

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



VŨ THỊ TUÁT

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG
CỦA CHẤT LƯỢNG TINH TRỪNG
ĐẾN KẾT QUẢ THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

=====

VŨ THỊ TUÁT

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG
CỦA CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG
ĐẾN KẾT QUẢ THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 9720105

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Trần Thị Phương Mai
2. PGS.TS. Nguyễn Khang Sơn

HÀ NỘI – 2024

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới Giáo sư, Tiến sĩ Trần Thị Phương Mai, nguyên Phó vụ trưởng Vụ sức khỏe sinh sản – Bộ Y Tế, nguyên cán bộ giảng dạy bộ môn Phụ sản trường Đại học Y Hà Nội, người Thầy đã tận tình dạy bảo, hướng dẫn tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành bản Luận án này.

Tôi xin chân thành bày tỏ lòng biết ơn tới Phó Giáo sư, Tiến sĩ Nguyễn Khang Sơn, Phó chủ nhiệm Bộ môn Mô phôi, người thầy đã hướng dẫn tôi rất nhiều, luôn tận tâm, tận tình dạy bảo tôi và đóng góp rất nhiều ý kiến quý báu cho bản Luận án được hoàn thiện tốt nhất.

Tôi xin chân thành cảm ơn Giáo sư, Tiến sĩ Trần Danh Cường chủ nhiệm Bộ môn Phụ sản trường Đại học Y Hà Nội, nguyên Giám đốc Bệnh viện Phụ sản Trung ương, người Thầy đã giúp đỡ tôi rất nhiều trong quá trình thực hiện Luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Giáo sư, Tiến sĩ Nguyễn Viết Tiến, nguyên Thứ trưởng Bộ Y Tế, nguyên Giám đốc Bệnh viện Phụ sản Trung ương, nguyên Chủ nhiệm Bộ môn Phụ sản Trường Đại học Y Hà Nội, người đã giúp tôi trong quá trình thực hiện luận án, góp phần vào hoàn thiện Luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các Giáo sư, Phó Giáo sư, Tiến sĩ và các thầy trong hội đồng chấm Luận án, hội đồng chấm chuyên đề Nguyên cứu sinh và chuyên đề Tổng quan, đã góp nhiều ý kiến quý báu cho bản Luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới Ban giám hiệu Trường Đại học Y Hà Nội, Phòng Sau Đại học, Trung tâm hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép, các anh chị em đồng nghiệp trong Trung tâm đã tạo mọi điều kiện và giúp đỡ tôi hoàn thành bản Luận án này.

Tôi xin cảm ơn tới Ban Giám đốc Bệnh viện Kiên An, tập thể Khoa Phụ khoa Bệnh viện Kiên An đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi hoàn thành Luận án này.

Cảm ơn bố, mẹ, chồng, các con và các anh chị em những người đã luôn theo sát và động viên tôi kịp thời trong cuộc sống, trong công việc và trong suốt thời gian thực hiện Luận án!

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Vũ Thị Tuất

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Vũ Thị Tuất, nghiên cứu sinh khóa 35 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Sản phụ khoa, xin cam đoan:

- Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Trần Thị Phương Mai và PGS.TS. Nguyễn Khang Sơn.
 - Công trình này không trùng lặp với bất cứ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
 - Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác 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 tháng năm 2024

Người viết cam đoan

Vũ Thị Tuất

DANH MỤC THUẬT NGỮ VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT

AFC	:	Antral Follicle Count (Nang thứ cấp)
AMH	:	Anti Mullerian Hormon (Hormon kháng ống Muller)
ART	:	Assited reproductive technology (Kỹ thuật hỗ trợ sinh sản)
BMI	:	Body Mass Index (Chỉ số khối của cơ thể)
CI	:	Confidence Inteval (khoảng tin cậy)
DFI	:	DNA Fragmentation Index (Chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng)
DNA	:	Deoxyribo Nucleic Acid
E2	:	Estradiol
EPL	:	Early pregnancy loss (Sảy thai sớm)
FSH	:	Follicle Stimulating Hormon (Hormon kích thích nang noãn)
GnRH	:	Gonadotropin Realeasing Hormon (Hormon giải phóng hướng sinh dục)
hCG	:	Human Chorionic Gonadotropin (Hormon rau thai người)
ICSI	:	Intra Cytoplasmic Sperm Injection (tiêm tinh trùng vào bào tương noãn)
IU	:	International Unit (Đơn vị quốc tế)
IVF	:	Invitro Fertilization (thụ tinh trong ống nghiệm)
IVF - ET	:	Invitro Fertilization - Embryo Transfers (Thụ tinh trong ống nghiệm - chuyển phôi)
IVF - FET	:	Invitro Fertilization - Frozen Embryo Transfers (Thụ tinh trong ống nghiệm - chuyển phôi đông lạnh)
LH	:	Luteinizing Hormon (Hormon hoàng thể hóa)
M2	:	Metaphase II (Noãn trưởng thành)

MESA	:	Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (Vi phẫu trích xuất tinh trùng từ mào tinh)
OR	:	Odd Ratio (tỉ suất chênh)
PCOS	:	Buồng trứng đa nang
PESA	:	Percutaneous Epidymal Sperm Aspiration (chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da)
ROC	:	Receiver Operating Characteristic (Đường cong đặc trưng hoạt động bộ thu nhận)
TESA	:	Testicular Sperm aspiration (Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn)
TESE	:	Testicular Sperm Extration (Trích xuất lấy tinh trùng từ tinh hoàn)
Tetatozoospermia	:	(Tinh trùng dị dạng)
	:	
WHO	:	World Healthy Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Định nghĩa về vô sinh	3
1.2. Tình hình và nguyên nhân vô sinh nam trên thế giới và trong nước	3
1.3. Giải phẫu cơ quan sinh dục nam và sinh lý liên quan đến quá trình sinh tinh.....	4
1.3.1. Đặc điểm giải phẫu cơ quan sinh dục nam	4
1.3.2. Đặc điểm sinh lý liên quan đến quá trình sinh tinh	6
1.3.3. Nội tiết sinh tinh.....	14
1.3.4. Các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản trong điều trị vô sinh nam	14
1.4. Xét nghiệm tinh dịch đồ và sự toàn vẹn DNA tinh trùng	14
1.4.1. Xét nghiệm tinh dịch đồ.....	14
1.4.2. Đại cương về phân mảnh DNA của tinh trùng	20
1.5. Các nghiên cứu liên quan.....	27
1.5.1. Các nghiên cứu nước ngoài.....	27
1.5.2. Nghiên cứu trong nước	30
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	32
2.1. Đối tượng nghiên cứu	32
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	32
2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn	32
2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ	32
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	33
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:.....	33
2.2.2. Các bước tiến hành nghiên cứu.....	34
2.3. Thu thập số liệu nghiên cứu	35
2.3.1. Thăm khám lâm sàng	35

2.3.2. Quy trình kỹ thuật IVF/ICSI.....	36
2.3.3. Quy trình xét nghiệm tinh dịch đồ theo thường quy của trung tâm Hỗ trợ sinh sản Bệnh viện Đại học Y Hà Nội có dựa theo WHO 2010, WHO 2021	40
2.3.4. Quy trình kỹ thuật xét nghiệm xác định mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (Halosperm) theo thường quy của của trung tâm di truyền và gen Đại học Y Hà Nội.	43
2.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu.....	47
2.4.1. Đặc điểm về đối tượng nghiên cứu.....	47
2.4.2. Kết quả nghiên cứu	48
2.5. Một số thuật ngữ và định nghĩa trong luận án	50
2.6. Xử lý và phân tích số liệu	52
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu.....	53
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	55
3.1. Kết quả về mối liên quan giữa đặc điểm hình thái tinh trùng và kết quả ICSI.....	55
3.1.1. Đặc điểm lâm sàng người chồng của 2 nhóm hình thái tinh trùng	55
3.1.2. Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng với mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động.....	60
3.1.3. Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm hình thái tinh trùng ..	61
3.1.4. Mối liên quan của kết quả noãn - phôi với hình thái tinh trùng ...	62
3.1.5. Kết quả sau mỗi chu kỳ chuyển phôi	63
3.1.6. Sự phân bố tỉ lệ có thai, không có thai của 2 nhóm hình thái tinh trùng	65
3.1.7. Kết quả của chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh.	68
3.2. Kết quả về mối liên quan giữa phân mảnh DNA của tinh trùng và đặc điểm hình thái của tinh trùng	69

3.2.1. Đặc điểm của người chồng trong từng nhóm DFI.....	69
3.2.2. Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm tinh trùng tham gia xét nghiệm Halosperm	76
3.2.3. Ngưỡng giá trị phân mảnh DNA trong chẩn đoán vô sinh.	76
3.3. Mối liên quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng và kết quả IVF/ICSI.....	79
3.3.1. Đặc điểm người vợ trong 3 nhóm DFI.....	79
3.3.2. Đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI của tinh trùng.....	80
3.3.3. Kết quả noãn và phôi của 3 nhóm DFI	81
3.3.4. Kết quả chuyển phôi của 3 nhóm phân mảnh DNA của tinh trùng	84
3.3.5. So sánh đặc điểm bệnh nhân có thai và không có thai trong nhóm xét nghiệm Halosperm.....	87
3.3.6. Đặc điểm bệnh nhân có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng trong nhóm xét nghiệm Halosperm	89
3.3.7. Đặc điểm bệnh nhân có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến trong nhóm xét nghiệm Halosperm	91
3.3.8. Đặc điểm bệnh nhân sảy thai và không sảy thai trong nhóm xét nghiệm Halosperm.....	92
Chương 4. BÀN LUẬN.....	96
4.1. Bàn luận về mục tiêu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu	96
4.1.1. Bàn luận về mục tiêu nghiên cứu:.....	96
4.1.2. Bàn luận về đối tượng và phương pháp nghiên cứu:	97
4.2. Bàn luận về mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và kết quả ICSI.	99
4.2.1. Đặc điểm 2 nhóm hình thái tinh trùng	99
4.2.2. Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và mật độ tinh trùng:....	101
4.2.3. Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động....	101
4.2.4. Đặc điểm lâm sàng người vợ của 2 nhóm hình thái tinh trùng...	102

4.2.5. Kết quả noãn- phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng	103
4.2.6. Kết quả chuyển phôi/ 1 chu kỳ của 2 nhóm hình thái tinh trùng	104
4.2.7. Sự phân bố tỉ lệ có thai, không có thai trong 2 nhóm hình thái tinh trùng	107
4.2.8. Kết quả của các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh.....	107
4.3. Mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với hình thái tinh trùng	108
4.3.1. Đặc điểm người chồng trong từng nhóm DFI.....	108
4.3.2. Mối liên quan giữa phân mảnh DNA của tinh trùng và mật độ tinh trùng hay tỉ lệ tinh trùng di động	110
4.3.3. Đặc điểm phân mảnh DNA tinh trùng trong nhóm hình thái tinh trùng tham gia xét nghiệm Halosperm.....	110
4.3.4. Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm hình thái tinh trùng xét nghiệm Halosperm	111
4.3.5. Ngưỡng giá trị DFI trong chẩn đoán vô sinh.....	112
4.3.6. Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 3 nhóm DFI.....	112
4.3.7. Đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI.....	113
4.3.8. Ảnh hưởng của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng lên thụ tinh và chất lượng phôi	113
4.3.9. Mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng và kết quả chuyển phôi.....	117
4.3.10. Bình luận về giá trị DFI trung bình.....	118
4.3.11. Bàn luận về 2 nhóm có thai, không có thai.....	119
4.3.12. Bàn luận về 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng ...	123
4.3.13. Bàn luận về 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến....	127
4.3.14. Bàn luận về 2 nhóm sảy thai và không sảy thai.....	130

4.4. Bàn luận về đóng góp mới và hạn chế của nghiên cứu	134
4.4.1. Đóng góp mới của nghiên cứu	134
4.4.2. Những hạn chế của nghiên cứu	136
KẾT LUẬN	137
KHUYẾN NGHỊ.....	139
DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ	
CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Chỉ số tình dịch đồ theo WHO	15
Bảng 1.2. Tiêu chuẩn hình thái tinh trùng bình thường và bất thường.....	16
Bảng 3.1: So sánh đặc điểm lâm sàng người chồng trong 2 nhóm hình thái tinh trùng.....	55
Bảng 3.2: Tương quan giữa đặc điểm lâm sàng người chồng và hình thái tinh trùng	56
Bảng 3.3: So sánh 2 nhóm hình thái tinh trùng về mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động	60
Bảng 3.4: Mọi tương quan giữa hình thái tinh trùng với mật độ tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động.....	60
Bảng 3.5: So sánh đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm hình thái tinh trùng.....	61
Bảng 3.6: So sánh kết quả noãn – phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng	62
Bảng 3.7: Mọi tương quan giữa hình thái tinh trùng với thụ tinh, phôi	62
Bảng 3.8: So sánh kết quả sau mỗi lần chuyển phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng	63
Bảng 3.9: Mọi tương quan giữa hình thái tinh trùng và kết quả sau mỗi chu kỳ chuyển phôi.....	64
Bảng 3.10: Mọi tương quan giữa tỉ lệ có thai lâm sàng và các yếu tố.....	66
Bảng 3.11: Mọi tương quan giữa tỉ lệ sảy thai và các yếu tố.....	67
Bảng 3.12: Kết quả sau chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh	68
Bảng 3.13: Đặc điểm người chồng trong từng nhóm DFI.....	69
Bảng 3.14: Tương quan giữa đặc điểm lâm sàng của người chồng và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng	70
Bảng 3.15: So sánh mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động của người chồng tham gia xét nghiệm Halosperm trong từng nhóm DFI... ..	74
Bảng 3.16: Tương quan giữa MĐTT, TTĐĐ và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.	75

Bảng 3.17: So sánh tỉ lệ phân mảnh DNA trung bình của 3 nhóm người chồng xét nghiệm Halosperm.....	75
Bảng 3.18: Giá trị ngưỡng phân mảnh DNA của tinh trùng so với chỉ số tinh dịch đồ tiêu chuẩn.....	78
Bảng 3.19: So sánh đặc điểm lâm sàng người vợ trong 3 nhóm DFI.....	79
Bảng 3.20: So sánh đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI.....	80
Bảng 3.21: So sánh kết quả noãn – phôi của 3 nhóm DFI.....	81
Bảng 3.22: Tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với một số yếu tố thụ tinh và chất lượng phôi.	82
Bảng 3.23: So sánh kết quả chuyển phôi của 3 nhóm DFI.....	84
Bảng 3.24: So sánh mức độ phân mảnh DNA trung bình của 2 nhóm phôi chất lượng tốt.....	85
Bảng 3.25: So sánh tỉ lệ phân mảnh DNA trung bình của 2 nhóm sảy thai sớm, không sảy thai sớm.....	86
Bảng 3.26: So sánh 2 nhóm có thai, không có thai.....	87
Bảng 3.27: Tương quan giữa tỉ lệ có thai và một số yếu tố.....	88
Bảng 3.28: So sánh đặc điểm 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng.....	89
Bảng 3.29: Tương quan giữa tỉ lệ thai lâm sàng và một số yếu tố.....	90
Bảng 3.30: So sánh đặc điểm người vợ của 2 nhóm có thai diễn tiến hoặc không có thai diễn tiến.....	91
Bảng 3.31: Tương quan giữa tỉ lệ thai diễn tiến và một số yếu tố.....	92
Bảng 3.32: So sánh đặc điểm người vợ của 2 nhóm sảy thai, không sảy thai.....	93
Bảng 3.33: Tương quan giữa tỉ lệ sảy thai và một số yếu tố.....	94
Bảng 3.34: Dự báo kết quả ICSI thông qua chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.....	95

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1: Sự phân bố nghề nghiệp của 2 nhóm	57
Biểu đồ 3.2: Sự phân bố yếu tố ảnh hưởng đến 2 nhóm.....	58
Biểu đồ 3.3: Sự phân bố bệnh tật của 2 nhóm	59
Biểu đồ 3.4: Kết quả có thai của 2 nhóm.....	65
Biểu đồ 3.5: Sự phân bố nghề nghiệp trong 3 nhóm DFI.....	71
Biểu đồ 3.6: Sự phân bố yếu tố ảnh hưởng đến 3 nhóm DFI	72
Biểu đồ 3.7: Sự phân bố bệnh tật trong 2 nhóm DFI.....	73
Biểu đồ 3.8: Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm hình thái tinh trùng.....	76
Biểu đồ 3.9: Sự phân bố mức độ phôi tốt trong các nhóm DFI.....	83

DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Giải phẫu cơ quan sinh dục nam.....	4
Hình 1.2. Cấu tạo tinh hoàn và mào tinh	5
Hình 1.3. Quá trình hình thành tinh trùng.....	7
Hình 1.4. Các giai đoạn biệt hoá từ tinh tử thành tinh trùng	8
Hình 1.5. Tinh trùng trưởng thành.....	11
Hình 1.6. Các dạng bất thường hình thái	17
Hình 1.7. Phân loại tinh trùng dưới kính hiển vi trường sáng dựa vào quang phân tán sau khi nhuộm bằng dung dịch Wright stain.	25
Hình 2.1: Kỹ thuật ICSI	37
Hình 2.2. Quy trình chuyển phôi.....	39
Hình 2.3. Hình ảnh tinh trùng có quang halo và không có quang halo	46
Hình 3.1: Đường cong ROC giữa tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và mật độ tinh trùng.....	77
Hình 3.2: Đường cong ROC giữa tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động.....	78
Hình 3.3: Đường cong ROC giữa chất lượng phôi tốt và tỉ lệ DFI	85
Sơ đồ 2.1: Quy trình nghiên cứu.....	49

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh là vấn đề bức thiết và mang tính thời sự của cuộc sống hiện đại. Thành công trong điều trị vô sinh không chỉ đem lại hạnh phúc cho những cặp vợ chồng khao khát có con của riêng mình mà còn tạo ra sự ổn định, phồn thịnh cho cộng đồng xã hội.

Thụ tinh trong ống nghiệm muốn thành công phải bao gồm 2 yếu tố liên quan đến noãn, tinh trùng. Hiện nay trên thế giới và Việt Nam liên quan đến vô sinh đã có nhiều nghiên cứu về yếu tố nữ, nên trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào nghiên cứu yếu tố tinh trùng.

Ngày nay, các nghiên cứu đều ghi nhận rằng tỉ lệ vô sinh nam khá cao, chiếm 50% nguyên nhân vô sinh trong tổng số 15% các cặp vợ chồng trên toàn thế giới gặp phải các vấn đề sinh sản.^{1,2} 25% các cặp vợ chồng vô sinh chưa rõ nguyên nhân là do hạn chế của những xét nghiệm hiện tại.^{3,4}

Đánh giá đúng vai trò của nam giới trong việc tạo ra những thế hệ tương lai khỏe mạnh bằng thụ tinh trong ống nghiệm, không rối loạn di truyền gen, nhiễm sắc thể, không mắc bệnh bẩm sinh...là vô cùng phức tạp.

Tinh trùng ảnh hưởng như thế nào đến kết quả ICSI? Đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của hình thái tinh trùng và phân mảnh DNA tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm nhưng bất thường về hình thái tinh trùng và phân mảnh DNA tinh trùng ở mức độ nào thì ảnh hưởng đến kết quả ICSI cũng như có mối liên quan gì giữa hình thái tinh trùng và phân mảnh DNA trùng không? hoặc phân mảnh DNA tinh trùng ảnh hưởng đến kết quả có thai trong ICSI như thế nào? là câu hỏi mà chưa có nghiên cứu nào đầy đủ ở Việt Nam nên chúng tôi tập trung nghiên cứu vấn đề này và đây cũng là vấn đề đang gây tranh luận chung của nhiều nhà nghiên cứu.

Theo French D.B (2010) thấy không có mối liên quan giữa các nhóm tinh trùng dị dạng theo phân loại của Kuger 1998 với tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ phôi tốt, tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ sảy thai, tỉ lệ có thai lâm sàng, tỉ lệ thai sinh sống trong chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm.⁵ Đôi khi rất khó để tách biệt ảnh hưởng thực sự của chất lượng tinh trùng trong các nghiên cứu lâm sàng, vì sự phân mảnh DNA của tinh trùng còn phụ thuộc vào khả năng sửa chữa của noãn bào trước khi trở thành hợp tử vẫn còn là điều bí ẩn và gây ra nhiều tranh luận trái ngược nhau.⁶

Một số tác giả cho rằng, mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có liên quan đến kết quả ICSI, chỉ số phân mảnh tinh trùng cao làm giảm tỉ lệ thụ tinh, giảm chất lượng phôi tốt, làm chậm sự phân chia của hợp tử, giảm tỉ lệ làm tổ, giảm tỉ lệ có thai, giảm tỉ lệ thai lâm sàng, tăng tỉ lệ sảy thai.^{7,8,9}

Ngược lại, một số nghiên cứu Meta-analysis khác lại cho rằng, phân mảnh DNA của tinh trùng không liên quan đến kết quả của ICSI.^{10,11} Có nhiều phương pháp đánh giá mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng như TUNEL, SCD, COMET...Thật khó khăn cho các bác sỹ lâm sàng để lựa chọn phương pháp xét nghiệm phân mảnh DNA của tinh trùng nào là tốt nhất. Nhưng nhìn chung, xét nghiệm Halosperm đơn giản, phù hợp, độ chính xác tương đối, độ nhạy, độ đặc hiệu cao, chi phí rẻ, dễ thực hiện...

Vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu ảnh hưởng của chất lượng tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm**”, với hai mục tiêu:

- 1. Đánh giá mối liên quan giữa đặc điểm hình thái tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm ICSI.*
- 2. Đánh giá mối liên quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng với đặc điểm hình thái tinh trùng và kết quả thụ tinh trong ống nghiệm ICSI.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Định nghĩa về vô sinh

Vô sinh là tình trạng một cặp vợ chồng có quan hệ tình dục thường xuyên, không sử dụng bất kỳ một biện pháp tránh thai nào mà không có thai sau 12 tháng chung sống. Đối với phụ nữ trên 35 tuổi thời gian này chỉ tính là 6 tháng và chỉ 3 tháng đối với phụ nữ từ 40 tuổi trở lên theo WHO 1999, WHO 2005.

Vô sinh nữ là nguyên nhân hoàn toàn về phía người vợ, vô sinh nam là nguyên nhân hoàn toàn về phía người chồng.

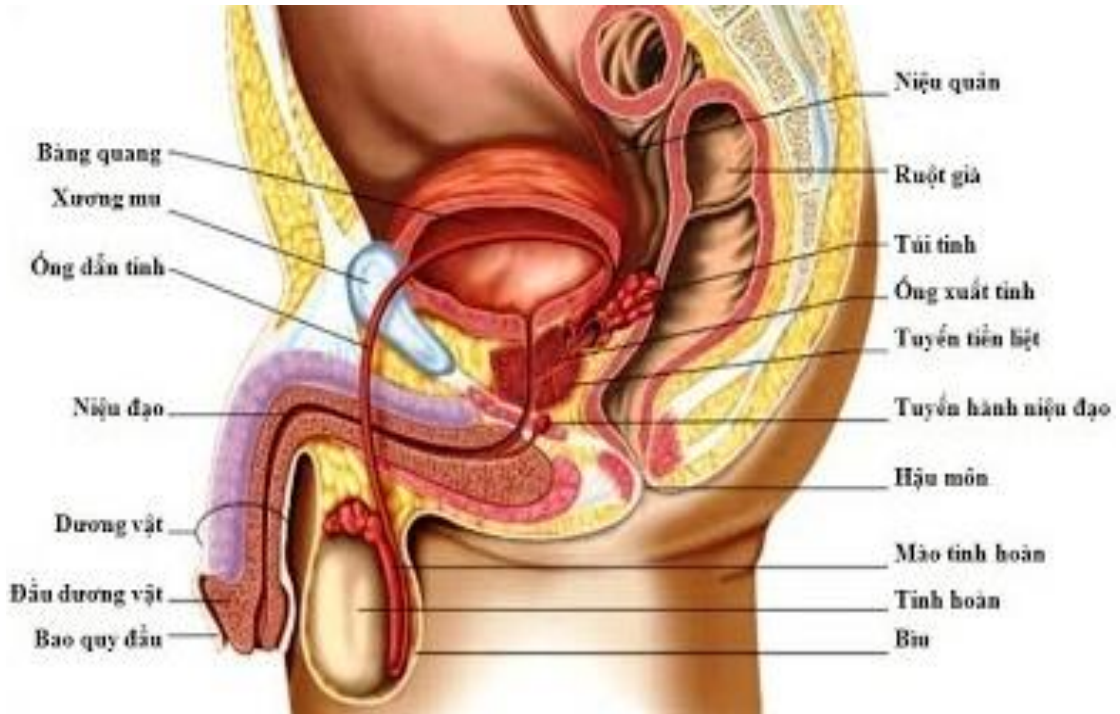
Vô sinh I (vô sinh nguyên phát) người phụ nữ chưa có thai lần nào, vô sinh II (vô sinh thứ phát) người phụ nữ đã có thai 1 lần dù sảy, đẻ, nạo, hút...

1.2. Tình hình và nguyên nhân vô sinh nam trên thế giới và trong nước

Theo số liệu thống kê năm 2006 cho thấy, khoảng 80 triệu người trên thế giới khó có con và trong đó vô sinh nam chiếm 50%.¹² Đến năm 2008, theo ước tính trong 20 người đàn ông sẽ có 1 người bị vô sinh và nguyên nhân chính gây ra vô sinh nam là do stress oxy hóa, chiếm 30-80% nguyên nhân vô sinh nam trên toàn thế giới.¹³ Tại Việt Nam theo Trần Thị Trung Chiến (2001) và cộng sự thì vô sinh nam là 66,67%.¹⁴

Nguyên nhân chính gây vô sinh nam là do giảm sinh tinh do di truyền, do biến chứng của các bệnh, làm suy giảm chức năng sinh tinh của tinh hoàn hoặc các biến chứng gây viêm tắc đường dẫn tinh.¹⁴ Theo nghiên cứu của Aribary (1995), có tới 35,2% vô sinh nam do bất thường tinh dịch đồ. Theo Trần Đức Phấn (2001), các cặp vợ chồng vô sinh có 44% tinh dịch đồ bất thường, còn theo Phạm Như Thảo (2003) tỷ lệ này là 54,4%.^{15,16}

1.3. Giải phẫu cơ quan sinh dục nam và sinh lý liên quan đến quá trình sinh tinh.



Hình 1.1. Giải phẫu cơ quan sinh dục nam¹⁷

1.3.1. Đặc điểm giải phẫu cơ quan sinh dục nam

1.3.1.1. Cấu tạo tinh hoàn

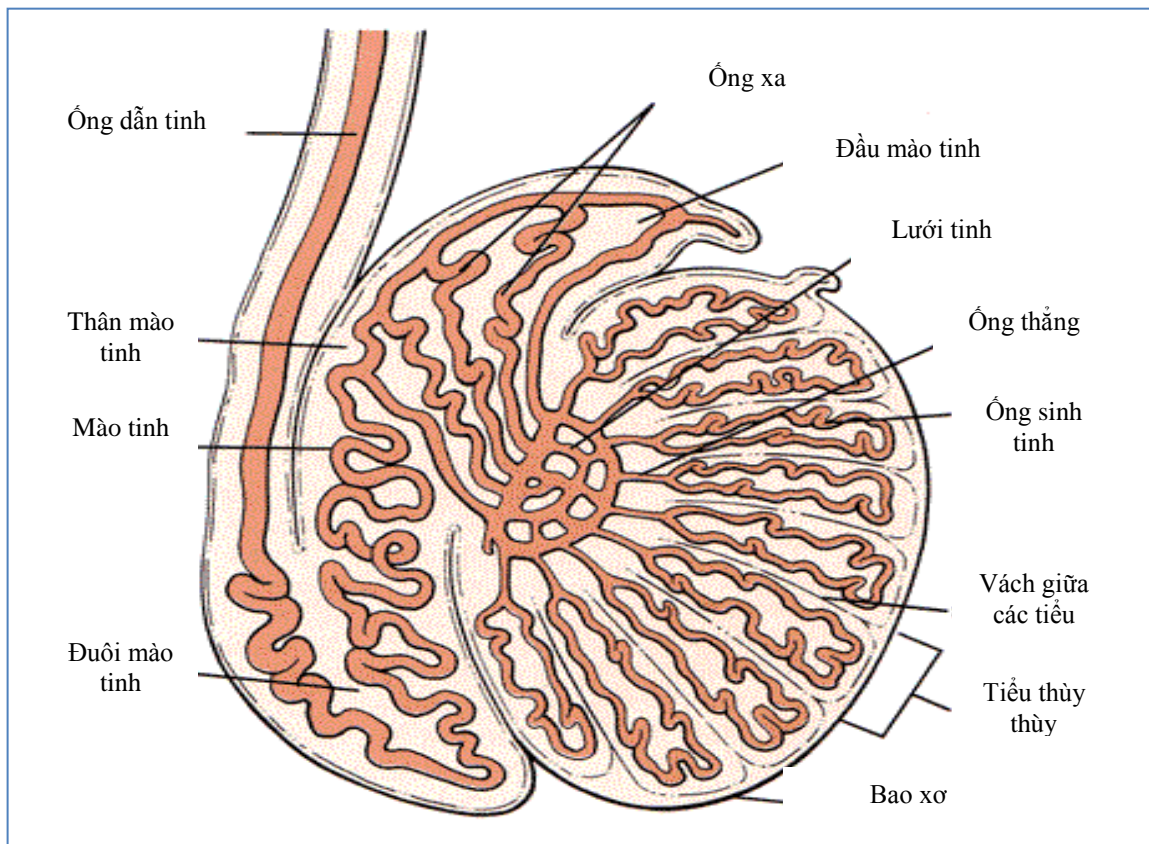
Cơ quan sinh dục nam gồm hai tinh hoàn nằm trong bìu, đường dẫn tinh, các tuyến của đường dẫn tinh và dương vật. Tinh hoàn hình trứng có chiều dài 4,1-5,2cm và chiều rộng 2,5 - 3,3cm, thể tích 15ml đến 30ml.¹⁸ Mỗi tinh hoàn có khoảng 150 đến 200 tiểu thùy được ngăn cách bằng các vách xơ, mỗi tiểu thùy được cấu tạo từ 3 đến 4 ống sinh tinh, có chức năng sản xuất ra tinh trùng. Xen giữa các ống sinh tinh là các tế bào Leydig có chức năng bài tiết testosterone.¹⁸ Các ống sinh tinh sẽ đổ vào các ống thẳng, tiếp đến là lưới tinh hay còn gọi là lưới Haller nằm trong trung thất của tinh hoàn.

1.3.1.2. Mào tinh hoàn

Lưới tinh đổ vào khoảng 20 ống ra, các ống ra tiến vào đoạn đầu mào tinh tạo thành các ống mào tinh.¹⁹

Mào tinh gồm ba phần: đầu mào tinh có hình tam giác, hơi dày nằm ở sát cực trên của tinh hoàn, thân mào tinh nằm dọc theo tinh hoàn và đuôi mào tinh.²⁰ Theo Clavert và cộng sự (1995), mào tinh rất ít có khả năng đề kháng do vậy rất dễ bị các nhiễm trùng thứ phát sau viêm nhiễm đường tiết niệu và khi bị viêm tắc đường dẫn tinh sẽ dẫn đến vô sinh do không có tinh trùng do tắc nghẽn.

Các tuyến phụ của đường dẫn tinh bao gồm túi tinh, tuyến tiền liệt, tuyến hành niệu đạo và các tuyến niệu đạo. Nhiệm vụ của các tuyến này là bài tiết các dịch hoà lẫn với tinh trùng để tạo thành tinh dịch.



Hình 1.2. Cấu tạo tinh hoàn và mào tinh^{21,23}

1.3.1.3. Ống dẫn tinh và ống phóng tinh

Ống này bắt đầu từ đuôi mào tinh đến túi tinh dài khoảng 25 cm, hình ống thẳng dày có lớp cơ bọc xung quanh, ống chạy trong thừng tinh và chia làm 3 đoạn: đoạn gần, đoạn xa, đoạn cuối.

Đoạn tiếp theo của ống dẫn tinh là ống phóng tinh và nằm trong tiền liệt tuyến. Chức năng của ống dẫn tinh và ống phóng tinh là dẫn tinh trùng và tinh dịch từ túi tinh đến niệu đạo tiền liệt tuyến.

1.3.1.4. Túi tinh

Túi tinh nằm ngay phía trên tiền liệt tuyến, phía sau và dưới bàng quang gần với trực tràng có cùng nguồn gốc bào thai với ống dẫn tinh. Túi tinh bài tiết ra phần lớn lượng tinh dịch, chiếm khoảng 60% khối lượng mỗi lần xuất tinh chứa nhiều fructose, prostaglandin và một số protein có tác dụng làm đông vón tinh dịch.²²

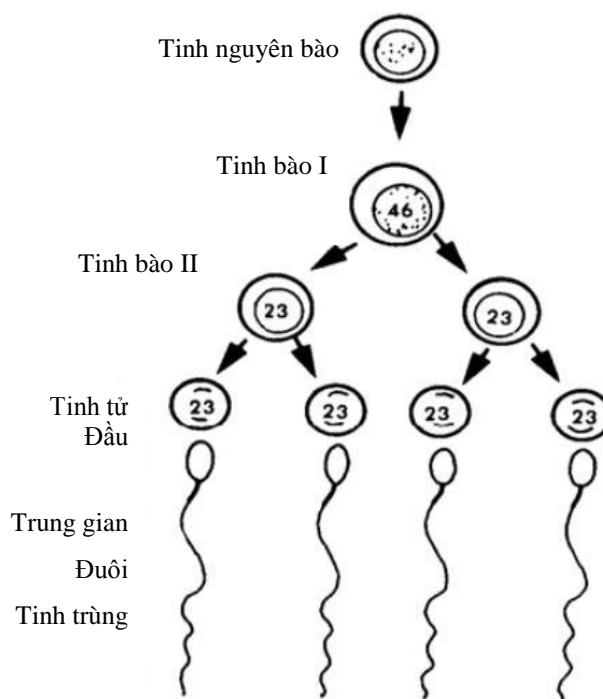
1.3.1.5. Tuyến tiền liệt

Tuyến có hình nón lộn ngược nằm ở đáy bàng quang và bao bọc xung quanh niệu đạo gồm 3 thùy là: thùy phải, thùy trái và thùy giữa. Ống phóng tinh cũng đổ vào niệu đạo tiền liệt tuyến. Tuyến tiền liệt là một tuyến ngoại tiết có nhiệm vụ bài tiết khoảng 1/3 lượng tinh dịch trong đó có chứa nhiều kẽm, acid citric và cholin.²²

1.3.2. Đặc điểm sinh lý liên quan đến quá trình sinh tinh

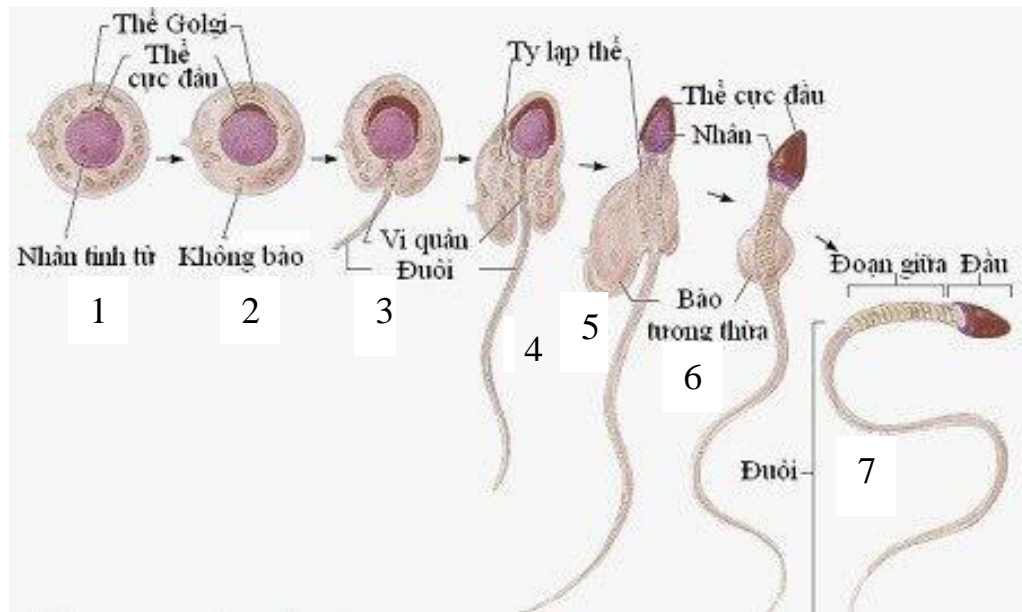
1.3.2.1. Quá trình hình thành tinh trùng

Quá trình sinh tinh diễn ra liên tục từ lúc bắt đầu dậy thì cho đến tận cuối đời và được chia ra bốn giai đoạn: tinh nguyên bào, tinh bào, tinh tử và tinh trùng trưởng thành. Để trở thành tinh trùng, tinh tử trải qua các hiện tượng biến đổi hình thái.



Hình 1.3. Quá trình hình thành tinh trùng²²

- Tạo túi cực đầu (1): Bộ Golgi biến đổi tạo thành túi cực đầu, các hạt giàu glycoprotein xuất hiện trong những túi của bộ Golgi.
- Tạo mũ cực đầu (2): đặc trưng của giai đoạn này là nhân cô đặc, dẹt ra, túi cực đầu trải rộng ôm lấy nửa cực trước của nhân tạo ra “mũ cực đầu”.
- Tạo đoạn cổ và dây trục (3-4): nhờ những biến đổi của hai tiểu thể trung tâm gần và xa di chuyển về phía cực của nhân đối lập với cực có túi cực đầu.
- Loại bỏ bào tương (5): bào tương lan dần về phía sau đuôi tinh trùng, để lại một lớp mỏng xung quanh túi cực đầu, nhân và đoạn cổ tinh trùng. Khối bào tương hơi phình lên, gọi là “giọt bào tương”.
- Tinh tử trưởng thành (6-7) không còn dính với nhau mà tách ra để đi vào lòng ống sinh tinh.



