Đặc điểm nồng độ E2 trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông

	Trung bình	Min	Max
Số ngày sử dụng E2 (ngày)	13,26 ± 1,50	8	19
Nồng độ E2 (pg/ml)	1434,72 ± 506,51	505	2698

Nhận xét:

- Số ngày sử dụng E2 trung bình là $13,26 \pm 1,50$ (ngày). Ít nhất là 8 ngày và nhiều nhất là 19 ngày.

Sự phân bố số ngày sử dụng E2 được thể hiện qua biểu đồ 3.5.



Biểu đồ 3.5. Sự phân bố số ngày sử dụng E2

Nhận xét:

- Số ngày sử dụng Estradiol trong chu kỳ chuẩn bị chuyển phôi nhân tạo trong nhóm nghiên cứu thấp nhất là 8 ngày, nhiều nhất là 19 ngày. Trong đó, nhiều nhất là các trường hợp sử dụng E2 trong 13 ngày chiếm 36,1 %.

3.2.2. Đặc điểm niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông

Chúng tôi chia độ dày NMTC ra thành ba nhóm: Dưới 8 mm; Từ 8-14 mm và trên 14 mm. Đặc điểm của độ dày niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh được mô tả trong bảng 3.9.

Bảng 3.9. Độ dày niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông

Chiều dày NMTC	Số lượng	Tỷ lệ
Dưới 8 mm	80	6,4%
Từ 8-14 mm	1125	89,9%
Trên 14	46	3,7%
Tổng	1251	100%

Nhận xét:

Các bệnh nhân chuyển phôi trữ đông có niêm mạc tử cung dày từ 8-14 mm là chủ yếu chiếm 89,9%. Nhóm có NMTC dày dưới 8mm có 6,4% và nhóm NMTC dày trên 14 mm có tỷ lệ thấp nhất (3,7%).

Hình ảnh siêu âm NMTC ngày bổ sung P4 được đánh giá với 3 dạng: Dạng ba lá, dạng trung gian và dạng tăng âm đồng nhất. Đặc điểm các dạng được mô tả trong bảng 3.10.

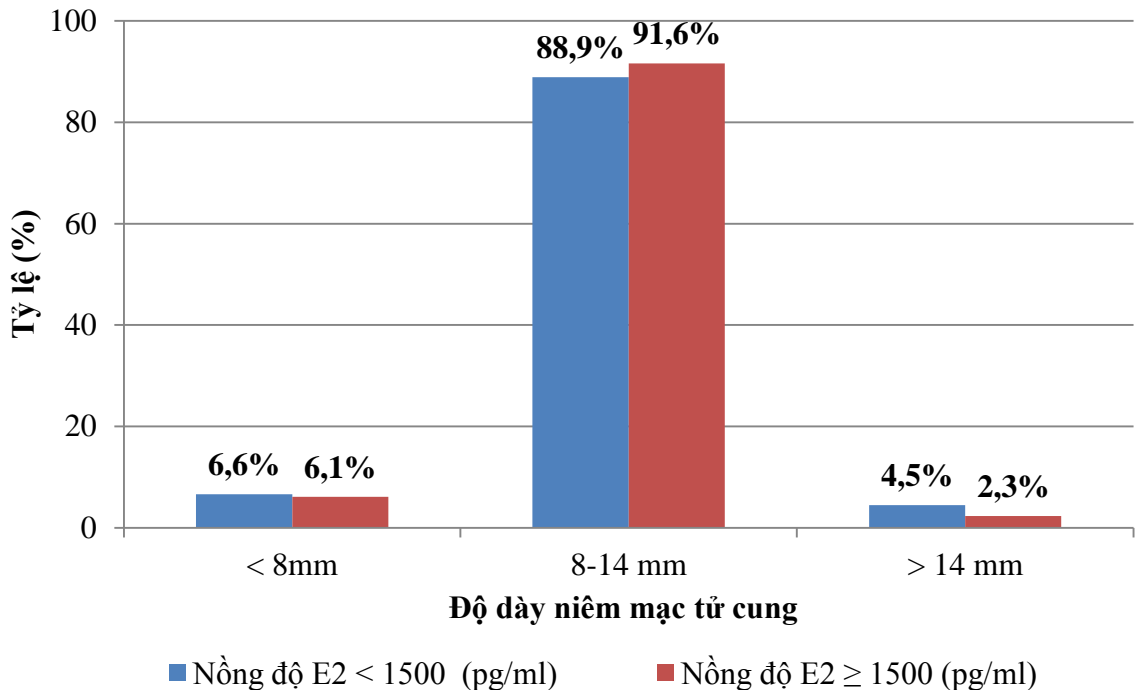
Bảng 3.10. Hình thái niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ

Hình thái NMTC	Số lượng	Tỷ lệ
Ba lá	983	78,6%
Trung gian	194	15,5%
Tăng âm đồng nhất	74	5,9%
Tổng	1251	100%

Nhận xét:

Hình thái NMTC chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh chủ yếu là dạng ba lá chiếm 78,6 %. Có 15,5% các trường hợp NMTC có hình thái trung gian với đường cản âm không rõ và 5,9 % hình thái NMTC có dạng tăng âm đồng nhất.

Mối liên hệ giữa nồng độ E2 và độ dày NMTC trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh được thể hiện trong biểu đồ 3.6.



Biểu đồ 3.6. Mối liên quan giữa nồng độ E2 và độ dày NMTC

Nhận xét:

- Nồng độ E2 < 1500 (pg/ml) cho tỷ lệ độ dày niêm mạc < 8mm và trên > 14 mm cao hơn so với nồng độ E2 ≥ 1500 (pg/ml), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Nồng độ E2 < 1500 (pg/ml) cho tỷ lệ độ dày niêm mạc tử cung 8-14 mm thấp hơn so với nồng độ E2 ≥ 1500 (pg/ml), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3. Kết quả rã đông phôi:

Chúng tôi đã rã đông 4043 phôi, chất lượng phôi sau rã được ghi trong bảng 3.11 và biểu đồ 3.7.

Bảng 3.11. Đặc điểm phôi trữ đông, phôi rã

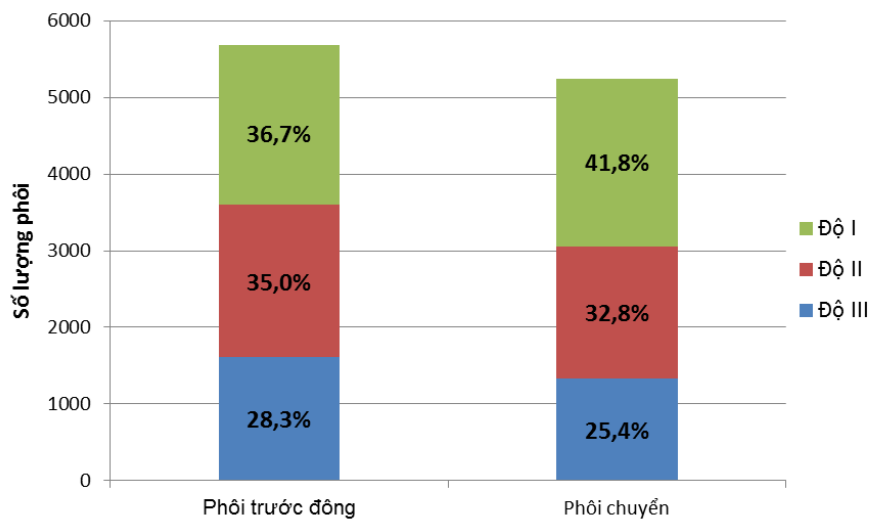
Số lượng phôi	Số phôi trung bình/chu kỳ	Max	Min	Tổng
Số lượng phôi được rã đông (1)	3,23 ± 1,05	6	1	4043
Số lượng phôi thoái hóa	0,30 ± 0,70	4	0	345
Số lượng phôi sống(2)	2,96 ± 0,9	5	1	3698
	$p_{(1-2)} < 0,05$			

Nhận xét:

- Số lượng phôi rã trung bình trong 1 chu kỳ là $3,23 \pm 1,05$ (phôi/chu kỳ). Trong đó, chu kỳ rã nhiều nhất là 6 phôi và ít nhất là 1 phôi. Số lượng phôi sống sau rã trung bình trong 1 chu kỳ là $2,96 \pm 0,9$.

- Số lượng phôi sau rã đông giảm đi do thoái hóa. Có 345 phôi thoái hóa. Tỷ lệ phôi sống sau rã đông là 91,5%.

- Số lượng phôi sống sau rã đông trung bình giảm so với trước rã có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

**Biểu đồ 3.7. Biểu đồ chất lượng phôi trước đông và khi chuyển phôi**

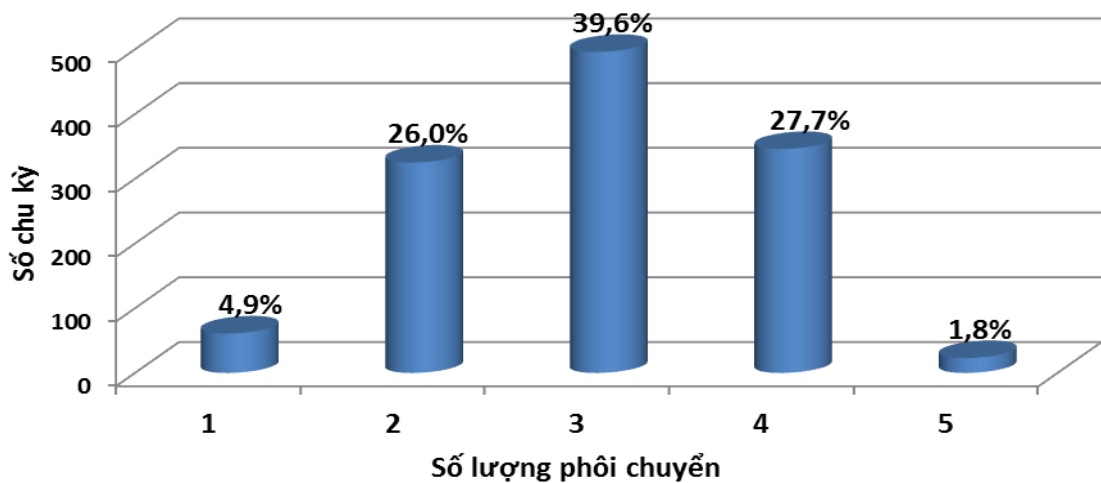
Nhận xét:

- Chất lượng phôi khi đông: phôi độ III và độ II chiếm 63,3%, phôi độ I chiếm 36,7 %.

- Sau khi rã đông phôi có một số phôi bị thoái hóa cũng như không phân chia tiếp, phôi độ III và độ II chiếm tỷ lệ 58,2%, phôi độ I chiếm 41,8%.

3.2.4. Số phôi được chuyển trong một chu kỳ

Với 1208 bệnh nhân, chúng tôi ghi nhận được 1251 chu kỳ chuyển phôi với số lượng phôi chuyển trong mỗi chu kỳ là khác nhau. Sự phân bố số lượng phôi trong các chu kỳ chuyển phôi trữ đông được biểu diễn trong biểu đồ 3.8.



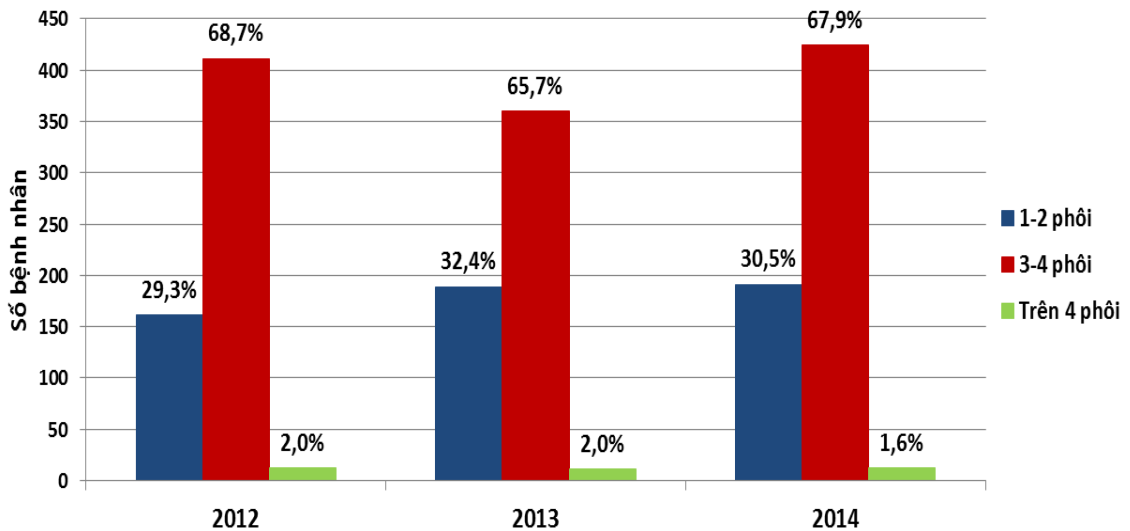
Biểu đồ 3.8. Số lượng phôi trữ đông được chuyển trong 1 chu kỳ

Nhận xét:

- Số lượng phôi chuyển mỗi chu kỳ từ 1 đến 5 phôi.

- Số chu kỳ chuyển 3 phôi chiếm số lượng lớn nhiều nhất với 496 chu kỳ chiếm 39,6%. Số chu kỳ chuyển 5 phôi chiếm tỷ lệ ít nhất 1,8%.

3.2.5. Số phôi rã đông được chuyển trong 1 chu kỳ theo từng năm (Biểu đồ 3.9)



Biểu đồ 3.9. Phân bố số lượng phôi chuyển trong mỗi chu kỳ theo năm

Nhận xét:

- Trong 1251 chu kỳ chuyển phôi, chủ yếu mỗi chu kỳ chuyển 3-4 phôi, chiếm 67,3%. Chu kỳ chuyển hơn 4 phôi chỉ chiếm tỷ lệ 1,8 %.

- Từ năm 2012 đến 2014, những chu kỳ chuyển trên 4 phôi có xu hướng giảm, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2.6. Kết quả sau chuyển phôi trữ lạnh

Sau chuyển phôi trữ lạnh, chúng tôi theo dõi và đánh giá qua xét nghiệm β hCG ngày 14, siêu âm đánh giá tỷ lệ làm tổ của phôi, thai lâm sàng, thai tiến triển và tình trạng đa thai. Kết quả được ghi trong bảng 3.12.

Bảng 3.12. Kết quả sau chuyển phôi trữ đông

	Số chu kỳ	Tỷ lệ (%)
β-hCG (+)	533	42,6
Thai lâm sàng	488	39,0
Thai tiến triển	434	34,7
Đa thai	81	16,6
Tổng số chu kỳ FET	1251	100
	Số phôi chuyển	Tỷ lệ
Tỷ lệ làm tổ	595	16,1
Tổng số phôi chuyển	3698	100

Nhận xét:

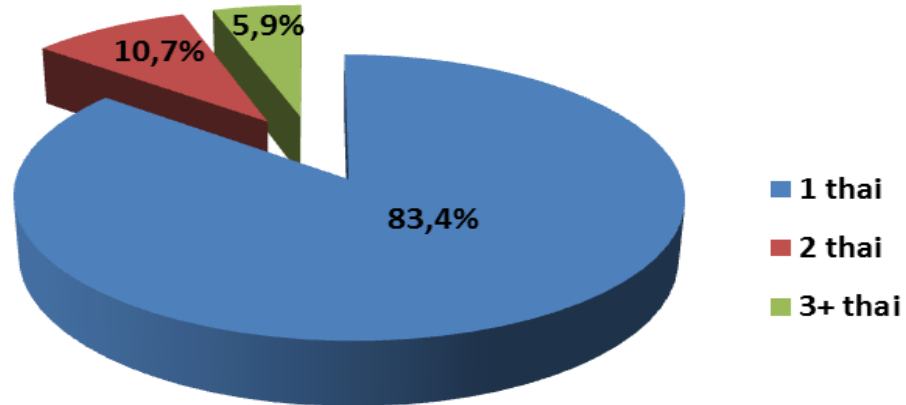
- Trong 1251 chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh có 533 chu kỳ có β -hCG (+) chiếm 42,6%.

- Có 488 chu kỳ thai lâm sàng chiếm 39,0%. Tuy nhiên có 54 trường hợp thai thoái hóa. Số lượng chu kỳ có thai tiến triển là 434 chiếm 34,7%.

- Trong tổng số 3698 phôi được chuyển có tổng số 595 túi ối. Tỷ lệ làm tổ là 16,1%.

3.2.7. Số lượng thai trong chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh

Đặc điểm của số lượng phôi được mô tả trong biểu đồ 3.10



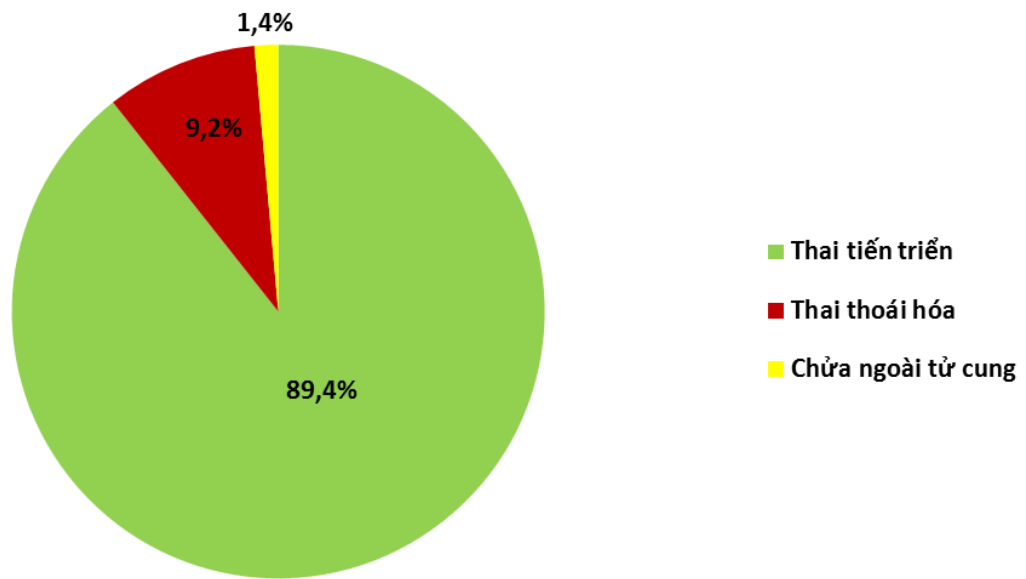
Biểu đồ 3.10. Phân bố số lượng thai

Nhận xét:

Trong 488 chu kỳ có thai, chủ yếu là các trường hợp có 1 thai chiếm 83,4% (407 trường hợp). Trường hợp sinh đôi có 52 trường hợp chiếm 10,7%. Những trường hợp có từ 3 thai trở lên có 29 trường hợp chiếm 5,9%.

3.2.8. Tiến triển của các chu kỳ có thai lâm sàng

Sau khi được xác định có thai mức độ sinh hóa, bệnh nhân được tiếp tục theo dõi. Đặc điểm tiến triển thai được mô tả trong biểu đồ 3.11.



Biểu đồ 3.11. Sự tiến triển của các chu kỳ có thai lâm sàng

Nhận xét:

- Trong 488 chu kỳ có thai lâm sàng có 7 trường hợp bị chứa ngoài tử chiếm 1,4%, 45 trường hợp thai bị thoái triển chiếm 9,2%.
- Tỷ lệ thai tiến triển trong số trường hợp có thai lâm sàng chiếm đến 89,4%.

3.3. ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ LÊN KẾT QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ LẠNH

3.3.1. Ảnh hưởng của tuổi người vợ tới kết quả chuyển phôi

Mối liên quan giữa tuổi người vợ khi chuyển phôi và kết quả chuyển phôi được thể hiện trong bảng 3.13.

Bảng 3.13. Liên quan giữa tuổi và kết quả chuyển phôi trữ đông

Tuổi	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
			n	Tỷ lệ %	
Dưới 31 tuổi (1)	512	525	238	45,3	p₍₁₋₂₎>0,05 p₍₁₋₃₎<0,0001 p₍₂₋₃₎<0,05
31 đến 35 tuổi (2)	428	448	179	40,0	
Trên 35 tuổi (3)	268	278	71	25,5	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai lâm sàng theo chu kỳ có xu hướng giảm khi tuổi bệnh nhân tăng.

- Trong nhóm bệnh nhân dưới 30 tuổi, tỷ lệ chu kỳ có thai lâm sàng cao nhất là 44,3%. Nhóm bệnh nhân từ 30 đến 35 tuổi tỷ lệ này giảm chỉ còn 41,8%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhóm dưới 30 tuổi với $p>0,05$.

- Tỷ lệ có thai lâm sàng ở nhóm trên 35 tuổi giảm hẳn so với nhóm dưới 30 và từ 30 đến 35 và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

3.3.2. Loại vô sinh, thời gian vô sinh và kết quả chuyển phôi

Mối liên quan loại vô sinh, thời gian vô sinh tới thành công của chuyển phôi trữ đông được mô tả trong bảng 3.14, 3.15.

Bảng 3.14. Liên quan giữa loại vô sinh và kết quả chuyển phôi trữ đông

Loại VS	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
			n	Tỷ lệ %	
Nguyên phát	674	695	264	38,0	p>0,05
Thứ phát	534	556	224	40,3	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Nhóm vô sinh nguyên phát tỷ lệ có thai lâm sàng cao hơn so với nhóm vô sinh thứ phát, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.15. Thời gian vô sinh và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thời gian vô sinh	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
			n	Tỷ lệ %	
Dưới 5 năm (1)	711	737	306	41,5	$p_{(1-2)} < 0,05$
5 đến 10 năm (2)	415	427	158	37,0	
Trên 10 năm (3)	82	87	24	27,6	$p_{(1-3)} < 0,05$ $p_{(2-3)} > 0,05$
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ thai lâm sàng có xu hướng giảm khi thời gian vô sinh tăng. Tỷ lệ thai lâm sàng của 3 nhóm có thời gian vô sinh dưới 5 năm, từ 5 đến 10 năm và trên 10 năm lần lượt là 41,5%, 37,0% và 27,6%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm vô sinh từ 5 năm trở xuống và hai nhóm còn lại với $p < 0,05$.

3.3.3. Nguyên nhân vô sinh và tỷ lệ thai lâm sàng

Chúng tôi phân tích ảnh hưởng của nguyên nhân vô sinh đến thành công của chuyển phôi trữ đông. Kết quả được mô tả trong bảng 3.16.

Bảng 3.16. Mối liên quan giữa nguyên nhân VS và tỷ lệ có thai lâm sàng

Nguyên nhân VS	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
			n	Tỷ lệ %	
Do vợ (1)	577	602	218	36,2	<p>$p_{(1-2)} < 0,0001$</p> <p>$p_{(1-3)} > 0,05$</p> <p>$p_{(2-3)} < 0,05$</p>
Do chồng (2)	230	238	113	47,5	
Do cả hai (3)	90	92	28	30,4	
KRNN (4)	311	319	129	40,4	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai lâm sàng ở những cặp có nguyên nhân do chồng là cao nhất với 47,5%. Những cặp vợ chồng chưa rõ nguyên nhân tỷ lệ có thai lâm sàng là 40,4 %. Nguyên nhân do vợ tỷ lệ này là 36,2%. Thấp nhất là những cặp có nguyên nhân vô sinh do cả vợ và chồng với 30,4%.

- Tỷ lệ có thai lâm sàng khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm nguyên nhân do chồng và do vợ với $p < 0,0001$.

- Tỷ lệ có thai lâm sàng khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm nguyên nhân do chồng và do cả hai với $p < 0,05$.

3.3.4. Phác đồ kích thích buồng trứng

Mối liên quan giữa các phác đồ kích thích và tỷ lệ thai lâm sàng được mô tả trong bảng 3.17.

Bảng 3.17. Mối liên quan giữa phác đồ KTBT và kết quả FET

Phác đồ	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
			n	%	
GnRH agonist dài (1)	762	790	296	37,5	p>0,05
GnRH agonist ngắn (2)	176	182	74	40,7	
GnRH antagonist (3)	270	279	118	42,3	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ có thai ở nhóm sử dụng phác đồ GnRH antagonist là cao nhất với 42,3%. Thấp nhất là nhóm sử dụng phác đồ agonist dài 37,5%. Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ có thai giữa 3 nhóm phác đồ là không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.5. Phương pháp thụ tinh

Bảng 3.18. Liên quan giữa phương pháp thụ tinh và kết quả chuyển phôi

Phương pháp	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
			n	Tỷ lệ %	
IVF cổ điển	83	83	34	41,0	p>0,05
IVF/ICSI	1125	1168	454	38,9	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ có thai của nhóm bệnh nhân làm IVF cổ điển là 41,0 % có xu hướng cao hơn nhóm sử dụng phương pháp IVF/ICSI là 38,9 %. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.6. Chỉ số bFSH và kết quả chuyển phôi

Ảnh hưởng của chỉ số FSH cơ bản đến kết quả chuyển phôi được mô tả trong bảng 3.19.

Bảng 3.19. Mối liên quan giữa giá trị bFSH và thai lâm sàng

Giá trị bFSH (UI/L)	Số bệnh nhân	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
			n	Tỷ lệ %	
≤10	1162	1204	479	39,8	p<0,01
>10	46	47	9	19,1	
Tổng	1208	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ có thai lâm sàng ở nhóm có bFSH >10 thấp hơn nhóm có bFSH ≤ 10 UI/L có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$.

3.3.7. Số ngày sử dụng E2 và kết quả chuyển phôi

Ảnh hưởng các đặc điểm của estradiol tới kết quả có thai được thể hiện trong bảng 3.20, 3.21.

Bảng 3.20. Mối liên quan giữa số ngày sử dụng E2 và tỷ lệ thai lâm sàng

Số ngày sử dụng E2	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
		n	Tỷ lệ %	
< 11 ngày	31	12	38,7	p > 0,05
11-15 ngày	1148	449	39,1	
>15	72	27	37,5	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ có thai giữa các nhóm phân theo ngày sử dụng E2 là khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.21. Mối liên quan giữa nồng độ E2 và tỷ lệ có thai lâm sàng

Nồng độ E2 (pg/ml)	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ		p
		n	Tỷ lệ %	
<1500	776	293	37,8	p > 0,05
≥ 1500	475	195	41,1	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Tỷ lệ có thai lâm sàng của nhóm bệnh nhân có nồng độ E2 từ 1500 pg/ml cao hơn nhóm có nồng độ E2 dưới 1500 pg/ml. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.8. Đặc điểm phôi chuyển và kết quả chuyển phôi

3.3.8.1. Số lượng phôi chuyển và kết quả chuyển phôi

Bảng 3.22. Mối liên quan giữa số lượng phôi chuyển và kết quả chuyển phôi

Số lượng phôi chuyển	Số chu kỳ	Thai lâm sàng			Đa thai		
		n	%	p	n	%	p
1-2 phôi (1)	386	76	19,7	$p_{(1-2)} < 0,0001$ $p_{(1-3)} < 0,0001$ $p_{(2-3)} > 0,05$	6	7,8	$p_{(1-2)} < 0,0001$ $p_{(1-3)} < 0,05$ $p_{(2-3)} > 0,05$
3-4 phôi (2)	842	399	47,4		72	18,0	
≥ 5 phôi (3)	23	13	56,5		3	23,1	
Tổng	1251	488	39,0		81	16,6	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai lâm sàng có xu hướng tăng khi số lượng phôi chuyển tăng.
- Với nhóm chuyển 1-2 phôi/chu kỳ tỷ lệ có thai lâm sàng là 19,7% thấp hơn có ý nghĩa thống kê với nhóm chuyển 3-4 phôi hay chuyển trên 4 phôi với $p < 0,0001$.
- Nhóm chuyển trên 4 phôi/chu kỳ có tỷ lệ có thai lâm sàng là 56,5 % cao hơn so với chuyển 3-4 phôi là 47,4%. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.
- Tỷ lệ đa thai trong số những trường hợp có thai lâm sàng cũng tăng theo số lượng phôi chuyển: tỷ lệ đa thai ở bệnh nhân chuyển 1-2 phôi là 7,8%, chuyển 3-4 phôi là 18,0 %, chuyển trên 4 phôi là 23,1%. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm chuyển 1-2 phôi và những nhóm còn lại ($p < 0,05$).

3.3.8.2. Chất lượng phôi chuyển và kết quả chuyển phôi

Bảng 3.23. Mối liên quan giữa chất lượng phôi và kết quả chuyển phôi

CL phôi SL phôi	Thai lâm sàng theo chu kỳ					
	Độ III		Độ II		Độ III + Độ II	
	n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %	n	Tỷ lệ %
< 2	416	37,5	283	32,0	183	28,4
≥ 2	72	50,7	205	55,7	305	50,2
p	<0,01		<0,0001		<0,0001	

Nhận xét:

- Chu kỳ chuyển phôi có ít nhất 2 phôi độ III cho tỷ lệ có thai lâm sàng là 50,7% cao hơn nhóm có dưới 2 phôi độ III là 37,5%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Chu kỳ chuyển phôi có ít nhất 2 phôi độ II cho tỷ lệ có thai lâm sàng là 55,7% cao hơn nhóm có dưới 2 phôi độ II là 32,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$.

- Chu kỳ chuyển phôi có ít nhất 2 phôi độ III và độ II có tỷ lệ thai lâm sàng là 50,2% cao hơn nhóm có dưới 2 phôi độ III và độ II là 28,4%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$.

3.3.9. Đặc điểm NMTC và kết quả chuyển phôi

3.3.9.1. Độ dày NMTC và tỷ lệ thai lâm sàng

Mối liên quan giữa độ dày NMTC và tỷ lệ thai lâm sàng được mô tả trong bảng 3.24.

Bảng 3.24. Độ dày của NMTC và kết quả chuyển phôi

Độ dày NMTC	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
		n	Tỷ lệ %	
< 8mm (1)	80	16	20,0	p₍₁₋₂₎ <0,0001 p ₍₁₋₃₎ >0,05 p ₍₂₋₃₎ <0,05
8-14 mm (2)	1125	459	40,8	
> 14 mm (3)	46	13	28,3	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai ở nhóm có chiều dày niêm mạc 8-14 mm cao nhất với 40,8%. Nhóm có độ dày NMTC < 8 tỷ lệ có thai là 20,0 % và nhóm độ dày NMTC > 14mm là 28,3%.

- Tỷ lệ có thai ở nhóm độ dày NMTC 8-14 mm cao hơn có ý nghĩa thống kê với 2 nhóm còn lại với $p < 0,05$.

- Tỷ lệ có thai ở nhóm có độ dày NMTC >14 mm cao hơn so với nhóm NMTC dày < 8mm. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.9.2. Hình thái NMTC và tỷ lệ thai lâm sàng

Mối liên quan giữa hình dạng NMTC và tỷ lệ thai lâm sàng được trình bày trong bảng 3.25.

Bảng 3.25. Hình thái NMTC và kết quả chuyển phôi

Hình thái NMTC	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
		n	Tỷ lệ %	
Ba lá (1)	983	415	42,2	$p_{(1-2)} < 0,0001$ $p_{(2-3)} > 0,05$ $p_{(1-3)} < 0,0001$
Trung gian (2)	194	56	28,9	
Tăng âm đồng nhất (3)	74	17	23,0	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai ở nhóm có hình thái NMTC lúc chuyển phôi dạng ba lá có tỷ lệ có thai cao nhất với 42,2 %. Tỷ lệ có thai ở nhóm có hình thái NMTC dạng tăng âm đồng nhất là thấp nhất với 23,0%.

- Sự khác biệt về tỷ lệ có thai có ý nghĩa thống kê giữa nhóm hình thái NMTC dạng 3 lá và hai nhóm còn lại.

- Tỷ lệ có thai ở nhóm hình thái NMTC dạng trung gian cao hơn so với nhóm NMTC có dạng tăng âm đồng nhất. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.10. Đặc điểm khi chuyển phôi và kết quả có thai

3.3.10.1. Mức độ khó dễ của chuyển phôi và tỷ lệ thai lâm sàng

Bảng 3.26. Mức độ chuyển phôi dễ hay khó và kết quả chuyển phôi

Mức độ chuyển phôi	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
		n	Tỷ lệ %	
Dễ	746	380	50,9	p < 0,0001
Khó	505	108	21,4	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

Trong 1251 chu kỳ chuyển phôi có 505 ca chuyển phôi khó. Tỷ lệ có thai những ca chuyển phôi khó là 21,4 % thấp hơn so với những ca chuyển phôi dễ là 50,9 %, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$.

3.3.10.2. Đặc điểm catheter chuyển phôi và tỷ lệ thai lâm sàng

Bảng 3.27. Đặc điểm catheter chuyển phôi và kết quả chuyển phôi

Đặc điểm chuyển phôi	Số chu kỳ chuyển phôi	Thai lâm sàng		p
		n	Tỷ lệ %	
Sạch (1)	540	213	39,4	p > 0,05
Nhày (2)	492	191	38,8	
Máu (3)	219	84	38,4	
Tổng	1251	488	39,0	

Nhận xét:

- Nhóm bệnh nhân chuyển phôi catheter sạch có xu hướng cao hơn nhóm có nhày và máu (39,4 % với 38,8% và 38,4%), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.11. Phân tích các yếu tố có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng

3.3.11.1. Phân tích các đặc điểm lâm sàng ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng

Phân tích từng đặc điểm lâm sàng biến độc lập ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng, kết quả thu được trình bày trong bảng 3.28.