Hình 1.4. Các giai đoạn biệt hoá từ tinh tử thành tinh trùng²³

1.3.2.2. Giai đoạn trưởng thành tinh trùng.

Thời gian để hoàn tất một chu kỳ tạo tinh trùng khoảng 64 – 72 ngày. Tinh trùng chưa trưởng thành không có khả năng tự thụ tinh. Do đó, tinh trùng lấy ra từ ống sinh tinh và phần đầu của mào tinh không có khả năng di động và không thể tự thụ tinh được với noãn. Tinh trùng sẽ trưởng thành trong khi di chuyển ở mào tinh (khoảng 20 ngày). Tuy vậy, sự trưởng thành này chỉ về mặt hình thái. Để có thể thụ tinh được với noãn, tinh trùng trưởng thành còn phải tiếp tục hoàn thiện về mặt chức năng sinh lý, sinh hoá. Khi di chuyển trong đường sinh dục nữ, chức năng của tinh trùng sẽ được hoạt hoá. Trong thụ tinh ống nghiệm, hiện tượng hoạt hóa này xảy ra khi tinh trùng gặp môi trường nuôi cấy thuận lợi và được tách bỏ khỏi tinh tương những yếu tố ức chế hoạt hóa tinh trùng.

1.3.2.3. Cấu tạo tinh trùng

Tinh trùng là một tế bào biệt hóa cao có khả năng di chuyển, nhưng không phát triển cũng như không có khả năng phân chia tiếp. Để có khả năng thụ tinh với noãn tinh trùng phải trải qua một loạt các biến đổi về cấu trúc và chức năng.

Mỗi tinh trùng có cấu tạo rất phức tạp và có thể chia làm bốn phần là đầu (head), cổ (neck piece), đoạn trung gian (midpiece) và đuôi (tail). Đầu tinh trùng là nơi mang vật liệu di truyền từ người bố, còn đuôi có nhiệm vụ giúp cho tinh trùng di chuyển được. Tinh trùng là một tế bào khá đặc biệt và khác với các tế bào khác trong cơ thể là nhân to, bào tương rất nhỏ và ít, có khả năng di chuyển được.

• Đầu tinh trùng

Đầu tinh trùng gồm nhân và cực đầu (acrosome). Trên tiêu bản nhuộm thì đầu tinh trùng có kích thước hơi nhỏ hơn tinh trùng sống, phần nhân chứa chất liệu di truyền là DNA, mang bộ nhiễm sắc thể $23n$, hình bầu dục với bề mặt trơn tru.²⁴

Chiếm 2/3 trước đầu tinh trùng là túi cực đầu (Acrosome), có nguồn gốc từ bộ golgi của tinh tử. Acrosome chiếm khoảng 40-70% thể tích đầu, trong chứa hyaluronidase và một số enzym tiêu protein khác giúp tinh trùng có thể xâm nhập qua màng trong suốt và hoạt hóa noãn thụ tinh.

Các bất thường của cực đầu có thể gây ra vô sinh là không có cực đầu và cực đầu kém phát triển. Tinh trùng không có cực đầu thường có hình dáng đầu tròn chiếm khoảng 0,5% trong mẫu tinh dịch thường và lên đến 2-3% trong mẫu tinh dịch của bệnh nhân vô sinh.²⁵ Còn bất thường cực đầu kém phát triển thường liên quan đến tinh trùng bất thường, cực đầu nhỏ, đầu tinh trùng thường có hình tròn nhưng cũng có thể gặp hình bầu dục hoặc không định hình.²⁶ Khi tinh trùng thụ tinh với noãn thì các enzym sẽ được giải phóng vào thời điểm phản ứng cực đầu, màng cực đầu sẽ hòa lẫn vào màng bào tương noãn để nhân xâm nhập vào bên trong noãn.

• Cổ tinh trùng

Đầu tinh trùng nối với cổ bằng một cấu trúc rất ngắn được gọi là bản đáy (basal plate), ngay phía sau bản đáy là trung thể (*proximal centriole*). Trung thể đóng vai trò quan trọng giúp tinh trùng di chuyển được. Nếu trung

thể bất thường hoặc không có trung thể có thể làm tinh trùng không di chuyển được và kết quả là gây vô sinh. Khi thụ tinh trung thể cũng xâm nhập cùng với nhân vào trong bào tương noãn và là một bào quan quan trọng tham gia vào quá trình phân chia đầu tiên của tế bào.²³

- **Đoạn trung gian của đuôi tinh trùng (*midpiece*)**

Tiếp sau cổ là đoạn trung gian nằm trong một bao xơ. Cấu trúc như vậy giúp cho năng lượng được truyền trực tiếp từ ty thể sang các ống của sợi trục nên có thể giúp cho tinh trùng di chuyển được. Đoạn trung gian cũng được bao bọc bởi một phần bào tương, có các ty thể xoắn xung quanh sợi trục, và là nơi cung cấp năng lượng cho tinh trùng di chuyển.

Các bất thường trung gian có thể gặp là không có trung gian, đuôi dính vào đầu một góc 90°, trung gian mảnh (không có vỏ ty thể) và phối hợp các bất thường.

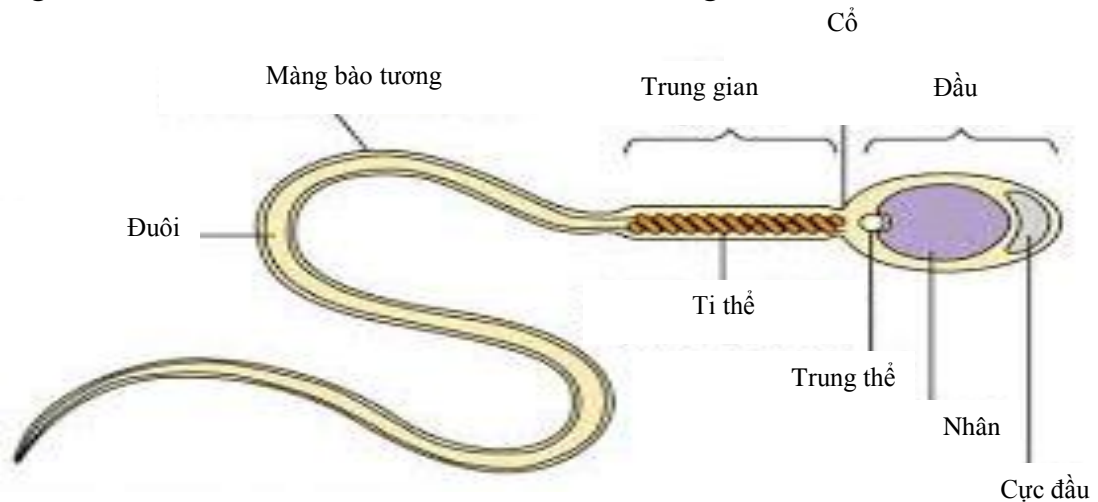
- **Đuôi tinh trùng**

Đuôi tinh trùng được hình thành từ giai đoạn tinh tử chiếm 90% chiều dài đuôi và đoạn cuối chiếm 10%. Đoạn chính cấu tạo chủ yếu là sợi trục bao bọc bên ngoài, đến đoạn cuối bao xơ được thay thế bằng màng mỏng. Sợi trục chạy dọc suốt từ cổ, thân đến tận đuôi tinh trùng, có tác dụng giúp cho tinh trùng di chuyển được. Sợi trục được cấu tạo từ 9 cặp vi cấu trúc hình ống (*microtubule*). Mỗi một cặp vi ống có lớp vỏ ngoài là sợi thô có tác dụng làm chắc sợi trục và giúp tinh trùng di động uốn lượn được. Các bất thường đuôi tinh trùng bao gồm đuôi ngắn, nhiều đuôi, đuôi bị gấp 90°, đuôi bị cuộn lại.

- **Giọt bào tương (*cytoplasmic droplet*)**

Gắn ngay phía sau đầu, ở gần cổ hoặc thân tinh trùng có cấu trúc giống như bào tương gọi là giọt bào tương. Đây là vị trí mà các tinh trùng tách nhau ra trong quá trình biệt hóa thành tinh trùng. Giọt bào tương sẽ mất đi khi tinh

trùng trưởng thành do vậy nếu vẫn còn thấy giọt bào tương chứng tỏ tinh trùng còn non, giọt bào tương cũng là nơi hình thành các peroxide hoặc các phản ứng có hại cho tinh trùng.²⁷ Ngoài ra cũng có thể quan sát thấy giọt bào tương nằm ở một số vị trí khác trên đuôi tinh trùng.



Hình 1.5. Tinh trùng trưởng thành²⁴

• ***Liên quan giữa bất thường hình thái tinh trùng với bất thường nhiễm sắc thể***

Nhiều nghiên cứu tìm hiểu mối liên quan giữa bất thường hình thái tinh trùng với bất thường lệch bội thể. Ngay từ năm 1991, Martin đã nghiên cứu karyotype của tinh trùng và nhận thấy các nhiễm sắc thể số 21,22 và nhiễm sắc thể giới tính rất dễ bị đột biến không phân chia trong quá trình hình thành tinh trùng. Bernardini và cộng sự nhận thấy tỷ lệ bất thường lệch bội (aneuploid) và bất thường lưỡng bội (diploid) cao trong mẫu tinh dịch có bất thường tinh trùng đầu to.

Mẫu tinh dịch có nhiều tinh trùng vô định hình, đầu tròn và đầu dài thường gặp các bất thường mảnh vỡ nhiễm sắc thể, nhiễm sắc thể hình vòng nhưng ít kèm theo bất thường số lượng tinh trùng. Đặc biệt, Devos A (2003) nghiên cứu trên các trường hợp làm ICSI thì thấy rằng, đối với các tinh trùng bất thường đầu dài thì tỷ lệ thụ tinh là 63,4%, tinh trùng có giọt bào tương tỷ

lệ thụ tinh là 63,3%, tinh trùng đầu vô định hình là 59,6%, và tinh trùng bị gãy cổ thì tỷ lệ thụ tinh là 34,1%.²⁷

1.3.2.4. Dự trữ tinh trùng tại mào tinh

*** Sự di chuyển của tinh trùng trong mào tinh**

Tinh trùng di chuyển trong mào tinh mất khoảng 11 ngày, cũng có trường hợp thời gian di chuyển này ngắn hơn đặc biệt ở những nam giới sản xuất tinh trùng nhanh hơn bình thường.

*** Dự trữ tinh trùng**

Ở người, dự trữ tinh trùng tại mào tinh là rất quan trọng nhằm đảm bảo sự thụ tinh được bình thường. Tuy nhiên khả năng dự trữ tinh trùng tại mào tinh là rất ít vì kích thước của mào tinh nhỏ và số lượng tinh trùng dự trữ ở mào tinh cũng sẽ nhanh chóng thay thế bởi các tinh trùng di chuyển từ tinh hoàn ra.

1.3.2.5. Các đặc tính giúp tinh trùng có khả năng thụ tinh với noãn

*** Sự di động của tinh trùng**

Sau khi biệt hóa và tách ra khỏi biểu mô để vào trong lòng ống sinh tinh, sau đó di chuyển qua lưới tinh và ống ra để đi vào mào tinh hoàn. Ở đoạn này tinh trùng không có khả năng di chuyển nên sự di chuyển của tinh trùng cho đến mào tinh hoàn toàn thụ động nhờ vào áp lực của tinh trùng từ trong tinh hoàn đi ra, nhờ lượng dịch do tế bào Sertoli và tế bào biểu mô lưới tinh bài tiết ra nhờ sự co bóp của các tế bào cơ biểu mô quanh ống sinh tinh.²⁸ Sau khi ra khỏi đường dẫn tinh, tinh trùng có khả năng tự di chuyển được và nhờ vào các yếu tố sau:

*** Nguồn năng lượng từ ATP**

Glucose và fructose có trong tinh dịch là nguồn cung cấp năng lượng chính cho tinh trùng di chuyển sau khi xuất tinh.

* **Bicarbonat và AMP vòng**

Bicarbonat có trong tinh dịch có tác dụng hoạt hóa nhiều chức năng của tinh trùng trong đó có chức năng di chuyển của tinh trùng. Về mặt sinh hóa, bicarbonate làm tăng pH trong tế bào, kích thích hô hấp, làm mở kênh canxi, hoạt hóa enzym Adenyl cyclase của tinh trùng, kết quả làm cho tăng AMP vòng và Ca^{++} và làm cho tinh trùng di chuyển được.²⁸

* **Các yếu tố trong tinh dịch**

Các chất chống oxy hóa như catalase, vitamin C, vitamin E bảo vệ tinh trùng khỏi các stress oxy hóa. Các yếu tố ức chế miễn dịch, yếu tố β growth trong tinh dịch giúp bảo vệ chức năng của tinh trùng.²⁹

Semenogelin là một protein có tác dụng làm đông vón tinh dịch, chiếm khoảng 20% lượng protein trong tinh dịch. Ngay sau khi xuất tinh Semenogelin bị Chymotrypsin-like protease của tuyến tiền liệt phân hủy giúp cho tinh trùng có thể di chuyển được.²⁹

* **Tăng tính kích hoạt của tinh trùng (*hyperactivation*)**

Khi tăng kích hoạt, tinh trùng sẽ chuyển từ chuyển động theo đường thẳng với biên độ nhỏ sang chuyển động mạnh, biên độ cao. Trên thực nghiệm người ta thấy khi cấy tinh trùng với dịch vòi tử cung thì tăng kích hoạt giúp tinh trùng bơi qua được dịch này.

* **Hóa ứng động của tinh trùng (*chemotaxis*)**

Đặc tính này giúp cho tinh trùng di chuyển có định hướng về phía noãn do noãn bài tiết ra chất hóa học có tính hấp dẫn với tinh trùng bằng cách gắn kết các receptor đặc hiệu với tinh trùng và hướng tinh trùng di chuyển đến nơi có nồng độ chất nhầy cao.³⁰

* **Năng lực hóa tinh trùng**

Tinh trùng sau khi xuất tinh ra chưa thể thụ tinh ngay được mà cần phải được năng lực hóa (capacitation). Chang và Austin gọi là khả năng hóa và mô tả lần đầu tiên vào năm 1951.

1.3.3. Nội tiết sinh tinh

Vùng dưới đồi bài tiết hormon GnRH theo dạng xung, có tác dụng kích thích tuyến yên tổng hợp và bài tiết ra hormon FSH và LH dưới dạng xung. Tại tinh hoàn, FSH gắn vào các thụ thể trên bề mặt tế bào Sertoli, kích thích sản xuất tinh trùng, ngoài ra trên tế bào Sertoli còn có các thụ thể tiếp nhận testosterone. Cả FSH và testosterone đều cần thiết cho quá trình sản sinh tinh trùng. Các tế bào Leydig có tác dụng tổng hợp và bài tiết ra hormone testosterone. Ở nam giới bình thường, mỗi ngày bài tiết khoảng 6mg testosterone.

1.3.4. Các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản trong điều trị vô sinh nam

- Lọc rửa tinh trùng (IUI, IVF)
- Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI)
- Đông lạnh tinh trùng trong trường hợp sau trích xuất tinh trùng (PESA, MESA, TESA, TESE)
- Rã đông tinh trùng (IVF, ICSI...)

1.4. Xét nghiệm tinh dịch đồ và sự toàn vẹn DNA tinh trùng

1.4.1. Xét nghiệm tinh dịch đồ.

Xét nghiệm tinh dịch đồ là một thăm dò bắt buộc cho tất cả các cặp vợ chồng hiếm muộn vì xét nghiệm này đơn giản, dễ làm, không tốn kém, không xâm nhập. Không sinh hoạt tình dục từ 2 đến 7 ngày trước xét nghiệm, mẫu tinh dịch được lấy bằng thủ dâm, chờ 30 phút để cho tinh dịch li giải hoàn toàn, sau đó đọc dưới kính hiển vi.

Bảng 1.1. Chỉ số tinh dịch đồ theo WHO^{31,32}

Chỉ số tinh dịch đồ	WHO 2010	WHO 2021
Thể tích	$\geq 1,5\text{ml}$	$\geq 1,4\text{ ml}$
PH	$\geq 7,2$	$\geq 7,2$
Mật độ	$\geq 15 \times 10^6/\text{ml}$	$\geq 16 \times 10^6\text{ml}$
Tổng số tinh trùng	$\geq 39 \times 10^6$	$\geq 39 \times 10^6\text{ml}$
Tinh trùng sống	$\geq 58\%$	$\geq 54\%$
Di động	PR + PN $\geq 40\%$ PR (Progressive) $\geq 32\%$	Di động (%): A+B+C $\geq 42\%$ Di động tiến tới (%): A+B $\geq 30\%$
Hình thái bình thường	$\geq 4\%$	$\geq 4\%$
Tế bào tròn	≤ 1000	≤ 1000

1.4.1.1. Đánh giá khả năng vận động của tinh trùng:

- Khả năng vận động tiến tới (PR- Progressive): hoạt động tuyến tính hay chuyển động hơi cong về phía trước.
- Khả năng vận động không tiến tới (NP- Nonprogressive): không có chuyển động về phía trước hoặc di chuyển về phía trước tròn.
- Immotility (IM): tinh trùng bất động.
- Tinh trùng yếu (Asthenozoospermia): tỉ lệ tinh trùng di động tiến tới $< 32\%$.

1.4.1.2. Số lượng tinh trùng

Tổng số lượng tinh trùng tương quan với thời gian mang thai và tỷ lệ có thai. Giá trị tham khảo: $\geq 15 \times 10^6/\text{ml}$ hoặc tổng số lượng tinh trùng $\geq 39 \times 10^6/\text{ml}$.

- **Tinh trùng ít (Oligozoospermia):**

Oligozoospermia (oligospermia) đề cập đến tinh dịch có nồng độ tinh trùng giảm: $< 15 \times 10^6/\text{ml}$ hay tổng số tinh trùng $< 39 \times 10^6/\text{ml}$.

- **Vô tinh (Azoospermia)**

Khi tinh dịch không có tinh trùng. Vô tinh chỉ nên được chẩn đoán sau khi ly tâm mẫu xuất tinh 3000 vòng/15 phút và quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại 400 lần, không tìm thấy tinh trùng.

1.4.1.3. Hình thái học tinh trùng

Các tiêu chí để phân loại hình thái bình thường và bệnh lý theo WHO 2010.³³

Bảng 1.2. Tiêu chuẩn hình thái tinh trùng bình thường và bất thường³¹

	Hình thái bình thường	Hình thái bệnh lý
Đầu	Hình dạng thông thường hình bầu dục, khu vực acrosome cũng xác định không có không bào và thể tích chiếm 40-70% của đầu	Quá lớn, quá nhỏ, quá mỏng và dài, hình quả lê, tròn, vô định hình, với các không bào acrosome (>2 hoặc nhiều hơn so với 20%), acrosomes quá nhỏ hoặc quá lớn.
Cổ, đoạn trung gian	Nối đầu với đuôi. Giọt bào tương của Midpiece nên $<30\%$ kích thước của đầu.	Kết nối không đối xứng vào đầu, quá dày, uốn cong hoặc quá mỏng, giọt bào tương $> 30\%$.
Đuôi	Đuôi mỏng hơn phần trung gian, chiều dài bằng khoảng 10 lần chiều dài đầu. Đuôi có thể cong, nhưng không có nút thắt đột ngột.	Quá ngắn, nhiều đuôi, độ dày không đều, hình xoắn ốc.

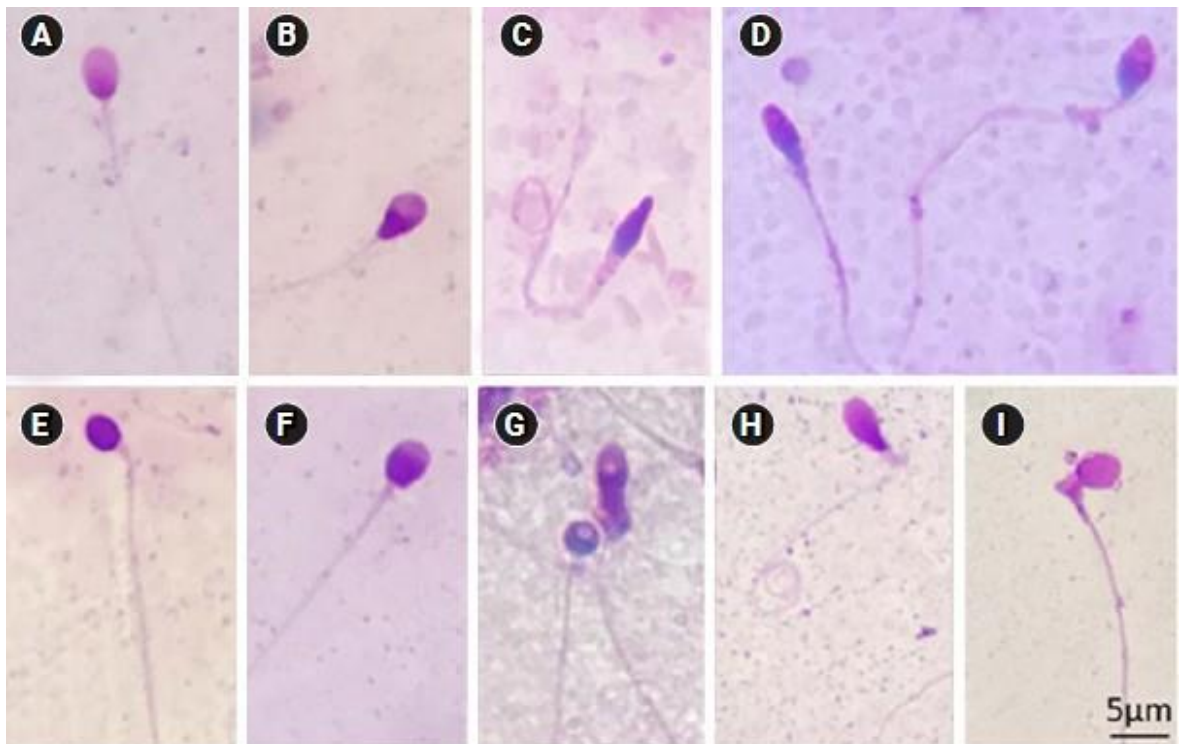
Tiêu chuẩn hình thái bất thường theo WHO 2010³¹

Tinh dịch có ít hơn 4% tinh trùng có hình thái bình thường, tùy theo vị trí của bất thường mà có: bất thường đầu, bất thường trung gian, bất thường đuôi, phối hợp các bất thường.

Teratozoospermia là một rối loạn có liên quan đến sự xuất hiện các tế bào có cấu trúc bất thường. Khi tinh trùng có hình dạng bất thường sẽ ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh sản nam giới. Với bất thường này khả năng vận động của tinh trùng bị giảm và cũng như ngăn ngừa tinh trùng xâm nhập vào noãn để thụ tinh. Thông thường, quá trình thụ tinh xảy ra khi có một tinh trùng với hình thái bình thường: đầu hình bầu dục, cổ- trung gian và đuôi bình thường. Nếu số lượng các tế bào tinh trùng tốt thấp hơn 4%, tỷ lệ noãn được thụ tinh cũng giảm.

Các dạng bất thường hình thái tinh trùng

Bất thường hình thái tinh trùng thường thấy ở nam giới đã lập gia đình, cố gắng có thai trong khoảng một năm, dù vợ có hoạt động sinh sản bình thường.



Hình 1.6. Các dạng bất thường hình thái³³

A: tinh trùng bình thường. B: tinh trùng đầu quá lớn. C: tinh trùng đầu nhỏ, phần trung gian dày và đuôi cuộn. D: tinh trùng đầu nhỏ và đầu vô định hình. E: tinh trùng đầu tròn không có acrosome. F: tinh trùng đầu nhỏ. G: tinh trùng đầu tròn, có không bào và tinh trùng đầu vô định hình có không bào kèm tế bào chất dư. H: đầu tinh trùng dạng đầu quả lê với trung gian uốn cong và đuôi cuộn. I: tinh trùng có cổ gập và tế bào chất dư.

➤ Teratozoospermia có thể nhẹ, trung bình hoặc nặng.

➤ Dị dạng tinh trùng còn được phân loại theo sự xuất hiện hình thái tinh trùng:

- Bất thường hình thái phối hợp: phần lớn tinh trùng biểu hiện nhiều hơn một sự bất thường.

- Bất thường hình thái đơn độc: kiểu này chỉ có một loại bất thường đầu, cổ- trung gian hoặc đuôi.

Bất thường đầu: đầu tròn, đầu vô định hình, đầu nhỏ, đầu dài, 2 đầu, đầu to...

Bất thường cổ, trung gian: mảnh, không trung gian, đuôi dính vào đầu một góc 90° .

Bất thường đuôi: đuôi ngắn, nhiều đuôi, đuôi cong, đuôi cuộn.

Nguyên nhân của bất thường hình thái tinh trùng

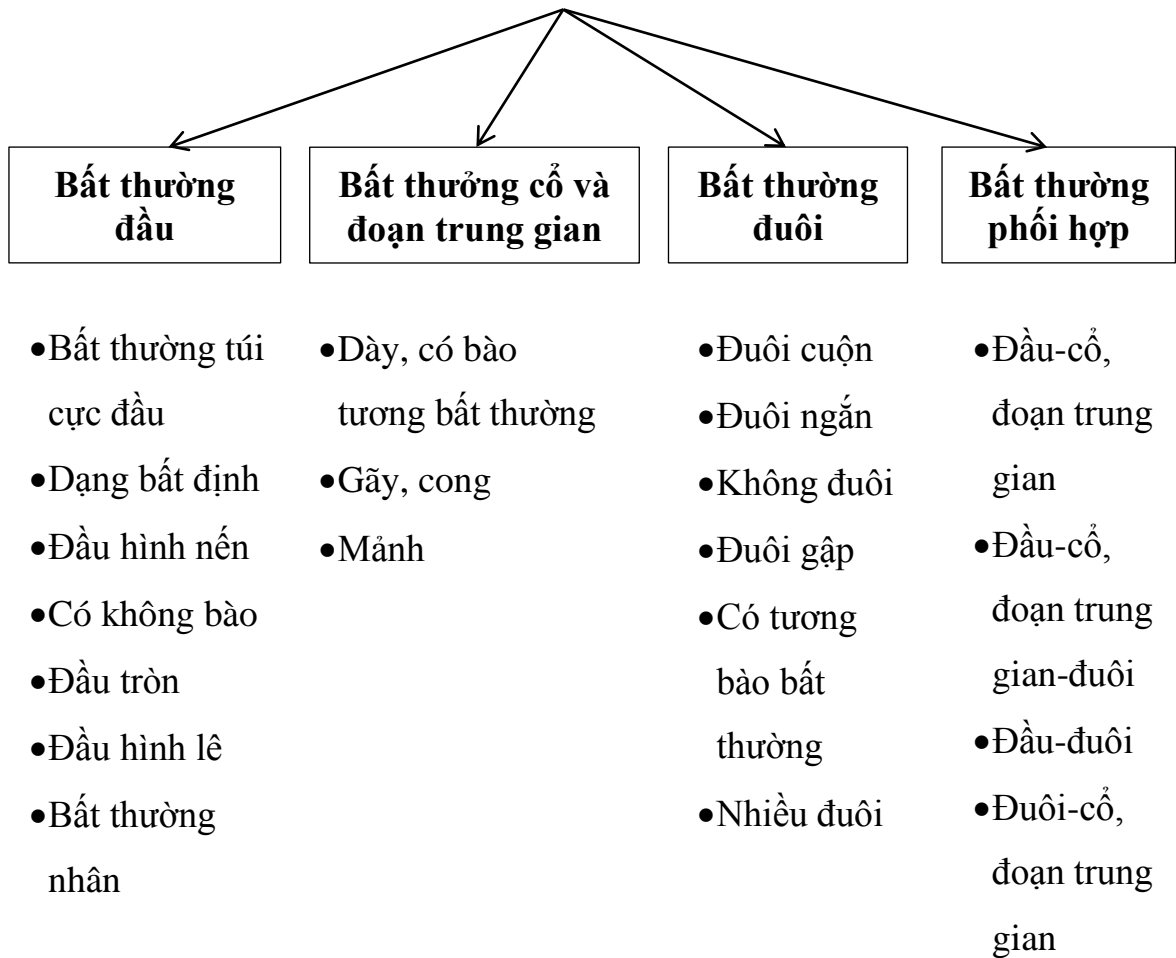
Nguyên nhân cụ thể của teratozoospermia chưa được biết đến. Mặc dù bệnh Celiac, bệnh Crohn và bệnh Hodgkin được biết đến là đóng góp vào sự hình thành của các tế bào tinh trùng có cấu trúc bất thường.

Trong hội chứng tinh trùng đầu tròn (globozoospermia) thấy rằng bộ máy golgi của tinh trùng không biến đổi thành acrosome, là điều kiện cần thiết để tinh trùng xâm nhập vào trứng trong quá trình thụ tinh liên quan đến 13 gen đột biến hay thiếu hụt PLC ζ . Nguyên nhân khác có thể do: tuổi cao, khiếm khuyết túi cực đầu, ít tinh trùng không rõ nguyên nhân.

Chẩn đoán bất thường hình thái

Những tế bào tinh trùng này được phân tích và đánh giá dưới kính hiển vi độ phóng đại 1000 và mẫu tinh trùng được nhuộm Giemsa khi quan sát bất thường đầu, cổ- trung gian và đuôi.

Tình trạng bất thường về hình thái



Điều trị bất thường hình thái tinh trùng^{34,35}

Kháng estrogen: hiệu quả trong điều trị bất thường hình thái.

IVF/ ICSI: điều trị cho thấy hiệu quả cao.

Các kỹ thuật thu hồi tinh trùng: TESE, TESA, MESA, PESA

Thuốc cổ truyền Trung Quốc và châm cứu: điều trị là trên các huyết gan và thận, bởi vì các cơ quan này điểm kiểm soát các hoạt động sinh sản của nam giới.

Vitamin bổ sung: Vitamin và chất chống oxy hóa được biết tăng khả năng di động, tăng số lượng tinh trùng.

Vitamin C: Đây được cho là có chất chống oxy hóa, giúp bảo vệ tinh trùng khỏi các gốc tự do và oxy hóa. Nó cũng làm giảm tỷ lệ tinh trùng yếu.

L- Carnitine: củng cố sự trao đổi chất, chống oxy hóa của tinh trùng nhằm cải thiện khả năng vận động của tinh trùng, nồng độ tinh trùng, và cấu trúc của chúng.

Vitamin A: Các chất béo hòa tan beta carotene và chống oxy hóa trong việc khôi phục thiệt hại do lão hóa và môi trường, qua đó làm giảm phân mảnh DNA của tinh trùng.

Selenium: thành phần chống oxy hóa để cải thiện khả năng vận động của tinh trùng.

Chiết xuất hạt nho: Tăng khả năng di động tinh trùng thông qua đặc tính chống oxy hóa của nó.

Kẽm: Khoáng chất này được cho là có ảnh hưởng lớn đến cấu trúc của tinh trùng.

Chế độ ăn uống liên quan đến khả năng sinh sản: chế độ ăn uống làm giảm tổn thương tinh trùng như ăn hầu, vẹm, cá vì chúng có hàm lượng cao protein, axit béo và kẽm, tăng rau xanh như rau bina, bông cải xanh và cải bắp trong khẩu phần ăn cũng được khuyến khích bởi vì các loại rau có nhiều chất xơ, và các vitamin và các khoáng chất như kẽm và tránh các thực phẩm có chứa hàm lượng cao các chất ngọt nhân tạo, đường, các chất phụ gia và hóa chất.

Hoạt động: tránh sử dụng các sản phẩm có hại cho tinh trùng như thuốc lá, thuốc gây nghiện, steroid và cần sa.

1.4.2. Đại cương về phân mảnh DNA của tinh trùng

Nguyên nhân vô sinh nam có mặt trong khoảng một nửa số các cặp vợ chồng vô sinh. Chẩn đoán vô sinh nam vẫn còn dựa phần lớn vào phân tích tinh dịch đồ như thể tích tinh dịch, pH, nồng độ tinh trùng, khả năng vận động, và hình thái tinh trùng. Tuy nhiên, khoảng 15% bệnh nhân vô sinh do yếu tố nam có tinh dịch phân tích bình thường và nếu chỉ dựa vào phân tích

tinh dịch đồ thông thường không đánh giá được hết nguyên nhân gây vô sinh nam.³⁶

Trong gần 3 thập kỷ qua, đã có một số nghiên cứu điều tra về vai trò của sự toàn vẹn DNA của hạt nhân tinh trùng trong vô sinh do yếu tố nam. Điều đó đã gợi ý rằng, sự toàn vẹn DNA của tinh trùng có thể là một yếu tố dự báo tốt hơn về khả năng sinh sản của nam so với phân tích tinh dịch đồ thông thường. Nhiều bằng chứng cho thấy, tinh trùng của đàn ông vô sinh có tổn thương DNA nhiều hơn nam giới bình thường và phân mảnh DNA của tinh trùng này có thể có một tác động bất lợi tới khả năng sinh sản.³⁷ Trong khi phân mảnh DNA của tinh trùng ở mức độ cao thường đi liền với các thông số bất thường như giảm số lượng và khả năng vận động của tinh trùng hoặc hình thái tinh trùng bất thường, tổn thương DNA của tinh trùng cũng được tìm thấy trong 8% nam giới, có các thông số tinh dịch đồ bình thường.³⁸ Ngoài ra, chúng ta cũng lo ngại về ảnh hưởng lâu dài cho các thế hệ sau khi sử dụng các tinh trùng bị phân mảnh DNA để ICSI vì kỹ thuật này bỏ qua quá trình chọn lọc tự nhiên.³⁹

1.4.2.1. Nguyên nhân gây bệnh và cơ chế tổn thương DNA của tinh trùng

Tổn thương DNA là hậu quả của quá trình trưởng thành tinh trùng bị khiếm khuyết, quá trình chết theo chương trình trong tinh hoàn và bởi hệ điều hành trên khắp đường sinh sản nam giới.⁴⁰ Nguyên nhân được đề xuất do đóng gói nhiễm sắc thể kém hoặc bất thường, chết tế bào theo chương trình nhằm loại bỏ tế bào mầm hư hỏng.⁴¹

Bất thường trong quá trình đóng gói chất nhiễm sắc của tinh trùng

Chất nhiễm sắc của tinh trùng là cấu trúc có tính tổ chức, cô đặc và nén chặt cao giúp tinh trùng trở nên nhỏ gọn và bảo vệ bộ gen của tinh trùng trong suốt quá trình di chuyển tại đường sinh dục nữ để thụ tinh với noãn. Chất nhiễm sắc của tinh trùng được đóng gói hoàn chỉnh khi 85% lượng protein

Histon được thay thế bằng Protamine. Nhiều nghiên cứu cho thấy sự thiếu hụt Protamine gây ra sự phân mảnh DNA, gây suy giảm khả năng sinh sản của nam giới.⁴²

Để quá trình thay thế protein diễn ra, DNA phải được tháo xoắn, sửa chữa với sự hỗ trợ của các enzym nuclease. Các chất ức chế hoạt động của các enzym làm cản trở quá trình sửa sai và làm phân mảnh DNA.⁴³

Chết tế bào theo chương trình (apoptosis)

Apoptosis là một quá trình chết theo chương trình được diễn ra khắp cơ thể. Trong tinh hoàn, sự chết theo chương trình của tế bào diễn ra để ngăn chặn việc sản sinh quá mức các tế bào mầm và chọn lọc phá hủy những tế bào mầm bị tổn thương. Tuy nhiên, khi quá trình này diễn ra không hoàn toàn, tinh trùng mang DNA bị phân mảnh vẫn có thể thoát ra và tiếp tục trưởng thành để tạo thành các tinh trùng bị tổn thương.⁴⁴

➤ Gốc oxy hóa tự do (ROS)

Phân mảnh DNA của tinh trùng cũng liên quan nồng độ cao của các gốc oxy hóa tự do (ROS). Ở mức độ thấp, ROS đóng một vai trò quan trọng trong sự trưởng thành của tinh trùng và các chức năng như năng lực hóa tinh trùng, phản ứng cực đầu.⁴⁵ Bào tương tinh trùng có chứa chất chống oxy hóa giúp bảo vệ DNA của tinh trùng. Tuy nhiên, khi một số lượng quá nhiều ROS được sản xuất, sẽ vượt quá khả năng chống oxy hóa của huyết tương tinh trùng và đường sinh sản nam giới, kết quả gây bệnh thường là tế bào và DNA bị phân mảnh.⁴⁵ Tăng mức ROS đã được báo cáo trong tinh dịch của khoảng 25% đàn ông vô sinh.⁴⁶

1.4.2.2. Các yếu tố lâm sàng và môi trường tác động gây phân mảnh DNA của tinh trùng

Nhiều yếu tố lâm sàng kết hợp với sự phân mảnh DNA của tinh trùng và hoặc sự toàn vẹn của nhiễm sắc thể. Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng

tăng theo tuổi, bắt đầu ở tuổi sinh sản, tăng gấp đôi ở tuổi 60 so với tuổi 20.⁴⁷ Khói thuốc lá, chất nicotin làm tăng phân mảnh DNA tinh trùng.⁴⁸ Uống rượu tăng phân mảnh DNA tinh trùng là do tăng apoptosis.⁴⁹ Chiếu xạ, hóa trị liệu, nhiễm trùng sinh dục, tăng bạch cầu, giãn tĩnh mạch thừng tinh và ung thư tinh hoàn, u ác tính khác được cho là thứ phát sau các thay đổi nội tiết và stress oxy hóa.⁵⁰ Lối sống ít vận động, béo phì cũng làm tăng phân mảnh DNA tinh trùng, khi giảm cân có sự cải thiện đáng kể chỉ số phân mảnh DFI và tăng khả năng sinh sản.⁵¹ Sóng điện từ, sóng điện thoại làm tăng sản xuất ROS của ti thể, bảo quản lạnh tinh trùng cũng làm tăng phân mảnh DNA của tinh trùng.⁵²

1.4.2.3. Xét nghiệm kiểm tra toàn vẹn của DNA tinh trùng

Trong những năm qua, có nhiều xét nghiệm đánh giá sự toàn vẹn DNA của tinh trùng.