Bảng 3.28. Phân tích đơn biến yếu tố lâm sàng ảnh hưởng kết quả có thai

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ thai lâm sàng (%)	OR	95%CI	p
Tuổi				
≤35 tuổi	42,9			
>35 tuổi	25,5	0,457	0,339-0,616	<0,0001
Thời gian VS				
<5 năm	41,6			
≥5 năm	35,5	0,764	0,605- 0,964	<0,05
Loại VS				
Nguyên phát	38,0			
Thứ phát	40,3	1,101	0,877-1,384	0,407 > 0,05
bFSH				
≤10 mUI/mL	39,8			
>10 mUI/mL	19,1	0,358	0,172-0,748	<0,05

Nhận xét:

- Trong các yếu tố lâm sàng gồm tuổi vợ, nồng độ FSH cơ bản, thời gian vô sinh thì yếu tố về tuổi và nồng độ FSH cơ bản có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng trong chuyên phôi đông lạnh.

- Khả năng có thai của bệnh nhân trên 35 tuổi giảm 0,543 lần so với những bệnh nhân từ 35 tuổi trở xuống có ý nghĩa thống kê với 95CI=[0,339-0,616].

- Thời gian vô sinh trên 5 năm làm giảm khả năng có thai 0,238 lần so với nhóm có thời gian vô sinh dưới 5 năm có ý nghĩa thống kê với 95CI=[0,605- 0,964]

- Với những bệnh nhân có nồng độ FSH cơ bản trên 10 mUI/mL khả năng có thai lâm sàng giảm 0,642 lần so với những người có nồng độ FSH cơ bản từ 10 mUI/mL trở xuống với 95CI=[0,172-0,748].

3.3.11.2. Phân tích đơn biến các yếu tố khi chuyển phôi ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng

Phân tích từng biến độc lập trong quá trình chuyển phôi lên tỷ lệ thai lâm sàng, kết quả thu được trình bày trong bảng 3.29.

Bảng 3.29. Phân tích đơn biến các yếu tố khi chuyển phôi ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ Thai lâm sàng (%)	OR	95%CI	p
Hình thái NMTC				
Ba lá	42,2			
Khác	27,2	0,512	0,381-0,690	<0,0001
Độ dày NMTC				
8-14mm	40,8			
Khác	23,0	0,434	0,282-0,668	<0,0001
Số lượng phôi				
≤ 2 phôi	19,7			
> 2 phôi	47,6	3,710	2,792-4,929	<0,0001
Chất lượng phôi (độ III, độ II)				
<2 phôi	28,4			
≥2 phôi	50,2	2,544	2.014-3,214	<0,0001
Chuyển phôi				
Dễ	50,9			
Khó	21,4	0,262	0,203-0,339	<0,0001
Độ sạch catheter				
Sạch	39,4			
Nhầy/Máu	38,7	0,968	0,770-1,218	0,783 > 0,05

Nhận xét:

- Số lượng phôi và chất lượng phôi chuyển đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê tới kết quả có thai lâm sàng: số lượng phôi chuyển càng nhiều, chất lượng càng tốt thì tỷ lệ có thai lâm sàng càng cao.

- Trong các yếu tố trong quá trình chuyển phôi thì những ca chuyển phôi khó khả năng có thai thấp hơn những ca chuyển dễ 0,262 lần với 95%CI [0,203-0,339]

- Độ sạch catheter không ảnh hưởng đến khả năng có thai $p > 0,05$.

3.3.11.3. Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng

Các đặc điểm lâm sàng và các yếu tố trong quá trình chuyển phôi cùng tác động lên tỷ lệ có thai lâm sàng. Sau khi loại bỏ yếu tố “Loại VS” và “Độ sạch catheter” không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai trong phân tích đơn biến, chúng tôi đưa các yếu tố vào phân tích hồi quy nhị biến logistics để xem xét vai trò của các biến khi tác động cùng lúc trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh. Kết quả thu được trình bày trong bảng 3.30.

Bảng 3.30. Phân tích hồi quy các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ có thai (%)	OR hiệu chỉnh	95%CI	p
Tuổi				
≤ 35 tuổi	42,9			
> 35 tuổi	25,5	0,427	0,305-0,596	<0,0001
Thời gian VS				
< 5 năm	41,6			
≥5 năm	35,5	0,815	0,624- 1,063	0,131
bFSH				
≤10 mUI/mL	39,8			
>10 mUL/mL	19,1	0,360	0,162-0,796	<0,05
Hình thái NMTC				
Ba lá	42,2			
Khác	27,2	0,492	0,354-0,682	<0,0001
Độ dày NMTC				
8-14mm	40,8			
Khác	23,0	0,435	0,271-0,699	<0,05
Số lượng phôi				
≤ 2 phôi	19,7			
> 2 phôi	47,6	3,189	2,337-4,351	<0,0001
Chất lượng phôi (độ III, độ II)				
<2 phôi	28,4			
≥2 phôi	50,2	2,100	1,613-2,735	<0,0001
Chuyển phôi				
Dễ	50,9			
Khó	21,4	0,282	0,214-0,372	<0,0001

Nhận xét:

- Sau khi đưa vào mô hình hồi quy nhị biến chúng tôi thấy yếu tố tuổi, bFSH, độ dày, hình thái niêm mạc tử cung, số lượng phôi chuyển và chất

lượng phôi chuyển cũng như chuyển phôi khó có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Khi các yếu tố bFSH, hình thái niêm mạc và độ dày NMTC, số lượng và chất lượng phôi chuyển, mức độ khó dễ của chuyển phôi như nhau thì khả năng có thai lâm sàng của phụ nữ trên 35 tuổi chỉ bằng 0,427 lần so với những người từ 35 tuổi trở xuống (95CI= 0,305-0,596).

- Khi các yếu tố tuổi vợ, hình thái niêm mạc và độ dày NMTC, số lượng và chất lượng phôi chuyển, mức độ khó dễ của chuyển phôi như nhau thì khả năng có thai lâm sàng của người có bFSH ≥ 10 IU/ml chỉ bằng 0,360 lần so với những người từ 35 tuổi trở xuống (95CI= 0,162-0,796).

- Số lượng phôi chuyển và chất lượng phôi chuyển sau khi hiệu chỉnh các yếu tố khác có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai:

+ Số lượng phôi chuyển > 2 phôi làm khả năng có thai cao hơn 3,189 lần so với chuyển từ 2 phôi trở xuống (95CI=2,337-4,351)

+ Chuyển từ 2 phôi có chất lượng độ III, độ II làm khả năng có thai lâm sàng cao hơn 2,100 lần so với chuyển ít hơn 2 phôi độ III, độ II (95CI=1,613-2,735).

- Độ dày và hình thái niêm mạc tử cung sau hiệu chỉnh các yếu tố khác vẫn có ảnh hưởng tới tỷ lệ có thai:

+ Độ dày niêm mạc tử cung không tốt làm khả năng có thai thấp hơn 0,435 lần so với những chu kỳ có độ dày niêm mạc từ 8-14 mm (95CI= 0,271-0,699).

+ Hình thái niêm mạc tử cung không dạng ba lá làm khả năng có thai thấp hơn 0,492 lần so với NMTC dạng ba lá (95CI= 0,354-0,682).

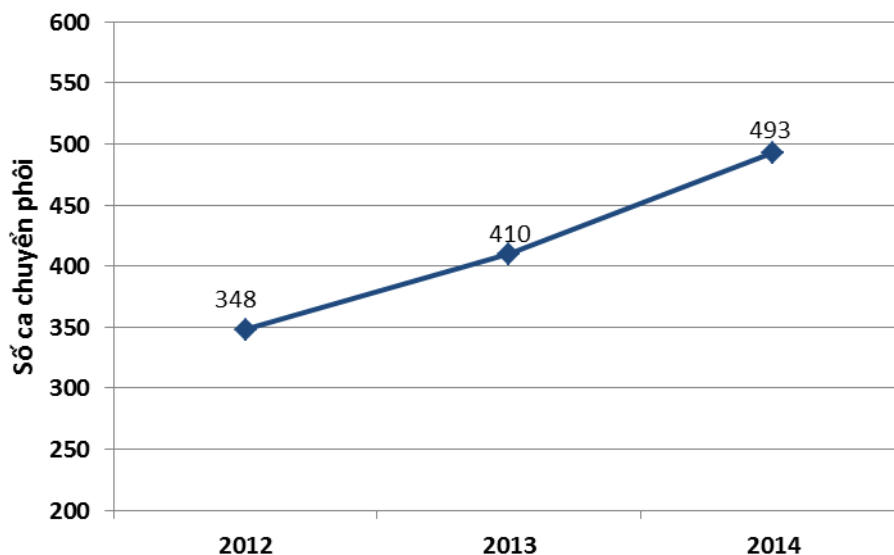
- Yếu tố thời gian vô sinh trong phân tích đơn biến có ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng nhưng khi đưa vào phân tích hồi quy đa biến, hiệu chỉnh các yếu tố khác lại không ảnh hưởng với $p = 0,131 > 0,05$.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA NHÓM BỆNH NHÂN ĐƯỢC ĐIỀU TRỊ BẰNG QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 1208 bệnh nhân được chuyển phôi trữ đông tại bệnh viện Phụ sản Trung ương trong 3 năm từ 2012 đến 2014 với 1251 chu kỳ chuyển phôi.



Biểu đồ 4.1. Số chu kỳ chuyển phôi trữ đông theo năm (2012-2014)

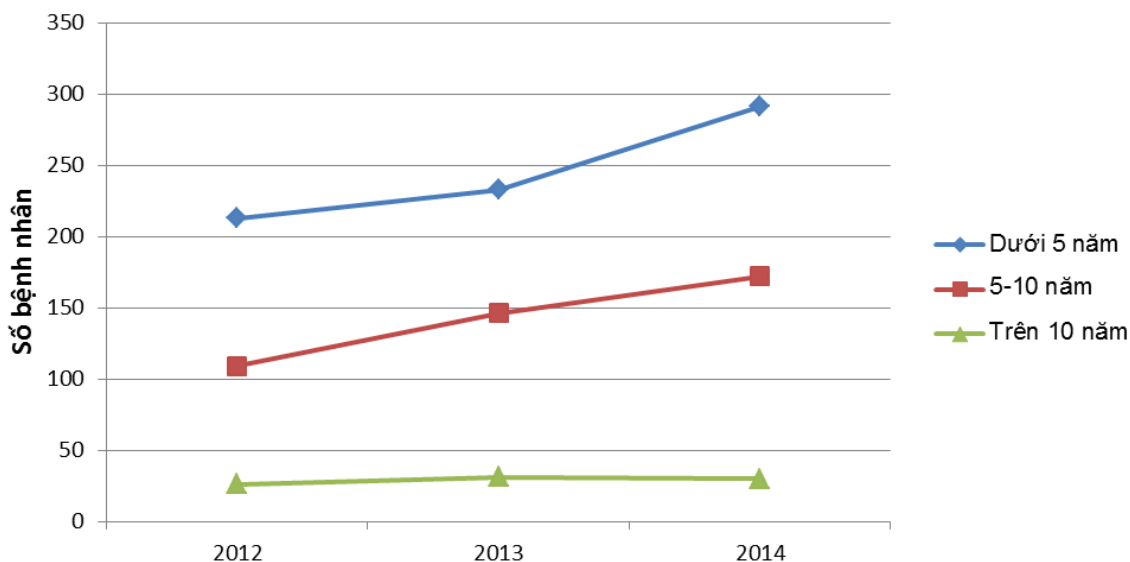
Số lượng chu kỳ chuyển phôi trữ đông tại bệnh viện phụ sản Trung ương từ 2012 đến 2014 có xu hướng gia tăng (Biểu đồ 4.1). Đối tượng trong nhóm nghiên cứu có độ tuổi trung bình $31,93 \pm 4,90$. Độ tuổi trung bình của các bệnh nhân được chuyển phôi trữ đông có xu hướng tăng nhẹ theo các năm nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Trong ba năm, những bệnh nhân từ 35 trở xuống chiếm đa số. Như vậy hầu hết các bệnh nhân được chuyển phôi trong độ tuổi sinh sản (Bảng 3.1). Các nhóm nghiên cứu của

Veleva và cs, có độ tuổi trung bình lần lượt là $31,2 \pm 4,5$ đến $32,5 \pm 5,0$ [78] tương đương với nghiên cứu của chúng tôi. Nghiên cứu thuần tập của Feichtinger đánh giá thành công IVF ở Châu Âu và vùng Trung Đông/Bắc Mỹ độ tuổi trung bình Trung Đông/Bắc Mỹ là 30,6; ở Châu Âu là 34,0 [91]. Santos-Ribeiro và cs nghiên cứu chuyên phôi trữ đông tại 2 trung tâm khác nhau độ tuổi trung bình của hai trung tâm cũng khác nhau [92]. Hay như trong nghiên cứu của tác giả Mai Quang Trung và cs (2010) tuổi trung bình của bệnh nhân là $33,1 \pm 4,95$ [93], tác giả Nguyễn Xuân Hợi và cs (2010) là $30,4 \pm 3,1$ [80]. Có thể thấy độ tuổi trung bình của bệnh nhân trong các nghiên cứu là rất khác nhau tùy từng mục tiêu nghiên cứu, tùy trung tâm và quốc gia khác nhau. Rõ ràng, trong rất nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng phụ nữ trên 35 tuổi tỷ lệ có thai giảm có ý nghĩa thống kê với nhóm từ 35 tuổi trở xuống nhưng khi phân tích các nhóm tuổi tham gia chuyển phôi trữ đông, chúng tôi nhận thấy, nhóm tuổi trên 35 có xu hướng gia tăng từ 17,8% năm 2012 lên 23,5% năm 2013 và 23,9% năm 2014 (Bảng 3.1). Điều này là do tình trạng phụ nữ kết hôn muộn hơn đang diễn ra phổ biến ở Việt Nam nói riêng và toàn thế giới nói chung, đặc biệt là ở các vùng thành thị. Khi phụ nữ kết hôn muộn thì độ tuổi trung bình cũng như độ tuổi phụ nữ điều trị vô sinh trên 35 tuổi có xu hướng gia tăng.

Thời gian vô sinh trung bình của nhóm nghiên cứu là $4,65 \pm 2,91$ (năm). Thời gian vô sinh của bệnh nhân nhóm nghiên cứu chủ yếu là dưới 5 năm chiếm 58,9%. Thời gian vô sinh trên 10 năm chỉ chiếm 6,8%. Bệnh nhân trẻ tuổi nhất là 19 tuổi. Trường hợp chuyển phôi lớn tuổi nhất là 43 tuổi.

Trong vòng 3 năm 2012 đến 2014, số lượng bệnh nhân trong nhóm có thời gian vô sinh dưới 5 năm và từ 5-10 năm có xu hướng gia tăng. Trong khi đó, bệnh nhân có thời gian vô sinh trên 10 năm có tỷ lệ ngày càng ít đi (Biểu đồ 4.2). Có lẽ do trình độ hiểu biết của người dân ngày

càng được nâng cao dẫn đến các cặp vợ chồng có vấn đề liên quan đến sinh sản đi điều trị sớm hơn.

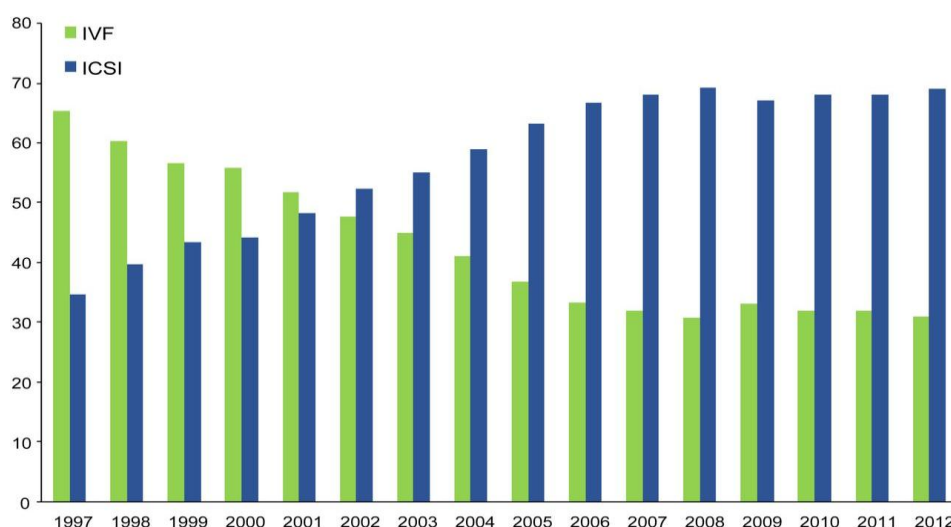


Biểu đồ 4.2. Phân bố số lượng bệnh nhân theo năm và theo thời gian vô sinh

Thống kê về loại vô sinh chúng tôi có 674 bệnh nhân bị vô sinh nguyên phát chiếm 55,8%, 534 bệnh nhân bị vô sinh thứ phát chiếm 44,2%. Nguyên nhân chủ yếu là do người vợ với 47,8%, và 25,7% số bệnh nhân không rõ nguyên nhân. Đặc biệt nếu tính riêng nguyên nhân do vòi trứng ở người vợ trong tổng số bệnh nhân cũng chiếm đến 37,8 % tổng số bệnh nhân và 79,2% nếu chỉ tính riêng nguyên nhân do vợ. Nguyên nhân chính gây tắc vòi trứng là do nhiễm khuẩn. Những phụ nữ có tiền sử mắc bệnh phụ khoa hay nạo hút thai là yếu tố nguy cơ gây tắc vòi trứng. Viêm nhiễm có thể xảy ra ở âm đạo, cổ tử cung phát triển nhanh gây viêm vòi trứng hậu quả dẫn đến chít hẹp hay tắc vòi. Tỷ lệ vô sinh do vòi rất lớn điều này có thể do sự thiếu hiểu biết về mối nguy hiểm khi bị viêm phần phụ ở phụ nữ Việt Nam nói chung, cũng như có nhiều trường hợp quá trình viêm diễn ra âm thầm, không có biểu hiện rõ làm bệnh nhân dễ bỏ qua. Có thể nói với tỷ lệ vô sinh do tắc vòi ở Việt Nam cao ở mức đáng báo động, cần có sự tuyên truyền nâng cao nhận thức trong bảo vệ

sức khỏe sinh sản trong cộng đồng. Trong khi đó các nguyên cứu của các tác giả nước ngoài, nguyên nhân vô sinh chủ yếu do chồng hoặc do cả hai vợ chồng [78].

Các bệnh nhân được chúng tôi nghiên cứu chủ yếu được sử dụng phương pháp thụ tinh là IVF/ICSI chiếm đến 93,1%. Chỉ có 83 trường hợp sử dụng phương pháp IVF cổ điển (chỉ chiếm 6,9%). Có thể thấy xu hướng hiện nay ở Việt Nam nói chung và ở Trung tâm hỗ trợ sinh sản Quốc gia - Bệnh viện phụ sản Trung Ương nói riêng là sử dụng phương pháp ICSI. Phương pháp IVF cổ điển có hiệu quả cho những trường hợp vô sinh do nguyên nhân người phụ nữ khi chất lượng tinh trùng vẫn đảm bảo cho quá trình thụ tinh. Tuy nhiên đối với những trường hợp vô sinh do suy giảm nghiêm trọng chất lượng tinh trùng thì IVF cổ điển không khả quan. ICSI sử dụng kim vi tiêm bắt 1 tinh trùng duy nhất tiêm thẳng vào noãn giai đoạn MII gây thụ tinh. Kỹ thuật này đem đến cơ hội có con của chính mình cho những trường hợp vô sinh nam chỉ với một vài tinh trùng. Và ICSI cũng áp dụng cho những trường hợp làm IVF nhiều lần thất bại. Tuy nhiên, hiện nay, với mục đích kiểm soát và đảm bảo số lượng thụ tinh cho noãn, rất nhiều trung tâm HTSS ở Việt Nam trong đó có bệnh viện Phụ sản Trung Ương áp dụng phương pháp ICSI trên hầu hết bệnh nhân điều trị thụ tinh ống nghiệm. Ở Châu Âu, xu hướng sử dụng kỹ thuật ICSI cũng dần thay thế cho IVF cổ điển nhưng IVF cổ điển vẫn được thực hiện khá phổ biến (Biểu đồ 4.3).



Biểu đồ 4.3. Tỷ lệ phương pháp IVF/ICSI tại Châu Âu năm 1997-2012 [94]

Các bệnh nhân trong nghiên cứu chủ yếu là những người chuyển phôi lần đầu tiên, 16,3 % các bệnh nhân chuyển phôi trữ đông trong nghiên cứu ở các lần thực hiện lần chuyển phôi sau đó.

Nồng độ FSH cơ bản của nhóm bệnh nhân trung bình là $6,26 \pm 1,71$ (mUI/mL), chủ yếu nằm trong giới hạn bình thường với 96,2% bệnh nhân. Chỉ có 46 người trong tổng số 1208 bệnh nhân có nồng độ FSH cơ bản trên 10 mUI/mL.

Cả ba phác đồ kích thích buồng trứng GnRH agonist dài, GnRH agonist ngắn và GnRH antagonist đều được sử dụng. Trong số đó phác đồ GnRH agonist dài được sử dụng nhiều nhất với 63,1%, phác đồ antagonist chiếm 22,4%, phác đồ agonist ngắn ít được sử dụng nhất với 14,6%.

Các đối tượng trong nghiên cứu đều được chuẩn bị niêm mạc tử cung bằng chu kỳ có sử dụng hormon. Số ngày sử dụng E2 trung bình là $13,26 \pm 1,50$ (ngày). Trong đó số ngày sử dụng E2 từ 12 đến 14 chiếm hơn 77,2%. Với nồng độ hormon ngày chuyển phôi trung bình là $1434,72 \pm 506,51$ (pg/ml). Trong nghiên cứu của Park và cs, nồng độ E2 cao điểm vào chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh là 2975 ± 1112 (pg/ml) cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi [95].

Từ lâu, độ dày của niêm mạc tử cung đã được sử dụng như dấu hiệu của khả năng tiếp nhận phôi của tử cung cũng như là yếu tố tiên lượng cho thành công của chuyển phôi trong IVF. Bằng việc chuẩn bị niêm mạc tử cung có sử dụng hormone, hiệu quả đạt được rất tốt. Niêm mạc tử cung ngày bổ sung P4 dày 8-14 mm chiếm đến 89,9%, chỉ có 6,4% niêm mạc mỏng <8mm. Và hình thái dạng ba lá chiếm 78,6% (Bảng 3.9-3.10). Niêm mạc tử cung chính là nơi làm tổ của phôi, việc đảm bảo chất lượng niêm mạc trong quá trình chuyển phôi trữ đông là yếu tố rất được coi trọng. Và đây vẫn luôn được coi ưu điểm trong quá trình chuyển phôi trữ đông do trong chu kỳ kích thích buồng trứng, niêm mạc tử cung dưới tác động của thuốc kích trứng thường không được chuẩn bị tốt đặc biệt là với phác đồ kích thích bằng GnRH antagonist [96]. Phân tích nồng độ E2 có ảnh hưởng đến chất lượng NMTC trong chu kỳ FET không, chúng tôi có nhận thấy ở cả hai nhóm, tỷ lệ NMTC có độ dày đạt yêu cầu đều rất cao (88,9% và 91,6%). Nồng độ E2 \geq 1500 pg/ml cho độ dày NMTC 8-14 mm có tỷ lệ cao hơn so với những chu kỳ E2 < 1500 pg/ml. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Biểu đồ 3.6). Điều này gợi ý chúng tôi rằng trong chu kỳ FET, nồng độ E2 ít có giá trị tiên lượng chất lượng NMTC.

4.2. KẾT QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ LẠNH

4.2.1. Chất lượng phôi sau rã đông

Tổng số phôi được rã đông là 4043 phôi, trung bình mỗi chu kỳ là $3,23 \pm 1,05$ (phôi/chu kỳ). Trong đó có 63,3% là phôi độ III và độ II (Bảng 3.11; Biểu đồ 3.6). Chúng tôi thấy rằng các phác đồ kích thích khác nhau không làm ảnh hưởng đến chất lượng phôi (ở đây chúng tôi chỉ đánh giá những phôi đã được đông) với $p > 0,05$ (Biểu đồ 3.7). Nhưng chúng tôi chưa dám kết luận phác đồ kích thích khác nhau thì chất lượng phôi không khác nhau

do đến khi kết thúc thời điểm nghiên cứu có những bệnh nhân chưa chuyển hết toàn bộ số phôi trữ trong chu kỳ kích trứng.

Có nhiều nghiên cứu đánh giá các yếu tố ảnh hưởng khả năng sống của phôi sau rã đông. Như chúng ta đã biết có hai phương pháp đông phôi chính được áp dụng trên lâm sàng là đông chậm và thủy tinh hóa. Hiện nay thủy tinh hóa đang dần chiếm ưu thế do hiệu quả bảo quản phôi của phương pháp này mang lại. Năm 2009, Rezazadeh đánh giá tỷ lệ sống, tỷ lệ có thai sau rã giữa đông chậm và thủy tinh hóa phôi ngày 2-3. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống sau rã của phương pháp thủy tinh hóa cao hơn so với đông chậm (96,9% và 82,8%). Tỷ lệ làm tổ của phôi lần lượt là 16,6% và 6,8%. Tỷ lệ thai lâm sàng là 40,5% và 21,4%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [97]. Giovanna và cs (2014) tiến hành so sánh giữa 2 phương pháp thủy tinh hóa với 1 phương pháp đông chậm trên đông phôi giai đoạn phân cắt. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống của 2 phương pháp thủy tinh hóa bằng Irvine và Vitrolife là tương đương nhau (89,4% và 87,6%). Và cao hơn phương pháp đông chậm tỷ lệ sống là 63,8% ($p < 0,01$) [98]. Rienzi năm 2016 tổng hợp 7 nghiên cứu thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng so sánh giữa hai phương pháp từ năm 2000 đến năm 2015 đánh giá 3615 phôi giai đoạn phân chia và phôi nang với 2061 phôi đông chậm và 1554 phôi đông nhanh. Kết quả đều cho thấy thủy tinh hóa đạt làm cải thiện khả năng sống của phôi sau rã so với phương pháp đông chậm (RR= 1,59, 95%CI: 1,30-1,93; $p < 0,001$). Và nếu tính riêng đối với phôi giai đoạn phân chia, thủy tinh hóa cũng cho chất lượng phôi sau rã tốt hơn đông chậm (RR=1,74, 95%CI: 1,39-2,18; $p < 0,001$). Cũng trong nghiên cứu này khi tổng hợp 12 nghiên cứu thuần tập từ năm 2005 đến 2016 với 64982 phôi đông giai đoạn tiền nhân, giai đoạn phân chia hay giai đoạn phôi nang. Phân tích cũng cho thấy ở giai đoạn phân cắt tỷ lệ sống sau rã đông của

phương pháp thủy tinh hóa tốt hơn đông chậm (RR=1,14, 95%CI: 1,07-1,22; $p<0,001$) [99].

Nghiên cứu của chúng tôi, phôi được đông-rã theo phương pháp thủy tinh hóa. Sau khi rã một số phôi bị thoái hóa còn lại 3698 phôi, như vậy tỷ lệ phôi sống sau rã đông là 91,5%. Đây là một tỷ lệ sống cao, khẳng định được tính ưu việt của phương pháp đông phôi thủy tinh hóa, đồng thời cũng là một con số đánh giá khả năng thực hiện kỹ thuật đông phôi thuần thực tại bệnh viện phụ sản Trung ương rất tốt.

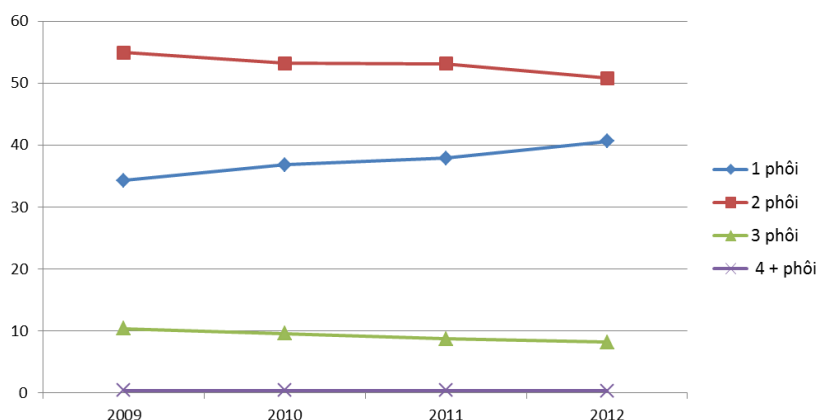
Phôi trong nghiên cứu của chúng tôi được đông ngày 2, sau khi rã đông được nuôi thêm 1 ngày và chuyển vào ngày 3. Đồng thời với việc phôi bị thoái hóa, chất lượng phôi trong quá trình đông-rã cũng giảm. Chất lượng phôi trước rã của nghiên cứu phân bố như sau: 28,3% phôi độ III, 35,0% phôi độ II, 36,7% phôi độ I. Sau khi rã đông và nuôi thêm, tỷ lệ phôi độ III và độ II giảm 25,4% và 32,8%. Do các phôi sau rã đông dùng phân chia hoặc ly giải phôi bào và có nhiều mảnh vỡ trong quá trình tiếp tục phát triển làm cho tỷ lệ phôi độ I tăng (Biểu đồ 3.6). Một số các nghiên cứu trên thế giới đánh giá hiệu quả đông phôi tại các thời điểm khác nhau. Pavone và cộng sự (2011) đã làm 1 nghiên cứu so sánh về tỷ lệ sống sau rã, tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ sinh sống giữa hợp tử, phôi phân cắt và phôi nang đông lạnh bằng phương pháp đông chậm. Kết quả cho thấy tại tất cả các giai đoạn đông, sau khi rã đều có 1 số lượng phôi bị thoái hóa. Tỷ lệ sống của phôi sau rã lần lượt là 69% với hợp tử; 85% với phôi ngày 3 và 88% với phôi nang. Tuy nhiên, tỷ lệ sinh sống giữa 3 nhóm là tương tự nhau [100]. Hiện nay vẫn còn những tranh cãi về việc bảo quản lạnh phôi ở giai đoạn sớm hay muộn. Tuy nhiên theo nghiên cứu của Pavone thì rõ ràng khả năng sống của phôi càng cao ở giai đoạn muộn có lẽ do phôi ở giai đoạn sau có nhiều tế bào hơn nên khi 1 vài tế bào bị ly giải sau rã vẫn không ảnh hưởng đến khả năng sống của phôi. Đồng thời

phôi ở giai đoạn phôi nang chứng tỏ tiềm năng phát triển tốt và độc lập về sau. Ngày nay, khi mà điều kiện nuôi cấy phôi đảm bảo điều kiện gần sinh lý nhất cho phôi thì việc đông phôi ngày 5 sẽ rất có ý nghĩa giúp giảm được số lượng phôi đông do phôi kém chất lượng bị loại trong quá trình nuôi giảm chi phí cho bệnh nhân trong đông và chuyển phôi. Đồng thời có thể giúp thực hiện các kỹ thuật hỗ trợ như PGD/PGS trong giai đoạn phôi nhiều tế bào hơn, chính xác hơn.

Việc tối ưu hóa quá trình đông phôi có vai trò rất quan trọng trong hỗ trợ sinh sản. Kỹ thuật đông phôi tốt cùng với tỷ lệ sống sau rã đông cao là cơ sở cho phép ứng dụng các chính sách về chuyển 1 phôi duy nhất mà vẫn đảm bảo tỉ lệ có thai và sinh sống. Điều này sẽ giúp tăng tỷ lệ sinh sống tích lũy trong mỗi chu kỳ chọc hút trứng. Đặc biệt việc bảo quản lạnh phôi cùng trứng cho phép bảo tồn sinh sản ở những trường hợp điều trị ung thư hay suy giảm chức năng sinh sản [99].

4.2.2. Số lượng phôi rã đông chuyển trong 1 chu kỳ

Theo thống kê các chu kỳ chuyển phôi trữ đông trên toàn Châu Âu từ 2009 đến 2012 có thể thấy, số lượng phôi chuyển trên 4 phôi là rất thấp luôn chiếm 0.4%. Số phôi chuyển 2,3 phôi có xu hướng giảm. Trong khi đó, số phôi chuyển 1 phôi có xu hướng gia tăng từ 34,3% năm 2009 đến 36,8% năm 2010, 37,9% năm 2011 và 40,6% năm 2012. Đặc biệt có một số nước như Phần Lan, Iceland, Thụy Sĩ mỗi chu kỳ chuyển phôi chỉ chuyển tối đa 2 phôi (Biểu đồ 4.5) [101], [102], [103], [94]. Nguyên nhân, do hiện nay kỹ thuật nuôi phôi ngày 5 cho tỷ lệ có thai sau chuyển phôi rất cao. Đồng thời, giảm hạn chế tối đa các trường hợp đa thai phải giảm thiểu nên việc chuyển 1-2 phôi hiện đang là xu hướng trên thế giới



***Biểu đồ 4.4. Số phôi chuyển trong 1 chu kỳ 2009-2012 trên toàn châu Âu
[101], [102],[103], [94]***

Báo cáo của hiệp hội sản phụ khoa Hàn Quốc 2009, trong 5619 ca chuyển phôi trữ đông tỷ lệ có thai lâm sàng trên mỗi chu kỳ là 33,7%. Số phôi chuyển phổ biến nhất là 3 phôi chiếm 30,8 % số chu kỳ, 2 phôi chiếm 34,7% và 1 phôi chiếm 17,1%, 4 phôi chiếm 13,8%, 5 phôi chiếm 3,3%, 6 phôi chiếm 0,4% [104]. Đến năm 2011, trong chuyển phôi trữ đông số ca chuyển 2 phôi tiếp tục tăng và chiếm tỷ lệ lớn nhất 46,0% số chu kỳ chuyển phôi trữ đông, 26,1% chuyển 3 phôi, 16,3% chuyển 1 phôi, từ 4 phôi trở lên chiếm 11,6% [105]. Có thể thấy Hàn Quốc cũng có xu hướng giảm số lượng phôi chuyển trong 1 chu kỳ.