➤ **Xét nghiệm TUNEL**

Phương pháp đánh dấu phân mảnh DNA tinh trùng bằng các dUTP (TUNEL). Phương pháp này dựa trên nguyên tắc định lượng sự gắn kết các dUTP tại các mạch đôi DNA hoặc mạch đơn DNA bị phân mảnh trong phản ứng được xúc tác bởi enzym TdT (Terminal desoxynucleotidyl Transferase). Xét nghiệm có ưu điểm là độ nhạy cao, song nhược điểm là độ đặc hiệu thấp và đắt tiền.

➤ **Test SCSA**

Phương pháp khảo sát cấu trúc Chromatin tinh trùng (SCSA) dựa vào sự thay đổi màu sắc của Acridin Orange từ màu xanh khi liên kết với DNA toàn vẹn sang màu đỏ khi liên kết với DNA bị phân mảnh bằng máy đo dòng chảy tế bào. Ưu điểm của phương pháp này là có thể định lượng được tinh trùng bị phân mảnh DNA hoặc tinh trùng có chất nhiễm sắc đóng gói chưa hoàn chỉnh. Ánh sáng huỳnh quang màu đỏ chính là dấu hiệu để nhận biết DNA phân mảnh. Chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng (DFI) được xác định bằng

tỉ số tín hiệu huỳnh quang màu đỏ trên tổng số tín hiệu màu xanh và màu đỏ. Nhược điểm của phương pháp này là máy đo dòng chảy tế bào và phần mềm đọc kết quả chuyên dụng đắt tiền.

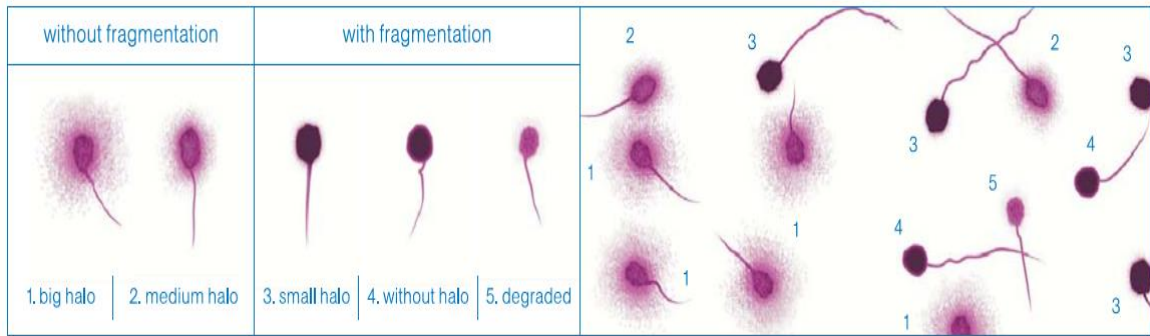
➤ **Phương pháp COMET**

COMET Test dùng để đánh giá tỉ lệ và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng. Do hình ảnh của tinh trùng bị phân mảnh DNA nhìn dưới kính hiển vi huỳnh quang có hình như sao chổi nên được gọi là phương pháp COMET. Cơ chế của phương pháp dựa trên sự chênh lệch điện tích của DNA phân mảnh và điện tích của DNA toàn vẹn. Điện tích của DNA phân mảnh có trọng lượng phân tử thấp hơn sẽ di chuyển về phía đuôi sao chổi, phân tử DNA nguyên vẹn không di chuyển và ở lại trong đầu các sao chổi

Phương pháp COMET có độ nhạy cao nhưng lại mất thời gian để phân tích kết quả và khó chuẩn hóa được quy trình.

➤ **Phương pháp khảo sát sự phân tán chất nhuộm sắc của tinh trùng (SCD)**

Halosperm là một trong các xét nghiệm khảo sát sự phân tán chất nhuộm sắc của tinh trùng. Phương pháp dựa trên nguyên tắc màu tinh dịch được cố định trên gel agarose, xử lí bằng dung dịch ly giải để loại bỏ màng tinh trùng và protein. Sau khi loại bỏ màng tế bào và màng nhân thì tinh trùng có DNA toàn vẹn sẽ bắt màu thuốc nhuộm Giemsa tạo thành quầng “Halo” xung quanh nhân khi quan sát dưới kính hiển vi quang học. Ngược lại tinh trùng bị phân mảnh DNA sẽ không tạo quầng sáng hoặc tạo quầng sáng nhỏ khi quan sát dưới kính hiển vi.⁵³ Chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng (DFI) được xác định bằng tỉ lệ tinh trùng không có quầng hoặc quầng rất nhỏ trên tổng số tinh trùng quan sát dưới kính hiển vi. Halosperm test hiện nay là phương pháp được sử dụng nhiều nhất trong các phòng xét nghiệm nam khoa để xác định tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng vì tính tiện lợi, dễ áp dụng và độ chính xác cao



Hình 1.7. Phân loại tinh trùng dưới kính hiển vi trường sáng dựa vào quang phân tán sau khi nhuộm bằng dung dịch Wright stain.

Tinh trùng không có sự phân mảnh DNA: 1. Quang phân tán to; 2. Quang phân tán vừa. Tinh trùng có sự phân mảnh DNA: 3. Quang phân tán nhỏ; 4. Không có quang phân tán. 5. Thoái hóa.⁵³

1.4.2.4. Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng và kết quả thụ tinh

Nhiều bằng chứng cho thấy tổn thương DNA của tinh trùng có tác động đến khả năng sinh sản nam giới và rất khó có thai tự nhiên. Nếu DFI $\geq 30\%$ hầu như không có thai tự nhiên hoặc làm chậm có thai, giảm khả năng có thai.

Phần lớn các nghiên cứu đều thấy có sự ảnh hưởng của phân mảnh DNA tinh trùng đến kết quả IVF thông thường và IVF/ICSI, xong kết quả khá đa dạng và phức tạp. Nhiều nghiên cứu báo cáo, không thấy ảnh hưởng của phân mảnh DNA của tinh trùng đến thụ tinh và chất lượng phôi.⁵⁴ Gần đây, các nghiên cứu tổng hợp cũng khẳng định yếu tố người cha và phân mảnh DNA tinh trùng có ảnh hưởng đến sự phát triển phôi và giai đoạn thai sớm.⁵⁵ Zini (2011) trong phân tích Meta cũng nhận thấy mối tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng bất thường và tỉ lệ có thai thấp. Hay Zhang (2015) trong bài phân tích meta cũng thấy DFI $< 27\%$ kết hợp với tỉ lệ có thai lâm sàng cao hơn nhóm DFI $\geq 27\%$.⁵⁶

Collin (2008) trong bài phân tích Meta thấy mức độ phân mảnh DNA ảnh hưởng lên tỉ lệ có thai có ý nghĩa trong IVF thông thường hoặc IVF/ICSI. Zini (2011) thấy rằng, sự khác nhau về tỉ lệ có thai giữa nhóm DFI cao và DFI

thấp là 11%, $p > 0,05$. Qua Timelapse, Wdowiak (2015) nhận thấy, mức độ phân mảnh DNA có liên quan đến tỉ lệ có thai lâm sàng sau chuyển phôi nang và ảnh hưởng lên động lực phát triển của phôi.⁵⁷ Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng càng cao, phôi càng mất nhiều thời gian để đạt đến giai đoạn phôi nang và giảm khả năng mang thai qua IVF/ICSI.⁵⁷ Osman (2015) báo cáo rằng DFI thấp có tỉ lệ sinh sống cao hơn sau IVF thông thường hoặc IVF/ICSI.⁷

Nhiều quan điểm trái ngược nhau cho rằng, phân mảnh DNA của tinh trùng có ảnh hưởng đến mang thai và nên xét nghiệm DFI trong quy trình kiểm tra vô sinh nam.⁵⁸ Zini A (2009) lại không ủng hộ quan điểm đưa DFI vào xét nghiệm thường quy.⁵⁹ Simon (2017) trong bài phân tích Meta tổng hợp 35 nghiên cứu thấy có mối tương quan nghịch giữa phân mảnh DNA tinh trùng và tỉ lệ thụ tinh, 37 nghiên cứu lại không thấy mối quan hệ này; trong 27 nghiên cứu khác lại thấy rằng, phân mảnh DNA tinh trùng có ảnh hưởng lên chất lượng phôi, 53 nghiên cứu cho kết quả ngược lại.⁶⁰ Zhang (2015) cũng nhận định trong nghiên cứu phân tích Meta: 9 nghiên cứu cho thấy mối quan hệ giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng và tỉ lệ có thai, 5 nghiên cứu không thấy mối liên quan.⁵⁶

Zini (2008) cho rằng, DFI cao, dự đoán sảy thai sớm sau ART dù là IVF thông thường hay IVF/ICSI.⁶¹ Robinson (2012) nhận định, hỗ trợ sinh sản có sử dụng tinh trùng với DFI cao có nguy cơ sảy thai sớm gấp 2,16 lần. Carell (2003) cũng cho thấy, tổn thương DNA cao hơn ở nam giới từng sảy thai nhiều lần (35%), cao hơn dân số chung (22%) hoặc nam giới sinh sản bình thường (12%). Check (2005) cho rằng cặp vợ chồng từng sảy thai có DFI cao $\geq 30\%$, có liên quan đến tỉ lệ sảy thai cao và tỉ lệ mang thai liên tục thấp. Khadem (2014) cho rằng, sảy thai tái phát và DFI cao có mối tương quan thuận với nhau.⁶²

Một số phương pháp điều trị mức độ phân mảnh tinh trùng cao, có ý nghĩa thống kê, cho thấy hiệu quả tăng khả năng sinh sản.

Rút ngắn thời gian kiêng sinh hoạt vợ chồng, liệu pháp chống oxy hóa đường uống, thực hiện phẫu thuật giãn tĩnh mạch thừng tinh, điều trị nhiễm trùng sinh dục.⁶³

Mặc dù, chúng ta luôn muốn sử dụng các kỹ thuật tiên tiến để lựa chọn tinh trùng tốt nhất không bị phân mảnh DNA tinh trùng, li tâm nồng độ, điện di tinh trùng bằng máy phân loại tế bào, liên kết Hyaluronic, phân loại từ tính ...Tuy nhiên chưa có phương pháp nào hoàn hảo, chiếm ưu thế để lựa chọn được tinh trùng tốt hoàn toàn. Một số nghiên cứu gợi ý, nếu DFI cao nên sử dụng tinh trùng sau các thủ thuật như PESA, MESA, TESE thay cho tinh trùng xuất tinh sẽ cho kết quả IVF/ICSI khả quan hơn.⁶⁴

1.5. Các nghiên cứu liên quan

1.5.1. Các nghiên cứu nước ngoài

* Govaerts, F.Devreker và cộng sự (1998) nghiên cứu 145 bệnh nhân IVF/ICSI cho rằng: Tuổi bệnh nhân làm ICSI trẻ, trung bình 31 tuổi, thời gian vô sinh trung bình 5 năm. Số lượng phôi chuyển trung bình trên một chu kỳ là 2,7 phôi. Tỷ lệ sảy thai của IVF/ICSI là 11%.⁶⁵

* Theo Devos A (2003) nghiên cứu IVF/ICSI trên những mẫu tinh trùng bất thường hình thái có liên quan đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm như sau: đối với tinh trùng đầu dài tỷ lệ thụ tinh là 63,4%, tinh trùng có giọt bào tương tỷ lệ thụ tinh là 63,3%, tinh trùng đầu vô định hình tỷ lệ thụ tinh là 59,6% và tinh trùng bị gãy cổ thì tỷ lệ thụ tinh là 34,1%.²⁷ Cũng theo Devos A (2003) trong IVF/ICSI liên quan giữa nhóm tinh trùng bất thường về hình thái có tỷ lệ thụ tinh thấp hơn 60,7% so với tinh trùng có hình thái bình thường là 71,7%. Chất lượng phôi không khác nhau giữa 2 nhóm, tỷ lệ mang thai và làm tổ ở tinh trùng có hình thái bình thường cũng cao hơn 36,7% và 18,7% so với tinh trùng có hình thái bất thường (20,2% và 9,6%).²⁷

* Năm 2008 Naru và cộng sự nghiên cứu trên 421 cặp vợ chồng điều trị bằng phương pháp IVF/ICSI của mẫu xuất tinh, kết quả cho thấy tỉ lệ có thai 41,4%. Tỉ lệ sảy thai là 12,1%.⁶⁶

* Nghiên cứu của French DB và cộng sự (2010) về tinh trùng dị dạng nghiêm trọng thấy rằng: Tỷ lệ thụ tinh là (74% -77%), và tỷ lệ có thai lâm sàng dao động từ 60% (hình thái bình thường 0%) và 56% (hình thái bình thường $\geq 7\%$). Tỷ lệ sảy thai là 5%. Tỷ lệ mang thai và sinh sống cao nhất đã được quan sát thấy ở những noãn được thụ tinh với tinh trùng từ các mẫu tinh dịch với teratozoospermia nặng. Tỷ lệ phôi tương tự như trong các phân nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ phôi nang chất lượng cao lớn hơn đáng kể ở những bệnh nhân teratozoospermia nặng so với những bệnh nhân có hình thái bình thường $\geq 5\%$ (37% so với 28%).⁵

* Nghiên cứu của Sonia Brahem (2011): Nam giới với tinh trùng dị dạng có DFI cao hơn đáng kể so với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường. Tỉ lệ tinh trùng với phân mảnh DNA tăng lên trong xuất tinh ở nam giới vô sinh, có tinh dịch đồ bất thường so với nam giới có tinh dịch đồ bình thường. Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa hình thái tinh trùng và phân mảnh DNA, cụ thể, khuyết tật đầu tinh trùng có liên quan đến phân mảnh DNA là do khuyết tật đầu tinh trùng liên quan đến sự không toàn vẹn của sợi DNA tinh trùng, sợi đơn và sợi đôi. Không có mối tương quan theo tuổi nam giới và mức phân mảnh DNA tinh trùng được ghi nhận.⁶⁷

* Nghiên cứu của Cissen. M. (2016), trong bài báo liên quan tổng quan hệ thống và phân tích Meta cho thấy: mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có liên quan đến giảm tỉ lệ thụ tinh, chất lượng phôi, tỉ lệ mang thai, tăng tỉ lệ sảy thai. Có nhiều phương pháp đo lường DFI tinh trùng như: SCSA, SCD, TUNEL, COMET và khi xây dựng mô hình dự báo có thai diễn tiến, cho thấy có nhiều yếu tố tác động đến kết quả của IVF/ICSI, các xét

nghiệm đo DFI đều có giá trị tiên đoán khả năng mang thai và lựa chọn điều trị, xong còn hạn chế.⁶⁸

* Nghiên cứu thuần tập tiên cứu của Sevastani Antonouli (2019) ghi nhận: có mối tương quan giữa phân mảnh DNA của tinh trùng với tuổi, BMI, mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động, hình thái tinh trùng. Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng không có mối liên quan với kết quả có thai trên chu kỳ trứng cho nhận. Khi nghiên cứu chất lượng phôi nang tốt thì thấy rằng tỉ lệ phôi tốt cao hơn ở nhóm có DFI thấp hơn, xong sự liên quan chưa thấy có ý nghĩa thống kê, $p = 0,08$, $r = - 0,2$.⁶⁹

* Nghiên cứu của Edson Borges (2019), nghiên cứu thuần tập, thì sự phân mảnh DNA tinh trùng liên quan đến sự phát triển kém của phôi, tốc độ phân chia phôi chậm hơn, tỉ lệ làm tổ thấp hơn, tỉ lệ sảy thai cao hơn trong các chu kỳ sinh sản không do yếu tố nam.⁷⁰

* Nghiên cứu của Su Mi Kim (2019) ghi nhận mức độ phân mảnh tinh trùng tương quan tuyến tính thuận với tuổi nam giới ($r = 0,307$, $p = 0,025$), tương quan tuyến tính nghịch với khả năng di chuyển của tinh trùng ($r = - 0,491$, $p < 0,0001$). Để đạt được chất lượng phôi hàng đầu, hoặc phôi loại A > 70%, giá trị ngưỡng là < 30,7% cho mỗi phôi. Trong nhóm phân mảnh DNA tinh trùng có ngưỡng < 30,7%, tỉ lệ hình thành phôi chất lượng loại A trung bình cao hơn đáng kể so với nhóm có DFI $\geq 30,7\%$ lần lượt là 50%, 25%, $p = 0,017$.¹⁰

* Nghiên cứu của Jakubik-Uljasz, J. (2020) cho kết quả: những đối tượng có hình thái bất thường (khuyết tật đầu, cổ- trung gian và đuôi, tế bào chất dư), có mật độ, độ di động, thể tích thấp hơn mức tinh dịch đồ tiêu chuẩn bình thường theo WHO 2010, mà còn có DFI cao hơn. Hơn nữa, số đối tượng có mức DFI thấp $\leq 15\%$, ít hơn đáng kể, nhiều đối tượng có mức DFI cao > 30% và tỉ lệ chênh lệch OR cao hơn do có mức DFI cao được tìm thấy ở

nhóm tinh trùng dị dạng so với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường. Khi phân tích đường cong ROC chỉ ra rằng ngưỡng DFI > 18% là giá trị tiên đoán âm tính đáng kể để phân biệt giữa nam giới có hình thái tinh trùng bình thường và hình thái tinh trùng dị dạng.⁷¹

* Nghiên cứu của Jiang.S. (2020) cũng nhận thấy đa yếu tố ảnh hưởng đến tỉ lệ có thai như tuổi mẹ, tỉ lệ phôi nang, niêm mạc tử cung, mức độ tưới máu niêm mạc, sức cản của dòng chảy đến nội mạc tử cung...đường cong ROC dự báo có thai, tuổi mẹ 35,5 tuổi, BMI 23,6; AMH 2,23; FSH 6,49, dày niêm mạc 9,9mm, RI 0,53.⁷²

* Nghiên cứu của Zhang (2022) trên chu kỳ chuyển phôi đông lạnh thấy rằng: mô hình dự báo có thai liên quan nhiều yếu tố người mẹ như tuổi mẹ, nội tiết FSH cơ bản, AMH, BMI, niêm mạc tử cung, loại phôi chuyển, tỉ lệ phôi nang, sức cản của động mạch tử cung, mật độ dòng chảy nội mạc...Tỉ lệ thai lâm sàng là 62,98%.⁷³

1.5.2. Nghiên cứu trong nước

* Nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) về hiệu quả của PESA/ICSI: Tỉ lệ có thai sinh sống 25,6% (22/86), thai diễn tiến >12 tuần đang phát triển là 60,5%, 12 trường hợp sảy thai chiếm tỷ lệ là 13,9%.⁷⁴

* Nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Khai (2017), cho kết quả: số phôi chuyển trung bình là 2,96 phôi/chu kỳ. Tỉ lệ có thai là 42,6%, Tỉ lệ có thai lâm sàng là 39%. Tỉ lệ có thai tiến triển là 34,7%, và tỉ lệ làm tổ của phôi là 16,1%. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả chuyển phôi đông lạnh như: tuổi vợ trên 35 tuổi, nồng độ FSH > 10mUI/ml, niêm mạc tử cung quá dày hoặc 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 2, làm tăng khả năng có thai, chuyển phôi khó làm giảm tỉ lệ thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê.⁷⁵

* Nghiên cứu thuần tập của Lê Minh Tâm (2021), trong số 162 chu kỳ ICSI, tỉ lệ sảy thai sớm (thai sinh hóa, thai sảy, thai lưu) là 14,2%. Không có mối liên quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng và tỉ lệ sảy thai, và nhóm không có thai có tỉ lệ DFI trung bình cao hơn nhóm có thai (20% so với 17%). Phân tích ROC chỉ ra rằng tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng là 16,6% là ngưỡng ưu tiên có thể sử dụng để phân biệt sảy thai sớm với độ nhạy 73,9%, 95% CI (67,15-80,67) và độ đặc hiệu là 47,8%, 95% CI (39,79-55,17). Phân tích đa biến ghi nhận rằng, các yếu tố nữ như tuổi tác, chỉ số khối cơ thể BMI, và mức độ DFI có thể ảnh hưởng đến tỉ lệ sảy thai sớm. Tuy nhiên, sự kết hợp giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng và tuổi nữ hoặc BMI nữ, không thể dự đoán về tỉ lệ sảy thai sớm.⁷⁶

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

197 cặp vợ chồng được chẩn đoán vô sinh và làm ICSI tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 8/2020 đến tháng 8/2022.

2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn

Người vợ có giới hạn sinh sản bình thường:

- + Xét nghiệm nội tiết ngày 2, ngày 3 trong giới hạn bình thường.
- + Buồng tử cung bình thường.
- + Niêm mạc tử cung ngày chuyển phôi dày 8-14 mm, tính chất 3 lá hoặc đồng nhất.
- + Kích thích buồng trứng bằng phác đồ đối vận antagonist.

Người chồng:

- + Tinh trùng tươi xuất tinh
- + Nhóm có tinh dịch đồ bình thường (hình thái tinh trùng bình thường $\geq 4\%$)
- + Nhóm tinh dịch đồ bất thường (hình thái tinh trùng bình thường 0%)

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ

Đối với vợ:

- + Các bệnh lý tại tử cung và buồng trứng ảnh hưởng đến kết quả sinh sản như: U xơ tử cung dưới niêm mạc, dị dạng tử cung, lạc nội mạc tử cung tại buồng trứng độ III, IV.....
- + Các bệnh lý toàn thân nặng: nhiễm trùng sinh dục cấp tính, suy thận, suy tim ...

Đối với chồng:

+ Tinh trùng đông lạnh, tinh trùng sau thủ thuật PESA, MESA, TESA, TESE.

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:**

- Nghiên cứu mô tả thuần tập theo dõi dọc tiến cứu.

Cỡ mẫu nghiên cứu cho mục tiêu 1: được tính theo công thức:

$$N_1 = Z^2_{\alpha/2} \frac{((1-p_0)/p_0 + (1-p_1)/p_1)}{[\ln(1-\varepsilon)]^2}$$

Trong đó: $p_0 = 56\%$ tỉ lệ có thai lâm sàng của nhóm có tinh trùng bình thường (Hình thái tinh trùng bình thường $\geq 4\%$) theo French DB (2010)⁵.

$p_1 = 60\%$ tỉ lệ có thai lâm sàng của nhóm tinh trùng có hình thái bất thường (Hình thái tinh trùng bình thường 0%) theo nghiên cứu của French DB (2010)⁵.

α : mức ý nghĩa thống kê, là xác suất của việc mắc phải sai lầm loại I. Trong nghiên cứu của chúng tôi lấy $\alpha = 0,05$ với độ tin cậy 95%.

ε : mức độ chính xác mong muốn, trong nghiên cứu của chúng tôi lấy $\varepsilon = 0,2$.

$$Z^2_{(\alpha/2)} = Z^2(0,05/2) = 1,96^2.$$

Thay các giá trị vào công thức trên ta có $N_1 = 112$. Nghiên cứu của chúng tôi lấy cỡ mẫu cho nhóm tinh trùng có hình thái bất thường là 113 bệnh nhân, nhóm tinh trùng có hình thái bình thường là 84 bệnh nhân.

Cỡ mẫu cho nghiên cứu cho mục tiêu 2: dựa trên công thức ước tính một tỷ lệ như sau:

$$n_2 = Z^2_{1-\alpha/2} \frac{P(1-P)}{\Delta^2}$$

Trong đó: $P = 0,06$ là tỉ lệ sảy thai của Choi (2017).⁷⁷

$\Delta = 0,05$ là khoảng sai lệch mong muốn giữa tỉ lệ thu được từ mẫu nghiên cứu và tỉ lệ của quần thể.

α : mức ý nghĩa thống kê. Trong nghiên cứu, chúng tôi lấy $\alpha = 0,05$

$Z_{1-\alpha/2} = 1,96$ là giá trị Z thu được từ bảng Z ứng với giá trị $\alpha = 0,05$.

Thay giá trị vào công thức trên ta có $n_2 = 87$. Nghiên cứu của chúng tôi lấy cỡ mẫu trong nghiên cứu là 90.

2.2.2. Các bước tiến hành nghiên cứu

Mỗi bệnh nhân được lập 1 bệnh án (Phụ lục 1)

Bước 1: Khai thác bệnh sử, tiền sử của các bệnh nhân vô sinh.

Bước 2: Khám lâm sàng

Bước 3: Làm các xét nghiệm cận lâm sàng

Người vợ:

Xét nghiệm nội tiết ngày 2, ngày 3

Siêu âm đếm số nang thứ cấp AFC

Siêu âm đánh giá tử cung, buồng trứng

Xét nghiệm AMH

Chụp tử cung vòi trứng

Người chồng:

Tinh dịch đồ, nhuộm soi

Bước 4: Kích thích buồng trứng và theo dõi trứng

Bước 5: Chọc trứng → lựa chọn noãn trưởng thành M2

Chuẩn bị tinh trùng: Vào ngày chọc trứng cho bệnh nhân lấy tinh dịch đồ, lựa chọn tinh dịch đồ có hình thái tiêu chuẩn, rồi làm xét nghiệm phân tán nhiễm sắc- Halosperm.

Bước 6: Tiến hành ICSI

Bước 7: Chuyển phôi

Chuyển phôi tươi nếu đủ điều kiện

Chuyển phôi đông lạnh nếu không đủ điều kiện chuyển phôi tươi hoặc phôi dư đông lạnh.

Bước 8: Theo dõi có thai sau 2 tuần chuyển phôi

Bước 9: Nếu có thai lâm sàng theo dõi đến ≥ 12 tuần

Bước 10: Hoàn thiện hồ sơ bệnh án (Phụ lục 1)

Bước 11: Tổng kết và xử lý số liệu, viết báo cáo đề tài nghiên cứu.

2.3. Thu thập số liệu nghiên cứu

2.3.1. Thăm khám lâm sàng

- Mỗi bệnh nhân được làm 1 bệnh án nghiên cứu, thống nhất theo mẫu bệnh án nghiên cứu và gắn mã nghiên cứu (Phụ lục 1)

❖ Bệnh nhân được khai thác bệnh sử và tiền sử

Người vợ:

- + Thời gian mong muốn có con
- + Tiền sử sản phụ khoa
- + Tiền sử mắc bệnh nội khoa, ngoại khoa

Người chồng:

- + Tiền sử dùng thuốc chống oxy hóa thời gian gần đây và thời gian dùng thuốc
- + Yếu tố ảnh hưởng: hút thuốc lá, uống rượu bia, nghiện ma túy.
- + Bệnh tật đã và đang mắc: Tiền sử quai bị, viêm sinh dục, giãn tĩnh mạch thừng tinh.
- + Nghề nghiệp: lái xe đường dài, làm việc trong môi trường nóng, nghề khác.

❖ Bệnh nhân trước khi thực hiện các quy trình thụ tinh trong ống nghiệm:

Đối với người vợ:

- + Khám toàn thân: Xem có bệnh gan, thận, tuyến giáp, tiểu đường, tăng huyết áp, bệnh tim mạch...

+ Khám phụ khoa: Xem có u xơ dưới niêm mạc, polip buồng tử cung, cổ tử cung, tử cung dị dạng, tử cung nhi hóa...

+ Xét nghiệm nội tiết cơ bản ngày 2, ngày 3 như estrogen, progesterone, FSH, LH, prolactin, AMH, T3, T4, TSH...

+ Siêu âm tử cung, buồng trứng đếm nang thứ cấp ngày 2 chu kỳ

Đôi với người chồng:

+ Quan sát vùng bẹn bìu: vết mổ...

+ Tinh hoàn: kích thước, thể tích, vị trí.

+ Thừng tinh: khám xem có giãn tĩnh mạch thừng tinh không.

+ Xét nghiệm tinh dịch đồ đánh giá các chỉ số mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động, hình thái tinh trùng theo thường quy của Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép có tham khảo WHO 2010, WHO 2021.

2.3.2. Quy trình kỹ thuật IVF/ICSI

➤ Kích thích buồng trứng bằng phác đồ đôi vận

➤ Theo dõi sự phát triển nang noãn bằng siêu âm và định lượng nội tiết.

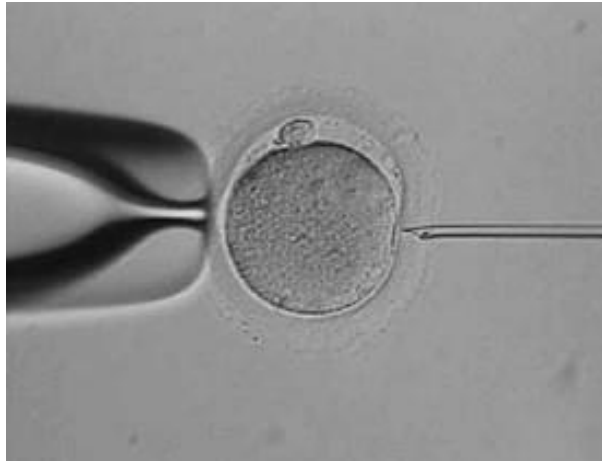
➤ Chọc hút noãn dưới siêu âm

➤ Các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản- ART trong phòng LAB (thu thập noãn, tách noãn, tiêm tinh trùng vào bào tương noãn).

➤ Mẫu tinh dịch được thu thập bằng xuất tinh, sau khi kiêng quan hệ vợ chồng 3-5 ngày và vào ngày chọc hút trứng cho vợ. Các mẫu tinh trùng được xét nghiệm tinh dịch đồ, xét nghiệm Halosperm và được chuẩn bị tinh trùng cho ICSI chủ yếu bằng phương pháp gradient nồng độ. Lựa chọn tinh trùng cho ICSI bằng kính hiển vi đảo ngược.

➤ Noãn được thụ tinh với tinh trùng bằng phương pháp ICSI

Là một kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm trong đó một tinh trùng được tiêm trực tiếp vào bào tương của một noãn.



Hình 2.1: Kỹ thuật ICSI⁷⁸

➤ Nuôi cấy phôi đến giai đoạn phôi phân cắt (phôi ngày 3) hoặc giai đoạn phôi nang (phôi ngày 5).

- Đánh giá chất lượng phôi dựa trên các tiêu chí về hình thái theo thường quy của Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép có tham khảo tiêu chuẩn đồng thuận ALPHA 2011 và Gardner cải tiến.

Tiêu chuẩn đánh giá chất lượng phôi

Bảng đồng thuận đánh giá phôi giai đoạn phân chia (thường quy của trung tâm Hỗ trợ sinh sản Bệnh viện Đại học Y Hà Nội có dựa trên đồng thuận ALPHA 2011)

Độ	Đánh giá	Mô tả
1	Tốt	phân mảnh <10% Kích thước tế bào giống nhau Không có đa nhân
2	Trung bình	phân mảnh từ 10-25% Kích thước phần lớn tế bào xấp xỉ nhau Không có đa nhân
3	Xấu	Phân mảnh nhiều (>25%) Kích thước tế bào không giống nhau Có hiện tượng đa nhân

Việc đánh giá chất lượng phôi giai đoạn phân cắt ngày 2 và ngày 3 chủ yếu dựa vào số lượng phôi bào, độ đồng đều về kích thước giữa các phôi bào, tỉ lệ mảnh vỡ bào tương và sự có mặt của phôi bào đa nhân.

Đồng thuận đánh giá chất lượng phôi nang (thường quy của trung tâm Hỗ trợ sinh sản Bệnh viện Đại học Y Hà Nội có dựa theo tiêu chuẩn cải tiến Gardner và Schoolcraft)

Chỉ tiêu đánh giá	Phân loại	Đặc điểm
<i>Tốc độ phát triển</i>	1	Phôi nang sớm
	2	Phôi nang
	3	Phôi nang nở rộng
	4	Thoát màng (đã hoàn tất hoặc đang thoát màng)
<i>Khối tế bào mầm phôi (ICM)</i>	A	Nổi bật, quan sát rõ, có nhiều tế bào kết khối và liên kết chặt
	B	Có thể quan sát rõ, nhiều tế bào nhưng không liên kết chặt
	C	Khó quan sát, có ít tế bào
<i>Lớp nguyên bào lá nuôi (TE)</i>	A	Nhiều tế bào, liên kết chặt với nhau thành một lớp liên tục
	B	Ít tế bào, liên kết rời rạc
	C	Rất ít tế bào

Một phôi ngày 5 có chất lượng tốt khi có độ giãn rộng tối đa tới giai đoạn thoát màng; khối tế bào mầm phôi nổi bật, ranh giới rõ; các tế bào lá nuôi phát triển, ranh giới rõ, liên kết giữa các tế bào chặt chẽ.

➤ Chuyển phôi: chuyển phôi tươi (ET) hoặc chuyển phôi đông lạnh (FET), giai đoạn phôi phân cắt hoặc giai đoạn phôi nang.

Khi chuyển phôi cần lựa chọn những phôi tốt nhất nhằm đạt được kết quả cao nhất. Ngày nay, các trung tâm hỗ trợ sinh sản có xu hướng là giảm số phôi chuyển trong một lần chuyển phôi để giảm tỉ lệ đa thai và chuyển phôi dưới hướng dẫn siêu âm.



Hình 2.2. Quy trình chuyển phôi⁷⁹

➤ Hỗ trợ pha hoàng thể và theo dõi sau chuyển phôi⁸⁰

Trong thụ tinh trong ống nghiệm, khi chọc hút noãn đã lấy đi một số lượng lớn tế bào hạt nên ảnh hưởng đến chức năng của hoàng thể.

Mặt khác phác đồ kích thích buồng trứng trong IVF sử dụng GnRH antagonist sẽ ức chế LH và ảnh hưởng đến chức năng của hoàng thể, rất quan trọng sau khi chuyển phôi.

Progesterone sẽ được dùng hỗ trợ pha hoàng thể, ngoài ra bổ sung thêm chất chủ vận GnRH để hỗ trợ hoàng thể trong chu kỳ ICSI ước tính sẽ tăng tỷ lệ thành công, tỷ lệ sinh sống.

➤ Theo dõi sau chuyển phôi:

- Xác định có thai bằng xét nghiệm β hCG > 25 IU sau chuyển phôi 2 tuần.

- Thai lâm sàng là thai kỳ được chẩn đoán bằng siêu âm có hình ảnh 1 hay nhiều túi thai hoặc có dấu hiệu lâm sàng rõ ràng của thai kỳ bao gồm cả thai ngoài tử cung.

- Theo dõi thai qua thăm khám và siêu âm đến thai 12 tuần.

2.3.3. Quy trình xét nghiệm tinh dịch đồ theo thường quy của trung tâm Hỗ trợ sinh sản Bệnh viện Đại học Y Hà Nội có dựa theo WHO 2010, WHO 2021^{31,32}

• **Thể tích tinh trùng**

Sử dụng xi lanh 5 ml hút toàn bộ tinh dịch và tính thể tích tinh dịch.

Đánh giá:

Thể tích tinh dịch $\geq 1,5$ ml được coi là thể tích bình thường.

• **Mật độ tinh trùng:**

Nhỏ 10 μ l tinh dịch đã ly giải và đã trộn đều vào buồng đếm Markler để trên bàn ấm 37°C, phủ nắp đậy và tiến hành đếm số lượng tinh trùng.

Đánh giá

○ Mật độ tinh trùng ≥ 15 triệu/ml được coi là mật độ bình thường.

○ Tổng số lượng tinh trùng trong tinh dịch ≥ 39 triệu được coi là bình thường.

• **Độ di động của tinh trùng:**

Nhỏ 10 μ l tinh dịch đã ly giải hoàn toàn và đã được lắc đều vào buồng đếm Markler, đậy nắp buồng đếm đúng kỹ thuật, phân tích 200 tinh trùng dưới kính hiển vi quang học với vật kính 20X.

Theo tiêu chuẩn WHO 2021, độ di động của tinh trùng được phân thành 4 loại như sau³²

Loại A: di động tiến tới nhanh ($> 25 \mu\text{m/s}$ ở 37°C).

Loại B: di động tiến tới chậm.

Loại C: di động không tiến tới ($< 5 \mu\text{m/s}$).

Loại D: không di động.

Đánh giá

Tỷ lệ $A \geq 30\%$ hoặc $A + B + C \geq 42\%$ được coi là tinh trùng di động bình thường.

• **Xác định tinh trùng sống:**

Phương pháp nhuộm Eosin

Nhỏ 30 μL tinh dịch lên lam kính

Nhỏ thêm 20 μL Eosin 1%, trộn đều 2 giọt trong 10 giây, đậy lamén

Đếm tổng số 200 tinh trùng dưới vật kính 40 X trên nhiều vi trường để xác định tinh trùng sống.

Đánh giá:

Tỷ lệ tinh trùng sống $\geq 58\%$ được coi là bình thường

• **Hình thái tinh trùng:**

Nhỏ 1 giọt tinh dịch sau ly giải lên lam kính

Sử dụng lamén dán mỏng tinh dịch

Để khô trong không khí

Phủ cồn 100% lên để khô trong không khí để cố định

Phủ Eosin 1% lên trong 2 phút

Rửa sạch bằng nước

Đậy lamén

Đánh giá tổng số 200 tinh trùng dưới kính hiển vi quang học vật kính dầu 100X trên nhiều vi trường

Tinh trùng bình thường

- Đầu: dạng oval, túi cực đầu chiếm 40-70% vùng đầu, không có không bào lớn hoặc hơn 2 không bào nhỏ, vùng sau túi cực đầu không có không bào.
- Cổ và đoạn trung gian: Mảnh, đều, dài tương đương vùng đầu, thẳng trục với đầu.