Trong khi đó, trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi, số lượng phôi chuyển sau rã đông trong mỗi chu kỳ từ 1 đến 5 phôi, trung bình là $2,96 \pm 0,9$ (phôi/chu kỳ) và nhiều nhất là những trường hợp chuyển 3 phôi chiếm 39,6% và số trường hợp chuyển 4 phôi cũng đến 27,7% (Biểu đồ 3.7). Nguyên nhân chủ yếu chúng ta vẫn đang chuyển phôi chủ yếu ngày 2 hoặc ngày 3. Để tỷ lệ có thai lâm sàng tốt thì số lượng phôi chuyển phải tăng. Thực tế trong nghiên cứu chúng tôi cũng thấy số lượng phôi chuyển 3-4 phôi tỷ lệ có thai lâm sàng cao hơn có ý nghĩa thống kê với chuyển 1-2

phôi. Tuy nhiên, về tương lai lâu dài khi nuôi cấy phôi ngày 5 đi vào thường quy, thì việc giảm số lượng phôi chuyển mỗi chu kỳ là cần thiết để giảm tỉ lệ đa thai.

4.2.3. Tỷ lệ có thai lâm sàng

Trong nghiên cứu của chúng tôi, với 1251 chu kỳ chuyển phôi đông lạnh có 533 chu kỳ bệnh nhân β -hCG (+) chiếm 42,6% tương tự kết quả của Vũ Thị Minh Phương với tỷ lệ 41,3% [106]. Tuy nhiên có 488 chu kỳ có thai lâm sàng thực tế chiếm 39,0% (Bảng 3.12). Tại BVPSTW, theo thống kê của Nguyễn Xuân Hợi và cs (2010) tỷ lệ thai lâm sàng trong IVF nói chung là 35,9% [80] thấp hơn một chút so với nghiên cứu của chúng tôi. Điều này có thể do tác giả nghiên cứu trên cả chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi trữ lạnh.

Theo báo cáo của Hiệp hội Sinh sản và phôi học Châu Âu (ESHRE) tỷ lệ có thai lâm sàng các chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh tại Châu Âu năm 2009 là 20,9%. Đến năm 2012, thống kê trên 34 nước Châu Âu, tỷ lệ có thai lâm sàng của chuyển phôi trữ lạnh tính theo chu kỳ từ 15,6% (Estonia) đến 34,9% (Ucraina). Tỷ lệ có thai lâm sàng trong chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh trên toàn Châu Âu năm 2012 là 23,1%. Tỷ lệ có thai lâm sàng khi chuyển phôi trữ lạnh trên toàn Châu Âu trong 4 năm (2009-2017) cũng như ở Úc năm 2013 thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với nghiên cứu của chúng tôi [94], [101], [102], [103], [107]. Có lẽ do tại Châu Âu và Úc, xu hướng chuyển 1 phôi đang dần chiếm ưu thế. Điều này làm giảm tỷ lệ có thai tại Châu Âu.

Bảng 4.1. Tỷ lệ thai lâm sàng trong FET ở một số nghiên cứu

	Số chu kỳ FET	Tỷ lệ có thai lâm sàng theo chu kỳ	p
Chúng tôi	1251	39,0	
Hàn Quốc, 2009 [104]	5619	33,7	<0,05
Hàn Quốc, 2010 [108]	6285	34,2	<0,05
Hàn Quốc, 2011 [105]	8519	35,5	<0,05
ESHRE, 2009 [101]	77799	20,9	<0,05
ESHRE, 2010 [102]	104181	20,3	<0,05
ESHRE, 2011[103]	118072	21,3	<0,05
ESHRE, 2012 [94]	139558	23,1	<0,05
Chambers và cs [107]	385065	23,3	<0,05
Veleva và cs [78]	1588	24,6	<0,05
Park và cs [95]	43	39,5	>0,05

Trong khi đó, so với thống kê của Hàn Quốc tỷ lệ có thai lâm sàng trong nghiên cứu của chúng tôi có cao hơn nhưng không nhiều. Năm 2010 ở Hàn Quốc, riêng những chu kỳ chuyển phôi đông lạnh có áp dụng phương pháp thụ tinh IVF tỷ lệ thụ tinh là 39,3%; đối với những trường hợp áp dụng 1 phần kỹ thuật ICSI tỷ lệ này là 36,4% tương tự với kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, tỷ lệ có thai lâm sàng trên chuyển phôi đông lạnh với những trường hợp áp dụng kỹ thuật ICSI lại

không cao chỉ 29,7%. Dẫn đến tỷ lệ có thai lâm sàng trên toàn bộ các chu kỳ chuyển phôi trữ đông đạt 34,2% [108]. Tại Hàn Quốc số lượng phôi chuyển trong mỗi chu kỳ vẫn tập trung vào nhóm chuyển 2-3 phôi, trong khi đó ở Việt Nam số lượng phôi chuyển chủ yếu là 3-4 phôi. Do đó, có thể gợi ý số lượng phôi chuyển có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ có thai lâm sàng. Tỷ lệ có thai lâm sàng trong chuyển phôi trữ đông theo thống kê của các Trung tâm Hỗ trợ sinh sản trên thế giới cũng rất khác nhau (Bảng 4.1).

Một số các nghiên cứu với cỡ mẫu nhỏ có tỷ lệ có thai lâm sàng trong chuyển phôi trữ đông cũng rất thay đổi [78], [95], [107].

Có thể thấy tỷ lệ có thai lâm sàng trong chuyển phôi trữ đông tại các trung tâm khác nhau, các quốc gia khác nhau có sự khác biệt rất lớn. Nhưng có một sự thống nhất về kết quả giữa chuyển phôi trữ đông và chuyển phôi tươi. Hầu hết các nghiên cứu đều chỉ ra rằng tỷ lệ có thai trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông cao hơn so với chu kỳ chuyển phôi tươi.

4.2.4. Đa thai và chuyển phôi trữ lạnh

Đa thai là tình trạng có nhiều thai cùng phát triển trong buồng tử cung của mẹ. Tỷ lệ sinh đôi tự nhiên tương đối ổn định trên toàn thế giới khoảng dưới 2% [109]. Từ khi có TTON, tỷ lệ đa thai có xu hướng tăng. Các tác giả đã thống kê được 30% đến 50% những trường hợp sinh đôi và hơn 75% những trường hợp sinh ba trở lên là từ những cặp điều trị vô sinh [110]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 81 chu kỳ bệnh nhân đa thai chiếm 16,6% số chu kỳ có thai lâm sàng. Trong đó, chủ yếu là các trường hợp song thai chiếm 64,2 % đa thai hay 10,7% số ca có thai lâm sàng. Đa thai có liên quan đến một loạt các hậu quả tiêu cực cho cả mẹ và thai nhi. Trong đó, những biến chứng cho mẹ bao gồm nguy cơ tăng huyết áp thai kỳ, tiền sản giật, đa ối, tiểu đường thai kỳ, suy thai dẫn đến phải mổ lấy thai sớm, băng huyết sau sinh và

trầm cảm sau sinh cao hơn so với những trường hợp một thai. Đối với trẻ từ đa thai tăng đáng kể nguy cơ tử vong sớm, sinh non và cân nặng sơ sinh thấp cũng như các khuyết tật về tinh thần và thể chất liên quan đến sinh non [111]. Tỷ lệ đa thai được chứng minh không khác biệt giữa nhóm chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh [112] nhưng liên quan rất nhiều đến số lượng phôi chuyển cũng như chất lượng phôi chuyển [113], [114]. Vì những nguy cơ của đa thai nên với những bệnh nhân siêu âm chẩn đoán có 3 thai trở lên sẽ có nguy cơ lớn phải tiến hành giảm thiểu phôi có chọn lọc. Giảm thiểu phôi có chọn lọc là thủ thuật sử dụng kim chọc hút qua đường âm đạo dưới sự hướng dẫn của siêu âm để hủy bớt thai trong trường hợp đa thai. Đây là một can thiệp có thể gây chảy máu, nhiễm trùng đặc biệt có thể gây sảy thai, thai chết lưu với những thai cần giữ. Đặc biệt giảm thiểu thai còn gây ra những vấn đề về tâm lý đối với những cặp vợ chồng điều trị hiếm muộn vì họ vốn là người muốn có con. Do đó, cần cân nhắc kỹ số lượng và chất lượng phôi chuyển để giảm thiểu tỷ lệ đa thai đặc biệt là từ ba thai trở lên cho các bệnh nhân TTON.

4.2.5. Chửa ngoài tử cung và chuyển phôi trữ lạnh

Chửa ngoài tử cung có tỷ lệ khoảng 1-2% trường hợp có thai tự nhiên cũng như thụ tinh nhân tạo nói chung [115]. Trong hỗ trợ sinh sản, tỷ lệ này có xu hướng cao hơn đặc biệt là với những trường hợp có tiền sử vô sinh do yếu tố vòi tử cung [116]. Tỷ lệ báo cáo chửa ngoài tử cung sau chuyển phôi giữa các trung tâm rất khác nhau thay đổi từ 1,4 đến 5,4% [117], [118], [119]. Các trường hợp chửa ngoài tử cung trong IVF thường kết hợp với các nguyên nhân vô sinh do vòi trứng, chuyển phôi tươi và số lượng phôi chuyển nhiều [120]. Nghiên cứu của Muller và cs (2016) đánh giá kết quả trong 6 năm tại 1 trung tâm chỉ ra rằng các yếu tố nguy cơ chửa ngoài tử cung trong hỗ trợ sinh sản gồm bệnh lý vòi tử cung, tiền sử nhiễm Chlamydia và tiền sử mổ ruột thừa [121].

Tại bệnh viện phụ sản trung ương nói riêng và Việt Nam nói chung thì nguyên nhân vô sinh do vòi tử cung chiếm tỉ lệ rất lớn. Các nghiên cứu đã chỉ ra yếu tố vô sinh do vòi tử cung là một nguy cơ lớn đối với chữa ngoài tử cung so với những nguyên nhân vô sinh khác [122], [123]. Đồng thời, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng trong chuyển phôi tươi dưới tác dụng của thuốc kích trứng sẽ làm suy giảm chức năng của vòi tử cung cùng với niêm mạc tử cung không đảm bảo cho sự làm tổ của phôi và dưới sự thay đổi của nội tiết sẽ làm tăng nguy cơ chữa ngoài tử cung [124], [125]. Nồng độ estradiol cao trong suốt chu kỳ kích trứng có thể dẫn đến việc tăng nhu động tử cung khi chuyển phôi tươi dẫn đến phôi bị di chuyển ngược lại vòi tử cung gây chữa ngoài tử cung [126]. Một nghiên cứu gần đây cho thấy những bệnh nhân bị buồng trứng đa nang có nguy cơ bị chữa ngoài tử cung nhiều hơn trong chu kỳ chuyển phôi tươi, tuy nhiên điều này không xảy ra với chuyển phôi trữ đông [127]. Có thể nói, phụ nữ có vấn đề về vòi tử cung phải đối mặt với nguy cơ chữa ngoài tử cung gấp đôi trong chu kỳ chuyển phôi tươi IVF do tác dụng phụ của thuốc kích trứng lên chức năng của vòi tử cung. Với nghiên cứu của chúng tôi, trong số 488 trường hợp có thai lâm sàng thì có 7 ca có thai ngoài tử cung chiếm 1,4% tương tự kết quả của Decler. Decler và cs đánh giá tỷ lệ chữa ngoài tử cung của 11831 bệnh nhân điều trị IVF trong 10 năm tại Bỉ thấy rằng: trong 9174 trường hợp chuyển phôi tươi, có 2243 trường hợp có thai lâm sàng. Trong số này 43 trường hợp có thai ngoài tử cung. Với 1785 trường hợp chuyển phôi trữ đông có 467 ca có thai lâm sàng và 6 chữa ngoài tử cung. Tỷ lệ thai ngoài tử cung trên tỷ lệ thai lâm sàng đối với chuyển phôi tươi là 1,92% so với 1,28% trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông [117]. Nghiên cứu của Li (2016) cũng thấy rằng tỷ lệ chữa ngoài tử cung chuyển phôi tươi có tỷ lệ chữa ngoài tử cung cao hơn so với chuyển phôi trữ lạnh (1,9% so với 1,7% đối với chuyển phôi giai đoạn phân

cất và 1,3% so với 0,8% đối với chuyển phôi giai đoạn phôi nang) [128]. Tỷ lệ chữa ngoài tử cung trong chu kỳ chuyển tươi có xu hướng cao hơn chuyển phôi trữ đông. Có lẽ nguyên nhân chính do trong một chu kỳ chuyển phôi trữ đông, vòi tử cung không chịu tác dụng gây suy giảm chức năng của thuốc kích trứng dẫn đến giảm tỷ lệ chữa ngoài tử cung. Điều này gợi ý chúng tôi đến lợi ích chuyển phôi trữ lạnh trong điều kiện nguyên nhân vô sinh do vòi ở Việt Nam còn rất lớn. Chuyển phôi trữ lạnh không chỉ tạo điều kiện cho việc chuẩn bị tốt niêm mạc tử cung cho sự làm tổ của phôi mà còn làm giảm nguy cơ chữa ngoài tử cung cho bệnh nhân điều trị IVF.

4.3. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG

4.3.1. Tuổi của người vợ

Đã có nhiều nghiên cứu đánh giá tác động của các yếu tố nên sự thành công của thụ tinh ống nghiệm, trong rất nhiều các yếu tố vẫn còn đang gây tranh cãi, có sự khác biệt giữa các nghiên cứu. Riêng yếu tố tuổi người phụ nữ lại cho kết quả tương đối đồng nhất: phụ nữ càng lớn tuổi thì cho tỷ lệ thành công trong IVF càng giảm.

Trong nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng tỷ lệ có thai lâm sàng ở nhóm từ 35 tuổi trở xuống cao hơn so với những bệnh nhân có tuổi trên 35 tuổi (42,6% ở nhóm bệnh nhân từ 35 tuổi trở xuống và 25,0% ở nhóm trên 35 tuổi), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$ (Bảng 4.2).

Bảng 4.2. Ảnh hưởng của tuổi tới tỷ lệ thai lâm sàng

Tuổi	≤ 35 tuổi	>35 tuổi	p
Trung bình (năm)	29,94 ± 3,32	38,89 ± 2,64	<0,0001
Số bệnh nhân	940	268	
Số chu kỳ	973	278	
Tỷ lệ thai LS theo chu kỳ (%)	42,9	25,5	<0,0001
Tỷ lệ thai LS tích lũy (%)	44,4	26,5	<0,0001

Samer và cs khi nghiên cứu yếu tố tuổi ảnh hưởng đến khả năng có thai trong IVF thấy rằng tỷ lệ có thai ở phụ nữ từ 37 tuổi trở lên giảm có ý nghĩa với nhóm dưới 37 với tỷ lệ 47% và 26% [129]. Robert và cs (2016) đã tiến hành đánh giá hiệu quả chuyển phôi trữ lạnh cho 307 trường hợp cho tỷ lệ có thai tích lũy là 31,1% (95% CI, 27,7%;34,7%). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự suy giảm khả năng sinh sản có liên quan đến tuổi của người phụ nữ. Khoảng một phần ba số phụ nữ trì hoãn việc mang thai đến cuối tuổi ba mươi và khoảng 50% số phụ nữ trên 40 tuổi có vấn đề về vô sinh. Trong các nghiên cứu từ rất sớm của Tucker và cs, Oehninger và cs đã cho thấy các yếu tố liên quan đến người phụ nữ có tác động chủ yếu đến kết quả nuôi cấy phôi và các kỹ thuật trong ICSI [130], [131].

Li và cs phân tích lâm sàng 5659 chu kỳ chuyển phôi trữ đông thấy rằng tuổi bệnh nhân, nguyên nhân vô sinh, số trứng chọc hút, số lần làm IVF có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai. Đặc biệt sử dụng phương pháp phân tích đa biến logistic các tác giả thấy rằng tuổi là yếu tố quan trọng nhất tác động đến tỷ lệ thai lâm sàng [132]. Trong nghiên cứu của William SB Yeung năm 2009

trên 983 chu kỳ chuyển phôi rã đông cũng chỉ ra rằng với những phụ nữ tuổi ≤ 35 tuổi cho tỷ lệ có thai lâm sàng cao nhất. Trong đó, nhóm dưới 31 tuổi tỷ lệ này là 46%, nhóm 31-35 tuổi tỷ lệ có thai là 38%. Tỷ lệ có thai giảm xuống 33% ở nhóm 36-40 tuổi và 21% ở nhóm trên 40 tuổi. Sự suy giảm tỷ lệ có thai lâm sàng theo tuổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [62]. Hay như Alasmari đánh giá khả năng có thai của phụ nữ từ 40 tuổi trở lên kết quả như sau: Tỷ lệ thai trung bình khi chuyển 3 phôi cho người 40 tuổi là 25%, 41 tuổi là 20%, 42 tuổi là 16%, 43 tuổi là 17%, 44 tuổi là 8%, 45 tuổi là 6% và 46 tuổi là 0%. Không có ca sinh sống nào ở phụ nữ điều trị sau tuổi 44 và chỉ có một phụ nữ 42 tuổi sinh đôi [133].

Theo thống kê của hiệp hội sản phụ khoa Hàn Quốc cũng có thể thấy tỷ lệ có thai trong chuyển phôi trữ lạnh bắt đầu giảm ở những bệnh nhân có tuổi trên 35 tuổi: 35,8% ở nhóm từ 35 tuổi trở xuống với 31% ở nhóm trên 35 tuổi ($p < 0,05$) [104]. Foroozanfard và cs cũng thấy rằng có mối liên hệ giữa tuổi và kết quả IVF: tuổi trung bình bệnh nhân có thai lâm sàng thấp hơn so với bệnh nhân không có thai, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [134].

Về mặt sinh học, tuổi thích hợp để một người phụ nữ có thai là trong khoảng từ 20 đến 30 tuổi, trên 30 tuổi khả năng có thai bắt đầu suy giảm và sau tuổi 35 khả năng có thai giảm đi nhanh chóng, chưa kể đến tỷ lệ có thai bất thường cũng tăng lên [135]. Tỷ lệ có thai sau chuyển phôi ở phụ nữ trên 35 tuổi giảm do buồng trứng của họ đáp ứng kém với thuốc kích trứng dẫn đến việc số lượng trứng thu được ít, chất lượng trứng thu được kém, chất lượng phôi không tốt. Đồng thời ở những phụ nữ lớn tuổi, đáp ứng của buồng trứng với thuốc chuẩn bị niêm mạc tử cung cũng giảm làm chất lượng niêm mạc tử cung đón phôi không thực sự tốt.

4.3.2. Loại và nguyên nhân vô sinh và thời gian vô sinh

Chúng tôi nhận thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ có thai lâm sàng giữa 2 nhóm vô sinh nguyên phát và vô sinh thứ phát. Tuy nhiên, lại có mối liên hệ giữa các nguyên nhân vô sinh và tỷ lệ có thai lâm sàng. Đối với những trường hợp nguyên nhân được xác định là do người chồng tỷ lệ có thai lâm sàng sau chuyển phôi trữ lạnh là tốt nhất đạt 47,5%. Những trường hợp vô sinh chỉ do vợ tỷ lệ có thai lâm sàng thấp hơn là 36,2%. Trong khi đó những trường hợp nguyên nhân vô sinh do cả hai vợ chồng tỷ lệ này chỉ đạt 30,4% (Bảng 3.16) . Điều này có thể lý giải do những trường hợp vô sinh nam đa phần do không có tinh trùng trong tinh dịch hoặc tinh trùng rất ít không đảm bảo thụ tinh trong điều kiện tự nhiên thì việc sử dụng mẫu tinh trùng hiến hay làm kỹ thuật ICSI thường cho tỷ lệ thụ tinh cao, chất lượng phôi tốt. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, những tổn thương mức độ DNA của tinh dễ được noãn sửa chữa hơn là tổn thương DNA noãn. Đồng thời, người vợ hoàn toàn khỏe mạnh sẽ tạo điều kiện tốt cho sự làm tổ của phôi.

Trong nghiên cứu của Hou và cs trên 326 trường hợp điều trị IVF tỷ lệ có thai là 43,2%. Trong đó, sự khác biệt về tỷ lệ có thai lâm sàng giữa nhóm thời gian vô sinh dưới 5 năm và trên 5 năm có ý nghĩa thống kê (50,0% và 35,5%) [136]. Trong nghiên cứu chúng tôi còn nhận thấy, với những cặp vợ chồng có thời gian vô sinh càng dài thì khả năng có thai khi chuyển phôi trữ lạnh cũng giảm đi (Bảng 3.15): thời gian vô sinh dưới 5 năm tỷ lệ có thai có cao hơn so với nhóm từ 5 đến 10 năm và trên 10 năm (41,5% với 37,0% và 27,6%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Lấy điểm cắt thời gian vô sinh là 5 năm, nhóm dưới 5 năm luôn có tỉ lệ cao hơn nhóm vô sinh từ 5 năm trở lên (41,6% và 35,3% với tỷ lệ thai lâm sàng theo chu kỳ; 43,2% và 36,5% với tỷ lệ thai lâm sàng tích lũy), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Bảng 4.3).

Bảng 4.3. Ảnh hưởng của thời gian vô sinh lên tỷ lệ thai lâm sàng

Thời gian VS	< 5 năm	≥ 5 năm	p
Trung bình (năm)	2,73 ± 1,05	7,38 ± 2,48	< 0,0001
Số bệnh nhân	709	499	
Số chu kỳ	735	516	
Tỷ lệ thai LS theo chu kỳ (%)	41,6	35,3	<0,05
Tỷ lệ thai LS tích lũy (%)	43,2	36,5	<0,05

Chúng tôi nghĩ rằng có 2 lý do dẫn đến việc thời gian vô sinh dài làm giảm tỷ lệ có thai: Thứ nhất thời gian vô sinh càng lâu thì đồng nghĩa với người phụ nữ càng lớn tuổi, thứ hai thông thường những ca có thời gian vô sinh kéo dài thường có nguyên nhân phức tạp gây khó thành công hơn trong IVF.

4.3.3. Phác đồ kích thích buồng trứng

Các phác đồ kích thích buồng trứng có ảnh hưởng thế nào đến kết quả của thụ tinh ống nghiệm hiện nay vẫn còn rất nhiều quan điểm và tranh cãi. Đặc biệt là hiệu quả của các phác đồ lên các bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng kém. Năm 2014, Sunkara và cs tiến hành thử nghiệm ngẫu nhiên trên 111 phụ nữ có đáp ứng buồng trứng kém với 3 phác đồ: (A) GnRH agonist dài; (B) GnRH ngắn; (C) GnRH antagonist. Kết quả cho thấy phác đồ GnRH agonist dài cho số lượng trứng thu được tương đương với phác đồ GnRH antagonist nhưng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với phác đồ GnRH agonist ngắn. Đồng thời GnRH agonist dài có mức sử dụng gonadotropin cao hơn và

thời gian dài hơn so với phác đồ chủ vận ngắn và phác đồ đối vận. Tuy nhiên, kết quả về tỷ lệ có thai của cả 3 phác đồ trên lần lượt là 16,2%, 13,5% và 10,8%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [137]. Kết quả này có sự khác biệt với các nghiên cứu trước đó của Pandian năm 2010 [138]. Schimberni và cs (2016) cũng làm một nghiên cứu thử nghiệm ngẫu nhiên so sánh hiệu quả ba phác đồ kích thích buồng trứng trên 250 bệnh nhân đáp ứng kém: phác đồ clomiphene citrate kết hợp liều cao gonadotropins và GnRH antagonist, GnRH antagonist linh hoạt và GnRH agonist ngắn. Kết quả cho thấy phác đồ GnRH agonist cho tỷ lệ có thai cao hơn so với hai phương pháp còn lại (29,3% và 5,9% và 14,1%). Chi phí chi trả về y tế cho mỗi đứa trẻ ra đời thấp hơn, tỷ lệ làm tổ của nhóm GnRH agonist cũng là cao nhất (19,2% so với 9,3% ở nhóm GnRH antagonist và 4,8% nhóm clomiphene). Đồng thời không có sự khác biệt về số ngày kích thích buồng trứng, số lượng trứng thu được và số lượng phôi chuyển [139]. Có sự khác biệt về kết quả giữa các nghiên cứu về tác động của phác đồ kích thích buồng trứng lên hiệu quả của IVF trong trường hợp bệnh nhân đáp ứng kém có lẽ do quy định thế nào là “đáp ứng kém” giữa các nghiên cứu không thống nhất.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trên 1251 bệnh nhân chuyển phôi trữ lạnh không tách biệt bệnh nhân đáp ứng buồng trứng kém. Tỷ lệ có thai lâm sàng giữa ba nhóm GnRH agonist dài, GnRH agonist ngắn và GnRH antagonist lần lượt là 37,5%; 40,7% và 42,3%. Trong đó phác đồ GnRH antagonist cho tỷ lệ có thai cao nhất nhưng với sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) với 2 nhóm còn lại (Bảng 3.17).

4.3.4. FSH cơ bản liên quan đến tỷ lệ có thai

Tuổi cao và tăng nồng độ bFSH là yếu tố tiên lượng xấu giảm khả năng sinh sản. Toner và cs là những người đầu tiên cho thấy rằng tuổi của người

phụ nữ và bFSH là một yếu tố liên quan đến kết quả IVF và bFSH là yếu tố dự báo tốt hơn so với tuổi [140]. Nồng độ bFSH cao trong huyết thanh có liên quan tới tỷ lệ hủy chu kỳ cao hơn, mức đỉnh của nồng độ E2 trong huyết thanh thấp hơn, số lượng trứng thu được thấp hơn và tỷ lệ có thai lâm sàng thấp hơn [141].

Kdous và cs so sánh 2 nhóm FSH cơ bản (bFSH): bFSH $\geq 9,6$ mUI/L và bFSH $< 9,6$ mUI/L kết hợp với 2 nhóm tuổi <38 tuổi và ≥ 38 tuổi. Kết quả cho thấy: mức độ FSH cơ bản cao ở những bệnh nhân trẻ có mức độ đáp kém hơn có ý nghĩa thống kê với bFSH thấp ($p < 0,0001$). Nhưng không khác biệt về tỷ lệ có thai lâm sàng với mức FSH cơ bản giữa hai nhóm. Ở những bệnh nhân ≥ 38 tuổi FSH cơ bản cao có mức độ đáp ứng kém hơn và tăng nguy cơ chấm dứt chu kỳ kích trứng, tuy nhiên cũng không có sự khác biệt về tỷ lệ lâm sàng với nhóm FSH cơ bản $< 9,6$ mUI/L [142].

Trong nghiên cứu chúng tôi chia FSH cơ bản làm 2 nhóm: ≤ 10 mUI/L và > 10 mUI/L. Tỷ lệ có thai lâm sàng 2 nhóm lần lượt là: 39,8% và 19,1%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. FSH cơ bản cao làm giảm khả năng có thai 0,358 lần ($p < 0,05$, 95CI= [0,172- 0,748]).

4.3.5. Đặc điểm ngày sử dụng và nồng độ E2 trong chuẩn bị NMTC

Chuẩn bị NMTC luôn được xem là khâu quan trọng trong quy trình chuyển phôi. Có ba phương pháp chuẩn bị NMTC khác nhau. Nhiều nghiên cứu đánh giá tác động của các chu kỳ chuẩn bị niêm mạc lên kết quả có thai. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho kết quả rất khác nhau. Morozov và cs đánh giá trên 164 bệnh nhân với 242 chu kỳ chuyển phôi thấy rằng việc sử dụng hormone thay thế trong chuẩn bị NMTC làm giảm độ dày NMTC (9,95 và 8,89 mm, $p < 0,001$), nồng độ E2 (526,1 và 103,8 pg/ml, $p < 0,001$), và đặc biệt làm

giảm tỷ lệ có thai (36,76 và 22,99 %, $p=0,0298$) [143]. Hay Levron và cs (2014) đánh giá 1235 chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh trong giai đoạn 12 năm với 798 chu kỳ tự nhiên và 437 chu kỳ nhân tạo (sử dụng E2&P4) cho kết quả tương tự [144]. Trong khi đó. Yu Zheng và cộng sự năm 2015 nghiên cứu trên 3160 chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh gồm 654 chu kỳ tự nhiên và 2506 chu kỳ nhân tạo. Kết quả lại cho thấy tỷ lệ có thai lâm sàng trong chu kỳ tự nhiên thấp hơn so với chu kỳ nhân tạo (49,4% và 58,6%; $OR=1,270$, 95% $CI= [1,037-1,554]$) [145]. Xiao Z và cs thấy rằng tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai sinh hóa, tỷ lệ thai lâm sàng ở nhóm chuẩn bị bằng chu kỳ tự nhiên thấp hơn nhóm chu kỳ nhân tạo khi chuyển 3 phôi 8 tế bào sau rã. Song trong nhóm có 3 phôi tốt khi chuyển tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai sinh hóa và thai tiến triển của nhóm chu kỳ tự nhiên lại tốt hơn [146]. Các ý kiến hiện nay vẫn còn tranh cãi trong các nghiên cứu đơn độc. Nhưng trong nghiên cứu của Groenewoud và cs (2017) tổng hợp từ 5 báo cáo so sánh hiệu quả hai phương pháp chuẩn bị niêm mạc bằng chu kỳ tự nhiên và hormone thay thế kết quả cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ có thai lâm sàng, tỷ lệ thai tiến triển và tỷ lệ sinh sống giữa hai nhóm [147]. Tuy nhiên không thể phủ nhận ưu điểm phương pháp sử dụng nội tiết ngoại sinh thuận tiện cho bệnh nhân và bác sỹ do không phải theo dõi thường xuyên và chi phí chấp nhận được. Cũng có thể thấy trong cả những nghiên cứu khuyên dùng chu kỳ tự nhiên thì việc chuẩn bị NMTC bằng hormone thay thế cũng cho niêm mạc tử cung có độ dày phù hợp cho việc làm tổ của phôi. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân được chuẩn bị niêm mạc bằng chu kỳ nhân tạo do tính tiện lợi của phương pháp.

Thông thường, nồng độ estradiol huyết thanh phản ánh sự đáp ứng của bệnh nhân với kích thích buồng trứng. Có rất nhiều các nghiên cứu khác nhau với những cách phân chia khác nhau nhằm đánh giá tác động của nồng độ estradiol huyết thanh ngày kích hoạt rụng trứng với khả năng có thai. Foroozanfard và cs (2016) nghiên cứu trên 128 chu kỳ không có sự khác biệt về tuổi trung bình, BMI, FSH cơ bản thấy rằng nồng độ E2 ảnh hưởng đến thành công của IVF. Dựa vào nồng độ E2 tại ngày tiêm mũi hCG tác giả chia làm 3 nhóm: nhóm 1: <1500pg/ml; nhóm 2: 1500-3500pg/ml; nhóm 3: >3500pg/ml. Kết quả cho thấy số trứng chọc hút được, số lượng phôi, số lượng phôi chuyển được và tỷ lệ có thai tăng lên từ nhóm 1 đến nhóm 3, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [134]. Trong nghiên cứu của Võ Thanh Liên An tại bệnh viện Hùng Vương thấy rằng những bệnh nhân có nồng độ estradiol ≥ 4300 pg/ml có tỷ lệ có thai là 44,6% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm có nồng độ estradiol <4300 pg/ml là 21,2%. Những bệnh nhân có nồng độ estradiol cao thường trẻ tuổi, chất lượng trứng tốt, khả năng thụ tinh cũng như phát triển tiếp của phôi cũng thuận lợi [148]. Siddhartha lại chia thành 5 nhóm: nhóm I-<1000pg/ml, nhóm II-1000-2000 pg/ml, nhóm III- 2000.1-3000 pg/ml, nhóm IV 3000.1-4000 pg/ml và nhóm V > 4000 pg/ml. Kết quả cho thấy nồng độ E2 cao ở mức độ 3000.1-4000 pg/ml có thể tăng khả năng thụ tinh cũng như tăng tỷ lệ có thai trong chu kỳ ICSI [149]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng chia bệnh nhân làm 3 nhóm có nồng độ E2 khác nhau giống tác giả Foroozanfard. Kết quả cho thấy: tỷ lệ có thai lâm sàng cũng có xu hướng tăng theo nồng độ E2, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.21). Đồng thời, trong nghiên cứu này số ngày sử dụng E2

cũng không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai (Bảng 3.22). Thực tế, các bệnh nhân trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông có sử dụng hormone chuẩn bị niêm mạc thì số ngày E2 cũng như nồng độ E2 cũng đã được đánh giá là không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng [144].

4.3.6. Đặc điểm của niêm mạc tử cung liên quan đến tỷ lệ có thai lâm sàng

Niêm mạc tử cung là nơi phôi làm tổ do đó, chất lượng của nội mạc tử cung được cho là có ảnh hưởng lớn đến khả năng có thai của phụ nữ. Trong thụ tinh ống nghiệm, độ dày của nội mạc tử cung được theo dõi chặt nhằm tăng hiệu quả cho quá trình chuyển phôi đối với cả chu kỳ chuyển phôi tươi hay chuyển phôi trữ đông. Fang và cs so sánh 3 nhóm bệnh nhân có độ dày niêm mạc trong ngày chuyển phôi lần lượt là: (1) niêm mạc <8mm; (2) niêm mạc 8-14 mm và (3) niêm mạc >14mm. Kết quả cho thấy độ dày niêm mạc có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng. Nhóm 1 cho tỷ lệ thai lâm sàng, số phôi làm tổ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm 2 và 3 ($p<0,01$) [150].

Để đánh giá mối liên hệ giữa độ dày niêm mạc tử cung vào ngày bổ sung P4 và tỷ lệ thai lâm sàng trong các chu kỳ đông lạnh, Bu và cs đã tiến hành phân tích 2997 bệnh nhân chia làm 3 nhóm có liên quan đến độ dày niêm mạc trong ngày chuyển phôi : (A) niêm mạc ≤ 8 mm, (B) niêm mạc dày 9-13 mm, (C) ≥ 14 mm. Các tác giả đã nhận thấy nhóm A có tỷ lệ có thai lâm sàng thấp hơn đáng kể so với hai nhóm còn lại (33,4% với 41,3% và 45,4%) với $p<0,01$. Độ dày niêm mạc tử cung trung bình (nhóm B) làm tăng tỷ lệ có thai lâm sàng lên 1,39 lần (với 95 CI:1,10-1,77, $p<0,01$). Bu đã kết luận rằng trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông, độ dày nội mạc tử cung ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ có thai lâm sàng tách độc lập với các yếu tố khác [151].

Nghiên cứu của chúng tôi chia độ dày niêm mạc tử cung làm 3 nhóm: Dưới 8mm; Từ 8-14mm; Trên 14mm. Chúng tôi thấy rằng nhóm có độ dày tử cung từ 8 đến 14 mm cho tỷ lệ có thai tốt nhất 40,8%. Sự khác biệt tỷ lệ có thai giữa nhóm có niêm mạc tử cung 8-14 mm với nhóm dưới 8mm và nhóm trên 14 mm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm 8-14 mm và >14 mm (Bảng 3.24). Kết quả này phù hợp với rất nhiều nghiên cứu trước đó về liên quan giữa độ dày NMTC và khả năng làm tổ của phôi. Dickey và cs đã chỉ ra rằng nhóm bệnh nhân có NMTC <6 mm hoặc > 13 mm có tỉ lệ sảy thai sớm gia tăng [49]. Vương thị Ngọc Lan nghiên cứu trên 314 bệnh nhân cũng cho thấy khi NMTC <8 mm thì thai kỳ hiếm khi xảy ra và NMTC <7 mm thai kì không xảy ra [152]. Sher và cộng sự cũng chỉ ra rằng độ dày NMTC ≥ 9 mm trong giai đoạn tăng sinh được xác định bằng siêu âm đường âm đạo tương quan tốt với khả năng có thai sau chuyển phôi [153]. Trong khi đó nội mạc tử cung mỏng là yếu tố tiên lượng cho tỷ lệ có thai thấp về sau. Như vậy độ dày niêm mạc tử cung phù hợp là điều kiện thuận lợi cho sự làm tổ của phôi. NMTC quá dày hay quá mỏng đều ảnh hưởng không tốt đến tỷ lệ có thai. Niêm mạc tử cung mỏng chính là giá trị tiên đoán âm tính cao cho khả năng có thai. Ngược lại NMTC quá dày thường do hàm lượng estrogen dư thừa quá mức cho phép, hoặc là triệu chứng của buồng trứng đa nang hay rối loạn phóng noãn... Điều này, cũng ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi.

Hình thái NMTC là mối liên quan về độ cản âm của NMTC và cơ tử cung lân cận và được đo trên mặt cắt dọc thân tử cung của siêu âm. Trong một nghiên cứu tiên cứu của Serafini và cộng sự, các tác giả đã báo cáo dạng

NMTC 3 lá có giá trị tiên đoán sự làm tổ của phôi hơn bất kỳ phương pháp đo đạc nào khác [51]. Một số nghiên cứu tìm kiếm mối liên quan giữa dạng NMTC và tiên đoán thai kỳ nhấn mạnh rằng NMTC xấu không phải yếu tố loại trừ khả năng có thai. Thai kỳ vẫn có thể xảy ra ở chu kỳ có dạng NMTC xấu dù tỉ lệ thấp. Tuy nhiên, khi NMTC <7 mm và dạng NMTC xấu (non-multilayered) là dấu hiệu dự báo khả năng không làm tổ của phôi [154]. Về hình thái của niêm mạc tử cung chúng tôi cũng có nhận định tương tự, những trường hợp có hình thái dạng hạt cà phê (ba lá) tỷ lệ có thai lâm sàng cao nhất là 42,2%. Hình thái niêm mạc dạng ba lá cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm niêm mạc tử cung có dạng trung gian và dạng tăng âm đồng nhất ($p < 0,0001$). Tỷ lệ có thai lâm sàng giữa nhóm siêu âm niêm mạc tử cung giữa dạng trung gian và dạng tăng âm đồng nhất là tương đương nhau (Bảng 3.25). NMTC không ở dạng ba lá, đặc biệt dạng tăng âm đồng nhất là biểu hiện của nội mạc tử cung không được tưới máu đủ, điều này không tạo điều kiện thuận lợi cho việc làm tổ của phôi. Chen và cs (2010) đã chỉ ra rằng khi NMTC không ở dạng ba lá thì thậm chí độ dày tử cung ng là 7-14 mm cũng làm giảm tỷ lệ có thai [155]. Như vậy, việc sử dụng hormone để chuẩn bị NMTC trong chu FET là tương đối tốt, đảm bảo cho quá trình chuyển phôi trữ đông hiệu quả đồng thời dễ theo dõi và quản lý bệnh nhân.

4.3.7. Đặc điểm phôi chuyển và tỷ lệ có thai lâm sàng

4.3.7.1. Ảnh hưởng số lượng phôi chuyển đến tỷ lệ có thai lâm sàng

William và cs thấy rằng số lượng phôi chuyển có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai: tỷ lệ có thai của những chu kỳ chuyển 1 phôi là 21%, 2 phôi là 37%, 3 phôi là 39%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với những trường hợp chuyển

từ 2 phôi trở lên và chuyển 1 phôi [62]. Zhonghua và cs năm 2013 nghiên cứu 5018 chu kỳ chuyển phôi trữ đông chuyển 1 phôi và 2 phôi cũng thấy rằng đối với những phụ nữ dưới 38 tuổi tỷ lệ có thai lâm sàng trong nhóm chuyển 1 phôi là 38%, chuyển 2 phôi là 50% sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Đối với những phụ nữ ≥ 38 tuổi tỷ lệ này lần lượt là 9,5% và 20,3%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Đặc biệt cũng có thể thấy với phụ nữ ≥ 38 tuổi tỷ lệ có thai lâm sàng trong chuyển phôi trữ lạnh cũng giảm có ý nghĩa thống kê với đối tượng dưới 38 tuổi [156].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có 5,0% số chu kỳ chuyển 1 phôi. Những trường hợp chuyển 1 phôi chủ yếu do bệnh nhân chỉ có 1 phôi hoặc sau khi rã đông số lượng phôi sống khi chuyển chỉ còn 1 phôi và những phôi này thường chất lượng không tốt. Tỷ lệ có thai lâm sàng của những trường hợp chuyển 1 phôi trong nghiên cứu chúng tôi chỉ là 3,2%. Khi chia nhóm theo số lượng phôi chuyển: 1-2 phôi, 3-4 phôi chúng tôi thấy: tỷ lệ có thai tăng theo số lượng phôi chuyển: nhóm chuyển 1-2 phôi là 19,7%, nhóm 3-4 phôi là 47,4%, nhóm trên 4 phôi là 56,5%, sự khác biệt giữa nhóm chuyển 1-2 phôi với những nhóm còn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$ (Bảng 3.22).

Tuy nhiên việc chuyển nhiều phôi sẽ dẫn đến tỷ lệ đa thai tăng. Đây được coi là biến chứng thường xuyên và nghiêm trọng nhất của lĩnh vực hỗ trợ sinh sản [157]. Vấn đề đa thai (đặc biệt là từ 3 thai trở lên) đang rất được quan tâm hiện nay do đa thai kèm theo nhiều nguy cơ cho cả mẹ và con. Chúng tôi thấy rằng chuyển càng nhiều phôi thì tỷ lệ đa thai càng tăng: chuyển 1-2 phôi tỷ lệ đa thai trên số bệnh nhân có thai lâm sàng là 7,8%, chuyển 3-4 phôi tỷ lệ đa thai là 18,0% và chuyển trên 4 phôi tỷ lệ là 23,1%.

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Do đó, cần cân nhắc số lượng phôi chuyển dựa vào tuổi, nguyên nhân, tiền sử cũng như chất lượng phôi để vừa đảm bảo khả năng có thai vừa không bị đa thai. Một số nước như Mỹ, Hàn Quốc các khuyến cáo về số lượng phôi chuyển được đưa ra nhằm cân bằng giữa 2 yếu tố này [158]. Han và cs nghiên cứu trên 247 chu kỳ chuyển phôi tại Hàn Quốc được thực hiện theo khuyến cáo tỷ lệ có thai lâm sàng là 31,2%. Trong đó tỷ lệ đa thai là 27,3% cao hơn trong nghiên cứu chúng tôi, tuy nhiên 20/21 trường hợp đa thai là song thai, chỉ có 1 trường hợp tam thai. Đặc biệt tỷ lệ song thai cao ở 2 nhóm: chuyển 3 phôi giai đoạn phân chia ở phụ nữ 35-39 tuổi với điều kiện thuận lợi (66,7%) và chuyển 2 phôi nang ở phụ nữ ≥ 40 tuổi với điều kiện thuận lợi [158]. Có thể thấy việc làm theo khuyến cáo giới hạn số phôi chuyển rất có ý nghĩa để giảm thiểu tối đa số chu kỳ đa thai đồng thời vẫn đảm bảo tỷ lệ có thai tốt.

Luz và cs cũng chia các ca chuyển phôi theo số lượng phôi chuyển là 1 phôi, 2-3 phôi, ≥ 4 phôi. Cho kết quả tỷ lệ có thai lâm sàng tăng theo số lượng phôi chuyển lần lượt là: 11,5%, 32,1%, 40,4% [159]. Hernandez-Nieto nghiên cứu 1063 bệnh nhân thấy rằng có mối liên hệ giữa tuổi bệnh nhân, số lượng trứng thu được, tổng lượng phôi chuyển, tổng số lượng phôi trữ lạnh mỗi chu kỳ, độ dày nội mạc tử cung với khả năng đa thai. Trong mô hình hồi quy logistics đa biến những yếu tố liên quan này cho thấy số lượng phôi chuyển trong 1 chu kỳ là yếu tố quan trọng nhất dẫn đến đa thai cho mẹ. Những yếu tố còn lại là yếu tố làm tăng nguy cơ đa thai [160].

4.3.7.2. Ảnh hưởng của chất lượng phôi chuyển

Trong nhóm bệnh nhân nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy những chu kỳ có ít nhất 2 phôi từ độ II trở lên cho tỷ lệ có thai lâm sàng là 50,2% cao hơn

có ý nghĩa thống kê với nhóm có ít hơn 2 phôi từ độ III và độ II là 28,4% với $p < 0,05$ (Bảng 3.23). Kết quả này chứng minh vai trò của chất lượng phôi ảnh hưởng thực sự lên thành công của chuyển phôi trữ lạnh. Điều này hoàn toàn phù hợp với những kết luận của các tác giả khác. Nghiên cứu của Luz và cs đã chứng minh rằng trong thụ tinh ống nghiệm chất lượng phôi là một yếu tố quan trọng liên quan đến tỷ lệ có thai lâm sàng. Với cùng một số lượng phôi chuyển, nhóm có phôi chất lượng tốt luôn có tỷ lệ thai lâm sàng cao hơn: ở nhóm chuyển 1 phôi tỷ lệ lần lượt là 9,2%, 16,2%; nhóm chuyển 2-3 phôi tỷ lệ lần lượt là 30,2% và 33,5% và đặc biệt với những phụ nữ chuyển từ 4 phôi tỷ lệ là 28,3% và 45,2% ($p=0,02 < 0,05$) [159]. Veleva cũng thấy rằng trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông, sự có mặt của ít nhất 1 phôi chất lượng tốt làm tăng khả năng trẻ sinh sống lên 3,41 lần (95CI: 2,12-5,48, $p < 0,05$) [78].

4.3.8. Ảnh hưởng của quá trình chuyển phôi lên tỷ lệ thai lâm sàng

Chuyển phôi là bước cuối cùng quyết định thành công trong một chu kỳ IVF. Trước đây, kỹ thuật này ít được chú ý cho đến khi có những nghiên cứu chỉ ra các yếu tố trong quá trình thao tác chuyển phôi có thể ảnh hưởng đến sự thành công của thụ tinh ống nghiệm [161], [162], [163]. Các thao tác trong quá trình chuyển phôi nói chung và chuyển phôi trữ đông nói riêng được đánh giá là rất quan trọng trong thành công của IVF. Khi thao tác cần nhẹ nhàng, hạn chế sử dụng các dụng cụ hỗ trợ, tránh chạm vào đáy tử cung nhằm hạn chế làm tổn thương niêm mạc kênh cổ tử cung và niêm mạc tử cung. Một ca chuyển phôi được xem là khó khi phải sử dụng dụng cụ kẹp cổ tử cung, nong cổ tử cung hoặc nong trong hoặc trên catheter có nhiều máu [164]. Và một ca chuyển phôi khó ảnh hưởng lớn đến khả năng có thai của bệnh nhân sau chuyển phôi.

Mansour và cộng sự thấy chuyển phôi khó là dấu hiệu cho tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ có thai thấp (1% và 4%) so sánh với chuyển phôi dễ (6,7% và 20,4%) [165]. Các tác giả khác cũng báo cáo có sự liên quan chặt chẽ giữa chuyển phôi dễ và khả năng có thai. Tomas và cs năm 2002 đánh giá 4807 chu kỳ chuyển phôi với các mức độ: chuyển phôi dễ, trung bình và khó. Kết quả cho thấy nhóm chuyển phôi khó có tỷ lệ có thai giảm 1,7 lần so với nhóm chuyển phôi dễ/trung bình (95%CI: 1,3-2,2). Nghiên cứu đã chứng minh rằng chuyển phôi khó là yếu tố độc lập liên quan đến tỷ lệ có thai sau IVF/ICSI, cần cẩn trọng với các yếu tố liên quan đến chuyển phôi để làm tăng thành công trong hỗ trợ sinh sản [74].

Sự có mặt của máu trên catheter có thể coi là một dấu hiệu gợi ý đến tổn thương ở cổ tử cung hay cào xước NMTC trong quá trình chuyển phôi. Từ năm 1998, Goudas và cộng sự đi tìm mối liên quan giữa sự hiện diện của máu trên catheter chuyển phôi và tỷ lệ có thai đã thấy rằng: Máu được tìm thấy ngoài catheter chuyển phôi liên quan đến giảm tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ thai lâm sàng, đặc biệt là máu với lượng nhiều là yếu tố tiên lượng khả năng không làm tổ và không có thai là 86% và 95% [166]. Trong khi đó máu bên trong catheter lại không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai [166]. Visser và cộng sự nhận thấy sự hiện diện của máu hoặc chất nhầy trên đầu của catheter gây gia tăng sót phôi. Chất nhầy có thể là nguyên nhân của việc sót và tổn thương phôi (đặc biệt với trường hợp có hỗ trợ thoát màng) cũng như ảnh hưởng đến việc đưa phôi vào đúng vị trí [167]. Kovacs kết hợp với 42 nhà lâm sàng đã đánh giá tầm quan trọng các yếu tố trong chuyển phôi thấy rằng: Catheter không có máu, không phải sử dụng nòng trong và không chạm đáy tử cung khi chuyển phôi được đánh giá là những yếu tố tiên lượng tốt cho sự thành công của chuyển phôi [168]. Marikinti nhận thấy rằng sự catheter chuyển phôi có máu

không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai trừ khi đó là một ca chuyển phôi khó. Tác giả nhận thấy sự có mặt của chất nhầy hay máu trên catheter là phổ biến ở cả những ca chuyển phôi dễ và khó nhưng thường gặp ở những ca chuyển phôi khó hơn [75].

Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ có thai lâm sàng của những ca chuyển phôi khó thấp hơn rõ rệt so với những ca chuyển phôi dễ (50.9% và 21.4%, $p < 0,0001$) (Bảng 3.26). Tuy nhiên, không có sự khác biệt về tỷ lệ có thai giữa các nhóm chuyển phôi catheter sạch với những ca có nhầy hay có máu (39,4%; 38,8% và 38,4%, $p > 0,05$) (Bảng 3.27). Kết quả này tương đương với nhiều tác giả. Listijono và cộng sự phân tích 6484 chu kỳ chuyển phôi từ số liệu IVF của nước Úc. Các tác giả nhận thấy giữa hai nhóm chuyển phôi dễ và trung bình/khó có sự khác biệt về tỷ lệ thai sinh hóa (35,9% và 28%, $p < 0,05$), tỷ lệ thai lâm sàng (30,7% và 24,6%, $p < 0,05$) và tỷ lệ trẻ sinh sống (25,3% và 19,5%, $p < 0,05$). Đồng thời kết quả cho thấy sự hiện diện của máu trên catheter không ảnh hưởng đến khả năng có thai [169]. Rõ ràng việc phân tích mối liên hệ giữa chuyển phôi khó và các kết quả đầu ra của IVF/ICSI dựa vào hệ thống số liệu chuẩn, số lượng lớn của Listijono cho một kết quả rất đáng tin cậy. Trong báo cáo mới nhất của Plowden và cộng sự năm 2016 về các đặc điểm trong chuyển phôi thấy rằng sự hiện diện của máu catheter trong chuyển phôi không ảnh hưởng đến tỷ lệ sinh sống. Trong khi đó, mức độ khó khăn khi chuyển phôi lại có tác động tiêu cực đến tỷ lệ sinh sống [170].

Tuy vẫn còn có những ý kiến khác nhau trong đánh giá các yếu tố lâm sàng trong quá trình chuyển phôi nhưng ta có thể dễ dàng nhận thấy sự thống nhất về kết quả những ca chuyển phôi khó có giá trị tiên lượng xấu đến kết quả có thai. Sự hiện diện của máu/ chất nhầy trên catheter có ảnh hưởng lên tỷ lệ thành công của IVF hay không vẫn còn nhiều tranh cãi nhưng không thể

phủ nhận rằng tất cả các nghiên cứu đều chỉ ra catheter có nhầy/máu trong một ca chuyển phôi khó là dấu hiệu ảnh hưởng xấu đến sự thành công của chuyển phôi.

Từ kết quả của nghiên cứu chúng tôi nhận thấy rằng trong các yếu tố lâm sàng ban đầu: Tuổi và nồng độ FSH cơ bản có ảnh hưởng nhiều nhất đến tỷ lệ có thai trong chuyển phôi trữ lạnh (Bảng 3.28). Với các yếu tố trong thời điểm chuyển phôi trữ lạnh có thể thấy độ dày niêm mạc tử cung quá dày hoặc mỏng cũng như hình thái niêm mạc tử cung không đẹp làm giảm khả năng có thai lâm sàng. Trong khi đó, chất lượng phôi tốt, số lượng phôi nhiều là yếu tố quan trọng làm tăng khả năng có thai lâm sàng trên bệnh nhân chuyển phôi trữ lạnh. Đồng thời một ca chuyển phôi khó sẽ là yếu tố tiên đoán khả năng không có thai. Sau khi đánh giá từng yếu tố liên quan đến quá trình chuyển phôi trữ lạnh. Chúng tôi tổng hợp và phân tích đa biến các yếu tố để đánh giá mức độ tác động tổng hợp của các yếu tố lên tỷ lệ có thai. Trong đó, yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất lên kết quả của chuyển phôi trữ lạnh là số lượng và chất lượng phôi chuyển cũng như tuổi, nồng độ FSH và sự chuẩn bị NMTC ngày chuyển phôi. Các yếu tố trong quá trình chuyển phôi vẫn ảnh hưởng đến khả năng có thai nhưng ít hơn. Điều này tương tự với nhiều tác giả nghiên cứu trước đó [78], [80], [129], [130], [151], [171].

Trong đó có những yếu tố không thể can thiệp như tuổi bệnh nhân, bFSH, loại vô sinh và thời gian vô sinh. Do vậy, những yếu tố như kỹ thuật đông rã phôi, quyết định số lượng phôi chuyển liên quan đến chất lượng phôi hay chuẩn bị NMTC tốt, kỹ thuật chuyển phôi thành thực có thể tác động làm tăng tỷ lệ có thai đối với bệnh nhân chuyển phôi trữ đông. Do đó, các yếu tố này cần được quan tâm khi đưa ra các quyết định điều trị và là những chỉ số tham khảo khi tiến hành chuyển phôi trữ.

Nghiên cứu của chúng tôi phân tích đặc điểm liên quan đến thành công của IVF dựa vào cả các yếu tố khách quan lẫn yếu tố chủ quan. Đặc biệt là các yếu tố đánh giá chất lượng niêm mạc khi chuyển phôi trữ đông như: độ dày NMTC và hình thái NMTC do nhiều bác sỹ khác nhau đánh giá nên không thể tránh khỏi có sự sai khác. Đây cũng là một điểm hạn chế của nghiên cứu. Tuy nhiên, với việc được đào tạo bài bản, thống nhất cũng như kinh nghiệm của các bác sỹ làm việc tại Trung tâm hỗ trợ sinh sản Quốc gia, thì các thông số đánh giá chất lượng niêm mạc tử cung là đáng tin cậy để phân tích trong mối liên quan tới tỷ lệ thành công của chuyển phôi trữ đông tại đây.

Chuyển phôi trữ đông là một phần không thể thiếu trong quá trình điều trị bệnh nhân trong IVF . Cho đến hiện nay lợi ích của chuyển phôi trữ đông không thể phủ nhận. Trữ phôi không chỉ giúp bảo quản số lượng phôi dư thừa để tăng số lần chuyển phôi hay trì hoãn thời gian chuyển phôi. Quá trình này còn được chứng minh làm tăng tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ thai sinh sống do môi trường niêm mạc tử cung của mẹ được chuẩn bị tốt hơn so với một chu kỳ chuyển phôi tươi. Đồng thời chuyển phôi trữ đông là biện pháp rất hữu ích với một quốc gia có tỷ lệ vô sinh do vòi trứng là chủ yếu do có thể làm giảm tỷ lệ chữa ngoài tử cung. Đặc biệt, kết hợp với những kỹ thuật bổ sung như hỗ trợ phôi thoát màng hay chuẩn đoán tiền làm tổ, chuyển phôi trữ đông thực sự là một biện pháp hữu hiệu nhằm nâng cao chất lượng phôi chuyển từ đó làm tăng tỷ lệ có thai, tỷ lệ thai sinh sống và giảm tỷ lệ trẻ bị dị tật bẩm sinh.

Câu hỏi được đặt ra là liệu có nên chuyển phôi trữ đông cho tất cả các bệnh nhân? Roque và cs (2017) đánh giá hiệu quả chuyển phôi trữ đông toàn bộ trên những bệnh nhân đáp ứng bình thường. Kết quả cho thấy với nhóm thu được 4-9 trứng, tỷ lệ làm tổ (IR) của 2 nhóm tươi và đông lạnh là 17,9 và

20,5% ($p > 0,05$), tỷ lệ mang thai tiến triển (ORR) là 31 và 33% ($p > 0,05$). Đối với nhóm thu được 10-15 trứng, IR là 22,1 và 30,1% ($p < 0,05$) và ORR là 34 và 47% ($p < 0,05$). Như vậy với những bệnh nhân đáp ứng bình thường thu nhận được 4-9 trứng thì không có sự khác biệt giữa lựa chọn chuyển phôi tươi và phôi trữ đông. Tuy nhiên với những trường hợp thu được nhiều trứng hơn (10-15 trứng) lựa chọn chuyển phôi trữ đông sẽ cho hiệu quả tốt hơn đồng thời chuyển phôi trữ đông có lợi thế làm giảm nguy cơ diễn biến tệ hơn của buồng trứng trong chuyển phôi tươi [172]. Hội chứng buồng trứng đa nang (Polycystic ovary syndrome-PCOS) là một trong những nguyên nhân vô sinh khá thường gặp. Tuy nhiên dưới tác dụng của thuốc kích trứng trong chu kỳ IVF làm tăng nguy cơ bị hội chứng quá kích buồng trứng và những biến chứng muộn khi có thai ở những bệnh nhân có PCOS [173]. Việc chuyển phôi tươi cho những người có PCOS sẽ càng làm trầm trọng hơn những rối loạn sẵn có. Tỷ lệ có thai, tỷ lệ sinh sống trong những chu kỳ chuyển phôi đông ở phụ nữ có PCOS cũng cao hơn so với chuyển phôi trữ đông [89]. Đồng thời, chuyển phôi trữ đông cũng làm giảm nguy cơ sảy thai 0,67 lần, quá kích buồng trứng 0,19 lần so với chuyển phôi tươi ($p < 0,001$) [174]. Và như đã phân tích ở trên: Khi nguyên nhân vô sinh do tắc vòi trứng chiếm chủ yếu tại Việt Nam. Việc áp dụng biện pháp chuyển phôi trữ đông sẽ làm giảm tỷ lệ chữa ngoài tử cung do tránh tác động kép của thuốc kích trứng lên nhu động vòi trứng cũng như các cơn co tử cung cùng sự bất thường tại vòi trứng [125], [126].

Do những ưu điểm không thể phủ nhận nên xu hướng chuyển phôi trữ đông thậm chí là trữ toàn bộ phôi trong chu kỳ KTBT cho chuyển phôi trữ đông ngày càng chiếm ưu thế.

Quá trình chuyển phôi trữ đông nói riêng và thụ tinh ống nghiệm nói chung trải qua rất nhiều giai đoạn. Cả quy trình từng bước đều rất quan trọng. Do đó, mọi bước đều cần được thực hiện cẩn trọng để đạt được kết quả tốt nhất.

KẾT LUẬN

1. Các đặc điểm trong chu kỳ chuyển phôi đông lạnh tại BVPSTW (2012-2014)

- Tuổi trung bình của bệnh nhân chuyển phôi trữ: $31,93 \pm 4,90$ (năm)
- Thời gian vô sinh trung bình là $4,65 \pm 2,91$ (năm).
- Vô sinh nguyên phát chiếm 55,8%.
- Nguyên nhân vô sinh chủ yếu do vợ với tỷ lệ vô sinh do vòi chiếm 79,2%
- Các bệnh nhân chủ yếu được thực hiện kỹ thuật ICSI chiếm 93,1%.
- Nồng độ FSH cơ bản của nhóm nghiên cứu là $6,26 \pm 1,71$ (mUI/mL).
- Đặc điểm NMTC: 89,9% NMTC 8-14 mm; 78,6% NMTC dạng ba lá.

2. Kết quả của quá trình chuyển phôi trữ tại BVPSTW trong 3 năm (2012-2014)

- Tỷ lệ phôi sống sau rã đông là 91,5 %; Trung bình chuyển $2,96 \pm 0,9$ (phôi/chu kỳ)
- Tỷ lệ β -hCG (+) là 42,6%;
- Tỷ lệ thai lâm sàng là 39,0%
- Tỷ lệ thai tiến triển là 34,7%
- Tỷ lệ đa thai/ thai lâm sàng là 16,6%
- Tỷ lệ làm tổ của phôi là 16,1%

3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chuyển phôi

- Các yếu tố lâm sàng gồm: tuổi vợ trên 35, nồng độ bFSH >10 mUI/mL, NMTC quá dày/mỏng, không có dạng ba lá là những yếu tố làm giảm khả năng có thai lâm sàng
- Các yếu tố: chuyển hơn 2 phôi, có từ 2 phôi chuyển độ II làm tăng khả năng có thai
- Chuyển phôi khó làm giảm tỷ lệ thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê.

KIẾN NGHỊ

- Xây dựng chiến lược đông phôi để chuyển phôi trữ phù hợp trên các nhóm bệnh nhân khác nhau đặc biệt với bệnh nhân buồng trứng đa nang, vô sinh do tắc vòi trứng.

- Có thể tiến hành chuẩn bị niêm mạc bằng thuốc nội tiết thường quy do dễ theo dõi quản lý, chi phí chấp nhận được và đạt được yêu cầu về niêm mạc tử cung khi chuyển phôi

- Không cần thiết phải xét nghiệm E2 đối với chu kỳ chuyển phôi chuẩn bị niêm mạc bằng nội tiết.

- Tuổi, thời gian vô sinh, bFSH là những yếu tố khách quan không tác động được. Cần can thiệp vào các yếu tố như chuẩn bị niêm mạc tử cung, cân nhắc chuyển phôi dựa vào số lượng và chất lượng cũng như chất lượng kỹ thuật chuyển phôi để nâng cao tỷ lệ thành công trong chuyển phôi đông lạnh.

HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

1. Đánh giá ảnh hưởng của hỗ trợ phôi thoát màng cũng như PGD/PGS đến kết quả của chuyển phôi trữ đông.
2. Đánh giá các yếu tố lâm sàng và lab ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống cũng như đặc điểm sơ sinh trong chuyển phôi trữ lạnh.

CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyễn Viết Tiến, Nguyễn Thị Minh Khai (2015). Tìm hiểu các yếu tố ảnh hưởng đến sự thành công của kỹ thuật chuyển phôi tại Bệnh viện Phụ sản trung ương, *Tạp chí Y học thực hành*, số 11, tr. 49-50.
2. Nguyễn Viết Tiến, Nguyễn Thị Minh Khai (2016). Đánh giá tỉ lệ có thai ở những BN sử dụng GnRha để khởi động trường thành noãn trong phác đồ antagonist tại Bệnh viện Phụ sản trung ương. *Tạp chí Y học thực hành*, số 3, tr. 80-82.
3. Nguyễn Thị Minh Khai, Nguyễn Viết Tiến (2017). Đặc điểm của quá trình chuyển phôi đông lạnh và tỷ lệ thai lâm sàng. *Tạp chí Y học thực hành*, số 2, tr. 205-208.

PHIẾU NGHIÊN CỨU

Đề tài: “Đánh giá hiệu quả chuyển phôi trữ đông cho bệnh nhân thụ tinh ống nghiệm tại BVPSTW giai đoạn 2012 -2014”

Mã số n/cứu Mã số BN.....