- Vùng đuôi chính: Mảnh hơn đuôi, gấp 10 lần chiều dài đầu, không có góc gấp.

Tinh trùng bất thường

- Bất thường đầu: To quá hoặc nhỏ quá, tròn, vô định hình, có không bào (hơn 2 không bào >20% vùng đầu), hoặc không bào vùng sau túi cực đầu, túi cực đầu quá nhỏ, quá to (<40% hoặc >70% vùng đầu), 2 đầu...

- Bất thường cổ và đoạn trung gian: gần không đối xứng với đầu, dày hoặc không đều, quá mỏng, gấp góc.

- Bất thường của đuôi: Ngắn, nhiều đuôi, gãy gấp, dây bất thường, cuộn...

Đánh giá:

Tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường $\geq 4\%$ được coi là mẫu tinh trùng có hình thái bình thường.

2.3.4. Quy trình kỹ thuật xét nghiệm xác định mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (Halosperm) theo thường quy của của trung tâm di truyền và gen Đại học Y Hà Nội.

Nguyên lý xác định mức độ phân mảnh DNA tinh trùng: dựa trên phương pháp đánh giá sự phân tán chất nhuộm sắc.

❖ **Người thực hiện:** Nhân lực trực tiếp: Bác sỹ Di truyền, Cán bộ xét nghiệm (kỹ thuật viên/cử nhân xét nghiệm) đã được đào tạo và có chứng chỉ hành nghề hoặc chứng nhận về chuyên ngành di truyền hoặc xét nghiệm; Số lượng: 02

❖ **Vật tư:**

+ Hoá chất sinh phẩm : Halosperm test, Thuốc nhuộm giêmsa, Cồn 70%, 90% và 100%

+ Đầu côn 100 ul và 1000 ul

+ Pipet nhựa

+ Ống eppendorf 1,5 ml, ống eppendorf 0,2ml

+ Lam kính

+ Khẩu trang

+ Găng tay vô trùng

+ Găng tay xử lý dụng cụ, quần áo bảo hộ, dung dịch nước rửa tay, cồn sát khuẩn tay nhanh, dung dịch khử trùng, khăn lau tay.

+ Giấy thấm, giấy xét nghiệm, sổ lưu kết quả xét nghiệm, bút viết kính, bút bi.

❖ **Trang thiết bị:**

+ Kính hiển vi quang học

+ Máy đếm tế bào

+ Bộ máy tính và máy in

+ Tủ lạnh thường

+ Tủ âm sâu -200C

+ Bình cách thủy

❖ Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu bệnh phẩm, hướng dẫn người bệnh phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.

- Loại mẫu bệnh phẩm: tinh dịch.

- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản : lọ nhựa vô khuẩn.

- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: điều kiện nhiệt độ phòng, nếu chưa thực hiện ngay trong vòng 2 giờ, mẫu cần được bảo quản tủ lạnh -4 °C trong vòng 24 giờ.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng...): tinh dịch được lấy vào lọ đựng tinh dịch bằng phương pháp thủ dâm sau 2 – 7 ngày không xuất tinh.

❖ Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: ghi đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm...

❖ Thời gian thực hiện kỹ thuật (ước tính, đơn vị là giờ): 5 giờ

❖ Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm di truyền sinh học phân tử.

❖ Các bước tiến hành

- Bước 1: Pha loãng mẫu tinh dịch bằng PBS 1x: 5 - 10 triệu/ml.

- Bước 2: Cho 25µl mẫu tinh dịch đã pha loãng vào tube chứa Agarose 37°C. Trộn đều bằng pipette.

- Bước 3: Nhỏ 1 giọt (10 - 15µl) hỗn hợp tinh dịch trên lên lam kính (nhỏ trên 2 giếng, mỗi giếng 1 giọt). Đặt lá kính lên (tránh bọt khí).

- Bước 4: Đặt tiêu bản vào ngăn mát tủ lạnh/5 phút: đến khi thạch đông.

- Bước 5: Lấy tiêu bản từ trong tủ lạnh ra, cẩn thận gỡ phiến kính. Để ở nhiệt độ phòng với vị trí tiêu bản nằm ngang cho đến khi khô hoàn toàn.

- Bước 6: Đặt tiêu bản vào khay chứa dung dịch biến tính, ngâm trong 7 phút ở nhiệt độ 22° C (nhiệt độ phòng). Dùng nhíp di chuyển tiêu bản cho thấm đều dung dịch biến tính.

- Bước 7: Chuyển tiêu bản sang khay chứa 10 ml dung dịch ly giải, ngâm 25 phút.

- Bước 8: Chuyển tiêu bản sang khay chứa nước cất để rửa dung dịch ly giải. Để yên trong nước cất 5 phút.

- Bước 9: Chuyển tiêu bản lần lượt sang các khay chứa ethanol 70% (2 phút), ethanol 90% (2 phút), ethanol 100% (2 phút).

- Bước 10: Lấy tiêu bản khỏi khay và để khô tiêu bản ở nhiệt độ phòng.

- Nhuộm: Giemsa 10% trong 7 - 10 phút.

❖ Nhận định kết quả

○ Xem xét kết quả QC (có thể chạy QC trước hoặc QC song song tùy thuộc loại xét nghiệm): Sử dụng mẫu tinh dịch và thực hiện chứng âm và chứng dương. Chứng âm là chứng mà khi tất cả vi trường không hiển thị quầng sáng halo. Chứng dương là chứng khi tất cả tinh trùng trong các vi trường đều có quầng halo.

○ Đọc kết quả và nhận định kết quả: Cần quan sát tối thiểu 500 tinh trùng dưới kính hiển vi quang học với các thông số sau:

Tinh trùng không bị phân mảnh DNA:

- Tinh trùng với “Halo” rộng - “Halo” halo lớn hơn hoặc bằng kích thước nhân.
- Tinh trùng với “Halo” trung bình: kích thước halo trung bình.

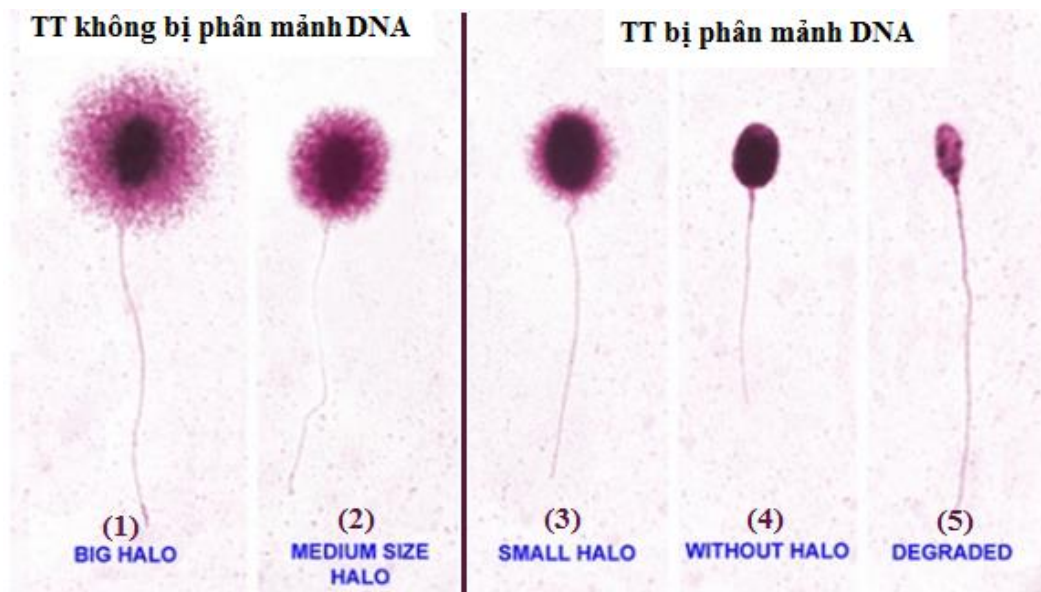
Tinh trùng bị phân mảnh DNA:

- Tinh trùng với “Halo” nhỏ - “Halo” bằng 1/3 hoặc bé hơn 1/3 kích thước nhân.

- Tinh trùng không có “Halo”.
- Tinh trùng không có “Halo” và thoái hóa- có nghĩa là không xuất hiện “Halo”, đồng thời nhân có hình dạng không bình thường và bắt màu thuốc nhuộm yếu.

Sau khi quan sát lam kính dưới kính hiển vi quang học và đếm ít nhất 500 tinh trùng có đuôi trong tinh dịch để xác định phân mảnh DNA tinh trùng. Xác định bằng quãng halo của tinh trùng theo Fernandez 2003 (hình 1). Độ đứt gãy DNA tinh trùng được tính theo công thức sau:

$$DFI = \frac{TT \text{ có halo nhỏ} + TT \text{ không có halo} + TT \text{ thoái hóa}}{\text{Tổng số TT đếm được}} \times 100\%$$



Hình 2.3. Hình ảnh tinh trùng có quãng halo và không có quãng halo

(1) Tinh trùng có quãng halo lớn (Big halo): Kích thước quãng halo \geq đường kính ngang của nhân.

(2) Tinh trùng có quãng halo vừa (Medium halo): $1/3$ đường kính ngang của nhân $<$ kích thước quãng halo $<$ đường kính ngang của nhân.

(3) Tinh trùng có quãng halo nhỏ (Small halo): Kích thước quãng halo $\leq 1/3$ đường kính ngang của nhân.

(4) Tinh trùng không có quãng halo (Without halo).

(5) Tinh trùng thoái hóa (Degraded): Tinh trùng có nhân bắt màu kém, không đều.⁸¹

- **Đánh giá**

- *DFI < 15% là tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng thấp.*
- *DFI: 15 - 30%: tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng trung bình.*
- *DFI > 30%: tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng cao*

2.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

2.4.1. Đặc điểm về đối tượng nghiên cứu

- * **Người chồng**

- Tuổi
- Thời gian vô sinh
- BMI (chỉ số khối cơ thể)
- Nghề nghiệp
- Yếu tố ảnh hưởng
- Bệnh tật:
 - + Tại cơ quan sinh dục: giãn tĩnh mạch thừng tinh, viêm sinh dục, quai bị
 - + Bệnh toàn thân: đái tháo đường, tăng huyết áp...
- Các biến số về tinh dịch đồ:
 - + Mật độ tinh trùng
 - + Tỷ lệ tinh trùng di động
 - + Hình thái tinh trùng: Hình thái tinh trùng bình thường, hình thái tinh trùng bất thường đầu, bất thường cổ- trung gian, đuôi.
- Các biến số về phân mảnh DNA tinh trùng (DFI)
 - + DFI < 15%
 - + DFI 15-30%
 - + DFI > 30%
- * **Người vợ**
 - Tuổi
 - BMI

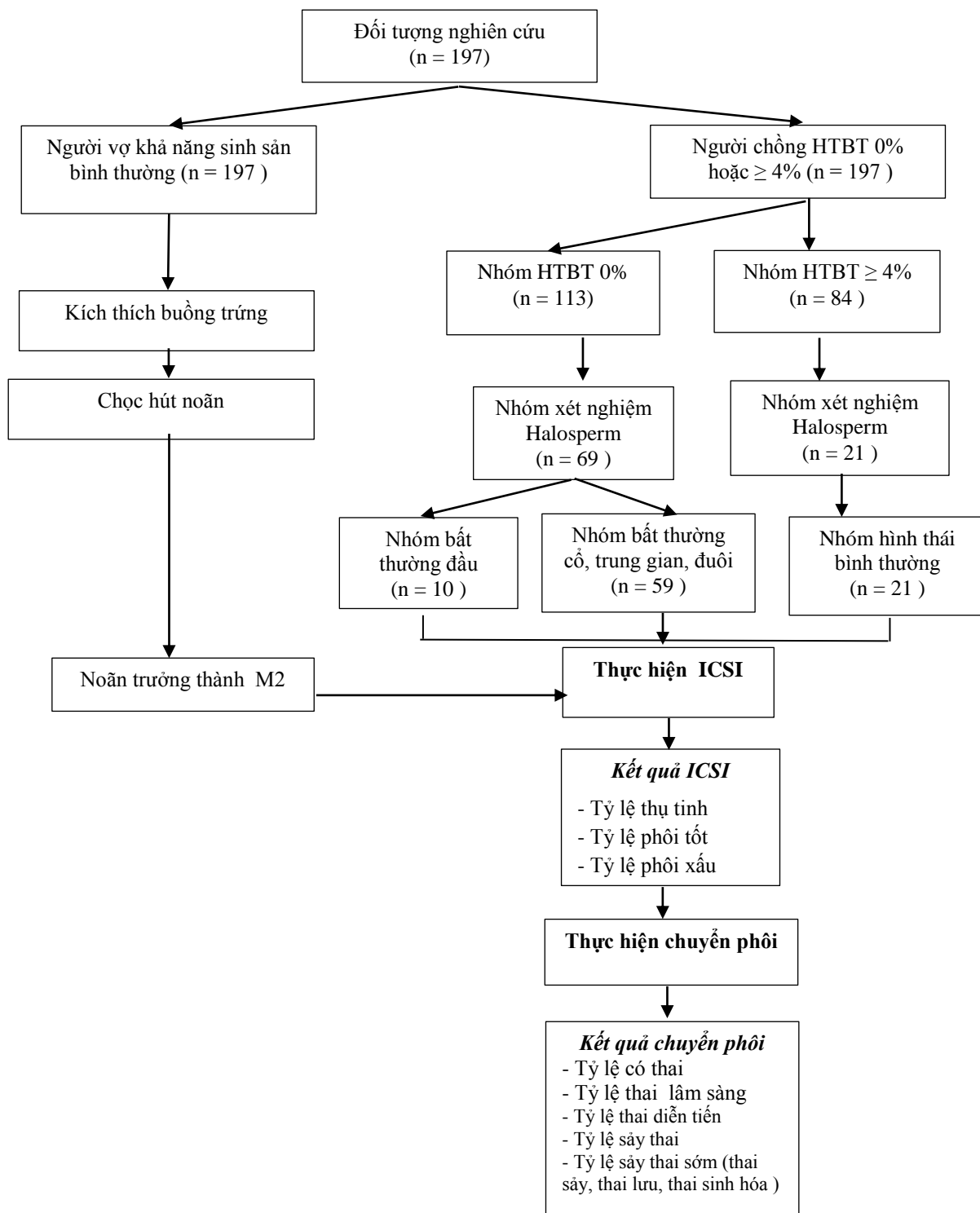
- Thời gian vô sinh
- Số nang thứ cấp (AFC)
- Hormon kháng ống Mullerian (AMH)
- Số noãn trưởng thành (M2)

2.4.2. Các biến số về thụ tinh ống nghiệm

- Tỷ lệ thụ tinh
- Tỷ lệ phôi tốt
- Tỷ lệ phôi xấu
- Chuyển phôi tươi (ET): số chu kỳ, số phôi chuyển,...
- Chuyển phôi đông lạnh (FET): số chu kỳ, số phôi chuyển,...
- Thời gian chuyển phôi: ngày 3, ngày 5
- Tỷ lệ có thai
- Tỷ lệ thai lâm sàng
- Tỷ lệ thai diễn tiến
- Tỷ lệ sảy thai
- Tỷ lệ sảy thai sớm (EPL)
- Tỷ lệ thai sinh hóa

QUY TRÌNH NGHIÊN CỨU

CHỌN BỆNH NHÂN (tương đồng về người vợ)



Sơ đồ 2.1: Quy trình nghiên cứu

(HTBT: hình thái tinh trùng bình thường)

2.5. Một số thuật ngữ và định nghĩa trong luận án

- Hình thái tinh trùng bình thường là những mẫu tinh trùng có hình dạng tinh trùng bình thường hoàn toàn về đầu, cổ- trung gian, đuôi.

- Hình thái tinh trùng bất thường là những mẫu tinh trùng có hình dạng bất thường ít nhất là 1 trong 3 yếu tố đầu, cổ- trung gian, đuôi.

- BMI (kg/m^2): chỉ số khối cơ thể

- Nghề nghiệp:

+ Lái xe đường dài

+ Làm việc môi trường nóng: làm việc ngày ≥ 8 giờ trong môi trường nóng và đã tiếp xúc ít nhất 3 tháng.

- Yếu tố ảnh hưởng:

+ Hút thuốc lá nhiều: ≥ 20 điếu/ngày và ít nhất đã sử dụng 3 tháng.

+ Uống rượu nhiều: uống liên tục 200ml/ngày tương đương 80g cồn Ethanol nguyên chất và ít nhất đã sử dụng 3 tháng.

+ Uống bia nhiều: uống liên tục 2 lít/ngày tương đương 100g cồn Ethanol nguyên chất và ít nhất đã sử dụng 3 tháng.

- Quai bị:

+ Trước dậy thì

+ Sau dậy thì

- Tinh dịch đồ theo thường quy của Trung tâm Hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép Đại học Y Hà Nội có tham khảo WHO 2010, WHO 2021

- Chuyển phôi và xác nhận có thai:

+ Phôi được chuyển ngày 3 hoặc ngày 5.

+ Chuyển phôi tươi hoặc chuyển phôi đông lạnh.

- Xác định tỉ lệ thụ tinh = số noãn thụ tinh/ tổng số noãn ICSI. Sự thụ tinh được đánh giá 16-18h sau ICSI. Noãn đã thụ tinh là khi có 2 tiền nhân quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược.

- Xác định tỷ lệ làm tổ = tổng số túi ối/tổng số phôi chuyển vào buồng tử cung.
- Xác định có thai sinh hóa: Việc mang thai chỉ được chẩn đoán bằng phát hiện β hCG trong máu hoặc nước tiểu. Thai sinh hóa là khi định lượng β hCG \geq 25 IU/l nhưng không phát triển thành thai lâm sàng.
- Xác định có thai: Định lượng β hCG trong máu 2 tuần sau chuyển phôi. Nếu β hCG \geq 25 IU/ml là có thai. Nếu β hCG $<$ 25IU/ml là không có thai.
- Xác định có thai lâm sàng: Thai kỳ được chẩn đoán bằng siêu âm có hình ảnh 1 hay nhiều túi thai hoặc có dấu hiệu lâm sàng rõ ràng của thai kỳ bao gồm cả thai ngoài tử cung.
- Tỷ lệ thai lâm sàng = số ca mang thai lâm sàng/100 chu kỳ chuyển phôi hoặc chu kỳ chọc trứng.
- + Tỷ lệ thai lâm sàng/chu kỳ = số trường hợp có thai lâm sàng/số trường hợp chọc trứng.
- + Tỷ lệ thai lâm sàng/chuyển phôi = số trường hợp có thai lâm sàng/số trường hợp chuyển phôi.
- Sảy thai sớm – EPL (gồm thai sinh hóa, sảy thai, thai lưu- Early Pregnancy Loss) theo nghiên cứu của Lê Minh Tâm năm 2021.⁷⁶
- Sảy thai trong quý đầu: được xác định khi sảy thai ra khỏi buồng tử cung.
- Thai lưu được xác định bằng siêu âm khi có túi ối nhưng không có hoạt động của tim thai ở tuổi thai 8 tuần hoặc đã có hoạt động của tim thai sau đó không còn hoạt động của tim thai nữa.
- Thai diễn tiến là thai phát triển sau 12 tuần không xảy ra các biến cố như sảy thai, thai lưu.
- Tỷ lệ thai diễn tiến: tính bằng tổng số trường hợp có thai phát triển đến sau tuần thứ 12 trong tổng số các trường hợp có thai lâm sàng.

2.6. Xử lý và phân tích số liệu

* Số liệu được thu thập theo mẫu nghiên cứu, được nhập trên phần mềm SPSS 20.0. Các sai số có thể gặp trong quá trình thu thập số liệu, sai số phép đo, sai số trong nhập số liệu, sai số nhớ lại của bệnh nhân được chúng tôi khắc phục bằng cách thăm khám kỹ lâm sàng, hỏi bệnh tỉ mỉ, chi tiết, khai thác kỹ tiền sử từ bệnh nhân và người nhà của bệnh nhân. Chọn bệnh nhân theo đúng tiêu chuẩn chọn mẫu và đúng theo 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 để tránh sai số phỏng vấn, rồi làm sạch số liệu trước khi xử lý số liệu.

* Xử lý số liệu theo chương trình SPSS 20.0, các biến định lượng được biểu thị dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn ($X \pm SD$) và trung vị (phạm vi), trong khi dữ liệu phân loại được báo cáo dưới dạng tỉ lệ phần trăm (%), khoảng tin cậy 95% CI, p value, so sánh các tỉ lệ bằng kiểm định “khi” bình phương (X^2) cho các biến phân loại, so sánh các giá trị trung bình bằng T-Student test cho 2 nhóm nghiên cứu độc lập, kiểm định Anova cho 3 nhóm nghiên cứu độc lập theo quy luật phân phối chuẩn, kiểm định Mann Whitney U test cho 2 nhóm độc lập không có phân phối chuẩn. Sự phụ thuộc lẫn nhau của các biến số được kiểm định bằng cách tính toán hệ số tương quan Pearson, hệ số tương quan Spearman cho các biến xếp hạng (r_s), mô hình hồi quy tuyến tính cho biến phụ thuộc là biến số lượng, mô hình hồi quy Logistic cho biến phụ thuộc là biến phân loại, biến thứ bậc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

*Tương quan giữa 2 biến xếp hạng: được đánh giá dựa vào hệ số tương quan Spearman (r). Trong đó: $r > 0$ là tương quan thuận và $r < 0$ là tương quan nghịch. Mức độ tương quan được đánh giá như sau:

$|r| < 0,3$: tương quan yếu.

$0,3 \leq |r| < 0,5$: tương quan trung bình.

$0,5 \leq |r| \leq 0,7$: tương quan khá chặt chẽ.

$|r| > 0,7$: tương quan chặt chẽ.

* Các giá trị dự đoán của các tham số thu được xác định bằng đường cong đặc tính hoạt động ROC và diện tích dưới đường cong (AUC), có tính đến sai số chuẩn SE và khoảng tin cậy 95% CI. Các mức AUC sau đây được giả định:

- AUC = 0,9-1: giá trị dự đoán rất tốt
- AUC > 0,8-0,9: giá trị dự đoán tốt
- AUC > 0,7-0,8: có giá trị dự đoán trung bình
- AUC > 0,6-0,7: giá trị dự đoán không tốt
- AUC = 0,5-0,6: không có giá trị dự đoán hay vô dụng.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Các đối tượng tham gia nghiên cứu này đều tự nguyện, đồng ý tham gia nghiên cứu, có mẫu phiếu cam kết nghiên cứu. Danh sách bệnh nhân và toàn bộ thông tin về bệnh nhân được bảo mật, được Giám đốc Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản và công nghệ mô ghép Bệnh viện Đại học Y Hà Nội cho phép nghiên cứu và được sự chấp thuận của hội đồng đạo đức trường Đại học Y Hà Nội QĐ số: 141/GCN-HĐĐĐNCYSH - ĐHYHN 15/07/2020.

Đây là nghiên cứu mô tả thuần tập theo dõi dọc tiến cứu không có can thiệp, các hoạt động nghiên cứu không ảnh hưởng đến sức khỏe, kinh tế, cuộc sống hoặc gây ra những nguy cơ bất lợi khác đối với bệnh nhân, không ảnh hưởng đến phác đồ điều trị của bệnh nhân.

Tất cả bệnh nhân thực hiện IVF/ICSI trong đối tượng nghiên cứu đều được thông báo và giải thích rõ ràng về mục đích nghiên cứu, có quyền không tham gia nghiên cứu nếu họ không muốn.

Tất cả các bệnh nhân nghiên cứu đều được tư vấn và hướng dẫn cách điều trị, theo dõi beta hcG và theo dõi đến thai 12 tuần.

Các số liệu thu thập được chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu và chăm sóc sức khỏe cho người bệnh, không phục vụ cho bất kỳ mục đích nào khác. Kết quả nghiên cứu đảm bảo tính khách quan, trung thực, tuân thủ theo đề cương nghiên cứu.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong 3 năm nghiên cứu (từ tháng 8/2020 – tháng 8/2022), chúng tôi thu thập được 197 cặp vợ chồng vô sinh theo tiêu chuẩn nghiên cứu, sau đó chuyển phôi và theo dõi đến thai 12 tuần, phục vụ cho mục tiêu một. 90 cặp vợ chồng trong số đó được làm xét nghiệm Halosperm, 82 cặp vợ chồng được chuyển phôi tươi, chuyển phôi đông lạnh và theo dõi có thai đến 12 tuần, phục vụ cho mục tiêu hai.

3.1. Kết quả về mối liên quan giữa đặc điểm hình thái tinh trùng và kết quả ICSI

3.1.1. Đặc điểm lâm sàng người chồng của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Bảng 3.1: So sánh đặc điểm lâm sàng người chồng trong 2 nhóm hình thái tinh trùng

Nhóm Đặc điểm	N1 – Hình thái tinh trùng bất thường n = 113	N2 – Hình thái tinh trùng bình thường n = 84	p ^(*)
Tuổi (năm) $\bar{X} \pm SD$	34,21 ± 6,54	32,81 ± 4,47	0,223
BMI (kg/m ²) $\bar{X} \pm SD$	22,93 ± 2,17	23,39 ± 2,5	0,858
Thời gian vô sinh (năm) $\bar{X} \pm SD$	3,74 ± 2,74	3,12 ± 2,1	0,039

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ chuẩn lệch.

(^{*}): Mann Whitney U test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê, BMI: chỉ số khối cơ thể.

Nhận xét:

- Tuổi trung bình của 2 nhóm nghiên cứu là $33,6 \pm 5,78$ (năm). Thấp nhất là 23 năm, cao nhất là 66 năm. Tuổi trung bình của nhóm N1- hình thái bất thường cao hơn tuổi trung bình N2- nhóm hình thái tinh trùng bình thường, sự khác biệt về tuổi giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Chỉ số BMI trung bình của 2 nhóm nghiên cứu là tương đồng nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Thời gian vô sinh trung bình của nhóm N1 cao hơn nhóm N2, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,039$.

Bảng 3.2: Tương quan giữa đặc điểm lâm sàng người chồng và hình thái tinh trùng

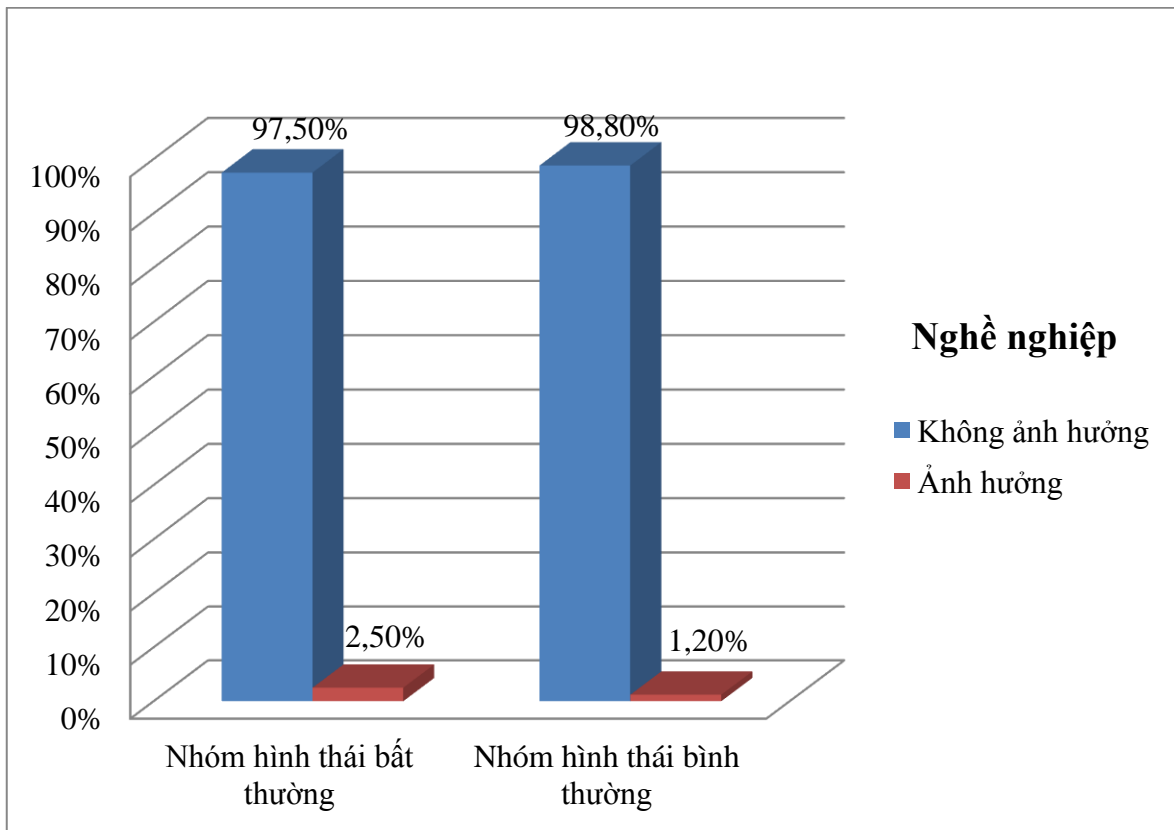
Đặc điểm lâm sàng	Hình thái tinh trùng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tuổi (năm)	0,087	0,224
BMI (kg/m ²)	0,013	0,859
Thời gian vô sinh (năm)	-0,147	0,039

BMI: chỉ số khối cơ thể, (**): Tương quan Spearman, $p \leq 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Không thấy mối tương quan giữa tuổi, BMI của người chồng với hình thái tinh trùng, với $p > 0,05$.

- Có mối tương quan giữa hình thái tinh trùng với thời gian vô sinh, thời gian vô sinh càng dài thì càng có nhiều tinh trùng bị bất thường về hình thái, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.



Biểu đồ 3.1: Sự phân bố nghề nghiệp của 2 nhóm

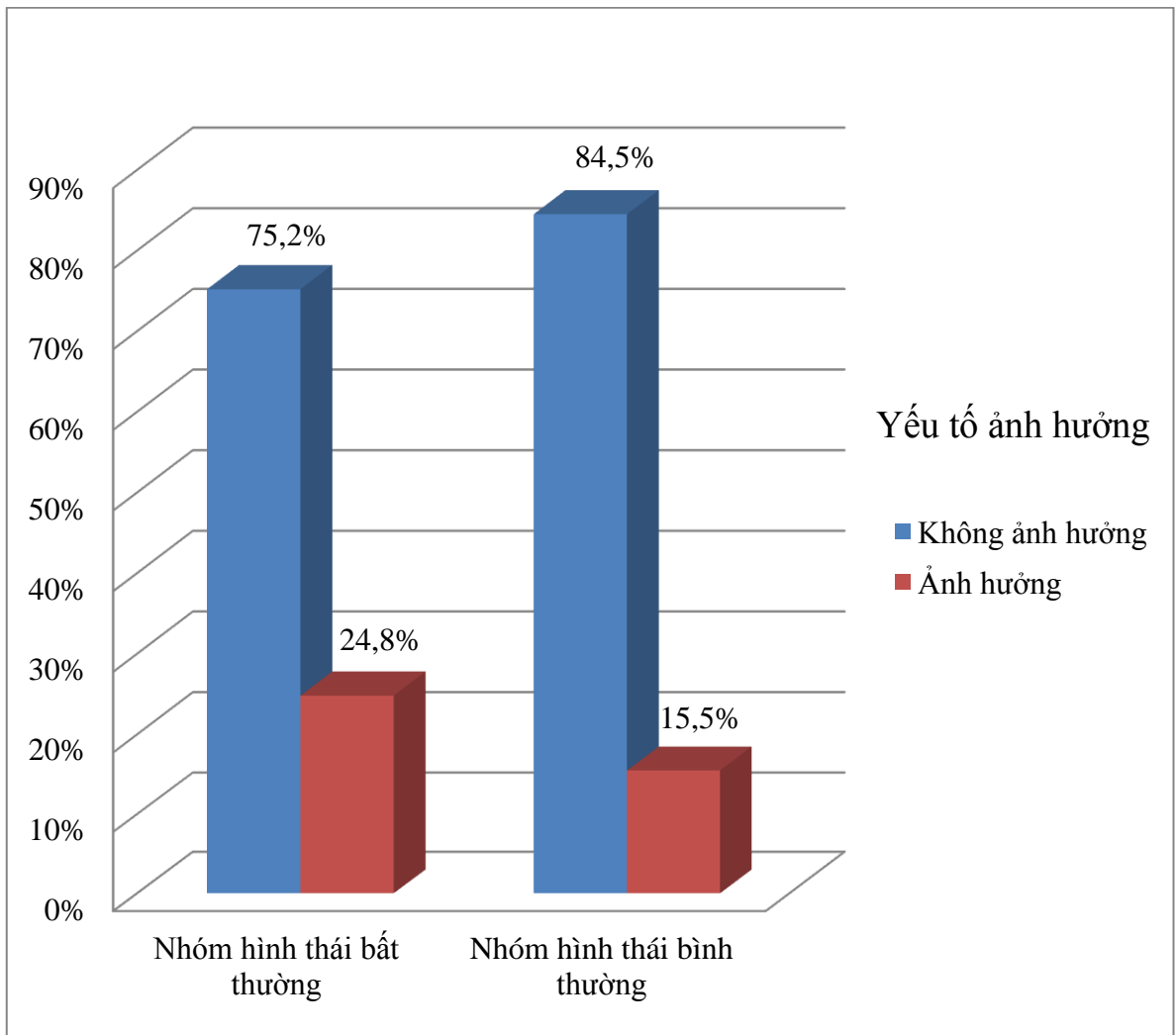
Nghề nghiệp ảnh hưởng đến hình thái tinh trùng: nghề nghiệp lái xe đường dài, làm việc trong môi trường nóng.

Nghề nghiệp không ảnh hưởng: nhóm những nghề nghiệp khác.

Chi-square test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự tương đồng về phân bố nghề nghiệp trong 2 nhóm hình thái tinh trùng bất thường N1 và hình thái tinh trùng bình thường- N2, $p > 0,05$. Nhóm nghề không ảnh hưởng chiếm tỉ lệ cao hơn, còn nhóm nghề ảnh hưởng đến chất lượng tinh dịch như nghề lái xe, nghề nghiệp trong môi trường nóng chiếm tỉ lệ thấp hơn, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.2: Sự phân bố yếu tố ảnh hưởng đến 2 nhóm

Nhóm yếu tố ảnh hưởng tinh dịch đồ: hút thuốc lá, uống rượu, ma túy.

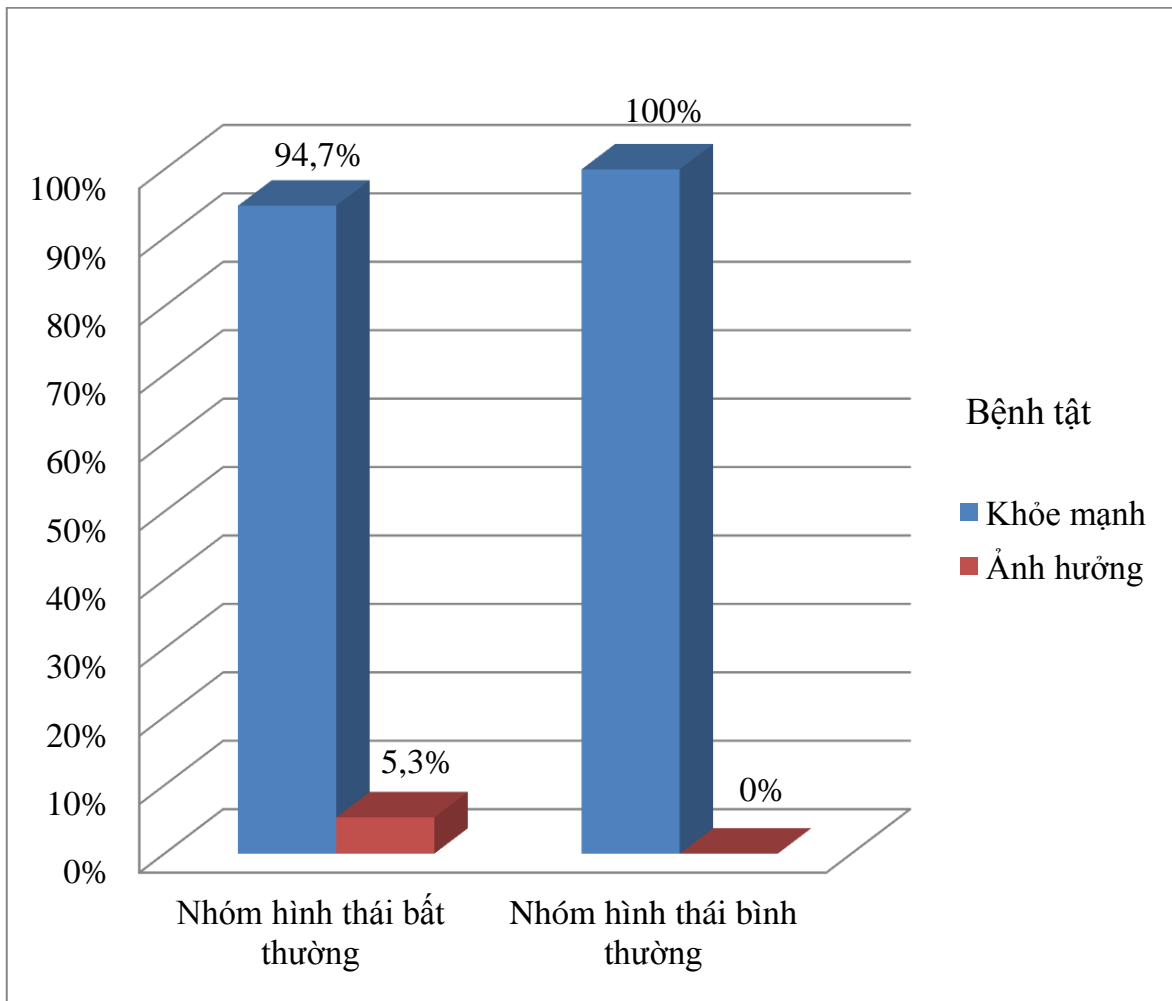
Nhóm yếu tố không ảnh hưởng: yếu tố khác.