I. Đặc điểm bệnh nhân

- Họ và tên: Tuổi:
- PARA:
- Loại vô sinh:
 - 1. Nguyên phát
 - 2. Thứ phát
- Thời gian vô sinh:
 - 1. Nguyên nhân vô sinh:
 - 1. Nguyên phát
 - 2. Thứ phát
- Lần chuyển phôi trữ đông:
 - 1. Lần 1
 - 2. Lần 2
 - 3. Từ lần 3
- FSH cơ bản:
- Phương pháp TTON:
 - 1. IVF
 - 2. ICSI
- Phác đồ kích thích:
 - 1. Agonist dài
 - 2. Agonist ngắn
 - 3. Antagonist

II. Đặc điểm chu kỳ chuyển phôi đông lạnh

- Số ngày sử dụng E2:
- Nồng độ E2 ngày bổ sung P4:
- Độ dày niêm mạc tử cung:
 - 1. Dưới 8 mm
 - 2. 8-14 mm
 - 3. Trên 14 mm
- Hình thái niêm mạc tử cung:
 - 1. Ba lá
 - 2. Trung gian
 - 3. Tăng âm đồng nhất
- Số phôi rã đông:

- Chất lượng phôi khi đông

1. Độ III: 2. Độ II: 3. Độ I:

- Số phôi sống:

- Chất lượng phôi sau rã đông:

1. Độ III: 2. Độ II: 3. Độ I:

- Chuyển phôi:

1. Dễ 2. Khó

- Độ sạch Catheter:

1. Sạch 2. Nhầy 3. Máu

III. Kết quả sau chuyển phôi

- Thai sinh hóa:

1. Có 2. Không

- Thai lâm sàng:

1. Có 2. Không

- Số lượng thai:

- GEU:

1. Có 2. Không

- Sảy thai:

1. Có 2. Không

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. TRỮ LẠNH PHÔI.....	3
1.1.1. Khái niệm về trữ phôi	3
1.1.2. Nguyên lý về trữ phôi	3
1.1.3. Chỉ định trữ phôi.....	5
1.1.4. Phương pháp trữ phôi	5
1.1.5. Xu hướng lựa chọn phương pháp trữ lạnh hiện nay	6
1.1.6. Tính an toàn của trữ lạnh phôi	8
1.1.7. Những rủi ro thường gặp trong trữ lạnh - rã đông phôi.....	9
1.2. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG PHÔI	9
1.2.1. Quá trình phát triển của phôi	9
1.2.2. Đánh giá chất lượng phôi bằng hình thái.....	10
1.2.3. Đánh giá chất lượng phôi sau trữ lạnh.....	15
1.3. CHUẨN BỊ NIÊM MẠC TỬ CUNG TRONG CHUYỂN PHÔI TRỮ... ..	17
1.3.1. Sinh lý NMTC	17
1.3.2. Giai đoạn “cửa sổ làm tổ của phôi”	19
1.3.3. Các phác đồ chuẩn bị NMTC	22
1.3.4. Đánh giá sự chấp nhận của NMTC.....	24
1.4. CÁC KỸ THUẬT HỖ TRỢ TRONG CHU TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ..	27
1.4.1. Hỗ trợ phôi thoát màng	27
1.4.2. Kỹ thuật chẩn đoán di truyền tiền làm tổ	32
1.5. QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ LẠNH	32
1.5.1. Khái niệm.....	32
1.5.2. Chỉ định chuyển phôi trữ lạnh	32
1.5.3. Điều kiện và nguyên tắc chuyển phôi trữ lạnh	32
1.5.4. Qui trình chuyển phôi trữ lạnh.....	33

1.6. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KỸ THUẬT CHUYỂN PHÔI ĐÔNG..	34
1.6.1. Các yếu tố trên lâm sàng.....	34
1.6.2. Các yếu tố labo	36
1.6.3. Các yếu tố trong kỹ thuật chuyển phôi	37
1.7. XU HƯỚNG HIỆN NAY	40
1.7.1. Xu hướng hiện nay đang dần thay thế chuyển phôi tươi bằng chuyển phôi trữ	40
1.7.2. Các lý do để thay thế chuyển phôi tươi bằng chuyển phôi trữ:....	41
1.7.3. Cơ sở của các lý do trên có thể là:	41
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	43
2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU	43
2.2. THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	43
2.3. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	43
2.3.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu	43
2.3.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	44
2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	44
2.4.1. Thiết kế nghiên cứu	44
2.4.2. Cỡ mẫu nghiên cứu.....	44
2.4.3. Mô hình nghiên cứu	45
2.4.4. Các định nghĩa được dùng trong nghiên cứu.....	46
2.4.5. Các biến số nghiên cứu	48
2.4.6. Kỹ thuật thu thập thông tin và các bước tiến hành.....	49
2.4.7. Sai số và không chế sai số	53
2.5. XỬ LÝ SỐ LIỆU	53
2.6. VẤN ĐỀ ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU	54
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	56
3.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA NHÓM BỆNH NHÂN CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG	56
3.1.1. Tuổi.....	56
3.1.2. Phân bố về thời gian vô sinh.....	58

3.1.3. Phân loại vô sinh.....	58
3.1.4. Nguyên nhân vô sinh	59
3.1.5. Phương pháp thụ tinh.....	60
3.1.6. Số lần thực hiện chuyển phôi trữ lạnh	61
3.1.7. Nồng độ FSH cơ bản	61
3.1.8. Phác đồ kích thích buồng trứng được sử dụng	62
3.1.9. Chất lượng phôi trước trữ đông của các phác đồ kích thích buồng trứng..	62
3.2. KẾT QUẢ CỦA QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG.....	63
3.2.1. Nồng độ E2 trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông	63
3.2.2. Đặc điểm niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông ..	64
3.2.3. Kết quả rã đông phôi:.....	66
3.2.4. Số phôi được chuyển trong một chu kỳ.....	68
3.2.5. Số phôi rã đông được chuyển trong 1 chu kỳ theo từng năm	69
3.2.6. Kết quả sau chuyển phôi trữ lạnh	69
3.2.7. Số lượng thai trong chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh	71
3.2.8. Tiến triển của các chu kỳ có thai lâm sàng.....	71
3.3. ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ LÊN KẾT QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ LẠNH.....	72
3.3.1. Ảnh hưởng của tuổi người vợ tới kết quả chuyển phôi.....	72
3.3.2. Loại vô sinh, thời gian vô sinh và kết quả chuyển phôi	73
3.3.3. Nguyên nhân vô sinh và tỷ lệ thai lâm sàng	75
3.3.4. Phác đồ kích thích buồng trứng	76
3.3.5. Phương pháp thụ tinh.....	77
3.3.6. Chỉ số bFSH và kết quả chuyển phôi.....	77
3.3.7. Số ngày sử dụng E2 và kết quả chuyển phôi.....	78
3.3.8. Đặc điểm phôi chuyển và kết quả chuyển phôi	79
3.3.9. Đặc điểm NMTC và kết quả chuyển phôi	81
3.3.10. Đặc điểm khi chuyển phôi và kết quả có thai.....	83
3.3.11. Phân tích các yếu tố có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng	84

Chương 4: BÀN LUẬN.....	90
4.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA NHÓM BỆNH NHÂN ĐƯỢC ĐIỀU TRỊ BẰNG QUÁ TRÌNH CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG.....	90
4.2. KẾT QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ LẠNH.....	95
4.2.1. Chất lượng phôi sau rã đông.....	95
4.2.2. Số lượng phôi rã đông chuyển trong 1 chu kỳ.....	98
4.2.3. Tỷ lệ có thai lâm sàng.....	100
4.2.4. Đa thai và chuyển phôi trữ lạnh.....	102
4.2.5. Chửa ngoài tử cung và chuyển phôi trữ lạnh.....	103
4.3. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU QUẢ CHUYỂN PHÔI TRỮ ĐÔNG.....	105
4.3.1. Tuổi của người vợ.....	105
4.3.2. Loại và nguyên nhân vô sinh và thời gian vô sinh.....	108
4.3.3. Phác đồ kích thích buồng trứng.....	109
4.3.4. FSH cơ bản liên quan đến tỷ lệ có thai.....	110
4.3.5. Đặc điểm ngày sử dụng và nồng độ E2 trong chuẩn bị NMTC ...	111
4.3.6. Đặc điểm của niêm mạc tử cung liên quan đến tỷ lệ có thai lâm sàng .	114
4.3.7. Đặc điểm phôi chuyển và tỷ lệ có thai lâm sàng.....	116
4.3.8. Ảnh hưởng của quá trình chuyển phôi lên tỷ lệ thai lâm sàng.....	119
KẾT LUẬN.....	125
KIẾN NGHỊ.....	126
HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO.....	127
CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
2PN	2 pronuclear	Hai tiền nhân
AH	Assisted hatching	Hỗ trợ phôi thoát màng
bFSH	Baseline plasma FSH	Nồng độ FSH cơ bản
BTC		Buồng tử cung
BVPSTW		Bệnh viện Phụ sản Trung ương
CI	Confidence Interval	Khoảng tin cậy
CPA	Cryoprotectant agent	Chất bảo vệ lạnh
Cs		Cộng sự
E2		Estradiol
FET	Frozen embryo transfer	Chuyên phôi trữ đông
FISH	Flourescent Institu Hybridization	Kỹ thuật lai huỳnh quang lại chỗ
FSH	Follicle-stimulating hormon	Hormon kích thích nang trứng
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone	
hCG	Human chorionic gonadotropin	
HTSS		Hỗ trợ sinh sản
ICSI	Intra-cytoplasmic Sperm Injection	Tiêm tinh trùng vào noãn
IVF	In vitro fertilization	Thụ tinh ống nghiệm
IVM	In vitro maturation	Trưởng thành trứng trong ống nghiệm
KRNN		Không rõ nguyên nhân
KTBT		Kích thích buồng trứng
LH	Luteinizing hormon	Hormon tạo hoàng thể

NMTC		Niêm mạc tử cung
OR	Odds ratio	Tỷ suất chênh
P4	Progesterone	
PCOS	Polycystic ovary syndrome	Hội chứng buồng trứng đa nang
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng khuếch đại gen
PGD	Preimplantation Genetic Diagnosis	Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ
PGS	Preimplantation Genetic Screening	Tầm soát di truyền tiền làm tổ
PI	Pulsatility Index	Chỉ số đập
QKBT		Quá kích buồng trứng
RI	Resistance Index	Chỉ số trở kháng
RR	Relative Risk	Nguy cơ tương đối
TTON		Thụ tinh ống nghiệm
VS		Vô sinh
ZP	Zona pellucida	Màng trong suốt

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Đặc điểm tuổi bệnh nhân theo năm.....	57
Bảng 3.2.	Phân bố về thời gian vô sinh.....	58
Bảng 3.3.	Phân bố về loại vô sinh nguyên phát và thứ phát	58
Bảng 3.4.	Phương pháp thụ tinh	60
Bảng 3.5.	Đặc điểm lần chuyển phôi trữ đông.....	61
Bảng 3.6.	Phân bố nồng độ FSH cơ bản.....	61
Bảng 3.7.	Phân bố các phác đồ kích thích buồng trứng được sử dụng	62
Bảng 3.8.	Đặc điểm nồng độ E2 trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông	63
Bảng 3.9.	Độ dày niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ đông ...	65
Bảng 3.10.	Hình thái niêm mạc tử cung trong chu kỳ chuyển phôi trữ	65
Bảng 3.11.	Đặc điểm phôi trữ đông, phôi rã	67
Bảng 3.12.	Kết quả sau chuyển phôi trữ đông	70
Bảng 3.13.	Liên quan giữa tuổi và kết quả chuyển phôi trữ đông	73
Bảng 3.14.	Liên quan giữa loại vô sinh và kết quả chuyển phôi trữ đông.....	74
Bảng 3.15.	Thời gian vô sinh và tỷ lệ có thai lâm sàng	74
Bảng 3.16.	Mối liên quan giữa nguyên nhân VS và tỷ lệ có thai lâm sàng ...	75
Bảng 3.17.	Mối liên quan giữa phác đồ KTBT và kết quả FET	76
Bảng 3.18.	Liên quan giữa phương pháp thụ tinh và kết quả chuyển phôi....	77
Bảng 3.19.	Mối liên quan giữa giá trị bFSH và thai lâm sàng	77
Bảng 3.20.	Mối liên quan giữa số ngày sử dụng E2 và tỷ lệ thai lâm sàng ...	78
Bảng 3.21.	Mối liên quan giữa nồng độ E2 và tỷ lệ có thai lâm sàng.....	78
Bảng 3.22.	Mối liên quan giữa số lượng phôi chuyển và kết quả chuyển phôi..	79
Bảng 3.23.	Mối liên quan giữa chất lượng phôi và kết quả chuyển phôi.....	80
Bảng 3.24.	Độ dày của NMTC và kết quả chuyển phôi.....	81
Bảng 3.25.	Hình thái NMTC và kết quả chuyển phôi	82
Bảng 3.26.	Mức độ chuyển phôi dễ hay khó và kết quả chuyển phôi.....	83

Bảng 3.27. Đặc điểm catheter chuyển phôi và kết quả chuyển phôi.....	83
Bảng 3.28. Phân tích đơn biến yếu tố lâm sàng ảnh hưởng kết quả có thai...	84
Bảng 3.29. Phân tích đơn biến các yếu tố khi chuyển phôi ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng.....	86
Bảng 3.30. Phân tích hồi quy các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng.	88
Bảng 4.1. Tỷ lệ thai lâm sàng trong FET ở một số nghiên cứu	101
Bảng 4.2. Ảnh hưởng của tuổi tới tỷ lệ thai lâm sàng	106
Bảng 4.3. Ảnh hưởng của thời gian vô sinh lên tỷ lệ thai lâm sàng.....	109

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 2.1.	Mô hình nghiên cứu.....	45
Biểu đồ 3.1.	Phân bố nhóm tuổi bệnh nhân	56
Biểu đồ 3.2.	Nguyên nhân gây vô sinh	59
Biểu đồ 3.3.	Các nguyên nhân vô sinh do vợ	60
Biểu đồ 3.4.	Đặc điểm chất lượng phôi trước trữ đông của các phác đồ kích thích	63
Biểu đồ 3.5.	Sự phân bố số ngày sử dụng E2	64
Biểu đồ 3.6.	Mối liên quan giữa nồng độ E2 và độ dày NMTC.....	66
Biểu đồ 3.7.	Biểu đồ chất lượng phôi trước đông và khi chuyển phôi.....	67
Biểu đồ 3.8.	Số lượng phôi trữ đông được chuyển trong 1 chu kỳ.....	68
Biểu đồ 3.9.	Phân bố số lượng phôi chuyển trong mỗi chu kỳ theo năm...	69
Biểu đồ 3.10.	Phân bố số lượng thai	71
Biểu đồ 3.11.	Sự tiến triển của các chu kỳ có thai lâm sàng	72
Biểu đồ 4.1.	Số chu kỳ chuyển phôi trữ đông theo năm	90
Biểu đồ 4.2.	Phân bố số lượng bệnh nhân theo năm và theo thời gian vô sinh ..	92
Biểu đồ 4.3.	Tỷ lệ phương pháp IVF/ICSI tại Châu Âu năm 1997-2012 ..	94
Biểu đồ 4.4.	Số phôi chuyển trong 1 chu kỳ 2009-2012 trên toàn châu Âu ...	99

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Phân loại phôi ngày 3	12
Hình 1.2. Phân loại phôi nang	14
Hình 1.3. Phôi bào bị li giải sau trữ lạnh già đông	17
Hình 1.4. Phôi nang giai đoạn sớm.....	28
Hình 1.5. Phôi thoát màng in-vitro	29

1. Trounson A. and Mohr L. (1983). Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 305(5936), 707-9.
2. Ooki S. (2015). Birth defects after assisted reproductive technology according to the method of treatment in Japan: nationwide data between 2004 and 2012. *Environ Health Prev Med*. 20(6), 460-5.
3. Nguyễn Thị Thu Lan Đ.Q.V., Lê Thụy Hồng Khả và cộng sự. *Day 2 embryo vitrification in Vietnam*. in *The 3rd Congress of the Asia Pacific initiative on reproduction*. 2010. Bangkok, Thailand.
4. Đặng Quang Vinh V.T.N.L., Đỗ Quang Minh và cs (2003). Trường hợp thai lâm sàng đầu tiên từ phôi người đông lạnh, *Vô sinh các vấn đề mới*, N.T.N. Phương, Editor, Nhà xuất bản Y học. p. 137-142.
5. D'Angelo A. and Amso N. (2002). Embryo freezing for preventing Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. (2), CD002806.
6. Gosden L.V. B.R., Bodine R., Clarke R.N. et al (2009). The human embryo: slow freezing, *Textbook of Assisted Reproductive Technologies: Laboratory and clinical perspective*, W.A. Gardner D., Howles C. and Shoham Z., Editor, Informa Healthcare: London. p. 275-285.
7. Amarin Z.O. (2004). A flexible protocol for cryopreservation of pronuclear and cleavage stage embryos created by conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 117(2), 189-93.
8. Quang Đ.M. (2003). Nguyên tắc và kỹ thuật trữ lạnh phôi người, *Vô sinh-Các vấn đề mới*, N.T.N. Phương, Editor, Nhà xuất bản Y học. p. 131-135.
9. Liebermann J., Nawroth F., Isachenko V., et al. (2002). Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod*. 67(6), 1671-80.
10. Kuwayama M., Vajta G., Ieda S., et al. (2005). Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online*. 11(5), 608-14.
11. Vutyavanich T., Piromlertamorn W., and Nunta S. (2010). Rapid freezing versus slow programmable freezing of human spermatozoa. *Fertil Steril*. 93(6), 1921-8.

12. Cao Y.X., Xing Q., Li L., et al. (2009). Comparison of survival and embryonic development in human oocytes cryopreserved by slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril.* 92(4), 1306-11.
13. Loutradi K.E., Kolibianakis E.M., Venetis C.A., et al. (2008). Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 90(1), 186-93.
14. Van Voorhis B.J., Thomas M., Surrey E.S., et al. (2010). What do consistently high-performing in vitro fertilization programs in the U.S. do? *Fertil Steril.* 94(4), 1346-9.
15. Trương Thị Thanh Bình N.T.N., Nguyễn Thị Mai và cs (2009). Trữ lạnh mô tinh hoàn những trường hợp vô tinh bẩm tắc ở nam giới. *Tạp chí Thời sự Y học.* 36, 3-6.
16. Vinh Đ.Q. (2006). Đông lạnh phôi bằng kỹ thuật thủy tinh hóa trong trữ lạnh trứng, phôi người. *Tài liệu hội thảo IVF Expert Meeting II.* 16-17.
17. Vinh Đ.Q. (2005). Kết quả bước đầu chương trình trữ lạnh noãn tại bệnh viện Từ Dũ. *Sức khỏe và sinh sản số 10.*
18. Lê Thụy Hồng Khả N.T.T.L., Vương Thị Ngọc Lan và cs *Kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng- Báo cáo kết quả đầu tiên tại Việt Nam.* in *Tài liệu Hội thảo thường niên "Các vấn đề tranh luận trong hỗ trợ sinh sản lần 1"*. 2008. Đà Nẵng.
19. cs N.T.T.L.v. *Tương quan giữa chất lượng trứng với tỉ lệ thai sau thụ tinh trong ống nghiệm.* in *Hội thảo các vấn đề tranh luận trong hỗ trợ sinh sản lần 1.* 2010. Đà Nẵng.
20. Wada I., Macnamee M.C., Wick K., et al. (1994). Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod.* 9(3), 543-6.
21. Lundin K., Bergh C., and Hardarson T. (2001). Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod.* 16(12), 2652-7.
22. Sakkas D., Percival G., D'Arcy Y., et al. (2001). Assessment of early cleaving in vitro fertilized human embryos at the 2-cell stage before transfer improves embryo selection. *Fertil Steril.* 76(6), 1150-6.
23. Kligman I., Benadiva C., Alikani M., et al. (1996). The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod.* 11(7), 1492-8.
24. T. V. (2003). Laboratory management of A.R.T, *Assisted reproductive technology*, V. T., Editor, Nopburi: Chiang Mai. p. 2103-2108.

25. Alikani M., Cekleniak N.A., Walters E., et al. (2003). Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Hum Reprod.* 18(9), 1937-43.
26. Veek L.L. Z.A., *An atlas of human blastocyst.* 2003, New York: Parthenon Publishing Group.
27. Alpha Scientists in Reproductive M. and Embryology E.S.I.G.o. (2011). The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod.* 26(6), 1270-83.
28. Scott L. (2003). Pronuclear scoring as a predictor of embryo development. *Reprod Biomed Online.* 6(2), 201-14.
29. Scott L. (2009). Analysis of fertilization, *Textbook of assisted reproductive technologies*, W.A. Gardner DK, Howles C, Shoham Z, Editor, Informa Healthcare. p. 207-217.
30. Sinan O. E.E. (2002). Cryopreservation: Basic knowledge and Biophysical effects. *J Ankara Med School.* 24, 187-196.
31. Louis L. C.S. (2009). The optimal stage of freezing human embryo. *Current Woman's Health reviews.* 5, 51-54.
32. Emiliani S., Van den Bergh M., Vannin A.S., et al. (2000). Comparison of ethylene glycol, 1,2-propanediol and glycerol for cryopreservation of slow-cooled mouse zygotes, 4-cell embryos and blastocysts. *Hum Reprod.* 15(4), 905-10.
33. Nyboe Andersen A., Goossens V., Bhattacharya S., et al. (2009). Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE: ESHRE. The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 24(6), 1267-87.
34. Nagy Z.P. V.G., Chang C. et al (2009). The human embryo: Vitriification, *Textbook of Assisted Reproductive*, W.A. Gardner D., Howles C. and Shoham Z., Editor, Infoma Healthcare: London. p. 289-304.
35. Veeck L.L., Bodine R., Clarke R.N., et al. (2004). High pregnancy rates can be achieved after freezing and thawing human blastocysts. *Fertil Steril.* 82(5), 1418-27.
36. Saragusty J. and Arav A. (2011). Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction.* 141(1), 1-19.
37. Carlos S. C.M., Antonio P. (1999). Implantation process: Lessons from ART, *Female infertility therapy*, Martin Dunitz Ltd: United Kingdom. p. 393-403.

38. Horcajadas J.A. M.-C.J.A., Simon C. (2011). Endometrial Receptivity in Natural and Controlled Ovarian Stimulated Cycle, *Biennial review of infertility*, Springer: USA. p. 43-57.
39. Marinko M.B. (2004). Ultrasound in ART, *Textbook of Assisted Reproductive Technologies*, W.A. Gardner D., Howles C. and Shoham Z., Editor, Informa healthcare: United Kingdom. p. 635-657.
40. Kovacs P., Matyas S., Boda K., et al. (2003). The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod.* 18(11), 2337-41.
41. Rogers P. (2004). Uterine receptivity, *Handbook of In-Vitro Fertilization*, G.D.K. Trounson A., Editor, CRC Press: English. p. 263-286.
42. Murphy C.R. (2000). Understanding the apical surface markers of uterine receptivity: pinopods-or uterodomes? *Hum Reprod.* 15(12), 2451-4.
43. Sudoma I., Goncharova Y., and Zukin V. (2011). Optimization of cryocycles by using pinopode detection in patients with multiple implantation failure: preliminary report. *Reprod Biomed Online.* 22(6), 590-6.
44. Vương Thị Ngọc Lan L.V.Đ. (2002). Tương quan giữa độ dày niêm mạc tử cung qua siêu âm với tỉ lệ thai lâm sàng ở thụ tinh trong ống nghiệm. *Tạp chí Phụ sản Việt Nam.* 1(3), 76-83.
45. Gonen Y., Casper R.F., Jacobson W., et al. (1989). Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 52(3), 446-50.
46. Glissant A., de Mouzon J., and Frydman R. (1985). Ultrasound study of the endometrium during in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril.* 44(6), 786-90.
47. Fleischer A.C., Rogers W.H., Rao B.K., et al. (1991). Transvaginal color Doppler sonography of ovarian masses with pathological correlation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1(4), 275-8.
48. Welker B.G., Gembruch U., Diedrich K., et al. (1989). Transvaginal sonography of the endometrium during ovum pickup in stimulated cycles for in vitro fertilization. *J Ultrasound Med.* 8(10), 549-53.
49. Dickey R.P., Olar T.T., Taylor S.N., et al. (1993). Relationship of biochemical pregnancy to pre-ovulatory endometrial thickness and pattern in patients undergoing ovulation induction. *Hum Reprod.* 8(2), 327-30.
50. Yoeli R., Ashkenazi J., Orvieto R., et al. (2004). Significance of increased endometrial thickness in assisted reproduction technology treatments. *J Assist Reprod Genet.* 21(8), 285-9.

51. Serafini P., Batzofin J., Nelson J., et al. (1994). Sonographic uterine predictors of pregnancy in women undergoing ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril.* 62(4), 815-22.
52. Sher G., Herbert C., Maassarani G., et al. (1991). Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in-vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Hum Reprod.* 6(2), 232-7.
53. Friedler S., Schenker J.G., Herman A., et al. (1996). The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update.* 2(4), 323-35.
54. Goswamy R.K., Williams G., and Steptoe P.C. (1988). Decreased uterine perfusion--a cause of infertility. *Hum Reprod.* 3(8), 955-9.
55. Steer C.V., Tan S.L., Mason B.A., et al. (1994). Midluteal-phase vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance in a subfertile population. *Fertil Steril.* 61(1), 53-8.
56. Tường H.M. (2007). Kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. *Y học sinh sản.* 8-12.
57. Cohen J. (1991). Assisted hatching of human embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 8(4), 179-90.
58. Tường H.M. *Y học thực chứng về hiệu quả của hỗ trợ phôi thoát màng. in 2nd SGART.* 2009.
59. Ng E.H., Lau E.Y., Yeung W.S., et al. (2008). Randomized double-blind comparison of laser zona pellucida thinning and breaching in frozen-thawed embryo transfer at the cleavage stage. *Fertil Steril.* 89(5), 1147-53.
60. Mantoudis E., Podsiadly B.T., Gorgy A., et al. (2001). A comparison between quarter, partial and total laser assisted hatching in selected infertility patients. *Hum Reprod.* 16(10), 2182-6.
61. Practice Committee of Society for Assisted Reproductive T. and Practice Committee of American Society for Reproductive M. (2008). The role of assisted hatching in in vitro fertilization: a review of the literature. A Committee opinion. *Fertil Steril.* 90(5 Suppl), S196-8.
62. Yeung W.S., Li R.H., Cheung T.M., et al. (2009). Frozen-thawed embryo transfer cycles. *Hong Kong Med J.* 15(6), 420-6.
63. Kassab A., Schaub F., Vent J., et al. (2009). Effects of short inter-stimulus intervals on olfactory and trigeminal event-related potentials. *Acta Otolaryngol.* 129(11), 1250-6.
64. Ku S.Y., Choi Y.S., Jee B.C., et al. (2005). A preliminary study on reduced dose (33 or 25 microg) gonadotropin-releasing hormone agonist long protocol for multifollicular ovarian stimulation in patients

- with high basal serum follicle-stimulating hormone levels undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 21(4), 227-31.
65. Gelbaya T.A., Nardo L.G., Hunter H.R., et al. (2006). Cryopreserved-thawed embryo transfer in natural or down-regulated hormonally controlled cycles: a retrospective study. *Fertil Steril.* 85(3), 603-9.
 66. Zollner U., Specketer M.T., Dietl J., et al. (2012). 3D-Endometrial volume and outcome of cryopreserved embryo replacement cycles. *Arch Gynecol Obstet.* 286(2), 517-23.
 67. Isaacs J.D., Jr., Wells C.S., Williams D.B., et al. (1996). Endometrial thickness is a valid monitoring parameter in cycles of ovulation induction with menotropins alone. *Fertil Steril.* 65(2), 262-6.
 68. Berin I., Engmann L.L., Benadiva C.A., et al. (2010). Transfer of two versus three embryos in women less than 40 years old undergoing frozen transfer cycles. *Fertil Steril.* 93(2), 355-9.
 69. Steer C.V., Mills C.L., Tan S.L., et al. (1992). The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *Hum Reprod.* 7(1), 117-9.
 70. Erenus M., Zouves C., Rajamahendran P., et al. (1991). The effect of embryo quality on subsequent pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 56(4), 707-10.
 71. Lewin A., Schenker J.G., Safran A., et al. (1994). Embryo growth rate in vitro as an indicator of embryo quality in IVF cycles. *J Assist Reprod Genet.* 11(10), 500-3.
 72. Hsu M.I., Mayer J., Aronshon M., et al. (1999). Embryo implantation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred. *Fertil Steril.* 72(4), 679-85.
 73. Ebner T., Yaman C., Moser M., et al. (2001). A prospective study on oocyte survival rate after ICSI: influence of injection technique and morphological features. *J Assist Reprod Genet.* 18(12), 623-8.
 74. Tomas C., Tikkinen K., Tuomivaara L., et al. (2002). The degree of difficulty of embryo transfer is an independent factor for predicting pregnancy. *Hum Reprod.* 17(10), 2632-5.
 75. Marikinti K. and Brinsden P.R. (2005). 'The presence of blood in the transfer catheter negatively influences outcome at embryo transfer'. *Hum Reprod.* 20(7), 2029-30; author reply 2030-1.

76. Karlstrom P.O., Bergh T., Forsberg A.S., et al. (1997). Prognostic factors for the success rate of embryo freezing. *Hum Reprod.* 12(6), 1263-6.
77. Salumets A., Suikkari A.M., Makinen S., et al. (2006). Frozen embryo transfers: implications of clinical and embryological factors on the pregnancy outcome. *Hum Reprod.* 21(9), 2368-74.
78. Veleva Z., Orava M., Nuojua-Huttunen S., et al. (2013). Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Hum Reprod.* 28(9), 2425-31.
79. Takahashi T., Hasegawa A., Igarashi H., et al. (2017). Prognostic factors for patients undergoing vitrified-warmed human embryo transfer cycles: a retrospective cohort study. *Hum Fertil (Camb).* 20(2), 140-146.
80. Nguyễn Xuân Hợi P.T.D. (2010). Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ trong hỗ trợ sinh sản. *Tạp chí nghiên cứu y học.* 69(4).
81. Phạm Thúy Nga L.H. (2013). Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai khi sử dụng phác đồ GnRH antagonist trong thụ tinh ống nghiệm tại bệnh viện Phụ sản Trung ương. *Y học TP Hồ Chí Minh.* 17(2), 35-39.
82. Hương Đ.L., *Nghiên cứu hiệu quả của phác đồ ngăn/hMG và phác đồ ngăn/rFSH để xử trí buồng trứng đáp ứng kém trong TTON*, in *Sản - Phụ khoa 2014*, Trường Đại học Y Hà Nội.
83. Phan Thị Thanh Lan N.V.T., Vũ Văn Tâm (2015). Đánh giá chất lượng phôi sau rã đông và tỷ lệ có thai sau chuyển phôi ngày 2- ngày 3 đông lạnh theo phương pháp thủy tinh hóa. *Tạp chí nghiên cứu y học.* 95(3), 15-22.
84. Vũ Văn Tâm N.T.Q.D. (2017). Nghiên cứu kết quả chuyển phôi đông lạnh tại Bệnh viện Phụ sản Hải Phòng trong 5 năm 2010-2014. *Tạp chí Y dược học quân sự.* 5, 28-34.
85. Aflatoonian A., Mansoori Moghaddam F., Mashayekhy M., et al. (2010). Comparison of early pregnancy and neonatal outcomes after frozen and fresh embryo transfer in ART cycles. *J Assist Reprod Genet.* 27(12), 695-700.
86. Korosec S., Ban Frangez H., Verdenik I., et al. (2014). Singleton pregnancy outcomes after in vitro fertilization with fresh or frozen-thawed embryo transfer and incidence of placenta praevia. *Biomed Res Int.* 2014, 431797.
87. Kuc P., Kuczynska A., Stankiewicz B., et al. (2010). Vitrification vs. slow cooling protocol using embryos cryopreserved in the 5th or 6th

- day after oocyte retrieval and IVF outcomes. *Folia Histochem Cytobiol.* 48(1), 84-8.
88. Zhu D., Zhang J., Cao S., et al. (2011). Vitrified-warmed blastocyst transfer cycles yield higher pregnancy and implantation rates compared with fresh blastocyst transfer cycles--time for a new embryo transfer strategy? *Fertil Steril.* 95(5), 1691-5.
 89. Shi Y., Wei D., Liang X., et al. (2014). Live birth after fresh embryo transfer vs elective embryo cryopreservation/frozen embryo transfer in women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF (FreFro-PCOS): study protocol for a multicenter, prospective, randomized controlled clinical trial. *Trials.* 15, 154.
 90. Zhao J., Zhang Q., and Li Y. (2012). The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles. *Reprod Biol Endocrinol.* 10, 100.
 91. Feichtinger M., Gobl C., Weghofer A., et al. (2016). Reproductive outcome in European and Middle Eastern/North African patients. *Reprod Biomed Online.*
 92. Santos-Ribeiro S., Polyzos N.P., Lan V.T., et al. (2016). The effect of an immediate frozen embryo transfer following a freeze-all protocol: a retrospective analysis from two centres. *Hum Reprod.*
 93. Trung M.Q., *Đánh giá kết quả kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương từ 01/01/2007 đến 31/12/2008*, 2010, Trường Đại học Y Hà Nội.
 94. European I.V.F.M.C.f.t.E.S.o.H.R., Embryology, Calhaz-Jorge C., et al. (2016). Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 31(8), 1638-52.
 95. Park C.W., Choi M.H., Yang K.M., et al. (2016). Pregnancy rate in women with adenomyosis undergoing fresh or frozen embryo transfer cycles following gonadotropin-releasing hormone agonist treatment. *Clin Exp Reprod Med.* 43(3), 169-73.
 96. Bahceci M., Ulug U., Erden H.F., et al. (2009). Frozen-thawed cleavage-stage embryo transfer cycles after previous GnRH agonist or antagonist stimulation. *Reprod Biomed Online.* 18(1), 67-72.
 97. Rezazadeh Valojerdi M., Eftekhari-Yazdi P., Karimian L., et al. (2009). Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J Assist Reprod Genet.* 26(6), 347-54.
 98. Fasano G., Fontenelle N., Vannin A.S., et al. (2014). A randomized controlled trial comparing two vitrification methods versus slow-

- freezing for cryopreservation of human cleavage stage embryos. *J Assist Reprod Genet.* 31(2), 241-7.
99. Rienzi L., Gracia C., Maggiulli R., et al. (2016). Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.*
 100. Pavone M.E., Innes J., Hirshfeld-Cytron J., et al. (2011). Comparing thaw survival, implantation and live birth rates from cryopreserved zygotes, embryos and blastocysts. *J Hum Reprod Sci.* 4(1), 23-8.
 101. Ferraretti A.P., Goossens V., Kupka M., et al. (2013). Assisted reproductive technology in Europe, 2009: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 28(9), 2318-31.
 102. Kupka M.S., Ferraretti A.P., de Mouzon J., et al. (2014). Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE dagger. *Hum Reprod.* 29(10), 2099-113.
 103. European I.V.F.M.C., European Society of Human R., Embryology, et al. (2016). Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 31(2), 233-48.
 104. Committee for Assisted Reproductive Technology K.S.o.O., Gynecology, Choi Y.M., et al. (2013). Current status of assisted reproductive technology in Korea, 2009. *Obstet Gynecol Sci.* 56(6), 353-61.
 105. Committee for Assisted Reproductive Technology S.K.S.f.A.R., Lee G.H., Song H.J., et al. (2016). Current status of assisted reproductive technology in Korea, 2011. *Clin Exp Reprod Med.* 43(1), 38-43.
 106. Phương V.T.M., *Nhận xét kết quả chuyển phôi đông lạnh của kỹ thuật trữ phôi ngày 2 và ngày 3 tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương*, 2015, Trường Đại học Y Hà Nội.
 107. Chambers G.M., Wand H., Macaldowie A., et al. (2016). Population trends and live birth rates associated with common ART treatment strategies. *Hum Reprod.*
 108. Lee G.H., Song H.J., Lee K.S., et al. (2015). Current status of assisted reproductive technology in Korea, 2010. *Clin Exp Reprod Med.* 42(1), 8-13.
 109. (2000). Multiple gestation pregnancy. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod.* 15(8), 1856-64.
 110. Fauser B.C., Devroey P., and Macklon N.S. (2005). Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet.* 365(9473), 1807-16.