Chi-square test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự tương đồng trong phân bố yếu tố nguy cơ giữa 2 nhóm nghiên cứu với $p > 0,05$.

- Nhóm yếu tố không ảnh hưởng đến tinh dịch đồ chiếm tỉ lệ cao, còn nhóm yếu tố ảnh hưởng đến tinh dịch đồ như hút thuốc, uống rượu, ma túy chiếm tỉ lệ thấp với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.3: Sự phân bố bệnh tật của 2 nhóm

Một số bệnh ảnh hưởng đến vô sinh: quai bị, viêm sinh dục, giãn tĩnh mạch thừng tinh.
Fisher exact test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự khác biệt về phân bố mô hình bệnh tật trong 2 nhóm hình thái tinh trùng chủ yếu là những đối tượng khỏe mạnh, còn những đối tượng bị bệnh ảnh hưởng đến vô sinh như quai bị, giãn tĩnh mạch thừng tinh, viêm sinh dục...chiếm tỉ lệ thấp.

- Sự phân bố mô hình bệnh tật trong nhóm N1 và nhóm N2 khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê, với $p = 0,039$.

3.1.2. Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng với mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động

Bảng 3.3: So sánh 2 nhóm hình thái tinh trùng về mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động

Nhóm	N1 – Hình thái tinh trùng bất thường n = 113	N2 – Hình thái tinh trùng bình thường n = 84	p
Đặc điểm			
MĐTT (triệu/ml) $\bar{X} \pm SD$	48,68 ± 40,68	81,85 ± 47,57	0,001 (*)
TTDD (%) $\bar{X} \pm SD$	30,96 ± 17,22	46,18 ± 14,05	0,001 (***)

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

MĐTT: Mật độ tinh trùng, TTDD (%): tỷ lệ tinh trùng di động. (*): Mann Whitney U test, (**): T test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Mật độ tinh trùng trung bình, tỷ lệ tinh trùng di động trung bình của nhóm N2 cao hơn nhóm N1, có ý nghĩa thống kê với p = 0,001.

Bảng 3.4: Mối tương quan giữa hình thái tinh trùng với mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động

Đặc điểm	Hình thái tinh trùng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
MĐTT (triệu/ml)	-0,398	0,001
Tỷ lệ TTDD (%)	-0,421	0,001

MĐTT: Mật độ tinh trùng, TTDD(%): tỷ lệ tinh trùng di động.

(**): Tương quan Spearman, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động với hình thái tinh trùng có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

3.1.3. Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm hình thái tinh trùng

Bảng 3.5: So sánh đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm hình thái tinh trùng

Nhóm Đặc điểm	N1 Nhóm hình thái tinh trùng bất thường	N2 Nhóm hình thái tinh trùng bình thường	p^(*)
Tuổi (năm) $\bar{X} \pm SD$	30,84 ± 4,64	30,23 ± 4,27	0,418
BMI (kg/m²) $\bar{X} \pm SD$	20,73 ± 2,49	20,73 ± 2,72	0,732
Thời gian vô sinh (năm, $\bar{X} \pm SD$)	3,81 ± 2,76	3,17 ± 2,48	0,042
AMH (ng/ml) $\bar{X} \pm SD$	3,78 ± 3,82	3,78 ± 26,8	0,583
AFC (nang) $\bar{X} \pm SD$	13,21 ± 6,38	13,07 ± 6,31	0,38

BMI: chỉ số khối cơ thể, AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian.

Các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

(*): Test Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm nghiên cứu có sự tương đồng về các yếu tố: Tuổi, BMI, AFC, AMH với $p > 0,05$.

- Thời gian vô sinh trung bình của 2 nhóm có sự khác biệt, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,042$.

3.1.4. Mối liên quan của kết quả noãn - phôi với hình thái tinh trùng

Bảng 3.6: So sánh kết quả noãn – phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Nhóm Đặc điểm	N1 Nhóm hình thái tinh trùng bất thường n = 113	N2 Nhóm hình thái tinh trùng bình thường n = 84	p (*)
M2 (noãn) $\bar{X} \pm SD$	11,81 ± 7	11,01 ± 6,9	0,504
Tỷ lệ thụ tinh (%) $\bar{X} \pm SD$	88,02 ± 14,63	90,28 ± 10,83	0,5
Tỷ lệ phôi tốt (%) $\bar{X} \pm SD$	28,99 ± 24,47	29,34 ± 25,52	0,961
Tỷ lệ phôi xấu (%) $\bar{X} \pm SD$	30,19 ± 27,98	27,64 ± 25,08	0,669

M2: Số noãn trưởng thành.

Các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

(*): Test Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Đặc điểm noãn- phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng có sự tương đồng với $p > 0,05$.

Bảng 3.7: Mối tương quan giữa hình thái tinh trùng với thụ tinh, phôi

Đặc điểm	Hình thái tinh trùng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tỷ lệ thụ tinh (%)	-0,048	0,502
Tỷ lệ phôi tốt (%)	0,003	0,962
Tỷ lệ phôi xấu (%)	0,03	0,671

(**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Chưa tìm thấy mối tương quan Spearman giữa hình thái tinh trùng với tỉ lệ thụ tinh và chất lượng phôi với $p > 0,05$.

3.1.5. Kết quả sau mỗi chu kỳ chuyển phôi

Bảng 3.8: So sánh kết quả sau mỗi lần chuyển phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Nhóm Đặc điểm	N1 Nhóm hình thái tinh trùng bất thường n = 113	N2 Nhóm hình thái tinh trùng bình thường n = 84	p (*)
Số phôi chuyển $\bar{X} \pm SD$	2,7 ± 1,62	2,76 ± 1,38	0,388
Tỉ lệ làm tổ (%) $\bar{X} \pm SD$	43,95 ± 39,12	40,67 ± 36,78	0,609
Tỉ lệ có thai (%) $\bar{X} \pm SD$	66,51 ± 42,82	61,3 ± 38,7	0,449
Tỉ lệ thai lâm sàng (%, $\bar{X} \pm SD$)	59,14 ± 45,21	58,32 ± 41,68	0,918
Tỉ lệ thai diễn tiến (%) $\bar{X} \pm SD$	49,7 ± 46,35	54,95 ± 45,05	0,428
Tỉ lệ sảy thai (%) $\bar{X} \pm SD$	17,11	5,75	0,012

Các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

(*): Test Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Số phôi chuyển trung bình của 2 nhóm trong 1 chu kỳ chuyển phôi tươi hoặc chuyển phôi đông lạnh là $2,73 \pm 1,52$ phôi, số phôi chuyển có sự tương đồng nhau với $p > 0,05$.

- Tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai, tỉ lệ thai lâm sàng của nhóm N1 cao hơn nhóm N2, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tỷ lệ thai diễn tiến của nhóm N2 cao hơn của nhóm N1 không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tỷ lệ sảy thai trung bình của 2 nhóm là 12,26%; tỷ lệ sảy thai trung bình của nhóm N1 cao hơn tỷ lệ sảy thai trung bình của nhóm N2, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,012$.

Bảng 3.9: Mối tương quan giữa hình thái tinh trùng và kết quả sau mỗi chu kỳ chuyển phôi

Đặc điểm	Hình thái tinh trùng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tỷ lệ làm tổ (%)	0,039	0,589
Tỷ lệ có thai (%)	0,054	0,45
Tỷ lệ thai lâm sàng (%)	0,07	0,918
Tỷ lệ thai diễn tiến (%)	-0,057	0,429
Tỷ lệ sảy thai (%)	0,186	0,011

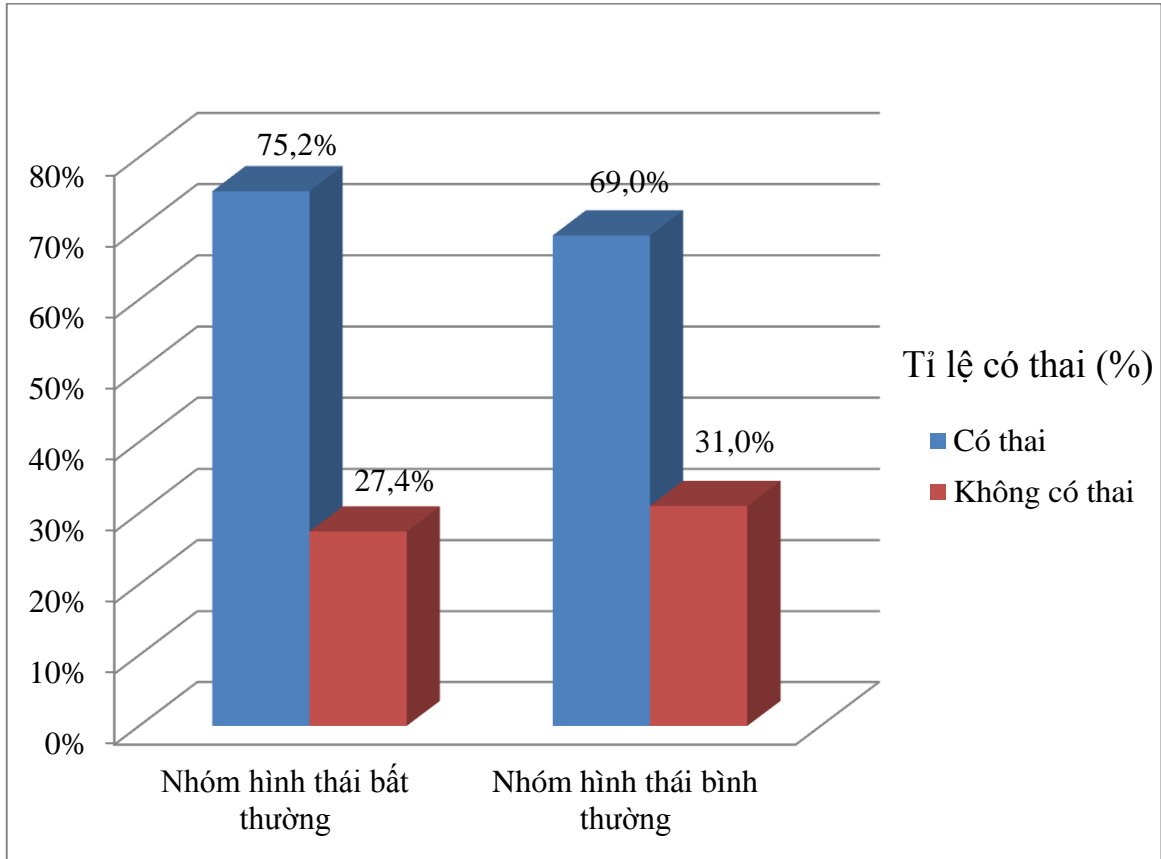
(**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Chưa tìm thấy mối tương quan Spearman giữa hình thái tinh trùng với tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ có thai, tỷ lệ có thai lâm sàng, tỷ lệ có thai diễn tiến, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Có mối tương quan Spearman giữa hình thái tinh trùng và tỷ lệ sảy thai sớm, tinh trùng bất thường làm tăng tỷ lệ sảy thai sớm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.1.6. Sự phân bố tỉ lệ có thai, không có thai của 2 nhóm hình thái tinh trùng



Biểu đồ 3.4: Kết quả có thai của 2 nhóm

Chi- Square Test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Sự phân bố tỉ lệ có thai cao hơn tỉ lệ không có thai trong nhóm N1- nhóm hình thái tinh trùng bất thường và N2- nhóm hình thái tinh trùng bình thường.

- Sự phân bố tỉ lệ có thai giữa các nhóm không có sự khác biệt với $p > 0,05$.

Bảng 3.10: Môi tương quan giữa tỉ lệ có thai lâm sàng và các yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ có thai lâm sàng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
NGƯỜI VỢ		
Tuổi (năm)	-0,252	0,001
BMI (kg/m ²)	-0,093	0,192
Thời gian vô sinh (năm)	-0,102	0,152
AMH (ng/ml)	0,253	0,001
AFC (nang)	0,165	0,02
NGƯỜI CHỒNG		
Tuổi (năm)	-0,17	0,017
BMI (kg/m ²)	-0,031	0,667
Thời gian vô sinh (năm)	-0,12	0,093
MĐTT (triệu/ml)	0,087	0,222
TTĐĐ (%)	-0,001	0,985
Hình thái tinh trùng (%)	0,007	0,918
Số noãn M2	0,235	0,001
Số phôi chuyển	-0,348	0,001
Tỉ lệ thụ tinh (%)	0,115	0,108
Tỉ lệ phôi tốt (%)	0,251	0,001
Tỉ lệ phôi xấu (%)	-0,1	0,16

BMI: chỉ số khối cơ thể, AMH: hormon kháng ống Mullerian. AFC: số nang thứ cấp, MĐTT: mật độ tinh trùng, TTĐĐ: Tỷ lệ tinh trùng di động, M2: noãn trưởng thành.

(**): Tương quan Spearmann, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa tuổi người vợ, tuổi chồng, số phôi chuyển và tỉ lệ có thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Có mối tương quan thuận chiều giữa AMH, AFC, M2, chất lượng phôi tốt với tỉ lệ có thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa các yếu tố khác và tỉ lệ có thai lâm sàng với $p > 0,05$.

Bảng 3.11: Mối tương quan giữa tỉ lệ sảy thai và các yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ sảy thai	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
NGƯỜI VỢ		
Tuổi (năm)	0,021	0,771
BMI (kg/m ²)	0,024	0,74
Thời gian vô sinh (năm)	0,004	0,96
AMH (ng/ml)	0,14	0,163
AFC (nang)	0,028	0,696
NGƯỜI CHỒNG		
Tuổi (năm)	-0,018	0,802
BMI (kg/m ²)	0,046	0,524
Thời gian vô sinh (năm)	0,019	0,795
MĐTT (triệu/ml)	-0,097	0,173
TTDD (%)	-0,039	0,588
Hình thái tinh trùng (%)	0,18	0,011
Số noãn M2	0,029	0,685
Số phôi chuyển	0,168	0,018
Tỉ lệ thụ tinh (năm)	0,078	0,278
Tỉ lệ phôi tốt (%)	0,03	0,67
Tỉ lệ phôi xấu (%)	0,009	0,899

BMI: chỉ số khối cơ thể, AMH: hormon kháng ống Mullerian, AFC: số nang thứ cấp.

MĐTT: mật độ tinh trùng, TTDD: Tỷ lệ tinh trùng di động.

M2: noãn trưởng thành. (**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa hình thái tinh trùng và tỷ lệ sảy thai. Tinh trùng bất thường đầu, trung gian, đuôi làm tăng tỷ lệ sảy thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Có mối tương quan giữa số phôi chuyển trung bình trong một chu kỳ với tỷ lệ sảy thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa đặc điểm người vợ, đặc điểm người chồng hay kết quả noãn phôi với tỉ lệ sảy thai, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Có mối tương quan tuyến tính giữa tỉ lệ sảy thai sớm và hình thái tinh trùng theo Spearman ($r = 0,18$, $p = 0,011$).

3.1.7. Kết quả của chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh

Bảng 3.12: Kết quả sau chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh

Chu kỳ	Chu kỳ chuyển phôi tươi n = 18		Chu kỳ chuyển phôi đông lạnh (n = 250)	
	Phôi ngày 3 n = 16 (88,89%)	Phôi ngày 5 n = 2 (11,11%)	Phôi ngày 3 n = 155 (62%)	Phôi ngày 5 n = 95 (38%)
Kết quả				
Tỉ lệ có thai (%)	6/18 (33,33%)		135/250 (54%)	
Tỉ lệ không có thai (%)	12/18 (66,67%)		115/250 (46%)	
Tỉ lệ thai diễn tiến (%)	5/18 (27,78%)		114/250 (45,56%)	
Tỉ lệ sảy thai (%)	1/18 (5,5%)		20/250 (8%)	

Nhận xét:

- Tỉ lệ có thai, tỉ lệ thai diễn tiến, tỉ lệ sảy thai trong nhóm chuyển phôi đông lạnh cao hơn trong nhóm chuyển phôi tươi, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2. Kết quả về mối liên quan giữa phân mảnh DNA của tinh trùng và đặc điểm hình thái của tinh trùng

3.2.1. Đặc điểm của người chồng trong từng nhóm DFI

Bảng 3.13: Đặc điểm người chồng trong từng nhóm DFI

Nhóm Đặc điểm	Nhóm1- DFI < 15% n = 42	Nhóm2- DFI 15-30% n = 31	Nhóm3- DFI ≥ 30% n = 17	Tổng chung n = 90	p (*)
Tuổi (năm) $\bar{X} \pm SD$	34,07 ± 5,44	34,71 ± 6,38	35,29 ± 7,3	34,52 ± 6,09	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
BMI (kg/m²) $\bar{X} \pm SD$	23,3 ± 2,19	22,9 ± 2,02	23,35 ± 1,97	23,17 ± 2,08	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
Thời gian vô sinh (năm), $\bar{X} \pm SD$	2,96 ± 2,2	3,52 ± 2,3	3 ± 2,3	3,16 ± 2,22	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

(*): Mann Whitney U test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.

p₁₂: p giữa nhóm 1 và nhóm 2, p₁₃: p giữa nhóm 1 và nhóm 3, p_{2,3}: p giữa nhóm 2 và nhóm 3

Nhận xét:

- Tuổi trung bình của người chồng trong 3 nhóm phân mảnh DNA tinh trùng là 34,52 năm, không khác biệt về tuổi giữa các nhóm với p > 0,05.

- BMI trung bình của người chồng trong 3 nhóm DFI là 23,17 ± 2,08 kg/m², không khác biệt về BMI giữa các nhóm với p > 0,05.

- Thời gian vô sinh trung bình của người chồng trong 3 nhóm DFI là 3,16 năm, không thấy có sự khác biệt giữa các nhóm về thời gian vô sinh với $p > 0,05$.

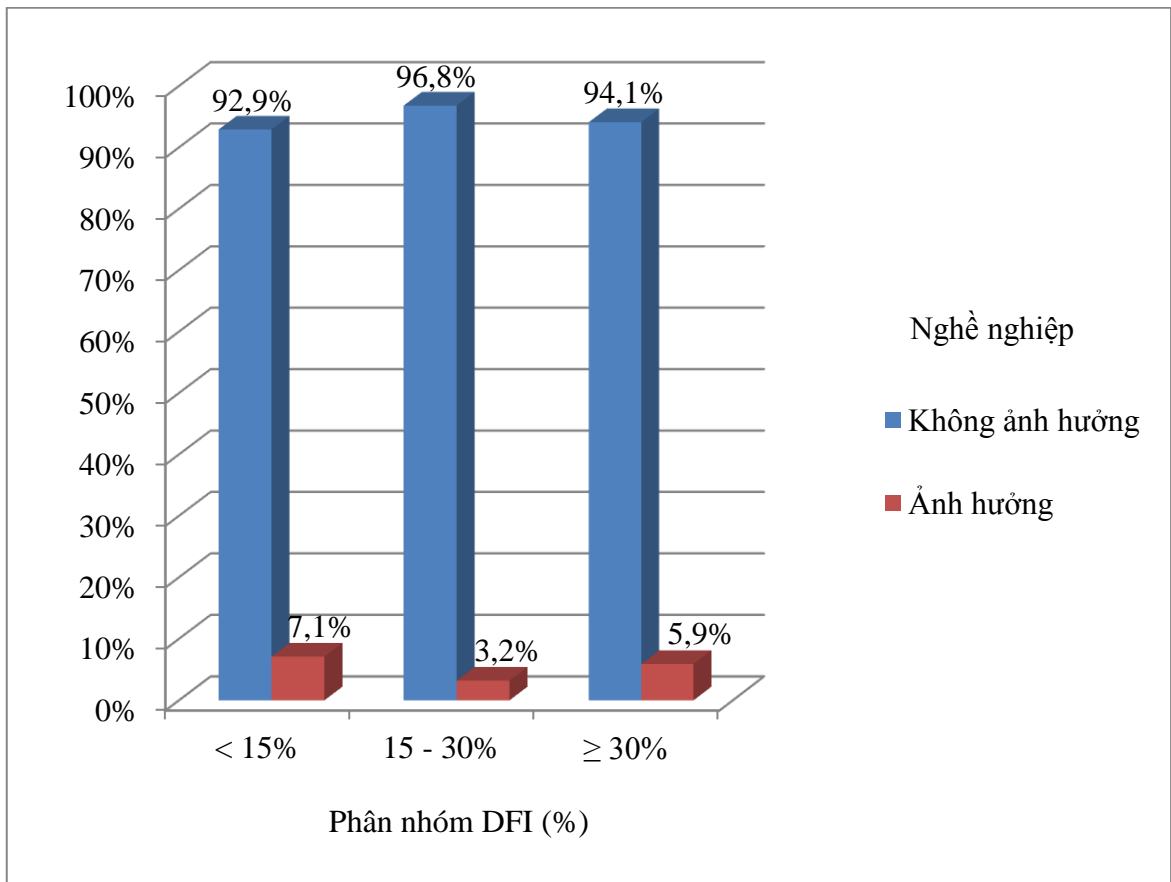
Bảng 3.14: Tương quan giữa đặc điểm lâm sàng của người chồng và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng

Đặc điểm lâm sàng	% DFI	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tuổi (năm)	0,011	0,919
BMI (kg/m ²)	-0,03	0,779
Thời gian vô sinh (năm)	0,046	0,666

*BMI: chỉ số khối cơ thể. (**): Tương quan Spearman, $p \leq 0,05$ có ý nghĩa thống kê.*

Nhận xét:

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa đặc điểm lâm sàng của người chồng như: tuổi, BMI, thời gian vô sinh với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



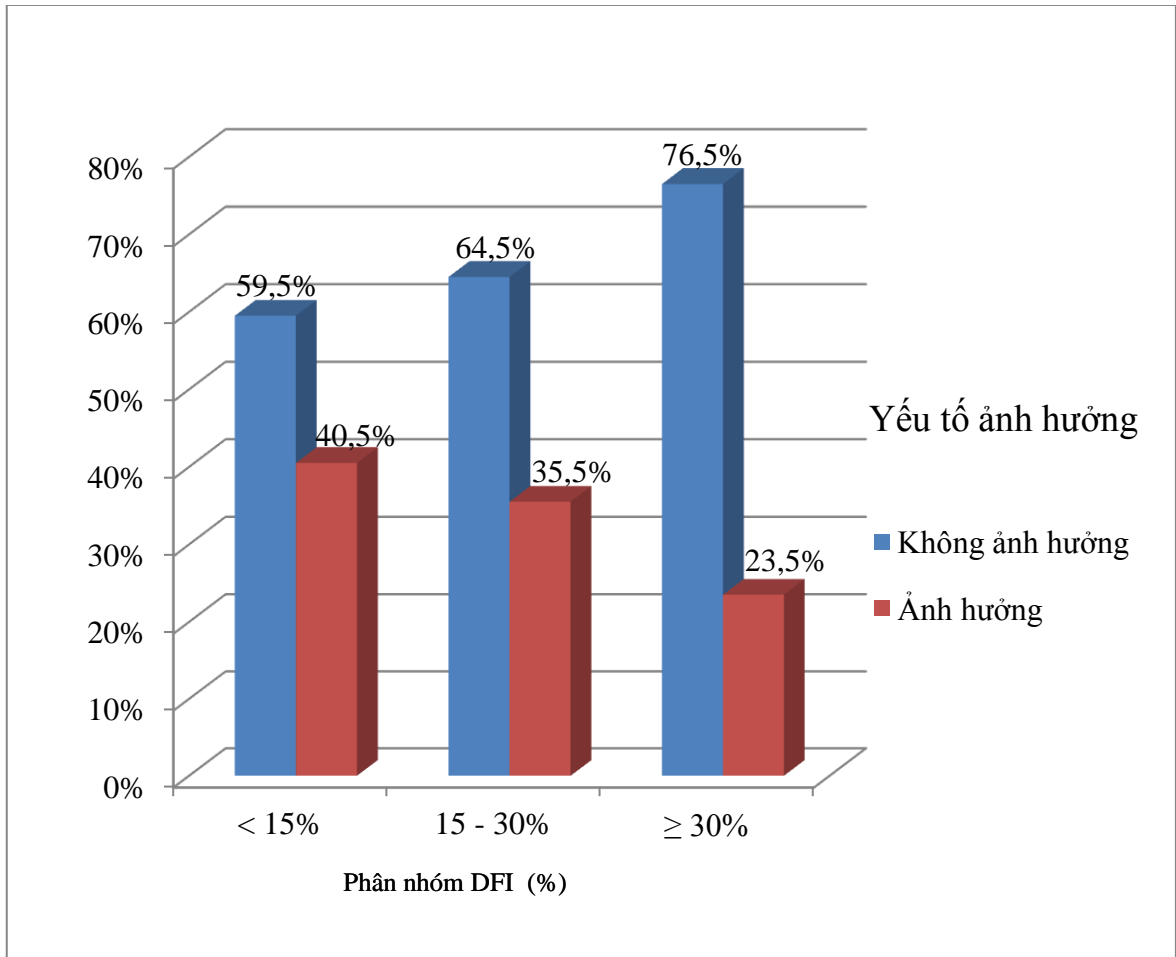
Biểu đồ 3.5: Sự phân bố nghề nghiệp trong 3 nhóm DFI

DFI: chỉ số phân mảnh DNA, Chi- Square Test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự tương đồng trong phân bố nghề nghiệp giữa 3 nhóm phân mảnh DNA của tinh trùng với $p > 0,05$.
- Nghề nghiệp ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA tinh trùng (lái xe, nghề làm việc trong môi trường nóng) chiếm tỉ lệ thấp trong nhóm 1- tinh trùng có DFI < 15%, nhóm 2- tinh trùng có DFI từ 15-30%, nhóm 3- tinh trùng có DFI ≥ 30% lần lượt là 7,1%; 3,2%; 5,9% sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.
- Nghề nghiệp không ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng chiếm tỉ lệ cao trong nhóm 1, nhóm 2, nhóm 3 lần lượt là 92,9%;

96,8%; 94,1%, sự khác biệt giữa các nhóm nghiệp không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



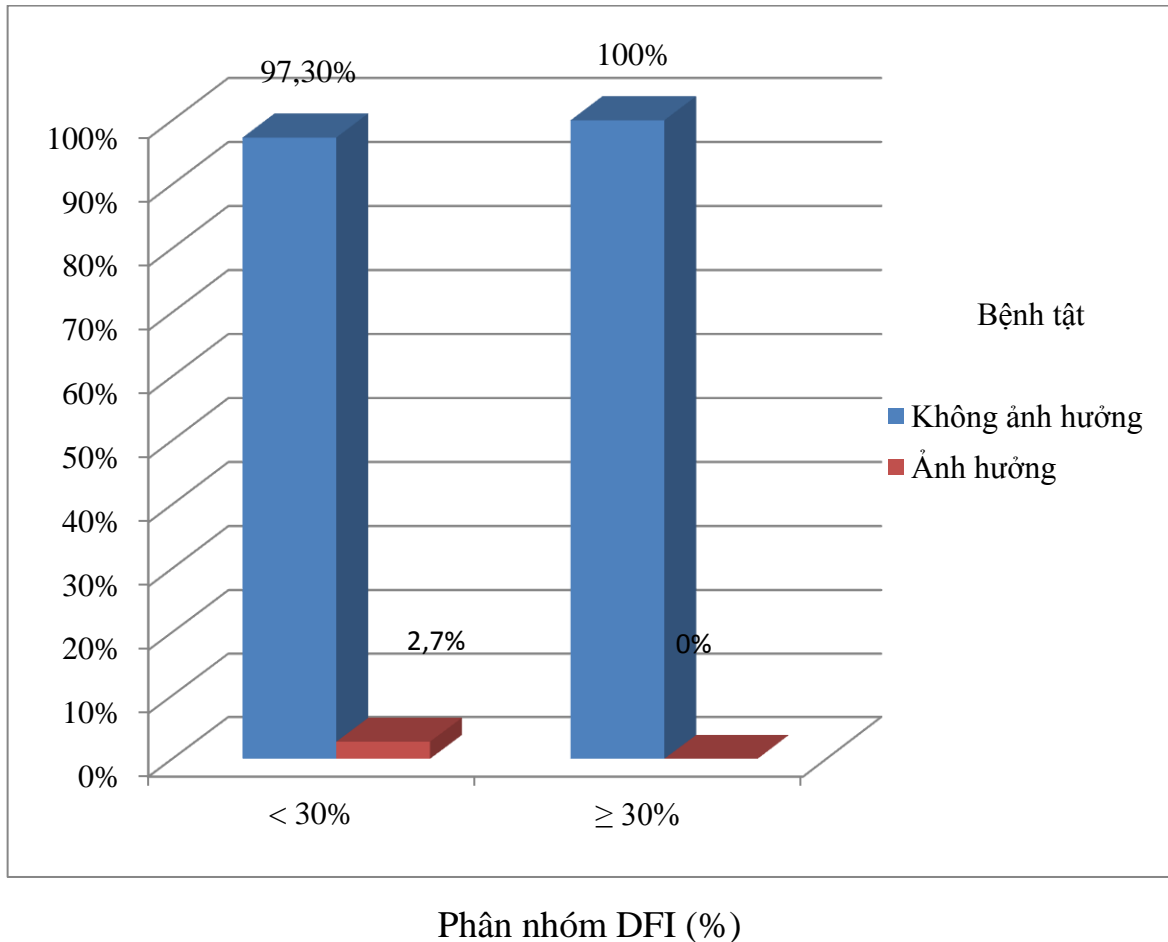
Biểu đồ 3.6: Sự phân bố yếu tố ảnh hưởng đến 3 nhóm DFI

DFI: chỉ số phân mảnh DNA, Chi-Square Test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Yếu tố ảnh hưởng (hút thuốc lá, uống rượu, ma túy) trong 3 nhóm 1- tinh trùng có DFI <15%, nhóm 2- tinh trùng có DFI từ 15-30%, nhóm 3- tinh trùng có DFI \geq 30% lần lượt là 40,5% (17); 35,5% (11); 23,5% (4).
- Yếu tố không ảnh hưởng đến phân mảnh DNA của tinh trùng trong 3 nhóm 1, nhóm 2, nhóm 3 lần lượt là 59,5% (25); 64,5% (20); 76,5% (13).

- Có sự tương đồng trong phân bố yếu tố ảnh hưởng giữa các nhóm, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.7: Sự phân bố bệnh tật trong 2 nhóm DFI

DFI: chỉ số phân mảnh DNA, Fisher- Exact Test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự tương đồng trong phân bố mô hình bệnh tật giữa các nhóm phân mảnh DNA tinh trùng với $p > 0,05$.

- Nhóm bệnh tật không ảnh hưởng tới phân mảnh DNA của tinh trùng chiếm tỉ lệ cao trong nhóm DFI <30% và DFI ≥30% lần lượt là 97,3% (71); 100% (17) sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Nhóm bệnh tật ảnh hưởng tới phân mảnh DNA của tinh trùng (giãn tĩnh mạch thừng tinh, viêm sinh dục) chiếm tỉ lệ thấp trong nhóm DFI <30%

và DFI $\geq 30\%$ lần lượt là 2,7%; 0%, sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.15: So sánh mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động của người chồng tham gia xét nghiệm Halosperm trong từng nhóm DFI

Nhóm DFI	nhóm1- (DFI < 15%) n = 42	nhóm2- (DFI 15-30%) n = 31	nhóm3- (DFI $\geq 30\%$) n = 17	Tổng chung n = 90	p (*)
Đặc điểm					
MĐTT (triệu/ml) $\bar{X} \pm SD$	78,05 \pm 40,81	51,97 \pm 42,62	38,5 \pm 34,69	34,52 \pm 6,09	$p_{12} > 0,05$ $p_{13} > 0,05$ $p_{23} > 0,05$
TTDD (%) $\bar{X} \pm SD$	36,88 \pm 14,76	38,13 \pm 16,62	23,35 \pm 16,54	23,17 \pm 2,08	$p_{12} > 0,05$ $p_{13}=0,014$ $p_{23}=0,029$

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

(): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.*

Nhận xét:

- Mật độ tinh trùng của 3 nhóm DFI không thấy sự khác biệt với $p > 0,05$.
- Tỷ lệ tinh trùng di động nhóm 3 thấp hơn tỷ lệ tinh trùng di động so với nhóm 1 và nhóm 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p_{13} = 0,014$, $p_{23} = 0,029$.

Bảng 3.16: Tương quan giữa MĐTT, TTĐĐ và mức độ phân mảnh DNA tinh trùng.

Đặc điểm	% DFI	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
MĐTT (triệu/ml)	-0,232	0,01
TTĐĐ (%)	-0,271	0,02

MĐTT: mật độ tinh trùng, TTĐĐ: tỉ lệ tinh trùng di động.
(**): Tương quan Spearman, $p \leq 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với tỉ lệ tinh trùng di động (TTĐĐ) và mật độ tinh trùng (MĐTT) với $r = -0,232$; $r = -0,271$ ($p = 0,01$; $p = 0,02$).

- Phương trình ước tính như sau: $\%DFI = 77,334 - 0,275 * MĐTT - 0,238 * TTĐĐ$ ($p = 0,007$; $p = 0,02$).

Bảng 3.17: So sánh tỉ lệ phân mảnh DNA trung bình của 3 nhóm người chồng xét nghiệm Halosperm

Đặc điểm	Nhóm (HTBT) n = 21	Nhóm2 (DD đầu) n = 10	Nhóm3 (DD khác) n = 59	p (*)
% DFI	18,89 ±	27,28 ±	19,79 ±	$p_{12} > 0,05$
$\bar{X} \pm SD$	12,69	15,03	12,47	$p_{13} > 0,05$
				$p_{23} = 0,047$

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn

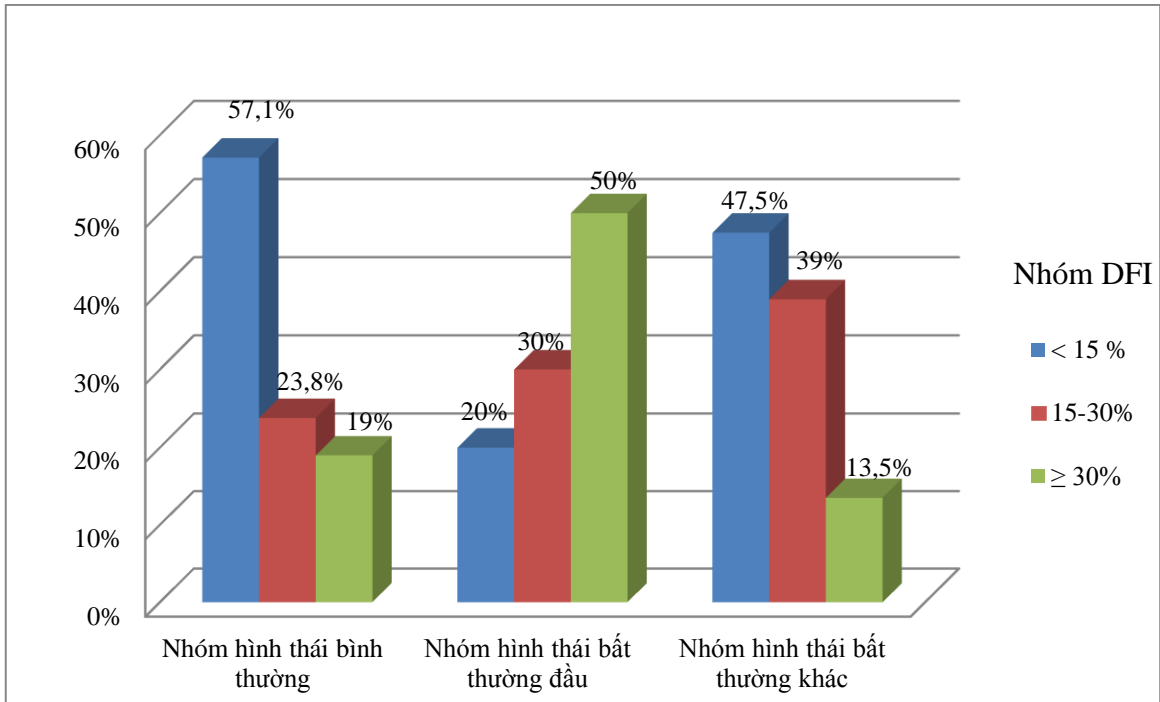
HTBT: hình thái tinh trùng bình thường, DD đầu: bất thường đầu tinh trùng, DD khác: bất thường cổ- trung gian, đuôi tinh trùng.

(*): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng trung bình của nhóm 2 là cao nhất. Sự khác biệt về tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng có ý nghĩa thống kê $p = 0,047$ giữa nhóm 2, nhóm 3.

3.2.2. Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm tinh trùng tham gia xét nghiệm Halosperm



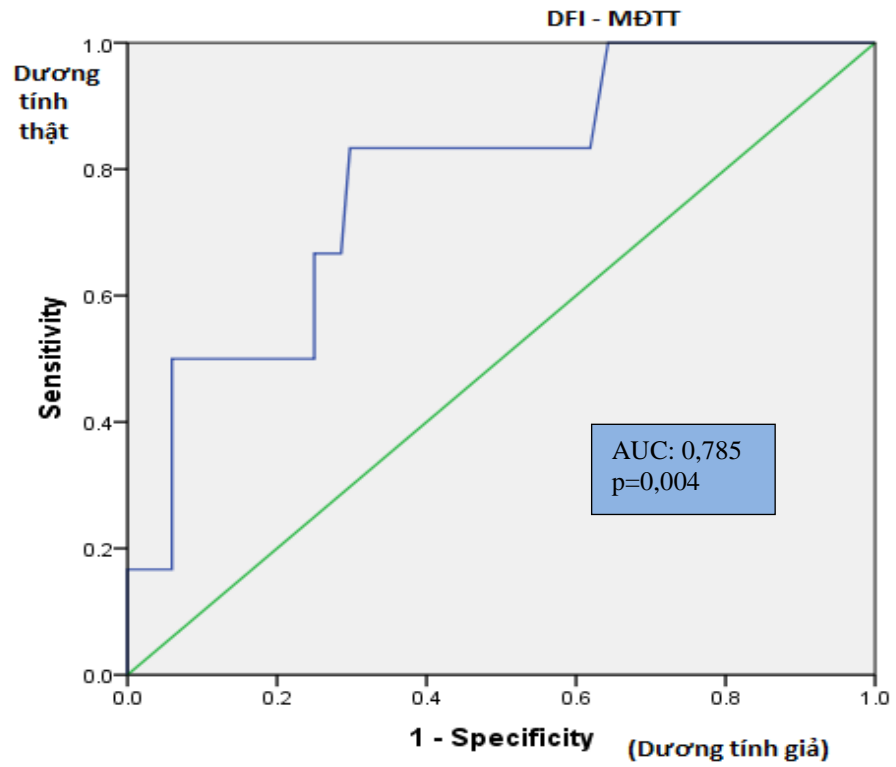
Biểu đồ 3.8: Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm hình thái tinh trùng

Chi- Square Test: so sánh tỷ lệ DFI giữa các nhóm, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê

Nhận xét:

- Có sự khác biệt về sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong nhóm tinh trùng bất thường đầu so với nhóm tinh trùng hình thái bình thường và nhóm tinh trùng bất thường cổ- trung gian, đuôi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

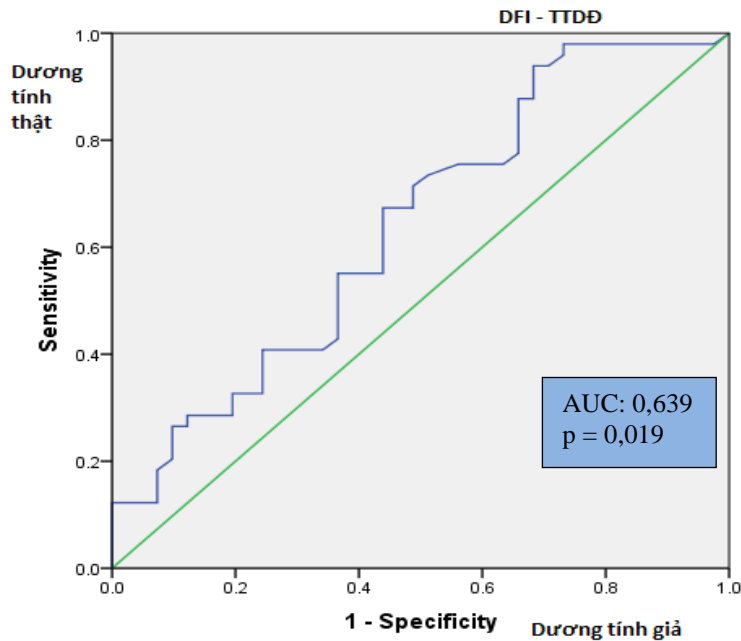
3.2.3. Ngưỡng giá trị phân mảnh DNA trong chẩn đoán vô sinh.



Hình 3.1: Đường cong ROC giữa tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và mật độ tinh trùng

AUC: diện tích dưới đường cong, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, MĐTT: mật độ tinh trùng.



Hình 3.2: Đường cong ROC giữa tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động

AUC: diện tích dưới đường cong, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, TTĐĐ: tỉ lệ tinh trùng di động.

Bảng 3.18: Giá trị ngưỡng phân mảnh DNA của tinh trùng so với chỉ số tinh dịch đồ tiêu chuẩn

Đặc điểm	AUC	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Ngưỡng DFI	95% CI	p
DFI-MĐTT	0,785	70,2%	83,3%	20,2%	0,686-0,864	0,004
DFI-TTĐĐ	0,639	56,1%	55,1%	15,4%	0,531-0,737	0,019
DFI- Hình thái TT	0,545	57,1%	56,5%	14,4%	0,436-0,650	0,569

AUC: diện tích dưới đường cong ROC, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, TTĐĐ: tỉ lệ tinh trùng di động.

MĐTT: mật độ tinh trùng. Hình thái TT: hình thái tinh trùng.

Nhận xét:

- Diện tích dưới đường cong khi đánh giá mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng so với mật độ tinh trùng bình thường ≥ 15 triệu/ml và tỉ lệ tinh trùng

di động $\geq 40\%$ lần lượt là 0,785; 0,639 và ngưỡng DFI lần lượt là 20,2%; 15,4% để chẩn đoán vô sinh nam, có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

- Diện tích dưới đường cong khi đánh giá phân mảnh DNA của tinh trùng so với giới hạn hình thái tinh trùng bình thường $\geq 4\%$ là 0,545, ngưỡng DFI là 14,4% không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3. Mối liên quan giữa tỷ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng và kết quả IVF/ICSI

3.3.1. Đặc điểm người vợ trong 3 nhóm DFI

Bảng 3.19: So sánh đặc điểm lâm sàng người vợ trong 3 nhóm DFI

Nhóm Đặc điểm	Nhóm1 (DFI<15%) n = 37	Nhóm2 (DFI 15-30%) n = 28	Nhóm3 (DFI $\geq 30\%$) n = 17	Tổng chung n = 82	p (*)
Tuổi (năm) $\bar{X} \pm SD$	31,08 \pm 4,14	29,96 \pm 4,0	30,76 \pm 6,3	30,63 \pm 4,58	0,623
BMI (kg/m ²) $X \pm SD$	20,34 \pm 2,81	20,45 \pm 2,35	20,38 \pm 2,4	20,38 \pm 2,55	0,983
Thời gian vô sinh (năm) $\bar{X} \pm SD$	3,04 \pm 2,27	3,54 \pm 2,36	3,0 \pm 2,23	3,2 \pm 2,28	0,637
AFC (nang) $\bar{X} \pm SD$	13,57 \pm 6,4	12,4 \pm 5,09	12,76 \pm 5,91	13,02 \pm 5,83	0,741
AMH (ng/ml) $\bar{X} \pm SD$	3,61 \pm 2,44	4,04 \pm 3,52	4,24 \pm 2,74	3,89 \pm 2,88	0,724

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian.

(): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.*

Nhận xét:

- Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 3 nhóm nghiên cứu tương đồng về các yếu tố: Tuổi, BMI, thời gian vô sinh, AFC, AMH.

- Sự khác biệt về tuổi, BMI, thời gian vô sinh, AFC, AMH không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm với $p > 0,05$.

3.3.2. Đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI của tình trạng

Bảng 3.20: So sánh đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI

Nhóm Đặc điểm	Nhóm1- (DFI <15%) n = 37	Nhóm2-(DFI 15-30%) n = 28	Nhóm3- (DFI ≥30%) n = 17	Tổng chung n = 82	p (*)
Tuổi (năm) $\bar{X} \pm SD$	33,46 ± 5,24	34,07 ± 6,31	35,29 ± 7,3	34,05 ± 6,04	p ₁₂ > 0,05 p ₂₃ > 0,05 p ₁₃ > 0,05
BMI (kg/m²) $\bar{X} \pm SD$	23,28 ± 2,24	23,71 ± 1,96	23,18 ± 1,94	23,07 ± 2,08	p ₁₂ > 0,05 p ₂₃ > 0,05 p ₁₃ > 0,05
Thời gian vô sinh (năm) $\bar{X} \pm SD$	3,04 ± 2,27	3,54 ± 2,37	3,0 ± 2,24	3,2 ± 2,28	p ₁₂ > 0,05 p ₂₃ > 0,05 p ₁₃ > 0,05
MĐTT (triệu/ml) $\bar{X} \pm SD$	61,49 ± 42,93	51,61 ± 36,64	53,65 ± 47,29	56,49 ± 41,59	p ₁₂ > 0,05 p ₂₃ > 0,05 p ₁₃ > 0,05
TTDD (%) $\bar{X} \pm SD$	39,16 ± 14,01	35,86 ± 18,09	25,35 ± 16,54	35,17 ± 16,68	p ₁₂ > 0,05 p ₂₃ > 0,05 p₁₃ = 0,005

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tình trạng, MĐTT: mật độ tinh trùng, TTDD: tỷ lệ tinh trùng di động.

(): Mann Whitney U test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.*

p₁₂: p giữa nhóm 1 và nhóm 2, p₂₃: p giữa nhóm 2 và nhóm 3, p₁₃: p giữa nhóm 1 và nhóm 3.

Nhận xét:

- Đặc điểm lâm sàng của người chồng trong 3 nhóm phân mảnh DNA của tình trạng tương đồng về các yếu tố: Tuổi, BMI, thời gian vô sinh, mật độ tinh trùng, sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

- Nhưng tỉ lệ tinh trùng di động trung bình có sự khác biệt giữa nhóm 3 thấp hơn nhóm 1, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,005$, TTDD nhóm 3 thấp hơn nhóm 2, nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.3. Kết quả noãn và phôi của 3 nhóm DFI

Bảng 3.21: So sánh kết quả noãn – phôi của 3 nhóm DFI

Nhóm Đặc điểm	Nhóm1 DFI<15% n = 37	Nhóm2 (DFI 15- 30%) n = 28	Nhóm3 (DFI ≥30%) n = 17	Tổng chung n = 82	p (*)
Tổng noãn M2 (noãn) $\bar{X} \pm SD$	11,68 ± 7,04	13,11 ± 9,86	11,82 ± 6,86	12,2 ± 8,01	$p_{12} > 0,05$ $p_{23} > 0,05$ $p_{13} > 0,05$
Tỉ lệ thụ tinh (%) $\bar{X} \pm SD$	88,16 ± 11,84	92,1 ± 7,9	83,51 ± 14,94	88,54 ± 11,46	$p_{12} > 0,05$ $p_{23} = 0,041$ $p_{13} > 0,05$
Tỉ lệ phôi xấu (%) $\bar{X} \pm SD$	26,33 ± 26,06	23,03 ± 23,02	51,5 ± 27,09	30,42 ± 28,53	$p_{12} > 0,05$ $p_{23} = 0,001$ $p_{13} = 0,003$
Tỉ lệ phôi tốt (%) $\bar{X} \pm SD$	29,64 ± 25,77	31,87 ± 20,86	18,39 ± 15,4	28,07 ± 23,38	$p_{12} > 0,05$ $p_{23} = 0,041$ $p_{13} > 0,05$

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, M2: noãn trưởng thành.

(): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.*

p_{12} : giữa nhóm 1 và nhóm 2, p_{13} : giữa nhóm 1 và nhóm 3, p_{23} : giữa nhóm 2 và nhóm 3

Nhận xét:

- Số noãn M2 trung bình tham gia ICSI tương đồng giữa 3 nhóm DFI là $12,2 \pm 8,01$ noãn, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tỉ lệ thụ tinh thấp nhất trong nhóm 3 so với nhóm 2, nhóm 1 và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm 3 thấp hơn nhóm 2 là 8,59% với $p = 0,041$.

- Tỷ lệ phôi xấu cao nhất trong nhóm 3 so với nhóm 1, nhóm 2 và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm 3 với nhóm 1, nhóm 2 lần lượt là 25,17%, 28,48% và $p_{13} = 0,003$; $p_{23} = 0,001$.

Bảng 3.22: Tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với một số yếu tố thụ tinh và chất lượng phôi.

Đặc điểm lâm sàng	% DFI	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tỷ lệ thụ tinh (%)	-0,139	0,214
Tỷ lệ phôi tốt (%)	-0,058	0,602
Tỷ lệ phôi xấu (%)	0,288	0,009

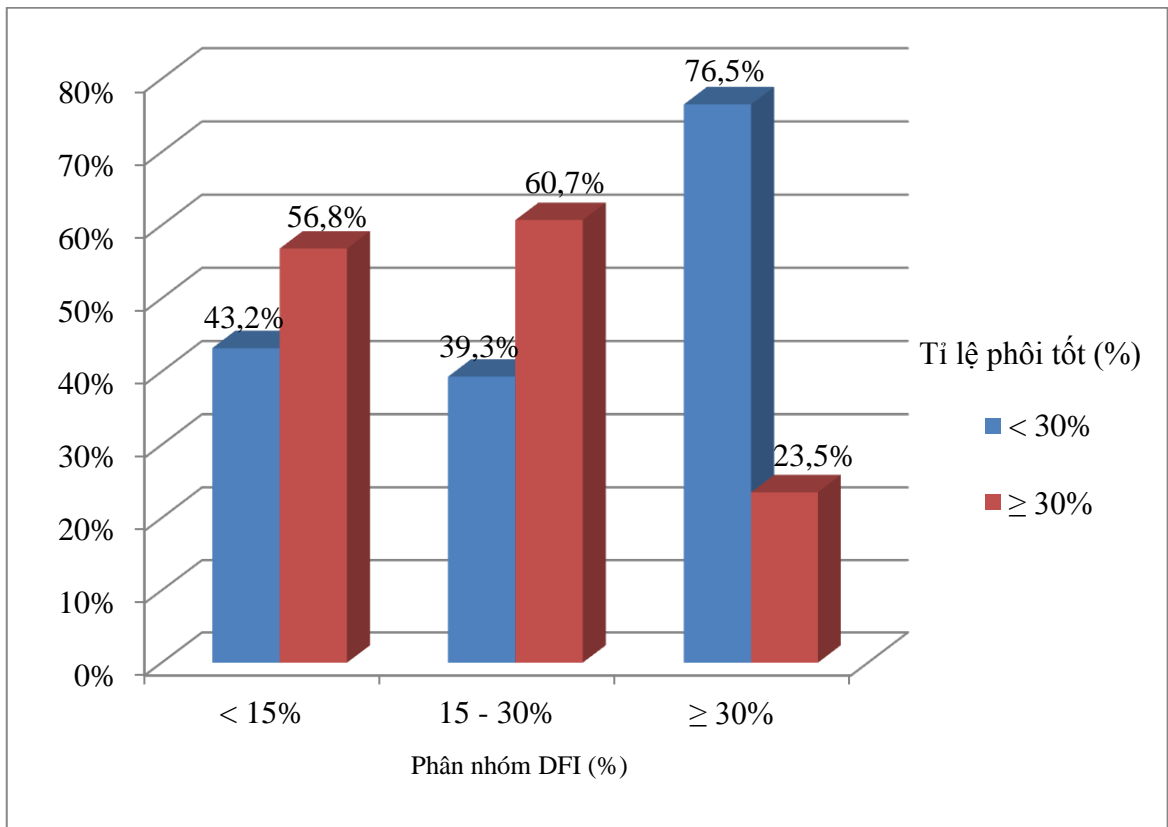
DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

(**): Tương quan Spearman, $p \leq 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm thấy có mối tương quan thuận Spearman giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (%DFI) và chất lượng phôi xấu $r = 0,288$, $p = 0,009$ theo phương trình ước tính như sau: % Tỷ lệ phôi xấu = $0,288 * DFI$ ($p = 0,009$).



Biểu đồ 3.9: Sự phân bố mức độ phôi tốt trong các nhóm DFI

DFI: chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng.

Chi-Square test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Sự phân bố mức độ phôi tốt trong nhóm 3 khác biệt so với nhóm 2, nhóm 1 có ý nghĩa thống kê với $p = 0,035$.

- Trong nhóm 3 (DFI $\geq 30\%$): Sự phân bố tỉ lệ phôi tốt mức độ $< 30\%$ là 76,5% ($n = 13$) cao hơn mức độ phôi tốt $\geq 30\%$ là 23,5% ($n = 4$) OR = 2,49, 95% CI (1,029-5,997), có ý nghĩa thống kê với $p = 0,022$.

3.3.4. Kết quả chuyển phôi của 3 nhóm phân mảnh DNA của tinh trùng

Bảng 3.23: So sánh kết quả chuyển phôi của 3 nhóm DFI

Nhóm Đặc điểm	Nhóm1 (DFI<15%) n = 37	Nhóm2 (DFI 15- 30%) n = 28	Nhóm3 (DFI ≥30%) n = 17	Tổng chung n = 82	p (*)
Số phôi chuyển $\bar{X} \pm SD$	2,27 ± 1,54	2,68 ± 1,28	2,82 ± 2,16	2,52 ± 1,6	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
Số chu kỳ chuyển phôi $\bar{X} \pm SD$	1,24 ± 0,55	1,43 ± 0,63	1,47 ± 0,72	1,35 ± 0,6	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
Tỉ lệ làm tổ (%) $\bar{X} \pm SD$	47,02 ± 43,24	51,31 ± 39,62	36,2 ± 35,34	46,25 ± 40,75	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
Tỉ lệ có thai (%) $\bar{X} \pm SD$	70,27 ± 29,73	68,45 ± 31,55	51,96 ± 48,04	65,85 ± 34,15	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05
Tỉ lệ thai lâm sàng (%) $\bar{X} \pm SD$	62,16 ± 38,84	64,86 ± 35,14	51,94 ± 48,06	60,96 ± 39,04	p ₁₂ > 0,05 p ₁₃ > 0,05 p ₂₃ > 0,05

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng

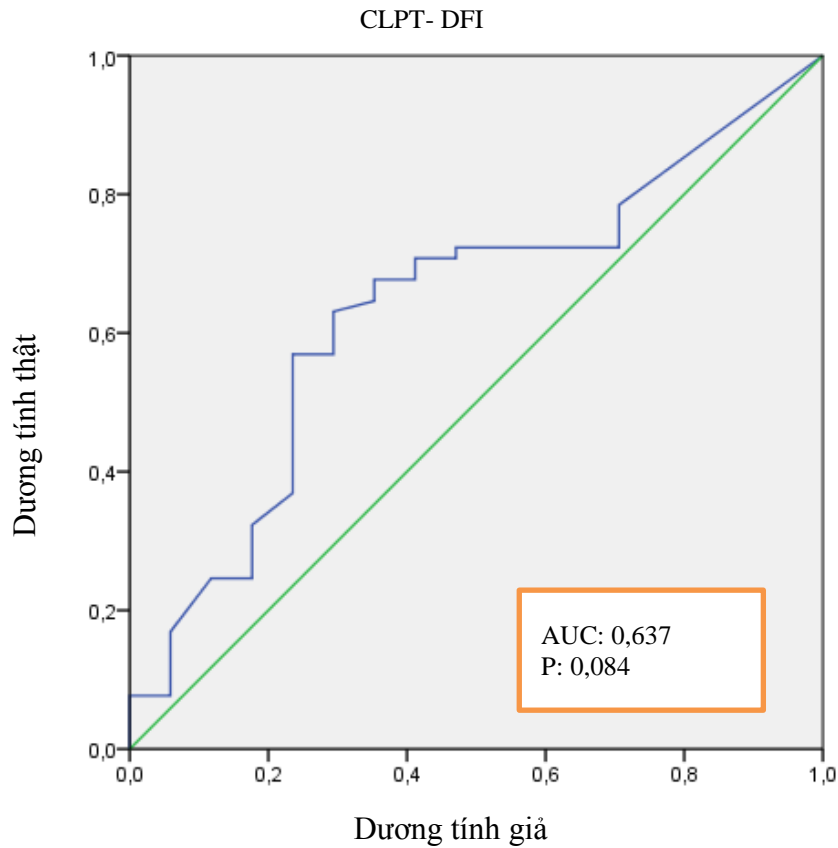
(*): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê

p₁₂: giữa nhóm 1 và nhóm 2, p₁₃: giữa nhóm 1 và nhóm 3, p₂₃: giữa nhóm 2 và nhóm 3

Nhận xét:

- Số phôi trung bình, số chu kỳ chuyển phôi trung bình của 3 nhóm DFI tương đồng, sự khác biệt giữa các nhóm DFI không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai, tỉ lệ thai lâm sàng thấp nhất trong nhóm 3, cao nhất trong nhóm 2, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Hình 3.3: Đường cong ROC giữa chất lượng phôi tốt và tỉ lệ DFI

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, AUC: diện tích dưới đường cong ROC
 $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê, CLPT: chất lượng phôi tốt

Bảng 3.24: So sánh mức độ phân mảnh DNA trung bình của 2 nhóm phôi chất lượng tốt

Nhóm Đặc điểm	Nhóm (CLPT \geq 30%) n = 42	Nhóm (CLPT < 30%) n = 40	p (*)
% DFI $\bar{X} \pm SD$	17,34 \pm 9,93	23,23 \pm 14,91	0,04

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn

(*): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

CLPT: tỉ lệ phôi tốt, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

Nhận xét:

- Mức độ DFI trung bình của nhóm CLPT <30% cao hơn mức độ DFI trung bình của nhóm CLPT ≥30% có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04$.

Bảng 3.25: So sánh tỉ lệ phân mảnh DNA trung bình của 2 nhóm sẩy thai sớm, không sẩy thai sớm

Nhóm Đặc điểm	Nhóm (EPL) n = 7	Nhóm (không EPL) n = 21	p (*)
% DFI $\bar{X} \pm SD$	15,57 ± 12,02	20,65 ± 12,94	0,322

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, EPL: tỉ lệ sẩy thai sớm (thai sinh hóa, thai sảy, thai lưu).

(): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.*

Nhận xét:

- Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng trung bình của nhóm sẩy thai sớm thấp hơn mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng trung bình của nhóm không sẩy thai sớm, nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng với tỉ lệ sẩy thai sớm với $p > 0,05$.

3.3.5. So sánh đặc điểm bệnh nhân có thai và không có thai trong nhóm xét nghiệm Halosperm

Bảng 3.26: So sánh 2 nhóm có thai, không có thai

Đặc điểm	Nhóm có thai	không có thai	P(*)
Vợ			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	29,87 \pm 4,37	32,73 \pm 4,58	0,023
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	20,33 \pm 2,69	20,6 \pm 2,15	0,449
AFC (nang, $\bar{X} \pm SD$)	13,42 \pm 5,95	11,95 \pm 5,47	0,348
AMH (ng/ml, $\bar{X} \pm SD$)	4,26 \pm 3,18	2,86 \pm 1,48	0,168
M2 (noãn, $\bar{X} \pm SD$)	13,1 \pm 8,68	9,73 \pm 5,19	0,139
Thời gian vô sinh (năm, $\bar{X} \pm SD$)	3,06 \pm 2,43	3,59 \pm 2,83	0,242
Chồng			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	33,08 \pm 4,9	36,68 \pm 7,97	0,121
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	23,04 \pm 1,97	23,14 \pm 2,42	0,856
MĐTT (triệu/ml, $\bar{X} \pm SD$)	60,07 \pm 41,84	46,45 \pm 40,12	0,047
TTĐĐ (% , $\bar{X} \pm SD$)	37,3 \pm 15,6	29,36 \pm 18,4	0,056
DFI (% , $\bar{X} \pm SD$)	18,89 \pm 12,26	23,55 \pm 14,19	0,157
Tỉ lệ thụ tinh (% , $\bar{X} \pm SD$)	88,72 \pm 11,82	88,04 \pm 17,08	0,839
Tỉ lệ phôi tốt (% , $\bar{X} \pm SD$)	31,18 \pm 22,68	19,58 \pm 15,64	0,023
Tỉ lệ phôi xấu (% , $\bar{X} \pm SD$)	28,23 \pm 25,48	36,38 \pm 35,55	0,254
Số phôi chuyển/1 lần, $\bar{X} \pm SD$	2,25 \pm 1,27	3,27 \pm 2,14	0,028
Số chu kỳ chuyển phôi, $\bar{X} \pm SD$	1,25 \pm 0,59	1,55 \pm 0,67	0,046

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng,

AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian.

(*): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự khác biệt về tuổi trung bình của người vợ trong nhóm có thai trẻ hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,023$.

- Mật độ tinh trùng, tỉ lệ phôi chất lượng tốt trong nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$..

- Số phôi chuyển và số lần chuyển phôi trong nhóm có thai lại thấp hơn số phôi chuyển và số lần chuyển phôi trong nhóm không có thai.

- Các yếu tố khác có sự tương đồng giữa 2 nhóm có thai và không có thai nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.27: Tương quan giữa tỉ lệ có thai và một số yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ có thai (%)	
	Hệ số tương quan (r)	P (**)
Tuổi vợ	- 0,274	0,013
Số phôi chuyển	-0,428	0,001
Chất lượng phôi tốt (%)	0,346	0,001
Số chu kỳ chuyển phôi (%)	-0,545	0,001

(**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa tuổi người vợ, số phôi chuyển, số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ có thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Có mối tương quan thuận giữa chất lượng phôi chuyển tốt và tỉ lệ có thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ có thai với các yếu tố khác với $p > 0,05$.

3.3.6. Đặc điểm bệnh nhân có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng trong nhóm xét nghiệm Halosperm

Bảng 3.28: So sánh đặc điểm 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng

Đặc điểm	Nhóm có thai lâm sàng n = 56	Không có thai lâm sàng n = 26	P(*)
Vợ			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	29,7 ± 4,4	32,65 ± 4,38	0,011
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	20,27 ± 2,77	20,62 ± 2,0	0,56
AFC (nang, $\bar{X} \pm SD$)	13,13 ± 5,65	12,8 ± 6,3	0,82
AMH (ng/ml, $\bar{X} \pm SD$)	4,29 ± 3,23	3,01 ± 1,66	0,237
M2 (noãn, $\bar{X} \pm SD$)	13,25 ± 8,85	9,92 ± 5,27	0,128
Thời gian vô sinh (năm, $\bar{X} \pm SD$)	3,01 ± 2,22	3,62 ± 2,4	0,265
Chồng			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	32,88 ± 4,98	36,58 ± 7,34	0,04
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	23,06 ± 2,02	23,07 ± 2,24	0,977
MĐTT (triệu/ml, $\bar{X} \pm SD$)	61,11 ± 42,93	46,54 ± 37,41	0,048
TTĐĐ (% , $\bar{X} \pm SD$)	37,5 ± 15,85	30,15 ± 17,6	0,063
DFI (% , $\bar{X} \pm SD$)	19,48 ± 12,51	21,79 ± 17,33	0,453
Tỉ lệ thụ tinh (% , $\bar{X} \pm SD$)	88,28 ± 11,89	89,11 ± 16,23	0,793
Tỉ lệ phôi tốt (% , $\bar{X} \pm SD$)	30,87 ± 21,98	22,05 ± 25,55	0,047
Tỉ lệ phôi xấu (% , $\bar{X} \pm SD$)	28,67 ± 25,65	34,19 ± 34,17	0,419
Số phôi chuyển/1 lần, $\bar{X} \pm SD$	2,2 ± 1,27	3,2 ± 2,29	0,078
Số chu kỳ chuyển phôi, $\bar{X} \pm SD$	1,27 ± 0,56	1,54 ± 0,71	0,052

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian.

(): Mann Whitney U test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.*

Nhận xét

- Có sự khác biệt về tuổi trung bình của người vợ, người chồng trong nhóm có thai lâm sàng trẻ hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$..

- Mật độ tinh trùng, tỉ lệ phôi tốt trong nhóm có thai lâm sàng cao hơn MĐTT trong nhóm không có thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Các yếu tố khác trong nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng giữa 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.29: Tương quan giữa tỉ lệ thai lâm sàng và một số yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ có thai lâm sàng	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tuổi vợ	-0,235	0,001
Số phôi chuyển	-0,361	0,001
MĐTT (%)	0,191	0,085
Tỉ lệ phôi tốt (%)	0,274	0,013
Số chu kỳ chuyển phôi	-0,507	0,001

MĐTT: mật độ tinh trùng. (**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa tuổi vợ, số phôi chuyển trong một chu kỳ, số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Có mối tương quan thuận giữa tỉ lệ có thai lâm sàng với và tỉ lệ phôi chuyển tốt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ có thai lâm sàng với một số yếu tố khác, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.3.7. Đặc điểm bệnh nhân có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến trong nhóm xét nghiệm Halosperm

Bảng 3.30: So sánh đặc điểm người vợ của 2 nhóm có thai diễn tiến hoặc không có thai diễn tiến

Đặc điểm	Nhóm có thai diễn tiến, n = 54	Không có thai diễn tiến, n = 28	P(*)
Vợ			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	29,8 ± 4,43	32,25 ± 4,5	0,036
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	20,22 ± 2,81	20,69 ± 1,94	0,438
AFC (nang, $\bar{X} \pm SD$)	13,11 ± 5,74	12,86 ± 6,1	0,853
AMH (ng/ml, $\bar{X} \pm SD$)	4,26 ± 3,29	3,16 ± 1,71	0,442
M2 (noãn, $\bar{X} \pm SD$)	13,11 ± 8,9	10,43 ± 5,64	0,117
Thời gian vô sinh (năm, $\bar{X} \pm SD$)	2,92 ± 2,02	3,75 ± 2,66	0,101
Chồng			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	33 ± 4,96	36,07 ± 7,4	0,055
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	23,07 ± 2,05	23,07 ± 2,18	0,989
MDTT (triệu/ml, $\bar{X} \pm SD$)	62,33 ± 43,23	45,21 ± 36,34	0,017
TTDD (% , $\bar{X} \pm SD$)	37,91 ± 15,99	29,89 ± 16,99	0,041
DFI (% , $\bar{X} \pm SD$)	19,86 ± 12,59	20,9 ± 13,62	0,731
Tỉ lệ thụ tinh (% , $\bar{X} \pm SD$)	87,92 ± 11,95	89,75 ± 15,8	0,558
Tỉ lệ phôi tốt (% , $\bar{X} \pm SD$)	31 ± 21,94	22,41 ± 25,4	0,057
Tỉ lệ phôi xấu (% , $\bar{X} \pm SD$)	29,58 ± 25,66	32,04 ± 33,83	0,714
Số phôi chuyển/1 lần, $\bar{X} \pm SD$	2,17 ± 1,02	3,21 ± 2,21	0,046
Số chu kỳ chuyển phôi, $\bar{X} \pm SD$	1,26 ± 0,56	1,54 ± 0,69	0,042

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian, M2: noãn trưởng thành.

(*): Mann Whitney U test, p < 0,05: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có sự khác biệt về tuổi trung bình của người vợ trong nhóm có thai diễn tiến trễ hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động trong nhóm có thai diễn tiến cao hơn trong nhóm không có thai diễn tiến, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Số phôi chuyển và số lần chuyển phôi trong nhóm có thai diễn tiến lại thấp hơn số phôi chuyển và số lần chuyển phôi trong nhóm không có thai diễn tiến có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Các yếu tố khác trong nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng giữa 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.31: Tương quan giữa tỉ lệ thai diễn tiến và một số yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ có thai diễn tiến	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tuổi vợ	-0,235	0,001
Số phôi chuyển	- 0,361	0,001
MĐTT (%)	0,191	0,085
Tỉ lệ phôi tốt (%)	0,274	0,013
Số chu kỳ chuyển phôi	-0,507	0,001

MĐTT: mật độ tinh trùng.

(**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa tuổi vợ, số phôi chuyển trong một chu kỳ, số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ có thai diễn tiến, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Có mối tương quan thuận giữa tỉ lệ có thai diễn tiến với và tỉ lệ phôi tốt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ có thai diễn tiến với một số yếu tố khác với $p > 0,05$.

3.3.8. Đặc điểm bệnh nhân sảy thai và không sảy thai trong nhóm xét

*nghiệm Halosperm***Bảng 3.32: So sánh đặc điểm người vợ của 2 nhóm sảy thai, không sảy thai**

Đặc điểm	Nhóm sảy thai, n = 3	Không sảy thai, n = 79	P(*)
Vợ			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	29,67±5,03	30,67±4,6	0,712
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	21,67±0,58	20,33±2,58	0,376
AFC (nang, $\bar{X} \pm SD$)	12,33± 3,22	13,05 ± 5,92	0,836
AMH (ng/ml, $\bar{X} \pm SD$)	6,7 ± 2,9	3,78 ± 2,84	0,213
M2 (noãn, $\bar{X} \pm SD$)	12,67 ± 9,62	12,18 ± 8,02	0,334
Thời gian vô sinh (năm, $\bar{X} \pm SD$)	6,67 ± 4,93	3,07 ± 2,07	0,918
Chồng			
Tuổi (năm, $\bar{X} \pm SD$)	29,33 ± 4,51	34,23 ± 6,04	0,17
BMI (kg/m ² , $\bar{X} \pm SD$)	22,67 ± 1,15	23,08 ± 2,11	0,737
MĐTT (triệu/ml, $\bar{X} \pm SD$)	20 ± 14,18	57,87 ± 41,69	0,035
TTĐĐ (% , $\bar{X} \pm SD$)	35,33 ± 15,7	35,16 ± 16,6	0,986
DFI (% , $\bar{X} \pm SD$)	20,13 ± 18,81	20,21 ± 12,77	0,991
Tỉ lệ thụ tinh (% , $\bar{X} \pm SD$)	87,57 ± 18,18	89,11 ± 16,23	0,898
Tỉ lệ phôi tốt (% , $\bar{X} \pm SD$)	23,63 ± 23,6	28,24 ± 23,51	0,159
Tỉ lệ phôi xấu (% , $\bar{X} \pm SD$)	24,99 ± 24,22	30,63 ± 28,46	0,159
Số phôi chuyển/1 lần, $X \pm SD$	3,33 ± 1,16	2,49 ± 1,62	0,159
Số chu kỳ chuyển phôi, $\bar{X} \pm SD$	1,67 ± 0,58	1,34 ± 0,62	0,192

Biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

BMI: chỉ số khối cơ thể, DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng.

AFC: nang thứ cấp, AMH: hormon kháng ống Mullerian.

(): Mann Whitney U test, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê*

Nhận xét:

- Hai nhóm sảy thai và không sảy thai, có sự khác biệt về mật độ tinh trùng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng trung bình- DFI trung bình trong nhóm sảy thai là $20,13 \pm 18,81\%$, tương đương với DFI trung bình trong nhóm không sảy thai là $20,21 \pm 12,77\%$, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Các yếu tố khác, chưa thấy có sự khác biệt với $p > 0,05$.

Bảng 3.33: Tương quan giữa tỉ lệ sảy thai và một số yếu tố

Đặc điểm	Tỷ lệ sảy thai	
	Hệ số tương quan (r)	p (**)
Tuổi vợ	-0,039	0,728
Số phôi chuyển	0,154	0,166
MĐTT (%)	-0,235	0,034
Tỉ lệ phôi tốt (%)	0,016	0,888
Tỉ lệ phôi xấu (%)	0,045	0,686

MĐTT: mật độ tinh trùng.

(**): Tương quan Spearman, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Có mối tương quan nghịch giữa tỉ lệ sảy thai với mật độ tinh trùng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ sảy thai với các yếu tố khác với $p > 0,05$.

Bảng 3.34: Dự báo kết quả ICSI thông qua chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng

	AUC	Ngưỡng DFI	95%CI	Se	Sp	P
DFI- Tỷ lệ thụ tinh (82,95%)	0,602	$\geq 30\%$	0,381-0,823	71,4%	50%	0,405
DFI- Tỷ lệ phôi tốt (30,9%)	0,69	$\geq 30\%$	0,506-0,874	54,8%	83,3%	0,12
DFI – Tỷ lệ phôi xấu (36,6%)	0,796	$\geq 30\%$	0,612-0,979	83,3%	65,5%	0,016
DFI- Tỷ lệ sảy thai	0,514	$\geq 30\%$	0,357-0,671			$>0,05$
DFI- Tỷ lệ có thai (+) (41,65%)	0,597	$< 30\%$	0,439-0,755	73,8%	47,1%	0,219
DFI- Tỷ lệ có thai lâm sàng (41,5%)	0,563	$< 30\%$	0,406-0,72	67,7%	47,1%	0,427

DFI: chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, AUC: diện tích dưới đường cong, CI: độ tin cậy, Se: độ nhạy, Sp: độ đặc hiệu, $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê.

Nhận xét:

- Khi phân tích đường cong ROC giữa DFI và tỉ lệ phôi xấu, nghiên cứu cho thấy ở ngưỡng DFI $\geq 30\%$, có giá trị tiên lượng tỉ lệ phôi xấu 36,6% với AUC là 0,796 và $p < 0,05$.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về mục tiêu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu

4.1.1. Bàn luận về mục tiêu nghiên cứu:

Đề tài mang tính khoa học, thực tiễn lâm sàng, đây cũng là đề tài còn nhiều tranh luận.

Theo một số nghiên cứu cho rằng chất lượng tinh trùng được sử dụng trong ICSI có thể ảnh hưởng đến tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ phân chia, chất lượng phôi, tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai theo Boitrelle và cộng sự 2011 và việc lựa chọn tinh trùng tốt nhất để tiêm vào bào tương noãn dựa vào hình dạng tinh trùng ở độ phóng đại 200 – 300 lần vẫn là phương pháp sử dụng từ trước đến nay. Trong khi tiến hành ICSI thì việc lựa chọn tinh trùng phụ thuộc các đặc điểm như: ưu tiên lựa chọn tinh trùng có hình thái bình thường, nếu tinh trùng bất thường thì nên chọn tinh trùng có đầu và cổ bình thường sau đó mới đến lựa chọn nhân và túi cực đầu. Nhưng theo nghiên cứu của French DB 2010 lại cho rằng hình thái tinh trùng không ảnh hưởng đến kết quả IVF/ICSI.⁵ Do vậy việc đánh giá ảnh hưởng của hình thái tinh trùng đến kết quả ICSI là cần thiết phù hợp với đề tài nghiên cứu của chúng tôi.

Ngày nay, kỹ thuật tiêm tinh trùng có chọn lọc hình dạng vào bào tương noãn ra đời có làm tăng tỉ lệ thành công của kỹ thuật ICSI, đã và đang trở thành chủ đề nghiên cứu gần đây trên thế giới và cũng là chủ đề tranh luận của nhiều tác giả theo Boitrelle và CS 2011, Watanabe và CS 2011, Perdrix và CS 2011.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng đặc biệt quan tâm và đánh giá mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với đặc điểm hình thái tinh trùng và mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với kết quả

ICSI. Bởi sự phân mảnh DNA tinh trùng không được xét nghiệm thường quy như phân tích tinh dịch đồ nhưng được khuyến cáo trong các trường hợp đặc biệt liên quan đến vô sinh do yếu tố nam.