111. Health Quality O. (2006). In vitro fertilization and multiple pregnancies: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 6(18), 1-63.
112. Balassiano E., Malik S., Vaid P., et al. (2014). The presence of multiple gestational sacs confers a higher live birth rate in women with infertility who achieve a positive pregnancy test after fresh and frozen embryo transfer: a retrospective local cohort. *Reprod Biol Endocrinol.* 12, 104.
113. Ashrafi M., Madani T., Movahedi M., et al. (2015). Increasing The Number of Embryos Transferred from Two to Three, Does not Increase Pregnancy Rates in Good Prognosis Patients. *Int J Fertil Steril.* 9(3), 292-9.
114. Sunderam S., Kissin D.M., Crawford S.B., et al. (2015). Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2013. *MMWR Surveill Summ.* 64(11), 1-25.
115. Jurkovic D. and Wilkinson H. (2011). Diagnosis and management of ectopic pregnancy. *BMJ.* 342, d3397.
116. Schippert C., Soergel P., Staboulidou I., et al. (2012). The risk of ectopic pregnancy following tubal reconstructive microsurgery and assisted reproductive technology procedures. *Arch Gynecol Obstet.* 285(3), 863-71.
117. Decler W., Osmanagaoglu K., Meganck G., et al. (2014). Slightly lower incidence of ectopic pregnancies in frozen embryo transfer cycles versus fresh in vitro fertilization-embryo transfer cycles: a retrospective cohort study. *Fertil Steril.* 101(1), 162-5.
118. Cheng L.Y., Lin P.Y., Huang F.J., et al. (2015). Ectopic pregnancy following in vitro fertilization with embryo transfer: A single-center experience during 15 years. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 54(5), 541-5.
119. Milki A.A. and Jun S.H. (2003). Ectopic pregnancy rates with day 3 versus day 5 embryo transfer: a retrospective analysis. *BMC Pregnancy Childbirth.* 3(1), 7.
120. Samara N. and Bentov Y. (2016). Case Report of Ectopic Ovarian Pregnancy Following Fresh Embryo Transfer. *Clin Med Insights Reprod Health.* 10, 29-32.
121. Muller V., Makhmalieva M., Kogan I., et al. (2016). Ectopic pregnancy following in vitro fertilization: meta-analysis and single-center experience during 6 years. *Gynecol Endocrinol.* 32(sup2), 69-74.
122. Chang H.J. and Suh C.S. (2010). Ectopic pregnancy after assisted reproductive technology: what are the risk factors? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 22(3), 202-7.

123. Kazandi M. and Turan V. (2011). Ectopic pregnancy; risk factors and comparison of intervention success rates in tubal ectopic pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 38(1), 67-70.
124. Shao R., Nutu M., Weijdegard B., et al. (2009). Clomiphene citrate causes aberrant tubal apoptosis and estrogen receptor activation in rat fallopian tube: implications for tubal ectopic pregnancy. *Biol Reprod.* 80(6), 1262-71.
125. Jia-Rong Z., Shuang-Di L., and Xiao-Ping W. (2009). Eutopic or ectopic pregnancy: a competition between signals derived from the endometrium and the fallopian tube for blastocyst implantation. *Placenta.* 30(10), 835-9.
126. Shao R., Feng Y., Zou S., et al. (2012). The role of estrogen in the pathophysiology of tubal ectopic pregnancy. *Am J Transl Res.* 4(3), 269-78.
127. Wang J., Wei Y., Diao F., et al. (2013). The association between polycystic ovary syndrome and ectopic pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer. *Am J Obstet Gynecol.* 209(2), 139 e1-9.
128. Li Z., Sullivan E.A., Chapman M., et al. (2015). Risk of ectopic pregnancy lowest with transfer of single frozen blastocyst. *Hum Reprod.* 30(9), 2048-54.
129. Alranyes S., Fakih H., and Khan I. (1997). Effect of age and cycle responsiveness in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 68(1), 123-7.
130. Tucker M.J., Morton P.C., Wright G., et al. (1995). Factors affecting success with intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Fertil Dev.* 7(2), 229-36.
131. Oehninger S. (1996). Intracytoplasmic sperm injection: results from Norfolk, USA. *Hum Reprod.* 11 Suppl 1, 73-5; discussion 81-5.
132. Li R., Qiao J., Liu P., et al. (2008). [Clinical analysis of 12,491 cycles treated in embryo transfer program]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 43(8), 563-6.
133. Alasmari N.M., Son W.Y., and Dahan M.H. (2016). The effect on pregnancy and multiples of transferring 1-3 embryos in women at least 40 years old. *J Assist Reprod Genet.* 33(9), 1195-202.
134. Foroozanfard F., Moraveji S.A., Taghavi S.A., et al. (2016). Association Between Serum Estradiol Level on the Day of hCG Administration and IVF-ICSI Outcome. *J Obstet Gynaecol India.* 66(3), 170-3.

135. Hùng H.S., *Nghiên cứu hiệu quả phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn bằng tinh trùng lấy từ mào tinh trong điều trị vô sinh*, 2014, Trường Đại học Y Hà Nội.
136. Hou Z., Mao Y.D., and Liu J.Y. (2013). [Study on the factors associated with clinical pregnancy rate of in-vitro fertilization in endometriosis related infertility]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 48(1), 6-10.
137. Sunkara S.K., Coomarasamy A., Faris R., et al. (2014). Long gonadotropin-releasing hormone agonist versus short agonist versus antagonist regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 101(1), 147-53.
138. Pandian Z., McTavish A.R., Aucott L., et al. (2010). Interventions for 'poor responders' to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). *Cochrane Database Syst Rev*. (1), CD004379.
139. Schimberni M., Ciardo F., Schimberni M., et al. (2016). Short gonadotropin-releasing hormone agonist versus flexible antagonist versus clomiphene citrate regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 20(20), 4354-4361.
140. Toner J.P., Philput C.B., Jones G.S., et al. (1991). Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril*. 55(4), 784-91.
141. Pruksananonda K., Boonkasemsanti W., and Virutamasen P. (1996). Basal follicle--stimulating hormone levels on day 3 of previous cycle are predictive of in vitro fertilization outcome. *J Med Assoc Thai*. 79(6), 365-9.
142. Kdous M., Merdassi G., Zhioua F., et al. (2016). Basal follicle stimulating hormone level correlated to age is a good prognostic criterion for the outcome of intracytoplasmic sperm microinjection. *Tunis Med*. 94(3), 181-5.
143. Morozov V., Ruman J., Kenigsberg D., et al. (2007). Natural cycle cryo-thaw transfer may improve pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*. 24(4), 119-23.
144. Levron J., Yerushalmi G.M., Brengauz M., et al. (2014). Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecol Endocrinol*. 30(7), 494-7.
145. Zheng Y., Dong X., Huang B., et al. (2015). The artificial cycle method improves the pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfer: a retrospective cohort study. *Gynecol Endocrinol*. 31(1), 70-4.

146. Xiao Z., Zhou X., Xu W., et al. (2012). Natural cycle is superior to hormone replacement therapy cycle for vitrified-preserved frozen-thawed embryo transfer. *Syst Biol Reprod Med.* 58(2), 107-12.
147. Groenewoud E.R., Cantineau A.E., Kollen B.J., et al. (2017). What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.*
148. van Kooij R.J., Looman C.W., Habbema J.D., et al. (1996). Age-dependent decrease in embryo implantation rate after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 66(5), 769-75.
149. Siddhartha N., Reddy N.S., Pandurangi M., et al. (2016). Correlation of serum estradiol level on the day of ovulation trigger with the reproductive outcome of intracytoplasmic sperm injection. *J Hum Reprod Sci.* 9(1), 23-7.
150. Fang R., Cai L., Xiong F., et al. (2016). The effect of endometrial thickness on the day of hCG administration on pregnancy outcome in the first fresh IVF/ICSI cycle. *Gynecol Endocrinol.* 32(6), 473-6.
151. Bu Z., Wang K., Dai W., et al. (2016). Endometrial thickness significantly affects clinical pregnancy and live birth rates in frozen-thawed embryo transfer cycles. *Gynecol Endocrinol.* 32(7), 524-8.
152. Lan V.T.N. (2003). Độ dày niêm mạc tử cung và tỷ lệ có thai trong thụ tinh trong ống nghiệm. *Sinh sản và sức khỏe.* 4, 5-6.
153. Sher G. and Fisch J.D. (2002). Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril.* 78(5), 1073-6.
154. Ng E.H., Chan C.C., Tang O.S., et al. (2006). Comparison of endometrial and subendometrial blood flows among patients with and without hydrosalpinx shown on scanning during in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril.* 85(2), 333-8.
155. Chen S.L., Wu F.R., Luo C., et al. (2010). Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol.* 8, 30.
156. Wen G.F., Jin X.Y., Wang Z.L., et al. (2013). [Impact of age, single or double, fresh or frozen embryo transfer on pregnancy outcome after in vitro fertilization treatment]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 93(33), 2646-9.
157. Pinborg A. (2005). IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. *Hum Reprod Update.* 11(6), 575-93.

158. Han E.J., Kim S.K., Lee J.R., et al. (2015). Multiple pregnancy after single or multiple embryo transfer performed according to Korean guidelines. *Clin Exp Reprod Med.* 42(4), 169-74.
159. Luz C.M., Giorgi V.S., Coelho Neto M.A., et al. (2016). Association between Number of Formed Embryos, Embryo Morphology and Clinical Pregnancy Rate after Intracytoplasmic Sperm Injection. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 38(9), 465-470.
160. Hernandez-Nieto C.A., Mendez-Lozano D.H., Fraustro-Avila M.E., et al. (2016). [Analysis of factors associated with multiple pregnancies in assisted reproduction treatment complex]. *Ginecol Obstet Mex.* 84(1), 27-36.
161. Englert Y., Puissant F., Camus M., et al. (1986). Clinical study on embryo transfer after human in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 3(4), 243-6.
162. Wood E.G., Batzer F.R., Go K.J., et al. (2000). Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 15(1), 107-12.
163. Salha O.H., Lamb V.K., and Balen A.H. (2001). A postal survey of embryo transfer practice in the UK. *Hum Reprod.* 16(4), 686-90.
164. Larue L., Keromnes G., Massari A., et al. (2017). Anatomical causes of difficult embryo transfer during in vitro fertilization. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 46(1), 77-86.
165. Mansour R., Aboulghar M., and Serour G. (1990). Dummy embryo transfer: a technique that minimizes the problems of embryo transfer and improves the pregnancy rate in human in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 54(4), 678-81.
166. Goudas V.T., Hammitt D.G., Damario M.A., et al. (1998). Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 70(5), 878-82.
167. Visser D.S., Fourie F.L., and Kruger H.F. (1993). Multiple attempts at embryo transfer: effect on pregnancy outcome in an in vitro fertilization and embryo transfer program. *J Assist Reprod Genet.* 10(1), 37-43.
168. Kovacs G.T. (1999). What factors are important for successful embryo transfer after in-vitro fertilization? *Hum Reprod.* 14(3), 590-2.
169. Listijono D.R., Boylan T., Cooke S., et al. (2013). An analysis of the impact of embryo transfer difficulty on live birth rates, using a standardised grading system. *Hum Fertil (Camb).* 16(3), 211-4.

170. Plowden T.C., Hill M.J., Miles S.M., et al. (2016). Does the Presence of Blood in the Catheter or the Degree of Difficulty of Embryo Transfer Affect Live Birth? *Reprod Sci.*
171. Pandian Z., Marjoribanks J., Ozturk O., et al. (2013). Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* (7), CD003416.
172. Roque M., Valle M., Guimaraes F., et al. (2017). Freeze-all cycle for all normal responders? *J Assist Reprod Genet.* 34(2), 179-185.
173. Boomsma C.M., Eijkemans M.J., Hughes E.G., et al. (2006). A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 12(6), 673-83.
174. Chen Z.J., Shi Y., Sun Y., et al. (2016). Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med.* 375(6), 523-33.

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1.	213/12	Phí Thị Kim O.	1976	Hà Nội
2.	214/12	Bạch Thị Thu H.	1976	Hà Nội
3.	215/12	Phí Thị Thu T.	1977	Bắc Cạn
4.	216/12	Nguyễn Thị P.	1980	Hải Dương
5.	217/12	Nguyễn Thị H.	1996	Quảng Ninh
6.	384/12	Vương Thị Hữu L.	1979	Phú Thọ
7.	385/12	Hà Thị Bích L.	1976	Vĩnh Phúc
8.	386/12	Nguyễn Thu H.	1985	Hà Nội
9.	298/12	Phạm Bích Ng.	1988	Hà Nội
10.	297/12	Nguyễn Thị H.	1983	Hà Nội
11.	312/12	Phạm Thùy L.	1983	Thanh Hóa
12.	313/12	Bùi Thu H.	1986	Hà Nội
13.	360/12	Đào Thị H.	1978	Hà Nội
14.	355/12	Nguyễn Thanh T.	1972	Hà Nội
15.	270/12	Nguyễn Hoàng L.	1977	Hà Nội
16.	271/12	Phan Kim T.	1981	Hà Nội
17.	279/12	Hoàng Thị H.	1982	Hà Nội
18.	290/12	Nguyễn Thị Hải H.	1977	Hải Dương
19.	295/12	Trần Thị Cẩm N.	1975	Hà Nội
20.	301/12	Trần Thị X.	1978	Hà Nội
21.	302/12	Đỗ Thị Huyền Ch.	1983	Hà Nội
22.	305/12	Trịnh Thị Thanh H.	1983	Đông Nai
23.	320/12	Trịnh Thị H.	1985	Hải Dương
24.	370/12	Ngô Thu Tr.	1976	Hà Nội
25.	375/12	Nguyễn Thanh H.	1984	Quảng Ninh
26.	377/12	Đỗ Tuyết Nh.	1980	Hà Nội
27.	379/12	Hoàng Minh Th.	1969	Hà Nam
28.	380/12	Đỗ Thị Thanh M.	1974	Hà Nội
29.	386/12	Nguyễn Giang Ch.	1984	Quảng Ninh
30.	387/12	Vũ Thị H.	1982	Thanh Hóa
31.	389/12	Phạm Thị H.	1982	Hung Yên
32.	391/12	Vương Thị Th.	1980	Hà Nội
33.	392/12	Nguyễn Thị Thanh H.	1984	Hà Nội
34.	400/12	Hà Thọ Th.	1983	Hà Giang
35.	401/12	Lê Minh H.	1980	Hà Nội
36.	405/12	Hà Ngọc M.	1980	Lai Châu
37.	407/12	Phương Thúy H.	1982	Hà Nội
38.	408/12	Đoàn Thị Hải A.	1981	Hà Nội
39.	420/12	Đỗ Thị Minh H.	1979	Hà Nội
40.	425/12	Ngô Thị Ngọc A.	1984	Hà Nội
41.	427/12	Nguyễn Thu Th.	1975	Thái Bình
42.	429/12	Vũ Thị Th.	1980	Hà Nội
43.	430/12	Nguyễn Thị Trúc Q.	1975	Lào Cai
44.	431/12	Phan Thị T.	1983	Ninh Bình
45.	432/12	Hoàng Thị Hương Gi.	1978	Hà Nội
46.	433/12	Phạm Thị Bích L.	1987	Hà Nam
47.	434/12	Ngô Thị Thu Tr.	1976	Hà Nội
48.	435/12	Nguyễn Thị H.	1975	Hung Yên
49.	450/12	Nguyễn Thị Thanh H.	1980	Hà Nội
50.	451/12	Phạm Thanh H.	1985	Tuyên Quang
51.	452/12	Lê Thị Thanh Th.	1987	Hải Dương
52.	453/12	Vũ Thị V.	1985	Hà Nội
53.	454/12	Nhữ Thị Y.	1982	Hải Dương
54.	455/12	Nguyễn Thị Hải V.	1985	Hà Nội
55.	456/12	Phạm Thị L.	1976	Hà Nội
56.	460/12	Phạm Thị M.	1981	Hung Yên

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
57.	461/12	Nguyễn Thị S.	1981	Hà Nội
58.	463/12	Dương Thị Hồng Y.	1978	Hà Nội
59.	467/12	Đỗ Thị T.	1983	Hà Nội
60.	468/12	Phan Thị Mỹ H.	1981	Hà Tĩnh
61.	469/12	Nguyễn Thị D.	1984	Hà Giang
62.	470/12	Vũ Thị Th.	1982	Hà Nội
63.	473/12	Phạm Thị L.	1985	Sơn La
64.	474/12	Trần Thị Khánh H.	1984	Hà Nội
65.	475/12	Đỗ Thị Nh.	1988	Hà Nội
66.	476/12	Trần Thị Minh H.	1978	Hà Nội
67.	477/12	Đào Thị Thanh Ng.	1984	Cao Bằng
68.	478/12	Bùi Minh Kh.	1969	Hà Nội
69.	479/12	Trần Thị H.	1979	Thái Bình
70.	480/12	Nguyễn Thị Lan H.	1983	Bắc Ninh
71.	481/12	Lưu Thị Th.	1980	Hà Nội
72.	485/12	Nguyễn Thu Th.	1984	Hà Nội
73.	487/12	Hoàng Thị Th.	1983	Nam Định
74.	488/12	Lê Thị Nh.	1982	Thanh Hóa
75.	489/12	Nguyễn Thị Th.	1978	Bắc Ninh
76.	490/12	Nguyễn Thu Th.	1986	Hà Nội
77.	491/12	Nguyễn Thị Trang Nh.	1982	Hà Nội
78.	495/12	Bùi Thị T.	1984	Nam Định
79.	496/12	Nguyễn Thị Ánh	1972	Bắc Ninh
80.	498/12	Phạm Thị T.	1982	Quảng Ninh
81.	520/12	Vũ Thị Hồng H.	1983	Nam Định
82.	521/12	Nguyễn Thị H.	1985	Hà Nội
83.	522/12	Hồ Thị Thanh H.	1979	Lào Cai
84.	527/12	Hoàng Thị Ch.	1977	Cao Bằng
85.	529/12	Phạm Thị H.	1984	Thái Bình
86.	532/12	Lê Thị Q.	1976	Hải Dương
87.	533/12	Nguyễn Thị X.	1988	Hà Nội
88.	534/12	Nguyễn Thị H.	1987	Hung Yên
89.	536/12	Nguyễn Thị Mai H.	1975	Hà Nội
90.	537/12	Nguyễn Thị Kim D.	1981	Hà Nội
91.	538/12	Vũ Thị T.	1980	Bắc Giang
92.	546/12	Tô Khánh H.	1988	Hà Nội
93.	547/12	Dương Thị Tuyết M.	1986	Hà Nội
94.	549/12	Ngô Thị Thúy B.	1965	Hà Nội
95.	560/12	Nguyễn Thị D.	1985	Thanh Hóa
96.	563/12	Lê Nguyễn Thùy Ch.	1984	Hà Nội
97.	564/12	Trần Thị Th.	1979	Hà Nam
98.	567/12	Nguyễn Thị H.	1975	Hà Nội
99.	568/12	Trần Thị T.	1984	Hà Nội
100.	569/12	Lê Thị Quỳnh Ch.	1984	Hà Nội
101.	570/12	Bùi Thị Chung Th.	1979	Quảng Ninh
102.	575/12	Lại Thị Th.	1979	Nam Định
103.	577/12	Phùng Thị Thủy Ch.	1981	Hà Nội
104.	579/12	Trần Thanh M.	1982	Hà Nội
105.	590/12	Hoàng Thị L.	1985	Bắc Giang
106.	591/12	Cao Thị L.	1988	Bắc Ninh
107.	592/12	Nguyễn Thị Á.	1981	Nam Định
108.	596/12	Trần Thanh Hằng	1971	Hà Nội
109.	597/12	Vũ Thị Nh.	1979	Ninh Bình
110.	598/12	Đoàn Phương Th.	1977	Hà Nội
111.	602/12	Nguyễn Thị L.	1981	Hung Yên
112.	605/12	Phạm Thị Phương Th.	1984	Hà Nội

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
113.	607/12	Nguyễn Thị H.	1986	Bắc Ninh
114.	608/12	Lý Thị Phương Ng.	1986	Hà Nội
115.	615/12	Trần Thị D.	1986	Thái Bình
116.	616/12	Mai Thị Thu L.	1984	Hà Nội
117.	617/12	Trần Thị Hoa L.	1973	Hà Nội
118.	619/12	Phan Thị Thùy L.	1982	Hà Giang
119.	620/12	Vũ Thị T.	1986	Hà Nội
120.	623/12	Lê Thùy L.	1976	Hà Nội
121.	625/12	Lê Thị D.	1984	Sơn La
122.	628/12	Đỗ Thị H.	1978	Hà Nam
123.	630/12	Nguyễn Thị Như L.	1971	Quảng Nam
124.	633/12	Phạm Văn Ph.	1977	Hà Nội
125.	635/12	Phạm Hồng Nh.	1983	Hà Nội
126.	638/12	Vũ Thị Anh Đ.	1980	Hà Nội
127.	640/12	Nguyễn Thị Như Ng.	1985	Hà Nội
128.	645/12	Vũ Thị Kim O.	1972	Hà Nội
129.	648/12	Đinh Thị Bích Ch.	1986	Hà Nội
130.	650/12	Vũ Thị Thanh H.	1984	Hà Nội
131.	655/12	Ngô Lan H.	1974	Hà Nội
132.	657/12	Từ Thị Minh T.	1980	Hà Nội
133.	658/12	Vũ Thị Thu H.	1979	Hải Dương
134.	660/12	Nguyễn Thị H.	1982	Bắc Ninh
135.	662/12	Hoàng Thị Hồng T.	1975	Lào Cai
136.	665/12	Nguyễn Thị Kim H.	1975	Hà Đông
137.	666/12	Đỗ Thị Lan H.	1979	Hung Yên
138.	667/12	Nguyễn Thị H.	1984	Hà Nội
139.	670/12	Nguyễn Thị H.	982	Hà Nội
140.	672/12	Vũ Thị B.	1979	Hà Nội
141.	676/12	Vũ Thu Tr.	1978	Hà Nội
142.	677/12	Hà Thị Kim A.	1976	Hải Phòng
143.	680/12	Vũ Thị Kim Tr.	1977	Hà Nội
144.	685/12	Vũ Lê Th.	1981	Hà Nội
145.	686/12	Vũ Thị Tr.	1987	Nghệ An
146.	687/12	Nguyễn Thu H.	1987	Hà Đông
147.	689/12	Lương Thị H.	1978	Vũng Tàu
148.	690/12	Trần Thị C.	1968	Thái Nguyên
149.	691/12	Lê Văn A.	1981	Hải Dương
150.	695/12	Trần Thị Hương Gi.	1988	Hà Nội
151.	696/12	Nguyễn Thị Thu Đ.	1983	Hà Nội
152.	698/12	Trần Thị L.	1985	Nam Định
153.	699/12	Vũ Thị Thu H.	1982	Hà Nội
154.	703/12	Phạm Thị Thu Tr.	1987	Hà Nội
155.	704/12	Vũ Thị H.	1980	Hà Nội
156.	705/12	Đào Thị H.	1987	Hà Nội
157.	710/12	Nguyễn Thị H.	1971	Hà Tĩnh
158.	712/12	Đậu Thị L.	1977	Nghệ An
159.	715/12	Nguyễn Thanh H.	1975	Hà Nội
160.	716/12	Đỗ Thị H.	1984	Bắc Ninh
161.	718/12	Đinh Thị Nh.	1977	Vĩnh Phúc
162.	720/12	Nguyễn Thị Mai H.	1978	Hà Đông
163.	721/12	Nguyễn Thị Th.	1981	Hà Nội
164.	722/12	Huỳnh Thị Bích H.	1981	Hà Nội
165.	724/12	Trịnh Thị H.	1984	Hà Nội
166.	726/12	Hoàng Thị Hữu Ch.	1971	Hà Nội
167.	728/12	Đỗ Thị H.	1984	Hải Phòng
168.	730/12	Nguyễn Thị Th.	1992	Hà Nội
169.	735/12	Nguyễn Thị Văn A.	1985	Hà Nội

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
170.	736/12	Phạm Thị Khánh	1977	Hà Nội
171.	737/12	Đoàn Thị Thanh Th.	1984	Hòa Bình
172.	740/12	Phạm Thị Thu H.	1977	Hà Nội
173.	741/12	Nguyễn Thị H.	1990	Hung Yên
174.	745/12	Nguyễn Thị H.	1983	Nam Định
175.	758/12	Phạm Thị Y.	1971	Phú Thọ
176.	749/12	Đoàn Thị Th.	1985	Nam Định
177.	752/12	Nguyễn Thị Q.	1983	Bắc Giang
178.	754/12	Quách Thị Thùy D.	1977	Hà Nội
179.	755/12	Lê Thị Th.	1982	Phú Thọ
180.	756/12	Quách Thị L.	1981	Hà Nội
181.	758/12	Nguyễn Hoàng Y.	1985	Thái Nguyên
182.	761/12	Nguyễn Thanh X.	1984	Hà Nội
183.	762/12	Đỗ Thị Tú A.	1982	Hà Nội
184.	763/12	Đỗ Thanh D.	1986	Hà Nội
185.	768/12	Đàm Thị Bảo H.	1970	Thái Nguyên
186.	769/12	Đặng Thị L.	1992	Nam Định
187.	770/12	Trần Thị Thanh Ng.	1984	Phú Thọ
188.	773/12	Nguyễn Thị H.	1973	Hà Nội
189.	775/12	Nguyễn Thị Thu H.	1978	Hà Nội
190.	778/12	Nguyễn Thị H.	1985	Hà Nội
191.	779/12	Trương Thị T.	1986	Hà Nội
192.	330/13	Nguyễn Thị Thanh B.	1984	Hà Nội
193.	332/13	Trần Thị H.	1972	Nam Định
194.	335/13	Nguyễn Thị Th.	1983	Hà Nội
195.	340/13	Vũ Thị Th.	1981	Hải Dương
196.	345/13	Ngô Thị Hương L.	1982	Nam Định
197.	347/13	Nguyễn Thị H.	1974	Hải Phòng
198.	348/13	Lê Thị Phương Q.	1982	Hà Nội
199.	349/13	Nguyễn Thị H.	1982	Hải Phòng
200.	355/13	Phạm Thu Huyền	1980	Hà Nội
201.	357/13	Nguyễn Tuyết M.	1986	Hà Nội
202.	359/13	Võ Thị Bích T.	1988	Hà Nội
203.	361/13	Trần Thị Minh H.	1972	Hà Nội
204.	362/13	Nguyễn Thị H.	1986	Hà Nội
205.	363/13	Đỗ Thị H.	1979	Hà Nội
206.	365/13	Đàm Thị Diệu Th.	1981	Hà Nội
207.	367/13	Lê Thị Huệ	1973	Thái Bình
208.	370/13	Phạm Thị Y.	1978	Vĩnh Phúc
209.	372/13	Bùi Thị H.	1984	Nam Định
210.	375/13	Đinh Thu H.	1986	Phú Thọ
211.	377/13	Nguyễn Thị Toan	1982	Hải Dương
212.	379/13	Nguyễn Thị Ngọc H.	1978	Phú Thọ
213.	380/13	Ngô Quỳnh H.	1971	Hà Nội
214.	381/13	Hoàng Thị Quỳnh Ph.	1980	Hà Nội
215.	382/13	Ngô Thị L.	1970	Bắc Ninh
216.	383/13	Nguyễn Thị Lê H.	1983	Hà Nội
217.	385/13	Trần Thị H.	1983	Quảng Ninh
218.	386/13	Nguyễn Thị Hồng V.	1979	Bắc Kạn
219.	387/13	Hoàng Thu Th.	1983	Bắc Giang
220.	388/13	Nguyễn Thị Minh H.	1970	Hà Nội
221.	389/13	Đỗ Thị Th.	1981	Hải Phòng
222.	392/13	Phạm Thị T.	1982	Quảng Ninh
223.	395/13	Đinh Phương Th.	1982	Hòa Bình
224.	398/13	Ngô Văn H.	1981	Hà Nội
225.	405/13	Ngô Thị D.	1985	Hà Nội
226.	410/13	Dương Thị Ngọc A.	1986	Bắc Ninh

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
227.	411/13	Đỗ Thị H.	1980	Hà Nội
228.	412/13	Hà Lan A.	1989	Phú Thọ
229.	413/13	Bùi Thị H.	1987	Hải Phòng
230.	414/13	Nguyễn Thị Th.	1986	Hà Tĩnh
231.	415/13	Nguyễn Hoàng Bích Th.	1980	Hà Nội
232.	417/13	Trình Thị Thanh H.	1984	Hà Nội
233.	418/13	Hoàng Thanh L.	1982	Hà Nội
234.	420/13	Trần Thị Th.	1979	Hà Nam
235.	425/13	Ngô Thị H.	1985	Bắc Ninh
236.	430/13	Vũ Thị Th.	1976	Thái Bình
237.	435/13	Phạm Thị Nguyệt L.	1984	Hà Nội
238.	436/13	Nguyễn Thị Thanh Th.	1983	Hà Nội
239.	438/13	Đông Ngọc A.	1981	Hà Nội
240.	439/13	Phạm Thị Th.	1987	Hải Dương
241.	440/13	Vũ Thị Kim Tr.	1977	Hà Nội
242.	441/13	Hoàng Thị Thu H.	1974	Quảng Ninh
243.	445/13	Nguyễn Thị Kim Gi.	1975	Vĩnh Phúc
244.	447/13	Lương Thúy H.	1982	Hà Nội
245.	448/13	Đông Thị Th.	1982	Hà Nội
246.	449/13	Nguyễn Thị Thu Gi.	1979	Phú Thọ
247.	450/13	Nguyễn Thị Thúy A.	1981	Hà Nội
248.	452/13	Nguyễn Thị Thanh X.	1979	Hà Nội
249.	455/13	Ngô Thị Thu H.	1989	Hà Nội
250.	457/13	Đàm Thị Th.	1980	Hà Nội
251.	460/13	Nguyễn Thị Nh.	1982	Hà Nội
252.	462/13	Sa Thị S.	1985	Hải Dương
253.	463/13	Vũ Thị Thu H.	1974	Hà Nam
254.	464/13	Nguyễn Thị Th.	1991	Hà Nội
255.	465/13	Tạ Thị Thanh H.	1979	Hà Nội
256.	468/13	Cao Thị Như Ng.	1984	Hung Yên
257.	472/13	Bùi Thị T.	1984	Nam Định
258.	475/13	Nguyễn Thị H.	1981	Hà Nội
259.	477/13	Phạm Thị Th.	1986	Hải Dương
260.	479/13	Chu Thị H.	1976	Hà Nội
261.	480/13	Trình Thị Th.	1983	Thanh Hóa
262.	485/13	Trần Thị H.	1973	Bắc Giang
263.	499/13	Lê Thị Như Kh.	1985	Nghệ An
264.	520/13	Hoàng Thị Ánh T.	1984	Lạng Sơn
265.	521/13	Nguyễn Thị Thu H.	1986	Hà Nội
266.	522/13	Vũ Thị Thu H.	1974	Hà Nam
267.	523/13	Lưu Thị Th.	1980	Hà Nội
268.	560/13	Nông Thị Biên Th.	1982	Hải Dương
269.	562/13	Nguyễn Thị Nh.	1975	Nam Định
270.	563/13	Phạm Thị L.	1973	Hà Nội
271.	564/13	Nguyễn Thị T.	1987	Hải Dương
272.	570/13	Nguyễn Thị Thu H.	1982	Hà Nội
273.	575/13	Lê Thị Tuyết Nh.	1984	Hải Dương
274.	577/13	Trần Thị H.	1982	Thái Nguyên
275.	578/13	Trần Ngọc A.	1978	Hung Yên
276.	580/13	Đoàn Thị Hồng T.	1980	Hà Nội
277.	581/13	Nguyễn Thị Mai H.	1975	Hà Nội
278.	582/13	Ngô Thị L.	1970	Bắc Ninh
279.	592/13	Bùi Thị H.	1984	Nam Định
280.	593/13	Nguyễn Thị Lê H.	1983	Hà Nội
281.	594/13	Nguyễn Thị Ngọc H.	1978	Phú Thọ
282.	595/13	Đào Thị H.	1981	Hà Nội
283.	602/13	Nguyễn Thị Th.	1978	Phú Thọ