Trong những trường hợp này chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DFI) rất hữu ích về mặt lâm sàng để đánh giá khả năng sinh sản của nam giới hoặc như xét nghiệm tiên lượng để xác định xem có cần điều trị vô sinh hay không⁸¹ như trong chẩn đoán vô sinh chưa rõ nguyên nhân, thất bại làm tổ nhiều lần và các vấn đề về giãn tĩnh mạch thừng tinh. Cuộc tranh luận vẫn tiếp tục về việc liệu các xét nghiệm về mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có trở thành một phần trong các xét nghiệm đánh giá khả năng sinh sản nam giới.⁸²

Một số nghiên cứu phân tích tổng hợp cho rằng mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có liên quan đến quá trình thụ tinh, chất lượng phôi và kết quả mang thai.^{9,56}

Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi hy vọng, cùng với xét nghiệm tinh dịch đồ, xét nghiệm đánh giá mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng, giúp cho các bác sĩ lâm sàng có thể tư vấn, tiên lượng kết quả IVF/ICSI và đưa ra phương pháp điều trị phù hợp với từng cặp vợ chồng vô sinh.

4.1.2. Bàn luận về đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

Lựa chọn đối tượng người vợ trong giới hạn sinh sản bình thường như tuổi, AMH, AFC, nội tiết...mặc dù không hoàn toàn loại bỏ được yếu tố vô sinh không rõ nguyên nhân ở nữ nhưng bằng chứng hiện tại, những xét nghiệm thường quy trong giới hạn bình thường cũng hạn chế phần nào ảnh hưởng của yếu tố người vợ lên kết quả IVF/ICSI, từ đó đánh giá yếu tố người chồng tác động riêng biệt lên kết quả IVF/ICSI dễ dàng hơn.

Điểm khác biệt trong nghiên cứu của chúng tôi là lựa chọn đối tượng người chồng với tinh trùng có hình thái bình thường 0%, để dễ dàng thu được

tinh trùng có hình thái bất thường riêng biệt về đầu, cổ- trung gian và đuôi được phân lập trong ICSI, rồi so sánh với nhóm chứng, nhóm tinh trùng có hình thái bình thường, còn trong nghiên cứu của French DB 2010 là lựa chọn các nhóm hình thái tinh trùng có hình thái bình thường từ 0%, 1%, 2%,...14% để so sánh. Bởi vì khi thực hiện ICSI, chúng ta thường lựa chọn ưu tiên những tinh trùng có hình thái tốt nhất, do đó khó đánh giá được ảnh hưởng thực sự của hình thái tinh trùng lên kết quả IVF/ICSI. Đây cũng là lợi ích vượt trội của việc ICSI khác biệt so với IVF thông thường, sự thụ tinh giữa noãn và tinh trùng hoàn toàn phụ thuộc vào chọn lọc tự nhiên.

Lựa chọn đối tượng người chồng bị phân mảnh DNA của tinh trùng vì hiện nay đây là xét nghiệm duy nhất đánh giá sâu về vật liệu di truyền mức độ phân tử, và xét nghiệm phân tán nhiễm sắc SCD, cụ thể là xét nghiệm Halosperm, đánh giá chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng, tiện lợi, chi phí rẻ hơn các phương pháp khác, độ nhạy, độ đặc hiệu tương đối cao... phù hợp với điều kiện Việt Nam.

Mục tiêu 1 có 197 cặp vợ chồng vô sinh phù hợp tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ, bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu. Mục tiêu 2 chỉ có 90 cặp đồng ý tham gia xét nghiệm Halosperm sau khi được tư vấn, trong số đó 82 cặp tham gia chuyển phôi vì lí do một số cặp làm xét nghiệm sàng lọc phôi sau đó không đủ điều kiện chuyển phôi, một số cặp còn lại chưa muốn chuyển phôi, điều này phù hợp với cỡ mẫu nghiên cứu.

Hướng tiếp cận của nghiên cứu theo phương pháp nghiên cứu mô tả thuần tập theo dõi dọc tiến cứu, dựa vào công thức tính cỡ mẫu thuần tập và ước tính một tỉ lệ, phù hợp với nghiên cứu. Cỡ mẫu tối thiểu là $n = 113$ cặp vợ chồng vô sinh, chúng tôi lấy $n = 197$ cặp cho mục tiêu 1 và $n = 90$ cho mục tiêu 2 là hoàn toàn hợp lý. Cỡ mẫu đủ đại diện cho một quần thể nghiên cứu, lại được thực hiện tại trung tâm lớn, Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản và công nghệ mô ghép Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, với đội ngũ y, bác sĩ,

chuyên viên phôi học giỏi và giàu kinh nghiệm, có uy tín. Do vậy, nghiên cứu của chúng tôi vừa đạt được chất lượng, vừa đạt được mức độ bằng chứng cao nên kết quả của đề tài là đáng tin cậy và có giá trị.

Lựa chọn tỉ lệ có thai lâm sàng và tỉ lệ sảy thai là kết quả chính, vì nghiên cứu của French DB 2010 cho rằng hình thái tinh trùng không ảnh hưởng đến kết quả ICSI. Lí do thứ 2 là phân mảnh DNA tinh trùng có liên quan đến tỉ lệ sảy thai hơn là tỉ lệ có thai như theo nhiều nghiên cứu chỉ ra. Do vậy việc lựa chọn tỉ lệ có thai lâm sàng và tỉ lệ sảy thai là mục tiêu chính cho nghiên cứu của chúng tôi bên cạnh là những chỉ tiêu về chất lượng phôi, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ có thai, tỉ lệ có thai diễn tiến, sảy thai sớm.

4.2. Bàn luận về mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và kết quả ICSI.

4.2.1. Đặc điểm 2 nhóm hình thái tinh trùng

Đặc điểm nhóm đối tượng tham gia nghiên cứu (Bảng 3.1) có sự tương đồng về tuổi trung bình $33,61 \pm 5,78$ năm, đều nằm trong độ tuổi sinh sản, BMI trung bình $22,93 \pm 2,31$ (kg/m^2), trong giới hạn bình thường, phù hợp với nghiên cứu của Hồ sỹ Hùng (2014), tuổi vô sinh trung bình $32,37 \pm 5,6$ năm.⁷⁴

Bảng 3.2 cho thấy không có mối liên quan giữa tuổi cha và hình thái tinh trùng phù hợp với nghiên cứu của của tác giả Ashock Agarwal (2014), Alessandro Colasante (2019).^{83,84} Theo Hồ Sỹ Hùng (2014), không thấy có mối liên quan giữa hình thái tinh trùng với BMI, thời gian vô sinh, $p > 0,05$.^{74,84,85,86} Nhưng không phù hợp với nhận định của Aris Kaltsas (2023) cho rằng: dị dạng tinh trùng có mối liên quan mật thiết với tuổi, kinh nghiệm sống, rối loạn nội tiết, yếu tố môi trường cũng như yếu tố gen, di truyền và cũng khác biệt với nghiên cứu của Macdonall (2013) cho rằng, có mối tương quan giữa BMI và hình thái tinh trùng bình thường ($r = 0,12$, $p = 0,024$) hay phân tích hồi quy tuyến tính đa biến cũng cho thấy BMI có tác động đáng kể

đến hình thái tinh trùng bình thường ($r = 0,47, p = 0,038$).^{85,86} Phải chăng do nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu còn trẻ, 34 tuổi, BMI, thời gian vô sinh ngắn hơn các nghiên cứu khác do bệnh nhân được truyền thông, giáo dục rộng rãi nên có ý thức đi khám vô sinh và thực hiện các biện pháp hỗ trợ sinh sản từ rất sớm.

Nhưng có sự khác nhau về thời gian vô sinh giữa 2 nhóm hình thái tinh trùng, vì chúng có mối tương quan Spearman với nhau, thời gian vô sinh trung bình càng dài thì tỉ lệ tinh trùng bất thường càng tăng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, điều này cũng có sự khác biệt so với Hồ Sỹ Hùng (2014), thời gian vô sinh không khác nhau giữa nhóm nam giới bình thường và nam giới vô sinh.⁷⁴

Một số nghề nghiệp làm ảnh hưởng đến việc gia tăng nhiệt độ ở tinh hoàn gây ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh tinh ở nam giới. Làm việc trong môi trường nhiệt độ cao như: luyện kim, lò rèn, đầu bếp hay những nghề nghiệp phải ngồi nhiều như tài xế, phi công, nhân viên văn phòng,... là những nguyên nhân gây tăng nhiệt độ ở tinh hoàn.

Các bệnh toàn thân, bệnh tại cơ quan sinh dục đặc biệt là giãn tĩnh mạch tinh, có ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA tinh trùng. Ở những nam giới bị các bệnh tại cơ quan sinh dục như quai bị, chấn thương tinh hoàn, viêm tinh hoàn, viêm sinh dục... các bệnh toàn thân như đái tháo đường, tăng huyết áp, tai biến mạch máu não... đều làm tăng nhiệt độ tinh hoàn, đặc biệt là tăng ROS gây tăng phân mảnh DNA tinh trùng.⁵²

Nghiên cứu này, không thấy mối liên quan giữa nghề nghiệp, môi trường với hình thái tinh trùng như biểu đồ 3.1, biểu đồ 3.2, nhưng có tìm thấy mối liên quan giữa bệnh tật với hình thái tinh trùng như biểu đồ 3.3 hay nói cách khác đối tượng nghiên cứu trong 2 nhóm tinh trùng (nhóm hình thái tinh trùng bình thường- N2, nhóm bất thường hình thái tinh trùng- N1) có sự tương đồng

về nghề nghiệp và yếu tố ảnh hưởng và nhưng có sự khác biệt về bệnh tật ảnh hưởng đến hình thái tinh trùng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Điều này giống với quan điểm của Fatemeh Dehghanpour (2017), ở những bệnh nhân tăng bạch cầu, giãn tĩnh mạch thừng tinh, viêm nhiễm nội sinh thì liên quan đến hình thái tinh trùng bất thường còn các yếu tố gây vô sinh nam như môi trường, tuổi tác, chế độ ăn béo phì, khí hậu...không gây ảnh hưởng đến hình thái tinh trùng.⁸⁷

4.2.2. *Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và mật độ tinh trùng:*

Kết quả (Bảng 3.3) cho thấy rằng: Mật độ tinh trùng nhóm hình thái bình thường- N2 cao hơn nhóm hình thái bất thường - N1 là 33,17%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,001$. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Fatemeh Dehghanpour (2017): Mật độ tinh trùng nhóm hình thái bình thường, nhóm tinh trùng đầu thuôn tròn lần lượt $105,72 \pm 59,29$ triệu/ml; $47,93 \pm 36,12$ triệu/ml với $p < 0,002$.^{71,73,87}

Hình thái tinh trùng có mối tương quan nghịch với mật độ tinh trùng (Bảng 3.4), có ý nghĩa thống kê với $r = -0,398$, $p = 0,001$, mật độ tinh trùng thấp hơn trong nhóm tinh trùng có hình thái bất thường so với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường.

4.2.3. *Mối liên quan giữa hình thái tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động*

Trong (Bảng 3.3) cho thấy rằng: Tỉ lệ di động của tinh trùng nhóm hình thái bình thường- N2 cao hơn nhóm bất thường hình thái- N1 là 15,22%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,001$. Phù hợp với nghiên cứu của Fatemeh Dehghanpour (2017), tỉ lệ tinh trùng di động trong nhóm bình thường, nhóm tinh trùng đầu thuôn tròn lần lượt $71,36 \pm 8,38\%$; $43,33 \pm 9,45\%$, sự khác biệt về tỉ lệ tinh trùng di động giữa 2 nhóm tinh trùng có hình thái bình thường và tinh trùng có hình thái bất thường, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.^{71,73,87}

Hình thái tinh trùng bình thường có mối tương quan nghịch với tỉ lệ tinh trùng di động (Bảng 3.4), $r = - 0,421$, $p = 0,001$. Hình thái tinh trùng bất thường sẽ làm giảm tỉ lệ di động có ý nghĩa thống kê hơn so với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường.

Hơn nữa, trong nghiên cứu này, chúng tôi còn tìm thấy mối liên quan tuyến tính giữa hình thái tinh trùng với mật độ và tỉ lệ tinh trùng di động có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$. Phương trình tuyến tính được biểu diễn như sau: *Hình thái tinh trùng* = $- 0,207 * MDTT - 0,359 * TTDD$ ($p = 0,003$, $p = 0,001$), có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, cũng phù hợp với nhận định của tác giả Ashock Agarwal (2014), Alessandro Colasante (2019), của Macdonall (2013).^{83,84,86}

Tinh trùng đầu thuôn tròn có liên quan đến quá trình chết theo chương trình của tế bào và thiếu hụt Prostamin, liệu pháp chống oxy hóa có thể có lợi trong cải thiện vô sinh, tăng khả năng sinh sản.⁸⁷ Và cũng phù hợp với nghiên cứu của Antonouli S (2019), Jakubik U.J (2020) cho rằng có mối tương quan thuận giữa dị dạng tinh trùng (Teratozoospermia) với mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.^{69,71}

4.2.4. Đặc điểm lâm sàng người vợ của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 2 nhóm hình thái tinh trùng (Bảng 3.5) tương đồng về các yếu tố: Tuổi 30,58 năm, BMI 20,73 kg/m², AFC 13,42 nang, AMH 3,78 ng/ml, với $p > 0,05$ và đều ở ngưỡng giới hạn bình thường về sức khỏe sinh sản, không ảnh hưởng đến kết quả ICSI. Điều này phù hợp với quan điểm của một số nghiên cứu cho rằng: Tuổi < 35 tuổi, BMI < 23 kg/m², thời gian vô sinh < 5 năm thuộc nhóm đáp ứng buồng trứng bình thường (số noãn M2 từ 4-14 noãn theo Bologna Châu Âu 2017), nhóm POSEIDON I (tuổi vợ < 35 tuổi, AMH < 1,2 ng/ml, AFC \geq 5 nang).^{72,76,88,89}

Nhưng khác với các nghiên cứu, thời gian vô sinh trung bình trong nghiên cứu này là 3,54 năm và cũng thấy cũng có sự khác nhau về thời gian vô sinh giữa 2 nhóm nghiên cứu, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

4.2.5. Kết quả noãn- phôi của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Số noãn M2 trung bình của 2 nhóm hình thái tinh trùng (Bảng 3.6) là 11,46 noãn, thuộc nhóm sinh sản tốt theo Nguyễn Xuân Hợi 2015 từ 11-15 noãn hoặc thuộc nhóm đáp ứng buồng trứng bình thường (số noãn M2 từ 4-14 noãn theo Bologna Châu Âu 2017).^{72,88,90}

Tỉ lệ thụ tinh cao trong nhóm hình thái bình thường N2 là 90,28%, thấp hơn trong nhóm hình thái tinh trùng bất thường N1 là 88,02%, sự khác biệt về tỉ lệ thụ tinh giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỉ lệ thụ tinh trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Devos A (2003), cũng như có sự khác biệt: tỉ lệ thụ tinh nhóm tinh trùng có ít acrosome là 66,6% hay tinh trùng có hình thái bình thường $< 4\%$ là 72% và nghiên cứu của Demir (2012): tinh trùng có hình thái bình thường $\geq 4\%$ là 70,8%, còn tỉ lệ thụ tinh trung bình của D. French DB (2010) dao động từ 70-74%.^{27,1,5} Khả năng, cũng do không tìm thấy mối tương quan giữa hình thái tinh trùng với tỉ lệ thụ tinh (Bảng 3.7) nên tỉ lệ thụ tinh giữa 2 nhóm không khác biệt, với $p > 0,05$.

Tỉ lệ phôi tốt trung bình của 2 nhóm trong nghiên cứu này là 29,14%, tỉ lệ phôi chất lượng tốt cao hơn trong nhóm hình thái tinh trùng bình thường N2 là 29,34% và thấp hơn trong nhóm hình thái tinh trùng bất thường (gồm bất thường đầu, bất thường trung gian, và bất thường đuôi tinh trùng) - N1 là 28,99%, sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Phôi chất lượng tốt trong nghiên cứu này thấp hơn tỉ lệ phôi tốt trong nghiên cứu của D. French DB (2010), tỉ lệ phôi nang chất lượng cao trong nhóm tinh trùng dị dạng là 37%, cao hơn có ý nghĩa thống kê với nhóm tinh

trùng có hình thái bình thường $\geq 5\%$ là 28% với $p < 0,05$.⁵ Và cũng thấp hơn tỉ lệ phôi tốt trong nghiên cứu của Devos A (2003), tinh trùng có hình thái bất thường có tỉ lệ phôi tốt $\geq 75\%$, còn tinh trùng gãy cổ có tỉ lệ phôi tốt là 68,8%.²⁷ Điều này có thể lí giải là do nghiên cứu của chúng tôi tỉ lệ thụ tinh cao hơn, nhiều phôi xấu xuất hiện, lại lựa chọn đánh giá cả phôi phân cắt và phôi nang, nên tỉ lệ phôi chất lượng cao thấp hơn các nghiên cứu khác. Nhưng cũng có lẽ, do hình thái tinh trùng không tìm thấy mối tương quan với tỉ lệ phôi chất lượng tốt (Bảng 3.7) nên sự khác biệt chưa thấy có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Tỉ lệ phôi chất lượng xấu cao hơn trong nhóm bất thường hình thái tinh trùng- N1 là 29,34%, thấp hơn trong nhóm hình thái tinh trùng bình thường- N2 là 27,64%, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Điều này có lẽ do bất thường đầu tinh trùng có mối liên quan với chất lượng hạt nhân, phân mảnh DNA tinh trùng và yếu tố gen di truyền như trong một số nghiên cứu.^{57,90,91} Và có lẽ, cũng do hình thái tinh trùng không tìm thấy mối tương quan với tỉ lệ phôi chất lượng xấu (Bảng 3.7) nên chưa tìm thấy sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.2.6. Kết quả chuyển phôi/ 1 chu kỳ của 2 nhóm hình thái tinh trùng

Tỉ lệ phôi chuyển trung bình (Bảng 3.8) là 2,73 phôi/1 lần, tỉ lệ chuyển phôi/ một chu kỳ tương đồng giữa hai nhóm nghiên cứu, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, xong tỉ lệ phôi chuyển trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với tỉ lệ phôi chuyển trung bình là 2,7 phôi của Govaert 1998.⁶⁵ Mặc dù số phôi chuyển trung bình cao nhưng lại phù hợp với nghiên cứu này vì chất lượng phôi tốt không cao, trung bình 30% là phôi tốt. Do vậy, các bác sỹ tăng số phôi chuyển 2-3 phôi/1 lần, để tăng kết quả ICSI.

Tỉ lệ làm tổ cao hơn trong nhóm bất thường hình thái tinh trùng- N1 là 43,95%, thấp hơn trong nhóm hình thái tinh trùng bình thường- N2, sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỉ lệ này cao hơn tỉ lệ làm tổ trong nghiên cứu của Devos (2003): tỉ lệ làm tổ của nhóm tinh trùng có hình thái bình thường là 18%, tỉ lệ làm tổ trong nhóm tinh trùng có hình thái bất thường là 9,6% với $p = 0,013$ hay tỉ lệ làm tổ trong chuyển phôi trữ lạnh là 16,1% theo Nguyễn Thị Minh Khai 2017, tỉ lệ làm tổ trong chuyển phôi đông lạnh của nhóm 10-15 noãn M2 là 30,1% theo nghiên cứu của Roque .M (2017).^{27,75,63} Nhận định này cũng có lẽ là do không tìm thấy mối tương quan giữa hình thái tinh trùng với tỉ lệ làm tổ (Bảng 3.9), không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Mặt khác, tỉ lệ làm tổ trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn tỉ lệ làm tổ trong các nghiên cứu khác vì tuổi người mẹ trẻ, niêm mạc tử cung lấy trong giới hạn 8-14 mm, có tính chất ba lá hoặc đồng nhất.

Tỉ lệ có thai trong nhóm N1 là 66,51% cao hơn nhóm N2 là 61,3%, có lẽ là do hình thái tinh trùng chưa thấy ảnh hưởng đến tỉ lệ có thai trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.9), sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỉ lệ này cao hơn tỉ lệ có thai trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Khai (2017) là 42,6% và tỉ lệ có thai là 44,6% trong nghiên cứu của GD.Palermo (2017).^{75,91} Có thể do kỹ thuật ngày một hiện đại hơn, tiên tiến hơn nên tỉ lệ có thai ngày một tăng cao. Tuổi của người mẹ ảnh hưởng đến kết quả có thai, thì trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi người mẹ trẻ hơn nên làm tăng tỉ lệ có thai phù hợp với nhận định của Minh Khai 2017, Hồ Sỹ Hùng 2014 cho rằng, tuổi người mẹ và niêm mạc tử cung có ảnh hưởng đến kết quả ICSI.^{74,75}

Tỉ lệ có thai lâm sàng trong các nhóm hình thái tinh trùng cao là 58,79%, tỉ lệ có thai không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p > 0,05$. Tỉ lệ này cao hơn tỉ lệ thai lâm sàng trong các nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Khai

(2017), GD Palermo (2017), lần lượt là 39%, 36,4%.^{75,91} Hoặc trong nghiên cứu của Devos A (2003) tỉ lệ có thai lâm sàng trong nhóm tinh trùng có hình thái bình thường là 32,6%; tỉ lệ có thai lâm sàng trong nhóm tinh trùng bất thường hình thái là 20,2% sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,018$.^{27,75,91}

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ có thai lâm sàng với tuổi vợ, AMH, AFC, số noãn M2, tuổi người chồng, số phôi chuyển và chất lượng phôi chuyển tốt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Bảng 3.10).

Tỉ lệ thai diễn tiến của 2 nhóm là 51,94%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỉ lệ này thấp hơn tỉ lệ có thai diễn tiến của Hồ Sỹ Hùng (2014) là 60,5%, nhưng cao hơn tỉ lệ thai diễn tiến của Nguyễn Thị Minh Khai (2017) là 34,7%.^{74,75} Tỉ lệ thai diễn tiến thấp hơn trong nhóm N1-nhóm hình thái tinh trùng bất thường là 49,12%, cao hơn trong nhóm N2-nhóm hình thái tinh trùng bình thường là 54,95%, dù sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Bởi vì chúng tôi, tìm thấy mối tương quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, giữa tỉ lệ thai diễn tiến với các yếu tố tuổi vợ, AMH, noãn M2, chất lượng phôi chuyển tốt, tuổi người chồng mà chưa tìm thấy mối liên quan giữa tỉ lệ thai diễn tiến với các yếu tố khác.

Tỉ lệ sảy thai của nhóm bất thường hình thái- N1 (Bảng 3.8) cao hơn nhóm tinh trùng có hình thái bình thường- N2 là 11,54 %, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,012$. Bởi vì hình thái tinh trùng có mối tương quan thuận với tỉ lệ sảy thai (Bảng 3.9), có ý nghĩa thống kê, $r = 0,186$ và $p = 0,011$. Tỉ lệ sảy thai cũng có liên quan đến số phôi chuyển trung bình trong mỗi chu kỳ, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ mà chưa tìm thấy mối liên quan giữa tỉ lệ sảy thai với các yếu tố về phía người vợ, các yếu tố về phía người chồng hay các yếu tố phôi khác (Bảng 3.11)

Tỉ lệ sảy thai của chúng tôi là 11,43%, sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,012$, tỉ lệ này thấp hơn tỉ lệ sảy thai 13,9% trong nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014), nhưng lại phù hợp với tỉ lệ sảy thai của Naru là 12,1% ở đối tượng nam giới có tinh trùng xuất tinh.^{74,66}

4.2.7. Sự phân bố tỉ lệ có thai, không có thai trong 2 nhóm hình thái tinh trùng

Tỉ lệ có thai của nhóm tinh trùng bất thường về hình thái và nhóm tinh trùng có hình thái bình thường đều cao, cao hơn tỉ lệ không có thai (Biểu đồ 3.4), sự khác biệt giữa tỉ lệ có thai và không có thai, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Mô hình phân bố tỉ lệ có thai trong nhóm hình thái tinh trùng bất thường cũng tương đồng với mô hình phân bố tỉ lệ có thai trong nhóm hình thái tinh trùng bình thường, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Điều này có thể lí giải như sau, nhóm bất thường đầu tinh trùng có liên quan đến tổn thương nhân, tổn thương DNA tinh trùng nên ảnh hưởng đến kết quả có thai, nhưng lại chiếm tỉ lệ rất thấp trong nghiên cứu của chúng tôi (18/113) bệnh nhân), do vậy chưa ảnh hưởng nhiều đến tỉ lệ có thai, còn bất thường trung gian, đuôi tinh trùng không ảnh hưởng nhiều đến nhân và DNA tinh trùng lại chiếm tỉ lệ cao (95/113) bệnh nhân, do đó quyết định nhiều đến tỉ lệ có thai, còn nhóm tinh trùng có hình thái bình thường là vô sinh không rõ nguyên nhân, phù hợp với quan điểm của Wang (2019) cho rằng tỉ lệ có thai phụ thuộc nhiều yếu tố.^{73,90,92}

4.2.8. Kết quả của các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ có thai, tỉ lệ thai diễn tiến, tỉ lệ sảy thai (Bảng 3.12) trong các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh cao hơn tỉ lệ có thai, tỉ lệ thai diễn tiến, tỉ lệ sảy thai trong các chu kỳ chuyển phôi tươi.

Tỉ lệ thai diễn tiến của chúng tôi tương đồng với tỉ lệ có thai diễn tiến trong nghiên cứu của Roque (2017), nhóm M2 từ 10-15 noãn, tỉ lệ có thai

diễn tiến trong chuyển phôi ET là 34%, trong chuyển phôi FET là 47% có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.⁶³ Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Minh Khai (2017) khả năng có thai, diễn tiến thai kỳ và kết quả sản khoa tốt hơn nhiều ở phôi FET- đông lạnh so với kết quả của phôi ET- phôi chuyển tươi.⁷⁵

Nhưng nghiên cứu của chúng tôi có kết quả khác biệt so với nghiên cứu đa trung tâm của Eleftheriadou A (2022), không thấy có sự khác biệt về tỉ lệ mang thai tích lũy bắt nguồn từ chu kỳ chuyển phôi tươi và chu kỳ chuyển phôi đông lạnh.⁹³ Tỉ lệ thai sinh sống của chuyển phôi đông lạnh là 30%, trong phân tích hồi quy, tuổi, nồng độ FSH, số lượng và chất lượng phôi được chuyển, loại quy trình và độ dày niêm mạc... Trong số đó, số lượng và chất lượng phôi chuyển có ảnh hưởng mạnh mẽ nhất đến kết quả có thai, yếu tố kỹ thuật ảnh hưởng rất ít đến kết quả có thai của chuyển phôi đông lạnh.⁹⁴

Một lí do có thể giải thích cho vấn đề này, phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, thấy rằng tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai, tỉ lệ mang thai lâm sàng cao hơn trong chu kỳ chuyển phôi ngày 5 so với chuyển phôi ngày 3.⁹⁵

4.3. Mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với hình thái tinh trùng

4.3.1. Đặc điểm người chồng trong từng nhóm DFI

Đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI (Bảng 3.13), có sự tương đồng về tuổi, BMI, thời gian vô sinh với $p > 0,05$, cũng như chưa tìm thấy mối tương quan giữa tuổi của người chồng, BMI, thời gian vô sinh với mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (Bảng 3.14) với $p > 0,05$, phù hợp với nghiên cứu của Braherm (2011).⁶⁷ Nhưng, điều này lại trái ngược với một số nghiên cứu khác như Su Mi Kim (2017), Sevastiani Antonouli (2019) khi phân tích trên 150 cặp vô sinh và sử dụng xét nghiệm Halosperm để đo DFI thấy rằng: có mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng và

tuổi chồng, BMI, thông số tinh dịch đồ tiêu chuẩn theo WHO 2010 (mật độ tinh trùng, tỉ lệ tinh trùng di động, hình thái tinh trùng).^{10,69} Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng liên quan thuận với tuổi chồng ($r = 0,23$, $p < 0,05$) theo nhận định của Gonzalex (2022), Garolla A (2015)^{96,97} Có lẽ, do tuổi nam giới trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi còn trẻ 35 tuổi, chỉ có 1 bệnh nhân 50 tuổi, lại được uống các thực phẩm chức năng chống oxy hóa trước khi làm xét nghiệm tinh dịch đồ, xét nghiệm Halosperm từ 2 - 3 tháng nên khả năng phục hồi sức khỏe sinh sản cao, giảm khả năng phân mảnh DNA của tinh trùng, phù hợp với một số nghiên cứu cho rằng, có thể điều trị DFI cao bằng thay đổi lối sống, chống nhiễm trùng, liệu pháp chống oxy hóa đường uống, điều trị giãn tĩnh mạch tinh, lựa chọn tinh trùng trong hỗ trợ sinh sản, chọn tinh trùng làm TESE.⁵⁰

Nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy có mối liên quan giữa nghề nghiệp với mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (Biểu đồ 3.5), phải chăng do những nghề nghiệp ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (lái xe đường dài, công nhân, kỹ sư làm việc trong môi trường nóng) chiếm tỉ lệ ít, chưa tạo ra sự khác biệt về phân bố nghề nghiệp trong bản thân mỗi nhóm DFI và khác biệt giữa các nhóm DFI, có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy có mối liên quan giữa một số yếu tố nguy cơ và ảnh hưởng tới mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng như hút thuốc lá, uống nhiều rượu, ma túy (Biểu đồ 3.6), phải chăng do những yếu tố nguy cơ và ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng chiếm tỉ lệ nhỏ, nên chưa tạo ra sự khác biệt về phân bố yếu tố ảnh hưởng trong bản thân mỗi nhóm DFI và khác biệt giữa các nhóm DFI, có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy có mối liên quan giữa bệnh tật với mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (Biểu đồ 3.7), phải chăng do

những bệnh gây ảnh hưởng đến mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng (giãn tĩnh mạch thừng tinh, viêm sinh dục) chiếm tỉ lệ ít, chưa tạo ra sự khác biệt về phân bố nghề nghiệp trong bản thân mỗi nhóm DFI và khác biệt giữa các nhóm DFI, có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.3.2. Mối liên quan giữa phân mảnh DNA của tinh trùng và mật độ tinh trùng hay tỉ lệ tinh trùng di động

Trong 3 nhóm DFI (Bảng 3.15), mật độ tinh trùng có sự tương đồng, không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nhưng tìm thấy sự khác biệt về tỉ lệ tinh trùng di động giữa nhóm DFI $\geq 30\%$ - nhóm 3 cao hơn mật độ tinh trùng các nhóm khác, nhóm DFI $< 15\%$ - nhóm N1, hay nhóm DFI từ 15-30%- nhóm 2, có ý nghĩa thống kê với $p_{13} = 0,014$, $p_{23} = 0,029$.

Trong nghiên cứu này (Bảng 3.16), chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa tỉ lệ DFI- mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với mật độ tinh trùng- MĐTT và tỉ lệ tinh trùng di động- TTĐĐ có ý nghĩa thống kê với $r = -0,232$; $r = -0,271$ ($p = 0,01$; $0,02$). Phương trình tuyến tính: $\% DFI = 77,334 - 0,275 * \text{nhóm MĐTT} - 0,238 * \text{nhóm TTĐĐ}$ ($p = 0,02$; $p = 0,007$), phù hợp với nhận định của tác giả Jakubik. U (2020) mức độ phân mảnh DNA tinh trùng liên quan âm tính với số lượng, mật độ tinh trùng, tỉ lệ di động của tinh trùng, hình thái tinh trùng bình thường, tỉ lệ sống của tinh trùng, liên quan thuận với chỉ số dị dạng và bất thường hình thái tinh trùng, và Sevastiani Antonoui (2019) nhận thấy rằng DFI liên quan âm tính với mật độ tinh trùng, tỉ lệ di động của tinh trùng $r = -0,29$; $r = -0,27$, $p < 0,05$).^{69,71}

4.3.3. Đặc điểm phân mảnh DNA tinh trùng trong nhóm hình thái tinh trùng tham gia xét nghiệm Halosperm

Tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng trung bình cao trong nhóm dị dạng tinh trùng (Bảng 3.17), nhất là nhóm tinh trùng dị dạng đầu- nhóm 2 ($27,28 \pm 15,03\%$), so với nhóm tinh trùng dị dạng trung gian, đuôi- nhóm 3 ($19,79 \pm$

12,47%), nhóm tinh trùng có hình thái bình thường- nhóm 1 ($18,89 \pm 12,69\%$), phù hợp với một số nghiên cứu của Efremov (2017), Hiệp Tuyết (2022) cho rằng hình thái tinh trùng bất thường đi kèm với tổn thương DNA của tinh trùng.

Nói cách khác, tổn thương đầu tinh trùng thường là tổn thương nhân gây phân mảnh DNA của tinh trùng và có mối tương quan thuận với tinh trùng khiếm khuyết Acrosome, đầu nhỏ lần lượt ($r = 0,3, p = 0,04; r = 0,5, p = 0,027$), như trong nghiên cứu của Brahem (2011), Jakubik (2020), Alessandro Colasante (2019).^{67,71,84} Nhưng chúng tôi chỉ tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa nhóm tinh trùng bất thường đầu-nhóm 2 và bất thường trung gian, đuôi- nhóm 3, mà không thấy sự khác biệt với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường- nhóm 1 ($p > 0,05$) có lẽ đây là vô sinh nam không rõ nguyên nhân trong nhóm 1.

4.3.4. Sự phân bố mức độ phân mảnh DNA tinh trùng trong các nhóm hình thái tinh trùng xét nghiệm Halosperm

Bảng 3.17 cho thấy nhóm bất thường đầu tinh trùng- nhóm 2 có tỉ lệ phân mảnh cao nhất so với nhóm tinh trùng có hình thái bình thường- nhóm 1 và nhóm 3- nhóm bất thường khác, có ý nghĩa thống kê với $p_{23} < 0,05$.

Biểu đồ 3.8 cho thấy sự phân bố mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng trong nhóm bất thường đầu tinh trùng- nhóm 2, khác biệt so với nhóm tinh trùng bất thường trung gian, đuôi- nhóm 3 và nhóm tinh trùng có hình thái bình thường- nhóm 1. Nhận định này phù hợp với nghiên cứu của Tuyết (2022) cho rằng, chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng có mối tương quan thuận với tinh trùng đầu tròn với $r = 0,197$ và $p = 0,025$.³³

Ở nhóm 2, ít nam giới có tỉ lệ DFI $< 15\%$, nhiều nam giới có DFI $\geq 30\%$, có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$, còn ở nhóm 1, nhóm 3 nhiều nam giới có tỉ lệ DFI $< 15\%$, ít nam giới có DFI $\geq 30\%$, $p < 0,05$.

Nhận định này phù hợp với nghiên cứu của Jakubik (2020): DFI trung bình cao hơn, nhiều đối tượng có $DFI \geq 30\%$, ít đối tượng có $DFI \leq 15\%$ trong nhóm hình thái bình thường- HTBT $< 4\%$ so với nhóm HTBT $\geq 4\%$, hay Ya-Yun Wang (2019), cho rằng đột biến gen và bất thường đầu tinh trùng thường kết hợp với phân mảnh DNA, còn Sonia Brahem (2011) thì cho rằng có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa đầu vô định hình, đầu kim và sự phân chia nhiễm sắc thể giới tính và phân mảnh DNA cao hơn.^{71,63,67}

4.3.5. Ngưỡng giá trị DFI trong chẩn đoán vô sinh

Giá trị chẩn đoán vô sinh của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng (ở Hình 3.1, hình 3.2, bảng 3.18) cho thấy ngưỡng DFI lần lượt là 15,4%, 20,2% để xác định mức tỉ lệ tinh trùng di động, mật độ tinh trùng tiêu chuẩn trong chẩn đoán vô sinh theo WHO 2010 với diện tích dưới đường cong AUC lần lượt 0,639; 0,785 và $p = 0,019$; $p = 0,004$ có ý nghĩa thống kê, phù hợp với nhận định của các tác giả Cui (2015), Budi Wiweko (2017) về đường cong ROC dự báo vô sinh nam của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng tốt hơn tinh dịch đồ, có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.^{98,99}

Ngưỡng DFI là 14,4% trong chẩn đoán bất thường tinh trùng về mặt hình thái trong nghiên cứu của chúng tôi có giá trị thấp hơn của Jakubik (2020) là 18% và $p = 0,05$. Do nghiên cứu của chúng tôi chỉ nghiên cứu 2 nhóm hình thái tinh trùng, hình thái tinh trùng bình thường $\geq 4\%$ và hình thái tinh trùng bình thường là 0%, chứ không nghiên cứu trên tất cả các bất thường hình thái tinh trùng từ 0 - 4% như nghiên cứu của Jakubik (2020).⁷¹

4.3.6. Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 3 nhóm DFI

Đặc điểm lâm sàng của người vợ trong 3 nhóm nghiên cứu (Bảng 3.19) tương đồng về các yếu tố: Tuổi 30,63 năm, BMI 20,38 kg/m², AFC 13,02 nang, AMH 3,89 ng/ml, thời gian vô sinh 3,2 năm, với $p > 0,05$ và đều ở ngưỡng giới hạn bình thường về sức khỏe sinh sản. Điều này giống với quan

điểm của một số tác giả nhận định: Tuổi < 35 tuổi, BMI < 23 kg/m², thời gian vô sinh < 5 năm ở nhóm đáp ứng buồng trứng bình thường (số noãn M2 từ 4-14 noãn theo Bologna Châu Âu 2017), ở nhóm POSEIDON I (tuổi vợ < 35 tuổi, AMH < 1,2 ng/ml, AFC ≥ 5 nang) theo Sandro C. Esteves (2019).^{81,88,89}

4.3.7. Đặc điểm người chồng trong 3 nhóm DFI

Đặc điểm lâm sàng của người chồng trong 3 nhóm nghiên cứu (Bảng 3.20) cũng tương đồng, về tuổi 34,05 năm, BMI 23,07 kg/m², thời gian vô sinh 3,2 năm, mật độ tinh trùng 56,49 triệu/ml với $p > 0,05$, thuộc nhóm có giới hạn sinh sản bình thường không ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng.^{12,78}. Nhưng có sự khác biệt về tỉ lệ tinh trùng di động nhóm 3- nhóm phân mảnh DFI ≥ 30%, thấp hơn nhóm 1- nhóm không bị phân mảnh DNA tinh trùng là 13,81% với $p = 0,04$, nhóm 3 thấp hơn nhóm 2- nhóm DFI từ 15-30%, là 10,5%, $p = 0,036$, có ý nghĩa thống kê.