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
284.	603/13	Nguyễn Thu H.	1980	Tuyên Quang
285.	604/13	Dương Kim S.	1976	Hà Nội
286.	605/13	Nguyễn Thị M.	1979	Ninh Bình
287.	615/13	Nguyễn Thị H.	1986	Hà Nội
288.	617/13	Định Thị H.	1986	Phú Thọ
289.	619/13	Nguyễn Thị T.	1982	Hải Dương
290.	620/13	Nguyễn Thị Ng.	1986	Hung Yên
291.	621/13	Hồ Thị H.	1970	Sơn La
292.	623/13	Hoàng Thị Quỳnh Ph.	1980	Hà Nội
293.	850/13	Nguyễn Thị X.	1983	Phú Thọ
294.	855/13	Hoàng Thị Thu Th.	1976	Hà Nội
295.	856/13	Lê Thị T.	1979	Thanh Hóa
296.	858/13	Dương Thị Hồng H.	1985	Hà Nam
297.	859/13	Bùi Thị Kim Th.	1978	Hung Yên
298.	870/13	Nguyễn Thị Thu Ng.	1976	Hà Nội
299.	878/13	Ngô Thị Th.	1987	Hà Nội
300.	890/13	Lý Thị Thanh Th.	1970	Hải Phòng
301.	895/13	Nguyễn Thị Mai Tr.	1978	Hà Tĩnh
302.	896/13	Nguyễn Thị L.	1971	Hà Nam
303.	897/13	Phạm Thị Th.	1981	Hung Yên
304.	898/13	Phạm Thị Thu Tr.	1987	Hà Nội
305.	899/13	Nguyễn Thị M.	1978	Hà Nội
306.	900/13	Vũ Thị Th.	1989	Hải Phòng
307.	901/13	Hà Thị Th.	1978	Yên Bái
308.	902/13	Nguyễn Thị Y.	1985	Hà Nội
309.	903/13	Nguyễn Thị Ph.	1985	Hải Dương
310.	904/13	Nguyễn Thị H.	1973	Hà Nội
311.	920/13	Nguyễn Thị Tr.	1981	Hà Nội
312.	921/13	Nguyễn Thị Ch.	1979	Hải Dương
313.	925/13	Nguyễn Thị B.	1980	Hải Dương
314.	926/13	Lê Thị Dạ H.	1985	Hà Nội
315.	927/13	Nguyễn Thị Thu H.	1973	Hà Nội
316.	928/13	Lê Thị Ph.	1977	Nghệ An
317.	930/13	Phạm Thị Thanh Th.	1983	Thái Bình
318.	931/13	Lê Thị Hồng H.	1977	Hà Nội
319.	932/13	Đỗ Thị Ph.	1985	Hà Nội
320.	933/13	Nguyễn Thị L.	1980	Hà Nội
321.	934/13	Kim Thị Ánh T.	1990	Hà Nội
322.	935/13	Nguyễn Thị Thu H.	1977	Hà Nội
323.	936/13	Nguyễn Thị H.	1987	Vĩnh Phúc
324.	940/13	Nguyễn Thị H.	1988	Hà Nội
325.	945/13	Nguyễn Thị X.	1984	Hải Dương
326.	946/13	Phạm Lê Q.	1979	Hải Dương
327.	947/13	Nguyễn Thị B.	1980	Hải Dương
328.	948/13	Nguyễn Thị Ch.	1979	Hải Dương
329.	949/13	Hoàng Thị L.	1987	Bắc Ninh
330.	950/13	Nguyễn Thị Thanh H.	1981	Hà Nội
331.	955/13	Nguyễn Thị Việt B.	1980	Hà Nội
332.	958/13	Ngô Thị M.	1990	Nghệ An
333.	960/13	Vũ Anh Th.	1976	Hà Nội
334.	980/13	Trần Thị Tr.	1980	Bắc Giang
335.	659/14	Nguyễn Thu Ph.	1988	Hà Nội
336.	660/14	Phạm Thùy L.	1983	Hà Nội
337.	661/14	Nguyễn Thị Hương L.	1985	Hải Phòng
338.	662/14	Nguyễn Thị Ph.	1987	Ninh Bình
339.	663/14	Trần Thị Diệu V.	1985	Thái Bình
340.	1063/14	Định Thị Quỳnh Ph.	1973	Hà Nội

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
341.	1064/14	Nguyễn Thị H.	1987	Hải Dương
342.	1065/14	Lê Thị Thu Tr.	1991	Hà Nội
343.	1066/14	Trần Thị H.	1984	Hà Nội
344.	1067/14	Ngô Thị Ng.	1984	Hà Nội
345.	945/14	Ngô Thị Ng.	1989	Thái Nguyên
346.	946/14	Ngô Minh H.	1983	Hà Nội
347.	947/14	Đỗ Thị Vân A.	1986	Thái Bình
348.	948/14	Nguyễn Thị Q.	1986	Bắc Ninh
349.	949/14	Đậu Thị Bích Tr.	1986	Hồ Chí Minh
350.	363/14	Nguyễn Thị Vân A.	1978	Hà Nội
351.	364/14	Phạm Lê Q.	1979	Hải Dương
352.	365/14	Nguyễn Thị Th.	1972	Hà Nội
353.	366/14	Nguyễn Thị X.	1984	Hải Dương
354.	367/14	Nguyễn Thị H.	1988	Hà Nội
355.	426/14	Đàm Thị Th.	1983	Hà Nội
356.	427/14	Lê Thị H.	1989	Hà Nội
357.	428/14	Ngô Thị Tr.	1976	Hà Nội
358.	429/14	Nguyễn Thị Thu H.	1980	Hà Nội
359.	430/14	Trần Thị H.	1977	Hà Nội
360.	333/14	Phan Thị H.	1982	Hà Tĩnh
361.	334/14	Nguyễn Thị Ng.	1982	Hà Nội
362.	335/14	Nguyễn Thị H.	1977	Hà Nội
363.	336/14	Nguyễn thị Thanh H.	1975	Thái Bình
364.	337/14	Nguyễn Thị Đ.	1978	Hà Nội
365.	825/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1971	Hải Dương
366.	826/14	Trần Quỳnh A.	1990	Hà Nội
367.	827/14	Nguyễn Thị Th.	1991	Bắc Giang
368.	828/14	Tạ Thị M.	1985	Hà Nội
369.	829/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1972	Hà Nội
370.	950/14	Lê Thị Hồng H.	1970	Bắc Giang
371.	951/14	Phạm Thị Kim D.	1988	Hung Yên
372.	952/14	Hoàng Thị Thu H.	1982	Hải Dương
373.	953/14	Đình Thị Thu H.	1978	Quảng Ninh
374.	954/14	Đỗ Thị Thu H.	1976	Hà Nội
375.	1123/14	Đỗ Thị C.	1982	Vĩnh Phúc
376.	1124/14	Bùi Thị Th.	1987	Hồ Chí Minh
377.	1125/14	Phạm Thị Minh Ng.	1980	Nam Định
378.	1126/14	Phùng Thị Nh.	1984	Vĩnh Phúc
379.	1127/14	Đỗ Thị Thanh H.	1979	Hà Nội
380.	1004/14	Nguyễn Thị Ngọc L.	1979	Hà Nội
381.	1005/14	Lê Thị Ph.	1977	Bắc Giang
382.	1006/14	Dương Thị Thu H.	1984	Hà Nội
383.	1007/14	Trần Thị Th.	1982	Hải Dương
384.	1008/14	Nguyễn thị Phương Nh.	1985	Hà Nội
385.	969/14	Ngô Thị Hương L.	1983	Hà Nội
386.	970/14	Đặng Ngọc L.	1987	Hà Nội
387.	971/14	Đình Thị Ch.	1979	Phú Thọ
388.	972/14	Phạm Thị Thanh X.	1978	Hà Tĩnh
389.	973/14	Lưu Thị Thanh Th.	1977	Bắc Giang
390.	835/14	Lê Thị Hương V.	1982	Hà Nội
391.	836/14	Dương Thị Minh H.	1970	Bắc Ninh
392.	837/14	Nguyễn Thị H.	1981	Hà Nội
393.	838/14	Nguyễn Thị D.	1990	Hà Nội
394.	839/14	Trần Thị Th.	1984	Lai Châu
395.	840/14	Nguyễn Thị H.	1978	Hải Dương
396.	841/14	Đặng Thị Thu H.	1975	Lào Cai
397.	842/14	Nguyễn Thị Huyền Th.	1982	Vĩnh Phúc

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
398.	843/14	Nguyễn Thị L.	1985	Quảng Ninh
399.	844/14	Đàm Thùy H.	1978	Hà Nội
400.	1162/14	Phạm Thị Phương Th.	1976	Hà Nội
401.	1163/14	Đoàn Thị T.	1975	Quảng Ninh
402.	1164/14	Bùi Thị Kiều V.	1974	Hà Nội
403.	1165/14	Trần Thị Th.	1984	Hải Dương
404.	1166/14	Phạm Thị Mai Ch.	1980	Vĩnh Phúc
405.	1098/14	Đỗ Thị Ch.	1984	Hà Nội
406.	1099/14	Phạm Thị Hồng Nh	1983	Hà Nội
407.	1100/14	Hà Thị Liễu	1980	Thái Nguyên
408.	1101/14	Hà Thị H.	1983	Hà Nội
409.	1102/14	Trần Quỳnh A.	1990	Hà Nội
410.	1081/14	Lê Thị V.	1980	Hà Nội
411.	1082/14	Hà Thị Q.	1990	Vĩnh Phúc
412.	1083/14	Lê Thị Bích H.	1982	Hà Nội
413.	1084/14	Nguyễn Thị G.	1990	Vĩnh Long
414.	1085/14	Lê Thị M.	1979	Hà Nội
415.	943/14	Hà Thị H.	1982	Lào Cai
416.	944/14	Nguyễn Thị Minh H.	1985	Bắc Ninh
417.	945/14	Trần Thị L.	1980	Điện Biên
418.	946/14	Nguyễn Vũ Thu H.	1972	Bắc Ninh
419.	947/14	Nguyễn Thị Thu H.	1980	Hà Nội
420.	353/14	Phạm Thị Th.	1981	Phú Thọ
421.	534/14	Mai Thị Kh.	1980	Hải Dương
422.	535/14	Trịnh Thị H.	1983	Ninh Bình
423.	536/14	Nguyễn Thị Hồng Ph.	1972	Quảng Ninh
424.	537/14	Trần Thị Hoài Th.	1983	Hà Nội
425.	402/14	Vũ Thị Thanh H.	1984	Hà Nội
426.	403/14	Huỳnh Mai H.	1974	Hà Nội
427.	404/14	Phùng Minh L.	1980	Hà Nội
428.	405/14	Nguyễn Thị T.	1971	Hà Nội
429.	406/14	Trần Thị Hải Y.	1969	Vĩnh Phúc
430.	1052/12	Phạm Thị O.	1973	Nam Định
431.	1053/12	Tổng Thanh H.	1982	Hà Nội
432.	1054/12	Trần Hải Yên	1984	Hà Nội
433.	1055/12	Phạm Thu H.	1981	Hà Nội
434.	1056/12	Hoàng Thị Bích H.	1985	Hà Nội
435.	1113/14	Phạm Thị M.	1978	Nghệ An
436.	1114/14	Nguyễn Thị Kim A.	1985	Hà Nội
437.	1115/14	Cung Thị Thanh Th.	1981	Hà Nội
438.	1116/14	Trịnh Hoàng Y.	1978	Hà Nội
439.	1117/14	Đỗ Thị Đ.	1977	Sơn La
440.	920/14	Hoàng Thị L.	1991	Hà Nội
441.	921/14	Lê Thị H.	1983	Thanh Hóa
442.	922/14	Bùi Thu Th.	1985	Hà Nội
443.	923/14	Nguyễn Thị Hồng H.	1983	Hà Nội
444.	924/14	Nguyễn Thị Ngọc H.	1985	Vĩnh Phúc
445.	549/14	Nguyễn Thị Th.	1976	Yên Bái
446.	550/14	Nguyễn Thị O..	1982	Hải Dương
447.	551/14	Vũ Thị H.	1987	Lai Châu
448.	552/14	Vũ Thị Kim Th.	1983	Hà Nội
449.	553/14	Phạm Thị H.	1982	Hung Yên
450.	1037/12	Nguyễn Thị Thanh H.	1980	Hà Nội
451.	1038/12	Đình Thị Minh T.	1986	Hà Nội
452.	1039/12	Nguyễn Thị Ng.	1977	Hà Nam
453.	1040/12	Nguyễn Thị H.	1988	Hải Dương
454.	1041/12	Hứa Thị Th.	1986	Bắc Giang

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
455.	880/14	Nguyễn Thị Hồng H.	1985	Hà Nội
456.	881/14	Nguyễn Thị Lệ Th.	1981	Hà Nội
457.	882/14	Phạm Thị Hà Th.	1983	Hải Dương
458.	883/14	Phạm Thị T.	1982	Quảng Ninh
459.	884/14	Phạm Thị Ng.	1987	Thanh Hóa
460.	783/14	Phạm Thị Kh.	1985	Hà Nam
461.	784/14	Đỗ Thị Th.	1993	Hung Yên
462.	383/14	Đỗ Thị H.	1985	Thái Bình
463.	384/14	Lê Thị Lan A.	1979	Thái Bình
464.	385/14	Lê Thanh X.	1971	Hà Nội
465.	386/14	Nguyễn Thị Ch.	1981	Hà Nội
466.	387/14	Nguyễn Minh H.	1978	Bắc Giang
467.	785/14	Trần Thị L.	1979	Thái Bình
468.	786/14	Ngô Thị H.	1983	Bắc Giang
469.	787/14	Hoàng Thị Thu U.	1981	Hà Nội
470.	788/14	Nguyễn Thị Thu H.	1972	Bắc Ninh
471.	789/14	Nguyễn thị Kim A.	1989	Hải Phòng
472.	1042/12	Phạm thị H.	1979	Hải Dương
473.	1043/12	Đình Thị Ch.	1983	Hung Yên
474.	1044/12	Lê Thị Kim A.	1985	Yên Bái
475.	1045/12	Trần Thị S.	1991	Hà Nội
476.	1046/12	Vũ Lan Q.	1985	Hải Phòng
477.	330/12	Lê Thị Thanh H.	1983	Nghệ An
478.	331/12	Vũ Thị H.	1973	Hải Dương
479.	332/12	Le Thị Thu O.	1979	Hà Nội
480.	333/12	Nguyễn Thị Th.	1983	Phú Thọ
481.	334/12	Bùi Thị T.	1980	Hải Dương
482.	739/14	Phùng Thị D.	1985	Hà Nội
483.	740/14	Trần Thị Bắc Gi.	1985	Hà Nội
484.	741/14	Nguyễn Thị H.	1979	Quảng Ninh
485.	742/14	Nguyễn Thị M.	1982	Bắc Ninh
486.	743/14	Nguyễn Thị Kiều Th.	1981	Hà Nội
487.	1186/14	Nguyễn Thị D.	1992	Hải Dương
488.	1187/14	Hà Thị Thu H.	1979	Thái Nguyên
489.	1188/14	Nguyễn Diệu H.	1983	Hà Nội
490.	1189/14	Nguyễn Đoàn Anh Ph.	1978	Phú Thọ
491.	1190/14	Nguyễn Thùy L.	1983	Hà Nội
492.	1068/14	Vũ Thị H.	1977	Bắc Ninh
493.	1069/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1981	Phú Thọ
494.	1070/14	Lê Thị D.	1979	Hà Nội
495.	1071/14	Phạm Thị H.	1986	Ninh Bình
496.	1072/14	Vũ Thị D.	1983	Hà Nội
497.	954/14	Nguyễn Thị Ng.	1975	Hà Nội
498.	955/14	Nguyễn Thị H.	1983	Tuyên Quang
499.	956/14	Vũ Thùy D.	1986	Nam Định
500.	957/14	Đoàn Bích Ph.	1979	Lạng Sơn
501.	958/14	Vũ Thị Minh H.	1980	Bắc Giang
502.	1070/12	Cao Thúy H.	1978	Hà Nội
503.	1071/12	Trịnh Thị Thu H.	1987	Hải Phòng
504.	1072/12	Nguyễn Thị Ph.	1977	Hà Nam
505.	1073/12	Bùi Thị L.	1975	Hải Dương
506.	1074/12	Hoàng Thị L.	1977	Hà Giang
507.	845/14	Trần Thị Thu H.	1975	Hà Nội
508.	846/14	Lê Thị H.	1979	Nghệ An
509.	847/14	Bùi Thị H.	1983	Thái Bình
510.	848/14	Tạ Thị L.	1974	Hà Nam
511.	849/14	Lê Thị Huyền T.	1990	Hải Phòng

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
512.	412/14	Bùi Thị L.	1989	Lào Cai
513.	413/14	Tất Thị Ch.	1982	Vĩnh Phúc
514.	414/14	Nguyễn Thị M.	1982	Nam Định
515.	415/14	Nguyễn Thị Th.	1989	Hải Phòng
516.	416/14	Phạm Thị H.	1984	Nghệ An
517.	775/14	Lâm Thị S.	1983	Ninh Bình
518.	776/14	Trần Thị H.	1983	Nghệ An
519.	777/14	Phạm Thị H.	1985	Thái Bình
520.	778/14	Nguyễn Thị Th.	1986	Bắc Giang
521.	1022/12	Nguyễn Tuyết M.	1974	Hà Nội
522.	1023/12	Nguyễn Thị N.	1977	Hà Nam
523.	1024/12	Nguyễn Thị Kim O.	1974	Hà Nội
524.	1025/12	Hoàng Thị B.	1971	Hà Nội
525.	1026/12	Lưu Thị Th.	1982	Hung Yên
526.	870/14	Lưu thị M.	1984	Phú Thọ
527.	871/14	Nguyễn Thị Thanh Nh.	1984	Bắc Ninh
528.	872/14	Lê Thị H.	1980	Hung Yên
529.	873/14	Nguyễn Thị Th.	1976	Hà Nội
530.	874/14	Lê Thị Ngọc H.	1983	Hà Nội
531.	895/14	Nguyễn Thị Th.	1978	Hà Nội
532.	896/14	Vũ Thị Ng.	1975	Hà Nội
533.	897/14	Lê Thu H.	1978	Hà Nội
534.	898/14	Bùi Thu H.	1988	Hải Phòng
535.	899/14	Nguyễn Thị D.	1981	Hải Phòng
536.	889/14	Nguyễn Phương Th.	1987	Nghệ An
537.	890/14	Lê Thị Thu Th.	1986	Cao Bằng
538.	891/14	Nguyễn Thị Thu H.	1977	Hà Nội
539.	892/14	Đình Thị O.	979	Thái Bình
540.	893/14	Vũ Thị Thu H.	1977	Hà Nội
541.	338/14	Đặng Thị Thùy Th.	1984	Hà Nội
542.	339/14	Đặng Thị Th.	1988	Ninh Bình
543.	340/14	Nguyễn Chi M.	1981	Hà Nội
544.	341/14	Đặng Thị Kim Nh.	1989	Hà Nội
545.	342/14	Bùi Thị B.	1986	Hà Tĩnh
546.	820/14	Nguyễn Thị Ng.	1981	Hà Nội
547.	821/14	Phạm Thu Tr.	1985	Hà Nội
548.	822/14	Hoàng Thị T.	1983	Hải Dương
549.	823/14	Nguyễn Thị H.	1991	Lạng Sơn
550.	824/14	Tạ Thị M.	1985	Bắc Giang
551.	1032/12	Nguyễn Tuyết M.	1971	Hà Nội
552.	1033/12	Nguyễn Thị H.	1980	Hà Nam
553.	1034/12	Vũ Thị K.	1978	Nghệ An
554.	1035/12	Nguyễn Thị B.	1988	Hà Nội
555.	1036/12	Trần Thị Ng.	1977	Hung Yên
556.	421/14	Nguyễn Vũ Liên H.	1979	Phú Thọ
557.	422/14	Vũ Thị V.	1973	Bắc Ninh
558.	423/14	Hoàng Thị Quỳnh Ph.	1980	Hà Đông
559.	424/14	Trần Thị Tuyết M.	1982	Hà Nội
560.	425/14	Trần Thị C.	1968	Thái Nguyên
561.	790/14	Hoàng Thanh L.	1982	Hà Nội
562.	791/14	Vũ Bích L.	1969	Hà Nội
563.	792/14	Đặng Thùy A.	1975	Hà Nội
564.	793/14	Lương Thị Thanh H.	1977	Hà Nội
565.	794/14	Nguyễn Thị Th.	1980	Hà Nội
566.	850/14	Nguyễn Hồng D.	1979	Hà Nội
567.	851/14	Phạm Thị Th.	1994	Hung Yên
568.	852/14	Đình Thị M.	1987	Thanh Hóa

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
569.	853/14	Đinh Thị M.	1987	Thanh Hóa
570.	854/14	Trần Thị Thục L.	1977	Hà Nội
571.	1128/14	Vũ Thị M.	1983	Hà Nội
572.	1129/14	Cao Thị H.	1987	Bắc Ninh
573.	1130/14	Nguyễn Thị Kim A.	1989	Hải Phòng
574.	1131/14	Bùi Thị A.	1970	Quảng Ninh
575.	1132/14	Nguyễn Quỳnh Ch.	1984	Hà Nội
576.	989/14	Phạm Thị H.	1985	Hà Nội
577.	990/14	Trần Thị H.	1973	Bắc Giang
578.	991/14	Phạm Thị X.	1974	Thái Bình
579.	992/14	Trần Lan H.	1984	Hà Nội
580.	993/14	Nguyễn Thị H.	1985	Bắc Ninh
581.	1118/14	Nguyễn Thị H.	1978	Hà Nội
582.	1119/14	Hoàng Thị H.	1974	Hà Nội
583.	1120/14	Lê Thị Bích Th.	1986	Hà Nội
584.	1121/14	Trần Khánh Dung	1980	Hà Nội
585.	1122/14	Nguyễn Thị Th.	1984	Bắc Ninh
586.	984/14	Nguyễn Thị H.	1989	Quảng Ninh
587.	985/14	Trần Thị Thu H.	1977	Phú Thọ
588.	986/14	Lưu Thị Lan A.	1980	Hà Nội
589.	987/14	Trần Kiều Tr.	1988	Hà Nội
590.	988/14	Nguyễn Thị Hồng D.	1988	Hà Nội
591.	1138/14	Đào Thị H.	1979	Lạng Sơn
592.	1139/14	Phạm Thị H.	1985	Thái Bình
593.	1140/14	Dương Huyền Bích Ng.	1979	Hà Nội
594.	1141/14	Nguyễn Thị Ngọc D.	1988	Bắc Giang
595.	1142/14	Hà Thị Ng.	1985	Thái Bình
596.	373/14	Nguyễn Thị Thu H.	1977	Hà Nội
597.	374/14	Kim Thị Ánh T.	1990	Hà Nội
598.	375/14	Lê Thị Ph.	1977	Nghệ An
599.	376/14	Nguyễn Thị Ng.	1982	Hà Nội
600.	377/14	Nguyễn Thị Thu H.	1973	Hà Nội
601.	865/14	Nguyễn Thị Phương D.	1984	Hà Nội
602.	866/14	Nguyễn Thị Ch.	1979	Thái Nguyên
603.	867/14	Nguyễn Thị Th.	1976	Hà Nội
604.	868/14	Cao Thị Th.	1982	Hà Nội
605.	869/14	Lê Thị H.	1978	Hải Dương
606.	935/14	Bùi Thị Thu H.	1977	Hà Nội
607.	936/14	Trần Thị Nam N.	1990	Hà Nội
608.	937/14	Thái Thị Kiều Tr.	1984	Hòa Bình
609.	938/14	Nguyễn Thị H.	1976	Hà Nội
610.	939/14	Trần Thị Th.	1983	Hà Nội
611.	378/14	Nguyễn Thị B.	1980	Hải Dương
612.	379/14	Nguyễn Thị Th.	1979	Hải Dương
613.	380/14	Phùng Mai H.	1976	Hà Nội
614.	381/14	Lê Thu Dạ H.	1985	Hà Nội
615.	382/14	Nguyễn Thị Thu H.	1976	Hà Nội
616.	348/14	Trần Thị Th.	1978	Hà Nội
617.	349/14	Nguyễn Thị H.	1980	Hà Nội
618.	350/14	Lại Thị Th.	1982	Hung Yên
619.	351/14	Đỗ Thị Ch.	1983	Hà Nội
620.	352/14	Ngô Thị M.	1990	Nghệ An
621.	777/14	Nguyễn Thị Q.	1986	Hà Nội
622.	778/14	Nguyễn Thị Th.	1986	Bắc Giang
623.	779/14	Nguyễn Thu Ph.	1986	Hà Nội
624.	915/14	Đặng Thị Thu H.	1987	Phú Thọ
625.	916/14	Đàm Thị Phương Ch.	1982	Phú Thọ

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
626.	917/14	Nguyễn Thị T.	1986	Hà Nội
627.	918/14	Phạm Thị O.	1966	Hải Dương
628.	919/14	Trương Thị Thúy H.	1987	Thanh Hóa
629.	388/14	Nguyễn Thị H.	1993	Hà Nội
630.	389/14	Nguyễn Thị L.	1971	Hà Nội
631.	390/14	Hoàng Thị Thu H.	1974	Quảng Ninh
632.	391/14	Trần Thị Y.	1979	Hà Nội
633.	392/14	Bùi Thị L.	1980	Quảng Ninh
634.	446/14	Nguyễn Thu H.	1982	Hà Nội
635.	447/14	Lê Thị D.	1974	Hà Nội
636.	448/14	Bùi Thị Y.	1985	Bắc Giang
637.	449/14	Nguyễn Thị S.	1985	Hà Nội
638.	450/14	Nguyễn Thị D.	1985	Thanh Hóa
639.	885/14	Phạm Kim Th.	1981	Hà Nội
640.	886/14	Trần Thị H.	1975	Hà Nội
641.	887/14	Trần Thị Thu H.	1984	Vĩnh Phúc
642.	888/14	Hoàng Thị Y.	1986	Bắc Giang
643.	889/14	Trịnh Thị Ch.	1982	Thanh Hóa
644.	770/14	Nguyễn Bích Tr.	1985	Vĩnh Phúc
645.	771/14	Trần Khánh D.	1980	Hà Nội
646.	772/14	Phan Thị Thanh H.	1978	Hà Nội
647.	994/14	Nguyễn Thị H.	1987	Hà Nội
648.	995/14	Đỗ Thị H.	1981	Hà Giang
649.	996/14	Hoàng Thị L.	1987	Bắc Ninh
650.	997/14	Trịnh Thị Th.	1991	Nam Định
651.	998/14	Phạm Thị Huyền Tr.	1984	Hà Nội
652.	959/14	Nguyễn Hoàng Ngân Th.	1988	Hung Yên
653.	960/14	Ngô Thị Ngọc A.	1984	Hà Nội
654.	961/14	Đoàn Thị Hồng L.	1982	Đà Nẵng
655.	962/14	Nguyễn Thị Hương Gi.	1986	Thái Nguyên
656.	963/14	Phạm Thị Thư Q.	1985	Quảng Ninh
657.	397/14	Nguyễn Thị Thùy Tr.	1984	Hà Nội
658.	398/14	Lưu Hương L.	1982	Hà Nội
659.	399/14	Phạm Thị Thanh Th.	1983	Thái Bình
660.	400/14	Hà Thị Thu H.	1979	Thái Nguyên
661.	401/14	Trịnh Thị H.	1976	Hà Nội
662.	940/14	Nguyễn Thị Bích N.	1983	Thái Bình
663.	941/14	Cao Thùy V.	1984	Nghệ An
664.	942/14	Ngô Thị Thanh H.	1983	Hà Nội
665.	943/14	Lã Thị H.	1982	Lai Châu
666.	944/14	Đặng Thị V.	1983	Vĩnh Phúc
667.	392/14	Vũ Thị Th.	1978	Hà Nội
668.	393/14	Vũ Thị Thu H.	1977	Hà Nội
669.	394/14	Nguyễn Thị Anh V.	1984	Hà Nội
670.	395/14	Nguyễn Thị Th.	1973	Thái Bình
671.	396/14	Đinh Thị L.	1977	Hải Phòng
672.	772/14	Nguyễn Huyền Tr.	1986	Hà Nội
673.	773/14	Phan Thị Th.	1989	Bắc Ninh
674.	774/14	Nguyễn Thị Minh H.	1978	Hải Dương
675.	1039/14	Nguyễn Thị Lan H.	1978	Hà Nội
676.	1040/14	Nguyễn Thị Thu Tr.	1986	Thái Bình
677.	1041/14	Trần Thị H.	1975	Hải Dương
678.	1042/14	Trần Thị Hoài Th.	1988	Thanh Hóa
679.	1075/14	Vũ Thị Ng.	1977	Thái Nguyên
680.	1076/14	Trần Thị L.	1978	Hà Nội
681.	1077/14	Nguyễn Thị Ánh Ng.	1977	Hung Yên
682.	1078/14	Nguyễn Thị Nh.	1972	Phú Thọ

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
683.	1079/14	Cao Thị Hồng Nh.	1978	Hà Nội
684.	1167/14	Bùi Thị L.	1979	Thái Bình
685.	1168/14	Lê Thị M.	1979	Bắc Ninh
686.	1169/14	Vũ Thị Ánh H.	1987	Quảng Ninh
687.	1170/14	Phạm Thị Th.	1989	Thanh Hóa
688.	1171/14	Nguyễn Thị Châm	1986	Hà Nội
689.	1152/14	Lý Thị Phương Ng.	1986	Hà Nội
690.	1153/14	Nguyễn Thị D.	1979	Hải Dương
691.	1154/14	Đinh Thị H.	1985	Hải Dương
692.	1155/14	Lương Thị Ng.	1979	Hải Phòng
693.	1156/14	Đinh Thị Tâm	1984	Ninh Bình
694.	1093/14	Dương Thị H.	1984	Tuyên Quang
695.	1094/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1979	Hà Nội
696.	1095/14	Vũ Thị Kh.	1982	Hà Nội
697.	1096/14	Nguyễn Thị Hải Y.	1988	Hà Nội
698.	1097/14	Dương Thị H.	1984	Tuyên Quang
699.	1098/14	Nguyễn Hải Ph.	1985	Hà Nội
700.	1099/14	Phạm Thị L.	1980	Hải Dương
701.	1100/14	Nguyễn Thị U.	1984	Thái Bình
702.	1101/14	Nguyễn Thị Thu Tr.	1988	Hà Nội
703.	1102/14	Nguyễn Thị L.	1977	Phú Thọ
704.	363/14	Nguyễn Thị Thu A.	1978	Hà Nội
705.	364/14	Phạm Lê Q.	1979	Hải Dương
706.	365/14	Nguyễn Thị Th.	1982	Bắc Giang
707.	366/14	Nguyễn Thị D.	1987	Hải Dương
708.	367/14	Nguyễn Thị H.	1985	Hà Nội
709.	368/14	Nguyễn Thị H.	1987	Vĩnh Phúc
710.	369/14	Hoàng Thị Thanh H.	1990	Ninh Bình
711.	370/14	Hoàng Thị L.	1987	Bắc Ninh
712.	371/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1981	Hà Nội
713.	372/14	Trần Thị Kim Ch.	1983	Hà Nam
714.	905/14	Vũ Thanh T.	1979	Hà Nội
715.	906/14	Nguyễn Thị Tú A.	1983	Hà Nội
716.	907/14	Nguyễn Thị Th.	1986	Bắc Ninh
717.	908/14	Tạ Văn A.	1988	Hà Nội
718.	909/14	Nguyễn Thị Kiều Tr.	1991	Hà Nội
719.	795/14	Ngô Hồng Nh.	1991	Hà Nội
720.	796/14	Bùi Thị H.	1988	Hà Nội
721.	797/14	Phạm Thị Tr.	1987	Vĩnh Phúc
722.	798/14	Nguyễn Thị T.	1982	Bắc Ninh
723.	799/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1980	Hà Nội
724.	979/14	Thân Thị Ch.	1972	Vĩnh Phúc
725.	980/14	Nguyễn Thị Huyền Tr.	1985	Hà Nội
726.	981/14	Hồ Thanh H.	1985	Hung Yên
727.	982/14	Đặng Thị Ánh H.	1984	Hà Nội
728.	983/14	Lê Thị Th.	1981	Hung Yên
729.	529/14	Nguyễn Thị Gi.	1987	Bắc Giang
730.	530/14	Dương Thị L.	1972	Bắc Ninh
731.	531/14	Nguyễn Thị Minh Th.	1988	Hà Nội
732.	532/14	Tạ Thị Th.	1978	Hải Dương
733.	533/14	Nguyễn Thị Kim H.	1990	Thanh Hóa
734.	679/14	Vũ Thị H.	1977	Hà Giang
735.	680/14	Đỗ Thị Lan H.	1981	Quảng Ninh
736.	681/14	Phạm Thị O.	1966	Hải Dương
737.	682/14	Bova Ly V.	1977	Hà Nội
738.	683/14	Phan Thị Th.	1981	Quảng Ninh
739.	815/14	Trần Thị Y.	1983	Hải Dương

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
740.	816/14	An Ngọc A.	1987	Hà Nội
741.	817/14	Nguyễn Thị Thu Th.	1979	Hà Nội
742.	818/14	Cao Thị Th.	1982	Hà Nội
743.	925/14	Đỗ Thị Bích Th.	1977	Hà Nội
744.	926/14	Nguyễn Thị Thu Ph.	1980	Thái Nguyên
745.	927/14	Đỗ Thị Ngọc H.	1982	Hà Nội
746.	928/14	Chu Thị H.	1976	Hà Nội
747.	929/14	Vũ Thị T.	1988	Ninh Bình
748.	855/14	Nguyễn Thị Huyền Tr.	1988	Vĩnh Phúc
749.	856/14	Đinh Thị Văn A.	1970	Nghệ An
750.	857/14	Trương Thị M.	1983	Nghệ An
751.	858/14	Ngô Thị Th.	1988	Hung Yên
752.	859/14	Thái Thị Thu H.	1970	Hà Nội
753.	744/14	Vũ Thị Hằng Ng.	1991	Thái Nguyên
754.	745/14	Đỗ Thị Ch.	1984	Hà Nội
755.	746/14	Nguyễn Thị Thanh Th.	1979	Hà Nội
756.	747/14	Trần Thị Thu H.	1985	Hà Nội
757.	748/14	Trịnh Thị H.	1979	Hải Dương
758.	1078/14	Lê Thị Thu H.	1984	Ninh Bình
759.	1079/14	Vũ Minh T.	1986	Hà Nội
760.	1080/14	Đặng Thu H.	1979	Hà Nội
761.	1081/14	Phạm Thị Thùy L.	1986	Hà Nội
762.	1082/14	Dương Ngọc A.	1976	Hà Nội
763.	1024/14	Nguyễn Thị O.	1986	Hà Nội
764.	1025/14	Trần Thị Thanh H.	1986	Thái Nguyên
765.	1026/14	Nguyễn Thanh V.	1984	Hà Nội
766.	1027/14	Vũ Thị T.	1986	Hà Nội
767.	1028/14	Vũ Thị H.	1990	Bắc Giang
768.	1108/14	Nguyễn Hương L.	1981	Vĩnh Phúc
769.	1109/14	Tạ Thị H.	1973	Hà Nội
770.	1110/14	Đặng Thị Q.	1978	Hà Nội
771.	1111/14	Trần Thị Hồng H.	1982	Phú Thọ
772.	1112/14	Nguyễn Thị H.	1985	Hà Nội
773.	890/14	Nguyễn Thị A.	1986	Hà Nội
774.	891/14	Phạm Minh Ng.	1986	Hà Nội
775.	892/14	Lê Thị L.	1976	Nghệ An
776.	893/14	Hoàng Thu H.	1987	Hà Nội
777.	894/14	Lý Thị Nh.	1981	Lào Cai
778.	416/14	Trần Thị Đan Gi.	1979	Vĩnh Phúc
779.	417/14	Ngô Thị H.	1985	Hà Nội
780.	418/14	Đỗ Hồng M.	1971	Hà Nội
781.	419/14	Mạc Thị H.	1991	Vĩnh Phúc
782.	420/14	Vũ Thị Ch.	1984	Hải Dương
783.	1176/14	Nguyễn Phương Nh.	1986	Thái Nguyên
784.	1177/14	Nguyễn Thị Mỹ X.	1979	Hải Dương
785.	1178/14	Phạm Thị H.	1988	Thanh Hóa
786.	1179/14	Trần Thúy H.	1979	Lạng Sơn
787.	1180/14	Trần Thị Ng.	1981	Ninh Bình
788.	358/14	Đỗ Thanh H.	1976	Hà Nội
789.	359/14	Trịnh Thị Hải Y.	1966	Hà Nội
790.	360/14	Vũ Anh Th.	1976	Hà Nội
791.	361/14	Phan Bích Ng.	1988	Hà Nội
792.	362/14	Cao Thị Hoài L.	1983	Hà Nội
793.	830/14	Lê Thị H.	1983	Thái Nguyên
794.	831/14	Đặng Thị Ng.	1982	Hà Nội
795.	832/14	Phan Thị Thu H.	1983	Thái Bình
796.	833/14	Trương Thị Th.	1985	Nghệ An

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
797.	834/14	Nguyễn Tú Q.	1982	Hà Nội
798.	407/14	Đỗ Thị Ph.	1985	Hà Nội
799.	408/14	Lê Thị Hồng H.	1977	Hà Nội
800.	409/14	Dương Thị Thu Tr.	1984	Bắc Giang
801.	410/14	Vũ Thị Minh H.	1980	Yên Bái
802.	411/14	Nguyễn Thị L.	1980	Hà Nội
803.	979/14	Đỗ Đình Thúy H.	1975	Hà Nội
804.	980/14	Nguyễn Bích Ng.	1976	Hà Nội
805.	981/14	Bùi Thanh Th.	1988	Hải Dương
806.	982/14	Nguyễn Thị H.	1974	Hải Dương
807.	983/14	Lê Thị Thiên H.	1976	Hà Nội
808.	830/14	Trần Quỳnh A.	1988	Hà Giang
809.	831/14	Nguyễn Thị H.	1975	Hung Yên
810.	832/14	Nguyễn Thị Nh.	1986	Thái Bình
811.	833/14	Trịnh Thị H.	1983	Ninh Bình
812.	834/14	Nguyễn Thị Thương H.	1984	Nam Định
813.	358/14	Đỗ Thanh Đ.	1976	Hà Nội
814.	359/14	Trịnh Thị Hải Y.	1976	Hà Nội
815.	360/14	Vũ Anh Th.	1976	Hà Nội
816.	361/14	Phan Bích Ng.	1988	Hà Nội
817.	362/14	Cao Thị Hoài L.	1983	Hà Nội
818.	1148/14	Nguyễn Thị Th.	1982	Hà Nội
819.	1149/14	Bùi Thị H.	1979	Hà Nội
820.	1150/14	Hà Thị Thu Th.	1982	Hà Nội
821.	1151/14	Phạm thị Thu H.	1978	Hải Dương
822.	1152/14	Nguyễn Thị Ng.	1978	Bắc Giang
823.	333/14	Ngô Thị Trần H.	1972	Hà Nội
824.	334/14	Phạm Thùy L.	1983	Thanh Hóa
825.	335/14	Vũ Thanh Ng.	1982	Hải Phòng
826.	336/14	Nguyễn Thị Việt B.	1980	Hà Nội
827.	337/14	Nguyễn Thị Nh.	1991	Nam Định
828.	999/14	Vũ Thị Kim Th.	1983	Hà Nội
829.	1000/14	Nghiêm Thị Ch.	1986	Hà Nội
830.	1001/14	Nguyễn Thị H.	1983	Hà Nội
831.	1002/14	Nguyễn Thị Tuyết Nh.	1983	Hà Nội
832.	1003/14	Vũ Thị M.	1978	Hải Dương
833.	1060/12	Nguyễn Thị T.	1982	Hà Nội
834.	1061/12	Đỗ Thị Thanh Th.	1981	Hà Nội
835.	1062/12	Dự Thị Thùy Tr.	1984	Hà Nội
836.	1063/12	Nguyễn Thị H.	1988	Hà Nội
837.	1064/12	Nguyễn Thị H.	1976	Hà Nội
838.	1157/14	Bùi Thị Lan Ph.	1982	Nam Định
839.	1158/14	Cao Thu H.	1980	Hà Nội
840.	1159/14	Vũ Thùy Tr.	1978	Hà Nội
841.	1160/14	Đặng Thị Hồng H.	1981	Hòa Bình
842.	1161/14	Nguyễn Thị Hương L.	1985	Hải Phòng
843.	1088/14	Đoàn Thị Thanh T.	1983	Hà Tĩnh
844.	1089/14	Ngô Thị Th.	1988	Hung Yên
845.	1090/14	Thạch Thị Q.	1982	Hà Nội
846.	1091/14	Nguyễn Minh H.	1975	Hà Nội
847.	1092/14	Nguyễn Lê Q.	1982	Hà Nội
848.	780/14	Nguyễn Thị Ph.	1983	Hà Nội
849.	781/14	Trương Thị Thúy H.	1982	Hà Nội
850.	782/14	Nguyễn Thị L.	1983	Hà Nội
851.	1143/14	Hà Thị Th.	1979	Thanh Hóa
852.	1144/14	Phạm Thị H.	1973	Nam Định
853.	1145/14	Trần Thị Thu H.	1976	Hà Nội

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
854.	1146/14	Trần Thị T.	1983	Hải Dương
855.	1147/14	Phạm Thị V.	1987	Hà Nội
856.	1172/14	Nguyễn Thị H.	1982	Hà Nội
857.	1173/14	Nguyễn Thị Thanh H.	1981	Thái Nguyên
858.	1174/14	Sa Thị S.	1985	Hải Dương
859.	1175/14	Dương Thị T.	1979	Long An
860.	689/14	Dương Thị Q.	1984	Thái Nguyên
861.	690/14	Lê Thị H.	1984	Thanh Hóa
862.	691/14	Hoàng Thị V.	1984	Hải Dương
863.	692/14	Nguyễn Hồng H.	1990	Hà Nội
864.	693/14	Phùng Thị Hồng D.	1982	Hải Phòng
865.	910/14	Nguyễn Thị Diễm H.	1979	Hải Phòng
866.	911/14	Hoàng Thị Thanh H.	1990	Ninh Bình
867.	912/14	Lê Thị Thanh Ng.	1982	Hà Tĩnh
868.	913/14	Nguyễn Thị Vân O.	1970	Thái Nguyên
869.	914/14	Phan Thị Th.	1984	Hà Tĩnh
870.	1083/14	Hoàng Kiều A.	1991	Hà Nội
871.	1084/14	Vũ Thị L.	1976	Nam Định
872.	1085/14	Nguyễn Ngọc Th.	1975	Hà Nội
873.	1086/14	Nguyễn Thị Hải Y.	1978	Tuyên Quang
874.	1087/14	Nguyễn Thị L.	1975	Phú Thọ
875.	1133/14	Nguyễn Thị Mai H.	1983	Hà Nội
876.	1134/14	Mạc Thị X.	1986	Hải Dương
877.	1135/14	Bùi Thị L.	1990	Nam Định
878.	1136/14	Hoàng Thanh L.	1982	Hà Nội
879.	1137/14	Trần Thị H.	1973	Hà Nội
880.	1191/14	Trần Thúy 982.	1978	Bắc Ninh
881.	1192/14	Mai Thị Th.	1987	Ninh Bình
882.	1193/14	Lê Thị L.	1980	Bắc Ninh
883.	964/14	Lê Thị M.	1979	Hà Nội
884.	965/14	Nguyễn Thị Minh Ng.	1976	Hà Nội
885.	966/14	Nguyễn Thị Thanh B.	1977	Hà Nội
886.	967/14	Nguyễn Thị Th.	1983	Hà Nam
887.	968/14	Nguyễn Thị T.	1982	Yên Bái
888.	860/14	Nguyễn Thị Nữ	1986	Hải Dương
889.	861/14	Đông Thị Phương Q.	1983	Hà Giang
890.	862/14	Đỗ Thị L.	1987	Hà Nội
891.	863/14	Nguyễn Thị Thu H.	1977	Hà Nội
892.	508/15	Vũ Thị Thu H	1983	Hà Nội
893.	504/15	Nguyễn Thị S	1985	Bắc Cạn
894.	343/14	Phạm Thị Hiền Tr	1990	Hải Dương
895.	263/14	Hy Thị Thanh U	1980	Hải Dương
896.	07/14	Lương Thị Hư	1667	Hòa Bình
897.	29/13	Nguyễn Thị H	1986	Hà Nội
898.	274/14	Đỗ Thị B	1990	Hà Nội
899.	116/14	Vương Thị H	1974	Thanh Hóa
900.	256/14	Lê Thị O	1987	Nam Định
901.	264/12	Nguyễn Thị L	1979	Hà Nội
902.	203/14	Nguyễn Thị Thu H	1979	Ninh Bình
903.	592/14	Tạ Thị Th	1990	Hải Dương
904.	45/13	Dương Thu H	1984	Hải Dương
905.	314/14	Đỗ Thị V	1990	Nghệ An
906.	66/13	Nguyễn Thị M	1981	Vĩnh Phúc
907.	266/13	Đỗ Thị H	1988	Nghệ An
908.	619/13	Nguyễn Thị H	1991	Bắc Giang
909.	51/14	Nguyễn Thị Ch	1986	Lạng Sơn
910.	05/14	Vũ Thị H	1983	Hà Nội

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
911.	27/13	Nguyễn Thị S	1979	Hung Yên
912.	19/14	Nguyễn Thị H	1989	Bắc Ninh
913.	18/14	Lê Thị Thanh H	1983	Hải Phòng
914.	15/14	Nguyễn Thị D	1991	Quảng Ninh
915.	68/14	Nguyễn Thị Hồng Th	1976	Bắc Giang
916.	299/14	Nguyễn Thị L	1991	Hà Nội
917.	14/14	Trịnh Thị Ngọc D	1987	Hải Dương
918.	47/14	Tổng Lan A	1973	Hà Nội
919.	37/13	Nguyễn Thị Kim L	1990	Phú Thọ
920.	53/14	Lê Thị Thanh T	1984	Tuyên Quang
921.	94/14	Hà Thị A	1979	Bắc Giang
922.	311/14	Trịnh Thị Thu H	1974	Hải Dương
923.	56/14	Trương Thuý Ng	1981	Hà Giang
924.	81/14	Nguyễn Thu H	1981	Hà Nội
925.	27/13	Vũ Thị Ch	1985	Nghệ An
926.	168/13	Nguyễn Thị Nh	1989	Nam Định
927.	29/14	Ngô Bích D	1977	Hải Phòng
928.	72/14	Phạm Diệu M	1988	Nghệ An
929.	76/14	Lê Thị Th	1985	Ninh Bình
930.	92/13	Ngô Thị S	1987	Thái Bình
931.	21/12	Ngô Thị Hồng Nh	1981	Hà Nam
932.	215/14	Nguyễn Thị Đ	1964	Hung Yên
933.	88/14	Lê Thị H	1982	Hà Nội
934.	47/14	Phạm Thị S	1981	Hà Nội
935.	66/13	Nguyễn Thị M	1985	Hải Dương
936.	117/13	Vũ Thị Th	1991	Hà Nội
937.	01/13	Phạm Thị M	1983	Hà Nội
938.	57/14	Nguyễn Thị Th	1985	Hà Nội
939.	09/14	Đỗ Thị H	1979	Hòa Bình
940.	102/14	Nguyễn Thị H	1991	Hải Phòng
941.	97/13	Đức Thị Ch	1981	Hung Yên
942.	06/13	Tạ Thị V	1988	Hà Nội
943.	30/14	Nguyễn Thị L	1979	Hà Nội
944.	256/14	Lê Thị O	1987	Thái Nguyên
945.	121/14	Nguyễn Thị Thanh H	1974	Thái Nguyên
946.	125/14	Nguyễn Minh H	1989	Thanh Hóa
947.	36/14	Đỗ Thị Kiều M	1989	Hải Dương
948.	246/13	Nguyễn Thị H	1987	Thái Nguyên
949.	45/13	Dương Thu H	1984	Nam Định
950.	495/12	Nguyễn Thị Thanh T	1984	Hà Nội
951.	477/12	Nguyễn Thị Thanh H	1984	Tuyên Quang
952.	98/14	Đinh Thị Th	1983	Phú Thọ
953.	164/13	Chu Thanh Th	1986	Hà Nội
954.	110/13	Phạm Thị Việt H	1976	Hải Dương
955.	68/14	Lê Thị Thu H	1991	Nam Định
956.	97/14	Phạm Thị Ng	1980	Vĩnh Phúc
957.	66/14	Dương Thị H	1988	Hải Dương
958.	65/14	Dương Thị Th	1975	Thái Nguyên
959.	127/14	Phạm Thuý L	1984	Hải Dương
960.	122/14	Lê Thị V	1988	Thanh Hóa
961.	149/12	Đoàn Thị A	1991	Lạng Sơn
962.	22/14	Trần Thị Thuý L	1985	Ninh Bình
963.	195/14	Nguyễn Thị L	1984	Hà Nội
964.	141/12	Nguyễn Thị H	1987	Hà Nội
965.	485/13	Nguyễn Thị Ngọc H	1979	Thái Nguyên
966.	298/14	Nguyễn Thị M	1993	Hà Nội
967.	114/14	Nguyễn Thu H	1992	Hải Dương

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
968.	181/14	Lê Thị L	1980	Hà Nội
969.	158/14	Nguyễn Thị B	1983	Hà Nội
970.	152/14	Nguyễn Thị H	1985	Hà Nội
971.	283/14	Trần Thị H	1980	Hà Nội
972.	60/14	Vũ Thị O	1966	Hà Nội
973.	84/14	Lê Thị V	1983	Hà Nội
974.	162/14	Đỗ Thị H	1972	Hà Nội
975.	409/14	Nguyễn Thị Hương G	1982	Hải Dương
976.	119/14	Vũ Thị Nh	1982	Bắc Giang
977.	91/14	Nguyễn Thị H	1982	Hà Nội
978.	149/14	Phạm Thị Đ	1987	Thái Nguyên
979.	129/14	Phạm Thị Th	1985	Thanh Hóa
980.	176/14	Đỗ Thị l	1981	Hải Dương
981.	131/14	Tô Thị H	1981	Hà Nội
982.	101/14	Nguyễn Thị Minh H	1976	Thái Nguyên
983.	218/14	Nguyễn Thị Thuý H	1985	Hà Tĩnh
984.	208/14	Nguyễn Thị lan Ph	1985	Phú Thọ
985.	14/14	Trịnh Thị D	1981	Vĩnh Phúc
986.	50/13	Nguyễn Thị Thanh Ng	1978	Hà Nội
987.	189/14	Trần Thị H	1990	Nam Định
988.	192/14	Nguyễn Thanh A	1988	Hà Nội
989.	188/13	Bùi Thị Thanh M	1980	Hà Nội
990.	138/14	Nguyễn Thị Y	1973	Hà Nội
991.	195/14	Nguyễn Thị L	1984	Hà Nội
992.	09/13	Bùi Thị Thu H	1981	Hà Nội
993.	186/14	Hà Thị U	1978	Hòa Bình
994.	96/13	Lê Thị H	1982	Hải Phòng
995.	160/14	Hà Thị Thanh B	1979	Hung Yên
996.	72/14	Phạm Diệu M	1988	Hà Nội
997.	99/14	Phạm Thị H	1987	Ninh Bình
998.	419/14	Phạm Thị Ng	1987	Hà Nội
999.	244/12	Trần Thị Ph	1983	Hà Nội
1000.	144/12	Lê Thị Nh	1980	Hà Nội
1001.	248/14	Đỗ Thị T	1982	Hà Nội
1002.	129/14	Nguyễn Thị Th	1988	Hà Nội
1003.	274/12	Nguyễn Thị B	1982	Hà Nội
1004.	214/14	Nguyễn Thị Hồng Ph	1980	Hà Nội
1005.	145/14	Ngô Minh T	1976	Hà Nội
1006.	187/14	Nguyễn Thị V	1975	Hà Nội
1007.	273/14	Hà Thị Nh	1984	Hà Nội
1008.	255/14	Vũ Thị Phương A	1995	Hải Dương
1009.	159/14	Bùi Thị Kh	1994	Bắc Giang
1010.	257/14	Nguyễn Thị H	1986	Hà Nội
1011.	75/14	Vy Thị Thu H	1992	Thanh Hóa
1012.	41/14	Vũ Thị Minh Th	1981	Hà Nội
1013.	169/14	Nguyễn Thị H	1990	Hà Nội
1014.	246/14	Đoàn Thị H	1982	Thanh Hóa
1015.	216/14	Nguyễn Thị H	1975	Thanh Hóa
1016.	264/14	Phạm Thùy L	1986	Nam Định
1017.	285/14	Nguyễn Thị T	1988	Hà Nội
1018.	267/14	Nguyễn Thị D	1988	Hải Dương
1019.	217/14	Nguyễn Thị H	1988	Hà Nội
1020.	122/14	Lê Thị V	1988	Hải Dương
1021.	118/14	Nguyễn Ngọc D	1991	Hải Phòng
1022.	57/14	Nguyễn Thị Th	1985	Hải Dương
1023.	236/14	Phạm Thị Kim Th	1988	Hà Nội
1024.	250/14	Ngô Thị Thu H	1981	Hung Yên

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1025.	128/14	Hoàng Thị Kh	1977	Thái Bình
1026.	112/14	Thiều Minh Ng	1973	Hà Nội
1027.	275/14	Nguyễn Thị T	1988	Hà Nội
1028.	307/14	Chu Thị Kim O	1982	Thái Nguyên
1029.	308/14	Nguyễn Thị Th	1979	Hải Dương
1030.	251/14	Cao Thị H	1980	Long An
1031.	330/14	Hoàng Thị H	1973	Ninh Bình
1032.	318/14	Nguyễn Thị Mai H	1981	Hà Tĩnh
1033.	185/14	Nguyễn Thị Th	1987	Thái Nguyên
1034.	213/14	Nguyễn Thị Ngọc Q	1992	Hà Tĩnh
1035.	254/14	Phạm Ngọc Ch	1987	Yên Bái
1036.	272/14	Nguyễn Thị L	1987	Hà Nội
1037.	154/14	Nguyễn Thị Kim A	1989	Hà Nội
1038.	103/14	Nguyễn Thị Thu H	1982	Hà Nội
1039.	315/14	Nguyễn Thị Thanh V	1986	Hải Dương
1040.	268/14	Hà Thị H	1984	Hải Dương
1041.	293/14	Đặng Thu V	1983	Hà Nội
1042.	202/14	Nguyễn Thị Hồng Y	1983	Hà Nội
1043.	339/14	Đỗ Thị M	1994	Hà Nội
1044.	353/14	Phạm Thị Ph	1989	Hà Nội
1045.	145/14	Đặng Hồng Nh	1980	Hải Dương
1046.	17/14	Đỗ Thị Ph	1984	Bắc Giang
1047.	210/14	Lê Thị Hoa H	1992	Hà Nội
1048.	320/14	Lê Thị Thu H	1978	Hà Nội
1049.	350/14	Mai Thị Th	1975	Hà Nội
1050.	147/14	Dđinh Thị Nh	1990	Hòa Bình
1051.	289/14	Lê Thị Thùy L	1990	Hải Phòng
1052.	351/14	Lê Thị Thanh H	1989	Hà Tĩnh
1053.	201/14	Ngô Thị L	1987	Hung Yên
1054.	33/14	Nguyễn Thị D	1982	Hà Nội
1055.	148/14	Dương Thị L	1989	Hà Nội
1056.	145/14	Nguyễn Thị Trà M	1981	Hà Nội
1057.	87/14	Nguyễn Thị T	1983	Hà Nội
1058.	324/14	Cần Thị L	1986	Hải Phòng
1059.	209/14	Vũ Thị Nh	1974	Ninh Bình
1060.	310/14	Lê Thị H	1970	Hà Tĩnh
1061.	306/14	Nguyễn Thị M	1973	Hà Tĩnh
1062.	150/13	Nguyễn Thị Th	1974	Hà Nội
1063.	311/14	Trần Thị Ph	1984	Nam Định
1064.	286/14	Nguyễn Thị M	1984	Bắc Giang
1065.	365/14	Kiều Thị Thu H	1984	Yên Bái
1066.	191/14	Nguyễn Thị Th	1983	Hà Nội
1067.	373/14	Nguyễn Thị Việt H	1978	Hà Nội
1068.	331/14	Bùi Thị L	1984	Hà Nội
1069.	294/14	Lê Thị Tô A	1987	Hải Dương
1070.	79/14	Nguyễn Thị H	1992	Hải Dương
1071.	178/14	Hoàng Hải Y	1992	Hà Giang
1072.	243/14	Cù Thị Th	1983	Hung Yên
1073.	319/14	Đinh Thị Vân A	1987	Thái Bình
1074.	182/14	Trần Thị H	1991	Ninh Bình
1075.	258/14	Nguyễn Phương A	1990	Nam Định
1076.	128/14	Vũ Thị Ng	1990	Hà Nội
1077.	114/14	Nguyễn Thu H	1992	Hà Nội
1078.	409/14	Nguyễn Thị Hương Gi	1980	Thanh Hóa
1079.	126/14	Trịnh Thị H	1969	Hải Dương
1080.	399/14	Vũ Ngọc L	1990	Hà Nội
1081.	231/14	Phạm Thị Hiền Th	1984	Hải Phòng

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1082.	401/14	Phạm Thị H	1973	Ninh Bình
1083.	354/14	Vũ Thị H	1993	Hà Tĩnh
1084.	311/14	Trịnh Thị Thu H	1974	Yên Bái
1085.	145/14	Đặng Hồng Nh	1970	Hải Dương
1086.	422/14	Nguyễn Thị H	1990	Hải Dương
1087.	235/14	Nguyễn Thị H	1980	Hà Nội
1088.	414/14	Ninh Thị H	1988	Hà Giang
1089.	362/14	Trần Thị Ngọc H	1992	Hung Yên
1090.	387/14	Nguyễn Thị Quỳnh Gi	1978	Hải Dương
1091.	383/14	Nguyễn Hoàng Mỹ L	1991	Thái Bình
1092.	266/14	Vũ Thị T	1986	Nam Định
1093.	370/13	Vũ Thị H	1985	Hà Nội
1094.	192/14	Phạm Thị M	1987	Hà Nội
1095.	325/14	Lê Thị Ng	1990	Hà Nội
1096.	194/14	Thiều Thị H	1991	Hà Nội
1097.	232/14	Nguyễn Thị Ng	1979	Hà Nội
1098.	386/14	Nguyễn Thị H	1988	Hà Nội
1099.	245/14	ĐĐặng Thị H	1987	Hà Nội
1100.	275/14	Nguyễn Thị T	1988	Hà Nội
1101.	392/14	Lê Thị Kim L	1984	Hải Dương
1102.	241/14	Vũ Thị Thu Tr	1983	Bắc Giang
1103.	203/14	Nguyễn Thị Minh Ng	1982	Hà Nội
1104.	307/14	Chu Thị Kim O	1982	Hà Nội
1105.	393/14	Phạm Hồng T	1982	Thái Nguyên
1106.	466/14	Đàm Thị Q	1970	Thanh Hóa
1107.	457/14	Phạm Thị H	1983	Hải Dương
1108.	396/14	Nguyễn Thị L	1986	Hà Nội
1109.	17/14	Đỗ Thị Ph	1984	Hải Phòng
1110.	472/14	Tào Thị O	1993	Hải Phòng
1111.	171/13	Tạ Thị L	1996	Thái Nguyên
1112.	19/13	Nguyễn Thị H	1989	Hà Giang
1113.	48/14	Chu Thị S	1994	Thái Nguyên
1114.	407/14	Đỗ Hải H	1988	Hải Dương
1115.	164/14	Hoàng Thị Gi	1973	Thái Nguyên
1116.	444/14	Đỗ Thị Thanh B	1984	Thanh Hóa
1117.	151/13	Lò Thị T	1979	Hải Dương
1118.	289/12	Lê Thị Ng	1988	Hà Nội
1119.	303/14	Nguyễn Thị Hải H	1985	Hải Phòng
1120.	428/14	Đinh Thị Quỳnh Tr	1994	Hải Phòng
1121.	96/14	Phạm Thị H	1985	Hà Tĩnh
1122.	398/14	Nguyễn Thị Hồng L	1976	Hà Giang
1123.	478/14	Hoàng Thị L	1980	Hung Yên
1124.	25/14	Trần Thị Kim X	1986	Hải Dương
1125.	233/14	Đinh Thị M	1991	Bắc Giang
1126.	438/14	Vũ Thị U	1984	Hà Nội
1127.	487/14	Nguyễn Thị Nh	1983	Thanh Hóa
1128.	434/14	Nguyễn Thị L	1987	Hà Nội
1129.	492/14	Hà Thu L	1989	Bắc Giang
1130.	490/14	Phạm Thị L	1987	Hà Nội
1131.	20/14	Diêm Thị Ch	1972	Thái Nguyên
1132.	480/14	Dương Thị Ng	1984	Thanh Hóa
1133.	505/14	Phạm Thị Cẩm Th	1987	Hải Dương
1134.	495/14	Nguyễn Thị Minh H	1982	Hà Nội
1135.	494/14	Trịnh Thanh Q	1986	Hải Phòng
1136.	490/14	Dương Thị H	1985	Hải Phòng
1137.	88/14	Lê Thị H	1982	Ninh Bình
1138.	370/14	Lâm Thị X	1991	Hà Tĩnh

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1139.	470/14	Phạm Thị Huyền Tr	1985	Thanh Hóa
1140.	160/12	Phạm Thị Mai S	1985	Hà Nội
1141.	512/14	Ngô Thị O	1984	Hà Nội
1142.	442/14	Nguyễn Thị Lan A	1992	Hà Nội
1143.	306/14	Nguyễn Thị M	1973	Nam Định
1144.	382/12	Dương Thị L	1989	Hà Nội
1145.	521/14	Phạm Thị Th	1992	Hòa Bình
1146.	486/12	Phạm Thị Minh Th	1990	Hải Phòng
1147.	285/14	Nguyễn Thị T	1988	Hà Tĩnh
1148.	181/14	Nguyễn Thị Th	1984	Hung Yên
1149.	394/14	Tường Thân Thái H	1985	Hà Nội
1150.	523/14	Nguyễn Thu Tr	1989	Hà Nội
1151.	507/14	Trần Thị D	1988	Hà Nội
1152.	443/14	Nguyễn Thị V	1978	Hà Nội
1153.	433/14	Trần Thị L	1993	Hà Nội
1154.	166/14	Nguyễn Thị Th	1978	Hà Nội
1155.	256/14	Nguyễn Thị Hồng Nh	1991	Thanh Hóa
1156.	360/14	Nguyễn Thị Thanh Nh	1986	Hải Phòng
1157.	167/14	Nguyễn Thị Y	1985	Hải Phòng
1158.	448/14	Lê Thị H	1995	Thái Nguyên
1159.	349/14	Lê Thị Nh	1988	Hà Tĩnh
1160.	325/14	Lê Thị Ng	1990	Hà Nội
1161.	74/14	Đào Thị T	1984	Ninh Bình
1162.	16/14	Đào Thị L	1992	Hà Tĩnh
1163.	363/14	Nguyễn Thị Diệu L	1987	Thái Nguyên
1164.	540/14	Nguyễn Huệ L	1993	Hà Nội
1165.	238/14	Bùi Thị Thu H	1989	Bắc Giang
1166.	340/14	Trần Thị Th	1987	Hà Nội
1167.	378/14	Đỗ Thu Tr	1990	Hà Nội
1168.	544/14	Nguyễn Thị M	1984	Hà Nội
1169.	437/14	Nguyễn Thị B	1979	Hải Dương
1170.	400/14	Đào Thị B	1975	Hải Dương
1171.	559/14	Nguyễn Thị Kh	1972	Hà Nội
1172.	547/14	Nguyễn Thị Tuyết M	1981	Hà Giang
1173.	103/14	Nguyễn Thị Thu H	1982	Hung Yên
1174.	173/13	Hoàng Thị Hồng H	1983	Thái Bình

**XÁC NHẬN CỦA
THẦY HƯỚNG DẪN**

STT	Mã BN	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1175.	454/14	Hoàng Thị Dáng H	1995	Nam Định
1176.	558/14	Thê Thị M	1988	Hà Nội
1177.	554/14	Lê Tuyết L	1980	Hà Nội
1178.	361/14	Hồ Thị B	1974	Hà Nội
1179.	567/14	Phạm Thị Mỹ Ng	1977	Hà Nội
1180.	353/14	Phạm Thị Ph	1989	Hà Nội
1181.	120/14	Lê Quỳnh Ng	1989	Hà Nội
1182.	498/14	Nguyễn Thị Th	1987	Hà Nội
1183.	563/14	Dương Thị H	1965	Hà Nội
1184.	574/14	Đàm Thị Ch	1985	Hải Dương
1185.	562/14	Nguyễn Thị B	1988	Bắc Giang
1186.	327/14	Phan Hải H	1985	Hà Nội
1187.	539/14	Vũ Thị Hồng V	1989	Thanh Hóa
1188.	346/14	Nguyễn Thị Ng	1984	Hà Nội
1189.	141/14	Nguyễn Thị H	1987	Bắc Giang
1190.	82/14	Nguyễn Thị Th	1994	Hà Nội
1191.	55/14	Đào Thị H	1986	Thanh Hóa
1192.	278/14	Bùi Thị Ngọc L	1983	Hà Nội
1193.	356/14	Phó Thị T	1994	Hà Nội
1194.	499/14	Giáp Thị Ngọc H	1979	Hà Nội
1195.	504/14	Cao Thị Đ	1985	Hải Dương
1196.	283/12	Trần Thị H	1980	Bắc Giang
1197.	569/14	Lê Thị Th	1986	Hà Nội
1198.	515/14	Lê Hồng Ph	1981	Hà Nội
1199.	276/12	Vũ Thị D	1990	Bắc Giang
1200.	347/14	Lê Thị T	1989	Hà Nội
1201.	31/14	Vũ Thị Đ	1975	Thanh Hóa
1202.	121/12	Vũ Bích D	1986	Thái Nguyên
1203.	230/13	Nguyễn Thị Bích Ng	1992	Thanh Hóa
1204.	575/14	Nguyễn Thị T	1981	Hải Dương
1205.	359/14	Trần Thị Thu H	1980	Hà Nội
1206.	403/14	Cao Thị H	1982	Hải Phòng
1207.	577/14	Vũ Thị V	1995	Hải Phòng
1208.	271/14	Trương Hoàng H	1977	Ninh Bình

**XÁC NHẬN CỦA
PHÒNG NGHIÊN CỨU KHOA HỌC
BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**