Hơn nữa, trong nghiên cứu này chúng tôi còn tìm thấy mối tương quan nghịch giữa tỉ lệ tinh trùng di động với mức độ phân mảnh DNA tinh trùng, $r = -0,304$, $p = 0,005$, phù hợp nghiên cứu của Su Mi Kim (2019), Jakubik (2020).^{10,71}

4.3.8. Ảnh hưởng của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng lên thụ tinh và chất lượng phôi

Nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.21) thấy rằng tỉ lệ thụ tinh trong nhóm nhóm 3- nhóm phân mảnh DNA tinh trùng cao, cho kết quả thấp nhất so với tỉ lệ thụ tinh nhóm nhóm 2- nhóm phân mảnh DNA tinh trùng trung bình, N1- nhóm không phân mảnh DNA tinh trùng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm 3, nhóm 2 có ý nghĩa thống kê với $p = 0,041$. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Gonzalez Martin (2012) cho rằng, phân mảnh DNA tinh trùng ảnh hưởng xấu đến khả năng thụ tinh của tinh trùng, đặc biệt khi mức độ phân mảnh DNA cao.¹⁰⁰ Nghiên cứu thuần tập của Edson Borges (2019),

cũng chỉ ra rằng tỉ lệ thụ tinh trong nhóm $DFI \geq 30\%$ là 85%, thấp hơn $DFI < 30\%$ là 90%.⁷⁰ Nhưng chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ thụ tinh với mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với $r = -0,169$, $p = 0,129$ (Bảng 3.22).

Thêm vào đó, DFI cao, liên quan có ý nghĩa thống kê với chất lượng phôi, tăng tỉ lệ phôi xấu (Bảng 3.22). Tỉ lệ phôi xấu cao nhất trong nhóm 3, thấp nhất trong nhóm 1- nhóm không phân mảnh DNA tinh trùng và có mối tương quan thuận Spearman giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với chất lượng phôi xấu $r = 0,288$, $p = 0,009$, theo phương trình tuyến tính biểu diễn như sau:

$$\% \text{ Tỉ lệ phôi xấu} = 0,288 * DFI.$$

Tỉ lệ phôi tốt thấp nhất trong nhóm 3 là 18,39% so với nhóm 1, nhóm 2 lần lượt là 29,64%; 31,87%, dù sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,148$. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng chưa tìm thấy mối tương quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với tỉ lệ phôi tốt, không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$ (Bảng 3.22).

Sự phân bố mức độ phôi tốt $< 30\%$ cao hơn mức độ phôi tốt $\geq 30\%$ (Biểu đồ 3.9), $OR = 2,49$, 95% CI (1,029-5,997), $p = 0,022$ trong nhóm 3- nhóm phân mảnh tinh trùng cao và sự phân bố mức độ phôi tốt nhóm 3 cũng khác biệt so với sự phân bố mức độ phôi tốt trong nhóm 2- nhóm có mức độ phân mảnh DNA từ 15- 30%, hay mức độ không phân mảnh $< 15\%$ - nhóm 1 có ý nghĩa thống kê $p = 0,035$ (Biểu đồ 3.9). Điều này phù hợp với nghiên cứu của Edson Borges (2019), cho thấy mức độ phân mảnh DNA tinh trùng liên quan đến sự phát triển kém của phôi, hay nghiên cứu của Su Mi Kim (2017), mức độ phân mảnh DNA tinh trùng ảnh hưởng đến mức độ phôi tốt $\geq 70\%$ và mức độ phôi tốt $< 70\%$, ngưỡng 30,7%, $p < 0,05$, ở những người phụ nữ có đáp ứng buồng trứng bình thường.^{70,10} Nghiên cứu của S.M. Kim (2019)

có ngưỡng phôi tốt là 70%, cao hơn nghiên cứu của chúng tôi là vì tiêu chuẩn phôi tốt của S.M. Kim là phôi ngày 3, còn nghiên cứu của chúng tôi phân loại phôi tốt lấy cả ngày 3 và ngày 5.¹⁰

Phân tích tinh dịch đồ theo WHO (2010), không đầy đủ, không dự đoán được khả năng sinh sản nam giới và thành công của hỗ trợ sinh sản.^{31,101} Tiêu chuẩn tối thiểu của tinh dịch đồ không mang giá trị trung bình mà là tiêu chuẩn tối thiểu để mang thai, trên thực tế 15% bệnh nhân vô sinh nam có kết quả tinh dịch đồ bình thường.¹⁰²

Hơn 30 năm nghiên cứu, các xét nghiệm về sự toàn vẹn DNA của tinh trùng, nhiều tác giả thấy rằng mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có ý nghĩa hơn tinh dịch đồ.¹⁰¹ Ngay cả khi tinh dịch đồ bình thường, thì mức độ phân mảnh DNA cũng cao. Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng và biến tính của DNA có tác động xấu đến quá trình thụ tinh, sự phát triển của phôi và có thể gây vô sinh.¹⁰³ Nam giới vô sinh có tỉ lệ DFI cao hơn nam giới sinh sản bình thường, điều đáng lo ngại là việc thụ tinh với DNA hư hỏng mà tế bào trứng không sửa chữa DNA tinh trùng được thì con cái biểu hiện đột biến de novo cao, nguy cơ mắc bệnh di truyền ở thế hệ con cái kể cả dị tật bẩm sinh và ung thư.¹⁰²

Do vậy, giá trị của phân mảnh DNA của tinh trùng như một chỉ số độc lập và được đưa vào quá trình phân tích tinh dịch.^{60,101}

Để đánh giá chính xác tác động của phân mảnh DNA tinh trùng lên quá trình phát triển phôi thì việc kiểm soát tuổi của mẹ, số lượng và chất lượng tế bào noãn M2 là phù hợp vì có nghiên cứu phân tích tổng hợp cho rằng, có mối liên quan thuận giữa số lượng tế bào noãn thu thập được và số lượng phôi có chất lượng tốt cao nhất ở phôi ngày 2, ngày 3 ($r = 0,791$, $p < 0,001$); người phụ nữ có đáp ứng buồng trứng kém với ít noãn M2, có cơ hội thấp hơn để tạo phôi chất lượng tốt bất kể mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng.¹⁰

Tinh trùng không có cơ chế sửa chữa tổn thương DNA, hoạt động sửa DNA phụ thuộc vào bộ máy tế bào noãn khi quá trình thụ tinh diễn ra, được thực hiện bởi hợp tử, trên thực tế các phiên mã (ARN) và protein của người mẹ hỗ trợ sự phát triển của hợp tử đến khi kích hoạt bộ gen của phôi.¹⁰² Khả năng sửa chữa tổn thương của DNA của tế bào noãn phụ thuộc vào mức độ tổn thương DNA tinh trùng, loại tổn thương nhiễm sắc thể tinh trùng, chất lượng của máy móc sửa chữa tế bào mầm. Rõ ràng khi tuổi mẹ tăng lên, lượng mARN dự trữ trong tế bào noãn giảm đi sẽ giảm hiệu quả sửa chữa DNA của noãn.^{10,101} Tuổi mẹ cao theo định nghĩa của AMA là sinh đẻ ở tuổi > 35 tuổi. Tăng tuổi mẹ sẽ ảnh hưởng khả năng sinh sản, sự thành công của sinh sản, sức khỏe của con cái, ảnh hưởng đến sự phát triển phôi và kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.¹⁰²

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn phụ nữ trẻ, 29-32 tuổi, đáp ứng buồng trứng bình thường 10-14 noãn M2, sức khỏe sinh sản bình thường sẽ đủ bằng chứng thuyết phục rằng tác động của phân mảnh DNA tinh trùng lên chất lượng phôi là riêng lẻ sau khi đã loại bỏ yếu tố nhiễu.

Một số nghiên cứu thấy rằng, tỉ lệ phân mảnh DNA cao có thể ảnh hưởng đến sự phát triển phôi sớm cho đến giai đoạn 4 tế bào, giai đoạn được cho là bộ gen người cha không hoạt động.^{10,102} Phân mảnh DNA tinh trùng sẽ kích hoạt các con đường sửa chữa DNA bổ xung và sự phát triển của phôi có thể bị trì hoãn, làm phôi kém chất lượng.¹⁰

Sự phân mảnh DNA tinh trùng cao làm chậm động học phát triển của phôi thai, sự gia tăng mức độ phân mảnh DNA, cần thời gian trước khi phân chia tế bào phôi đầu tiên để kích hoạt bộ máy sửa chữa DNA tối ưu trong tế bào noãn chất lượng cao hơn.¹⁰² DFI càng cao sự phát triển của phôi càng chậm hơn, DFI thấp hơn phôi phát triển nhanh hơn trong chu kỳ IVF/ICSI.¹⁰² DFI thấp hơn có liên quan đến phôi đạt đến giai đoạn phôi nang với tốc độ nhanh hơn.^{59,104}

4.3.9. Mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng và kết quả chuyển phôi

3 nhóm phân mảnh DNA tinh trùng, nhóm 3- DFI $\geq 30\%$, nhóm 2- DFI từ 15-30%, nhóm 1- DFI $< 15\%$ (Bảng 3.23) có sự tương đồng về số lượng phôi chuyển trung bình 2,5 phôi/1 lần và số chu kỳ chuyển phôi trung bình 1,3 chu kỳ, không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p > 0,05$.

Nhưng tỉ lệ làm tổ trung bình thấp 46%, thấp nhất là nhóm 3: 36% phù hợp với các nghiên cứu khác cũng như nhận định của J. Ribas-Maynou (2019). Sự phân mảnh sợi đôi DNA cao, tạo ra phôi chậm phát triển thành phôi nang, ảnh hưởng đến tỉ lệ làm tổ thấp hơn và tăng nguy cơ thất bại làm tổ.^{57,97,104,105} Tỉ lệ làm tổ của nhóm DFI $< 30\%$ là 48% cao hơn tỉ lệ làm tổ của nhóm DFI $\geq 30\%$ là 36% phù hợp với nghiên cứu của Edson Borges (2019). Tỉ lệ làm tổ của nhóm DFI $< 30\%$ là 46% và nhóm DFI $\geq 30\%$ là 32%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.⁷⁰

Tỉ lệ có thai trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là 65,85%, thấp nhất trong nhóm 3, tỉ lệ có thai không khác biệt giữa các nhóm 3, nhóm 2, nhóm 1 với $p = 0,345$. Tỉ lệ này cao hơn nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là 60,5%. Lí do giải thích giống với quan điểm của Zhang (2022) đưa ra, khi xây dựng mô hình dự báo có thai liên quan đến nhiều yếu tố mẹ: Tuổi, BMI, độ dày nội mạc, AMH, FSH cơ bản, cách thức chuyển phôi nang, hay phôi phân cắt, mật độ mạch máu và sức cản mạch máu của nội mạc tử cung...cũng phù hợp với nhận định của Tie-Cheng Sun (2018).^{74,73,106}

Tỉ lệ có thai lâm sàng là 60,96%, thấp nhất trong nhóm 3 tương đồng với tỉ lệ thai lâm sàng của Zhang (2022) là 62,98% trong các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh. Mặc dù không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 3 nhóm 3, nhóm 2, nhóm 1 với $p > 0,05$, trái ngược với kết quả Meta phân tích của

Simon L (2017). Phân mảnh DNA của tinh trùng có ảnh hưởng xấu đến kết quả thai lâm sàng, OR = 1,31; 95% CI (1,08 - 1,59), p = 0,0068.^{62,73}

4.3.10. Bình luận về giá trị DFI trung bình

Hình 3.3 cho thấy ngưỡng giá trị chất lượng phôi tốt ở mức 30% khi so sánh mức độ DFI < 30% và DFI ≥ 30% với AUC là 0,637 và p > 0,05.

Do đó, khi nghiên cứu chất lượng phôi tốt loại A (Bảng 3.24), chúng tôi phân loại 2 nhóm mức độ phôi tốt ≥ 30% và mức độ phôi tốt < 30% thấy có sự khác biệt về mức độ phân mảnh DNA trung bình lần lượt là 17,34% và 23,3% có ý nghĩa thống kê với p = 0,04. Điều này chứng tỏ có sự ảnh hưởng của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng lên chất lượng phôi tốt, phù hợp với nghiên cứu của Borges (2019). Khi tác giả nhận thấy rằng có sự ảnh hưởng của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng ở ngưỡng 30% lên sự phát triển kém của phôi, sau khi đã loại trừ ảnh hưởng của yếu tố nam và yếu tố nữ. Nhận định này cũng phù hợp với quan điểm của Kim (2019), ngưỡng của DFI là 30,7% có ảnh hưởng đến tỉ lệ phôi tốt ngày 3 và chất lượng phôi nang tốt ngày 5, ở phụ nữ có đáp ứng buồng trứng bình thường.^{72,10}

Ngược lại, với nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021), phân loại chất lượng phôi tốt CLPT ≥ 50% và CLPT < 50% thì DFI trung bình lần lượt là 18,1% và 18,4%, không khác biệt với p = 0,61.⁷⁶ Sự khác biệt này là do chúng tôi hạ thấp tiêu chuẩn phân loại phôi tốt ở mức 30%, còn phân loại phôi tốt của Lê Minh Tâm là 50% nên không thấy sự khác biệt về ảnh hưởng của mức độ phân mảnh DNA tinh trùng lên phôi chất lượng tốt.⁷⁶ Điều thứ hai là trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn mẫu phôi cả phôi phân cắt ngày 3 và phôi nang ngày 5, nên mức độ phôi tốt thấp ở ngưỡng 30% chứ không cao như ngưỡng lựa chọn đánh giá của Lê Minh Tâm (2021) ở ngưỡng 50%. Borges (2019) lựa chọn ngưỡng phôi tốt ở mức 70%, do các tác giả chỉ lựa chọn phôi chất lượng tốt ngày 3 để đánh giá phôi.^{76,70}

4.3.11. Bàn luận về 2 nhóm có thai, không có thai

Đặc điểm người vợ (Bảng 3.26)

Tuổi vợ trung bình trong nhóm có thai thấp hơn nhóm không có thai lần lượt là 29,87 tuổi và 32,73 tuổi, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,016$. Tuổi vợ liên quan nghịch với tỉ lệ có thai với $r = - 0,291$, $p = 0,008$. Điều này phù hợp nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021), tuổi vợ trong nhóm có thai trung bình là 32 tuổi thấp hơn tuổi vợ trong nhóm không có thai là 33 tuổi, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,05$.⁷⁶

Đặc điểm BMI trung bình trong nhóm có thai và nhóm không có thai tương đồng với nhau lần lượt là $20,33 \text{ kg/m}^2$ và $20,6 \text{ kg/m}^2$, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, phù hợp với quan điểm của Lê Minh Tâm (2021) với BMI trung bình là $20,5 \text{ kg/m}^2$, không có sự khác biệt giữa 2 nhóm, cũng như không thấy mối liên quan của BMI với tỉ lệ có thai.⁷⁶

Số lượng nang thứ cấp AFC trung bình trong nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai lần lượt là 14,42 nang và 11,95 nang, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Không thấy mối liên quan giữa AFC và tỉ lệ có thai trong nghiên cứu này, song chúng tôi ghi nhận có sự liên quan có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$ giữa AFC với số lượng noãn trưởng thành M2, AMH, và liên quan nghịch với tuổi vợ lần lượt ($r = 0,693$; $r = 0,574$; $r = - 0,301$ và $p = 0,000$; $p = 0,000$; $p = 0,006$).

AMH trung bình trong nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai lần lượt là 4,26 ng/ml và 2,86 ng/ml, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,008$, điều này phù hợp nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021). AMH trong nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0003$.⁷⁶ Hơn nữa, chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa AMH và tỉ lệ có thai với $r = 0,294$, $p = 0,007$. Ngoài ra AMH còn tương quan thuận

với M2, AFC, tương quan nghịch với tuổi vợ lần lượt $r = 0,641$; $r = 0,574$; $r = -0,259$ và $p = 0,001$; $p = 0,001$; $p = 0,019$.

Số lượng noãn trưởng thành M2 trong nhóm có thai cao hơn M2 trong nhóm không có thai lần lượt là 13,1 noãn và 9,73 noãn, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,036$. M2 cũng có mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê với tỉ lệ có thai với $r = 0,224$ và $p = 0,043$. Ngoài ra M2 cũng tương quan thuận với AFC, AMH, tương quan nghịch với tuổi mẹ có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Thời gian vô sinh giữa 2 nhóm có thai và không có thai tương đương nhau, trung bình là 3,2 năm, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với $p > 0,05$.

Đặc điểm người chồng trong 2 nhóm có thai và không có thai (Bảng 3.26)

Tuổi người chồng trung bình trong nhóm có thai thấp hơn nhóm không có thai lần lượt là 33,08 năm và 36,68 năm, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,057$, kết quả này có sự khác biệt so với nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021). Tuổi trung bình nhóm có thai và không có thai tương đương là 36 tuổi, 37 tuổi, xong không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,17$.⁷⁶ Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan nghịch chiều của tuổi người chồng và tỉ lệ tinh trùng di động, có ý nghĩa thống kê, $r = -0,293$, $p = 0,008$, nhưng không có mối liên quan giữa tuổi chồng và tỉ lệ có thai.

BMI- chỉ số khối cơ thể trung bình của 2 nhóm có thai và không có thai tương đương nhau, nhưng không thấy mối liên quan của BMI và tỉ lệ có thai phù hợp với nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021) với $p > 0,05$.⁷⁶

MĐTT- mật độ tinh trùng trung bình trong nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai lần lượt là 60,07 triệu/ml; 46,45 triệu/ml, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. MĐTT cũng không liên quan đến tỉ lệ có thai, kết quả này có phần khác biệt với nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021), MĐTT nhóm có thai là 31 triệu/ml, nhóm không có thai là 32 triệu/ml, không chênh lệch nhau nhiều với $p = 0,183$, là do Lê Minh Tâm chọn MĐTT tiêu chuẩn ≥ 1 triệu/ml.⁷⁶

Tỷ lệ tinh trùng di động- TTĐĐ trung bình của nhóm có thai cao hơn TTĐĐ của nhóm không có thai lần lượt là 37,3%, 29,36%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỷ lệ tinh trùng di động cũng không thấy mối liên quan với tỉ lệ có thai nhưng có mối liên quan thuận với mật độ tinh trùng di động, và tương quan nghịch với mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng, tuổi chồng có ý nghĩa thống kê lần lượt với $r = 0,423$; $r = - 0,307$; $r = - 0,293$ và $p = 0,000$; $p = 0,005$; $p = 0,008$.

Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng- DFI thấp hơn trong nhóm có thai so với nhóm không có thai $p > 0,05$, phân mảnh DNA tinh trùng không có mối liên quan với tỉ lệ có thai xong chúng tôi ghi nhận mức độ phân mảnh DNA tinh trùng có mối tương quan nghịch với tỉ lệ tinh trùng di động.

DFI trung bình của bệnh nhân có thai là 18,99% thấp hơn mức DFI trung bình của bệnh nhân không có thai là 23,54% nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,157$, phù hợp với ngưỡng có thai của Lê Minh Tâm là 22,2%, diện tích dưới đường cong AUC = 0,51, 95% CI (0,42-0,6). DFI trung bình của nhóm có thai và nhóm không có thai gần như tương đương nhau lần lượt là 23,6% và 23,3%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Phải chăng sự khác nhau này là do cách chọn mẫu nam giới làm xét nghiệm Halosperm của Lê Minh Tâm (2021), chỉ lấy những đối tượng nam có mật độ tinh dịch đồ tiêu chuẩn ≥ 1 triệu/ ml, trong khi nghiên cứu của chúng tôi lấy cả nhóm tinh trùng có mật độ < 1 triệu/ml.⁷⁶

Yếu tố thụ tinh và chất lượng phôi trong 2 nhóm có thai và không có thai (Bảng 3.26)

Tỉ lệ thụ tinh trong nhóm có thai và nhóm không có thai tương tự nhau, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ và cũng không thấy mối liên quan giữa tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ có thai.

Tỉ lệ phôi tốt – CLPT trung bình trong nhóm có thai cao hơn tỉ lệ phôi tốt trong nhóm không có thai lần lượt là 31,18% và 19,58%, có ý nghĩa thống

kê với $p = 0,046$, cũng như tìm thấy mối tương quan thuận chiều giữa tỉ lệ phôi tốt và tỉ lệ có thai có ý nghĩa thống kê với $r = 0,346$; $p = 0,001$.

Tỉ lệ phôi xấu – CLPX trung bình trong nhóm có thai thấp hơn nhóm không có thai lần lượt là 28,23% và 36,38%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Số phôi chuyển trung bình trong một chu kỳ chuyển phôi ở nhóm có thai thấp hơn nhóm không có thai lần lượt là 2,25 phôi; 3,27 phôi, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,045$. Nghiên cứu cũng tìm thấy mối tương quan Spearman giữa số phôi chuyển trung bình trong một chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ có thai với $r = -0,428$; $p = 0,001$. Điều này khác với nghiên cứu của Hồ sỹ Hùng (2014), khi tăng số phôi chuyển sẽ tăng tỉ lệ có thai. Bởi vì, nhóm có thai khi chuyển phôi thì lựa chọn số phôi chất lượng tốt để chuyển phôi thì dù số lượng có ít hơn vẫn tốt hơn nhóm không có thai mà chuyển nhiều phôi chất lượng kém.⁷⁴

Số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong 2 nhóm có thai và không có thai tương tự nhau lần lượt là 1,25 chu kỳ và 1,55 chu kỳ, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,088$. Bảng 3.27, chúng tôi lại tìm thấy mối tương quan Spearman có ý nghĩa thống kê giữa số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ có thai là $r = -0,545$; $p = 0,001$, nghĩa là khi chất lượng phôi xấu thì dù có tăng số phôi chuyển hay số chu kỳ chuyển phôi thì cũng không cải thiện tỉ lệ có thai.

Khi xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính đa biến, chúng tôi thấy rằng tỉ lệ có thai phụ thuộc nhiều yếu tố như: số phôi chuyển, tuổi vợ, chất lượng phôi chuyển tốt, hay AMH theo phương trình:

$$\% \text{ Tỉ lệ có thai} = -0,434 * \text{Số chu kỳ} - 0,225 * \text{Tuổi vợ} + 0,154 * \text{CLPT} + 0,132 * \text{AMH} \quad (p = 0,000; p = 0,023; p = 0,114; p = 0,175).$$

Các yếu tố này đã đóng góp vào xây dựng mô hình, giải thích 32,7% nguyên nhân có thai, điều này phù hợp với mô hình đa nhân tố giải thích tỉ lệ có thai theo nghiên cứu của Zhang (2022), Sun TC (2020).^{73,106}

4.3.12. Bàn luận về 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng

Yếu tố người vợ của 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng (Bảng 3.28)

Tuổi trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 29,7 tuổi thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 32,65 tuổi, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,006$. Chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa tuổi người vợ và tỉ lệ có thai lâm sàng, $r = -0,285$, $p = 0,01$. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Khai (2017) cho rằng: tỉ lệ có thai lâm sàng giảm dần khi tuổi bệnh nhân tăng lên, tỉ lệ có thai lâm sàng ở nhóm trên 35 tuổi giảm hẳn so với nhóm dưới 30 tuổi và nhóm từ 30-35 tuổi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.⁷⁵

BMI trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 20,27 kg/m², không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không có thai lâm sàng là 20,62 ± 2,0 kg/m², $p > 0,05$. Chúng tôi cũng không tìm thấy mối tương quan giữa BMI và tỉ lệ thai lâm sàng theo chu kỳ chuyển phôi.

Số nang thứ cấp AFC trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 13,13 nang, không khác biệt với AFC trung bình của nhóm không có thai lâm sàng là 12,8 nang, $p > 0,05$, và cũng không thấy mối tương quan giữa AFC và tỉ lệ có thai lâm sàng.

AMH trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 4,29 ng/ml, cao hơn AMH trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 3,01 ng/ml, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,02$. Chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa AMH và tỉ lệ có thai lâm sàng, có ý nghĩa thống kê với $r = 0,27$ và $p = 0,014$.

Số noãn trưởng thành M2 trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 13,25 noãn, cao hơn M2 trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 9,92 noãn, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,037$. Chúng tôi cũng tìm thấy mối

tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa số noãn trưởng thành M2 và tỉ lệ có thai lâm sàng với $r = 0,25$ và $p = 0,043$.

Thời gian vô sinh trung bình trong nhóm có thai là 3,01 năm, không khác biệt với thời gian vô sinh trung bình của nhóm không có thai là 3,62 năm, $p > 0,05$, và không thấy mối tương quan giữa thời gian vô sinh với tỉ lệ có thai lâm sàng. Điều này trái ngược với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Khai (2017) cho rằng: 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 95% CI (0,605-0,964), $p < 0,05$.⁷⁵ Có sự khác nhau này là do nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tuổi của các đối tượng còn trẻ, đều nằm trong nhóm dưới 35 tuổi nên chưa thấy sự khác biệt trong kết quả có thai lâm sàng, cũng có nghĩa rằng các đối tượng vô sinh hiện nay được quan tâm và phát hiện sớm hơn thời gian trước.

Yếu tố người chồng của 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng (Bảng 3.28)

Tuổi trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 32,88 năm thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 36,58 năm, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,09$. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm thấy có mối tương quan nghịch giữa tuổi người chồng và kết quả có thai lâm sàng, $r = -0,251$, $p = 0,023$. Điều này trái ngược với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014), thấy rằng tuổi, nồng độ testosterone, thể tích tinh hoàn không ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng.⁷⁴

BMI trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 23,06 kg/m², không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không có thai lâm sàng là 23,07 kg/m², $p > 0,05$, cũng không có mối liên quan giữa BMI và tỉ lệ có thai lâm sàng được ghi nhận.

Mật độ tinh trùng- MĐTT trong nhóm có thai lâm sàng là 61,11 triệu/ml, cao hơn MĐTT trong nhóm không có thai lâm sàng là 46,54 triệu/ml, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, cũng không thấy mối liên quan giữa MĐTT với tỉ lệ có thai lâm sàng trong nghiên cứu này.

Tỉ lệ tinh trùng di động – TTĐĐ trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 37,5% cao hơn TTĐĐ trong nhóm không có thai lâm sàng là 30,15 %, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,063$, cũng không thấy mối liên quan giữa TTĐĐ với tỉ lệ có thai lâm sàng trong nghiên cứu này.

Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng - DFI trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 19,48 %, thấp hơn DFI trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 21,79 %, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Không thấy mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với tỉ lệ có thai lâm sàng. Điều này giống một phần với nghiên cứu của Repalle D (2022) thấy rằng có sự khác biệt về tỉ lệ có thai lâm sàng giữa 2 nhóm $DFI \geq 30\%$ và $DFI < 30\%$ trong chuyển phôi tươi, còn không thấy khác biệt về tỉ lệ có thai lâm sàng trong chuyển phôi đông lạnh.

DFI trung bình của nhóm có thai lâm sàng thấp hơn DFI của nhóm không có thai lâm sàng, song không có ý nghĩa với $p > 0,05$, phù hợp với ngưỡng có thai lâm sàng của Lê Minh Tâm (2021) là 23,6%, AUC = 0,53, 95% CI (0,45-0,61) nhưng không phù hợp với mức DFI trung bình của nhóm có thai lâm sàng của Lê Minh Tâm (2021) là 24,4% cao hơn nhóm không có thai lâm sàng là 22,7% dù không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.⁷⁶

Yếu tố thụ tinh và phôi của 2 nhóm có thai lâm sàng và không có thai lâm sàng (Bảng 3.28)

Tỉ lệ thụ tinh (%) trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 88,28 %, tương đương tỉ lệ thụ tinh trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 89,11 %, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, cũng không thấy mối liên quan giữa tỉ lệ thụ tinh với tỉ lệ có thai lâm sàng được ghi nhận.

Tỉ lệ phôi tốt (%) trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 30,87 %, cao hơn tỉ lệ phôi tốt trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 22,05%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, xong có mối liên quan thuận giữa chất lượng phôi tốt và tỉ lệ có thai lâm sàng với $r = 0,274$ và $p = 0,013$. Điều này cũng giống với nhận định trong nghiên cứu của Minh Khai (2017) cho rằng có sự ảnh hưởng của chất lượng phôi chuyển đến kết quả có thai lâm sàng. Chuyển từ 2 phôi có chất lượng tốt, chất lượng trung bình làm tăng tỉ lệ có thai lâm sàng cao hơn 2,1 lần so với chuyển ít hơn 2 phôi chất lượng tốt, chất lượng trung bình với độ tin cậy 95% CI (1,613-2,735).⁷⁵

Tỉ lệ phôi xấu (%) trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 28,67%, thấp hơn tỉ lệ phôi xấu trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 34,19 %, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, cũng không thấy mối liên quan giữa tỉ lệ phôi xấu với tỉ lệ có thai lâm sàng được ghi nhận.

Số phôi chuyển trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 2,2 chu kỳ, thấp hơn số phôi chuyển trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 3,2 chu kỳ, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,035$. Nghiên cứu này cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa số phôi chuyển trung bình trong một lần chuyển phôi và tỉ lệ có thai với $r = -0,361$; $p = 0,001$. Điều này có sự khác biệt so với nghiên cứu của Hồ sỹ Hùng (2014). Khi tăng số phôi chuyển sẽ tăng tỉ lệ có thai, lí do là bởi ở nhóm có thai khi chuyển phôi thì lựa chọn số phôi chất lượng tốt để chuyển phôi do vậy dù số lượng phôi chuyển có ít hơn vẫn tốt hơn nhóm không có thai mà chuyển nhiều phôi chất lượng kém.⁷⁴

Số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm có thai lâm sàng là 1,27 chu kỳ, thấp hơn số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm không có thai lâm sàng là 1,54 chu kỳ, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,093$.

Bảng 3.29, chúng tôi lại tìm thấy mối tương quan nghịch có ý nghĩa thống kê giữa số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ có thai lâm sàng là $r = -0,507$; $p = 0,001$.

Nghĩa là, khi chất lượng phôi xấu thì dù có tăng số phôi chuyển hay số chu kỳ chuyển phôi thì cũng không cải thiện tỉ lệ có thai lâm sàng.

Khi xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính đa biến, chúng tôi thấy rằng tỉ lệ có thai lâm sàng phụ thuộc nhiều yếu tố như: Số chu kỳ chuyển phôi, tuổi vợ, AMH, số phôi chuyển theo phương trình:

$$\% \text{ Tỉ lệ có thai lâm sàng} = - 0,382 * \text{Số chu kỳ} - 0,265 * \text{Tuổi vợ} + 0,126 * \text{AMH} - 0,16 * \text{Số phôi chuyển} \quad (p = 0,03; p = 0,008; p = 0,203; p = 0,281).$$

Các yếu tố này đã đóng góp vào xây dựng mô hình giải thích 29,5% nguyên nhân có thai lâm sàng, điều này phù hợp với mô hình đa nhân tố giải thích tỉ lệ có thai lâm sàng.^{74,75,76,106}

4.3.13. Bàn luận về 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến

Yếu tố người vợ của 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến (Bảng 3.30)

Tuổi trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 29,8 năm thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 32,25 năm, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,036$. Nghiên cứu cũng cho thấy có mối tương quan nghịch giữa tuổi vợ và tỉ lệ thai diễn tiến với $r = -0,235$, $p = 0,001$ (Bảng 3.31).

BMI trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 20,22 kg/m² không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không có thai diễn tiến là 20,69 kg/m², $p > 0,05$, không có mối tương quan giữa BMI và tỉ lệ thai diễn tiến.

Số nang thứ cấp AFC trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 13,11 nang, không khác biệt với AFC trung bình của nhóm không có thai diễn tiến là 12,86 nang, $p > 0,05$, không có mối tương quan giữa AFC và tỉ lệ thai diễn tiến.

AMH trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 4,26 ng/ml, cao hơn AMH trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 3,16 ng/ml, có ý

nghĩa thống kê với $p = 0,05$, không có mối tương quan giữa AMH và tỉ lệ thai diễn tiến.

Số noãn trưởng thành M2 trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 13,11 noãn, cao hơn M2 trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 10,43 noãn không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không có mối tương quan giữa M2 và tỉ lệ thai diễn tiến.

Thời gian vô sinh trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 2,92 năm, không khác biệt với thời gian vô sinh trung bình của nhóm không có thai diễn tiến là 3,75 năm, $p > 0,05$, không có mối tương quan giữa thời gian vô sinh và tỉ lệ thai diễn tiến.

Yếu tố người chồng của 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến (Bảng 3.30)

Tuổi trung bình của người chồng trong nhóm có thai diễn tiến là 33 năm, thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 36,07 năm, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,055$. Nghiên cứu cũng chỉ ra mối tương quan nghịch giữa tuổi người chồng và tỉ lệ có thai diễn tiến, $r = - 0,243$, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,028$.

BMI trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 23,07 kg/m², không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không có thai diễn tiến là 23,14 kg/m², $p > 0,05$, chưa tìm thấy mối tương quan giữa BMI và tỉ lệ thai diễn tiến.

Mật độ tinh trùng- MĐTT trong nhóm có thai diễn tiến là 62,33 triệu/ml, cao hơn MĐTT trong nhóm không có thai diễn tiến là 45,21 triệu/ml sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,017$, nhưng chưa tìm thấy mối tương quan giữa mật độ tinh trùng và tỉ lệ thai diễn tiến.

Tỉ lệ tinh trùng di động – TTĐĐ trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 37,91%, cao hơn tỉ lệ tinh trùng di động trong nhóm không có thai diễn tiến

là 29,89%, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,041$ và chúng tôi chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ tinh trùng di động và tỉ lệ có thai diễn tiến.

Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng - DFI trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 18,89%, thấp hơn DFI trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 23,55% không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng và tỉ lệ thai diễn tiến, phù hợp với ngưỡng có thai diễn tiến của Lê Minh Tâm (2021) là 20,8%, $AUC = 0,48$, 95% CI (0,45-0,56).⁷⁶

Yếu tố thụ tinh và phôi của 2 nhóm có thai diễn tiến và không có thai diễn tiến (Bảng 3.30)

Tỉ lệ thụ tinh (%) trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 87,92%, tương đương tỉ lệ thụ tinh trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 89,57%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không có mối tương quan giữa tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ thai diễn tiến.

Tỉ lệ phôi tốt (%) trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 31%, cao hơn tỉ lệ phôi tốt trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 22,41%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nghiên cứu này chúng tôi tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phôi tốt và tỉ lệ thai diễn tiến, $r = 0,274$ và $p = 0,013$ (Bảng 3.31).

Tỉ lệ phôi xấu (%) trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 29,58 %, thấp hơn tỉ lệ phôi xấu trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 32,04%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, chưa tìm thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phôi xấu và tỉ lệ thai diễn tiến.

Số phôi chuyển trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 2,17 phôi, thấp hơn số phôi chuyển trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là

3,21 phôi, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,024$ và tìm thấy mối tương quan nghịch giữa số phôi chuyển và tỉ lệ có thai diễn tiến, $r = -0,312$, $p = 0,004$.

Số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm có thai diễn tiến là 1,26 chu kỳ, thấp hơn số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm không có thai diễn tiến là 1,54 chu kỳ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,042$. Chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa số chu kỳ và tỉ lệ thai diễn tiến có ý nghĩa thống kê với $r = -0,507$, $p = 0,001$.

4.3.14. Bàn luận về 2 nhóm sảy thai và không sảy thai

Yếu tố người vợ của 2 nhóm sảy thai và không sảy thai (Bảng 3.32)

Tuổi trung bình trong nhóm sảy thai là 29,67 tuổi thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không sảy thai là 30,67 tuổi, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa tuổi vợ và tỉ lệ sảy thai.

BMI trung bình trong nhóm sảy thai là $21,67 \pm 0,58 \text{ kg/m}^2$, không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không sảy thai là $20,33 \pm 2,58 \text{ kg/m}^2$, $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa BMI và tỉ lệ sảy thai.

Số nang thứ cấp AFC trung bình trong nhóm sảy thai là 12,33 nang, không khác biệt với AFC trung bình của nhóm không sảy thai là 13,05 nang, $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa AFC và tỉ lệ sảy thai.

AMH trung bình trong nhóm sảy thai là 6,7 ng/ml cao hơn AMH trung bình trong nhóm không sảy thai là 3,78 ng/ml, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa AMH và tỉ lệ sảy thai.

Số noãn trưởng thành M2 trung bình trong nhóm sảy thai là 12,67 noãn, tương tự M2 trung bình trong nhóm không sảy thai là 12,18 noãn, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa tuổi M2 và tỉ lệ sảy thai.

Thời gian vô sinh trung bình trong nhóm sảy thai là 6,67 năm, cao hơn thời gian vô sinh trung bình của nhóm không sảy thai là 3,07 năm, không có ý

nghĩa thống kê, $p > 0,05$, nhưng chúng tôi tìm thấy mối tương quan thuận giữa thời gian vô sinh và tỉ lệ sảy thai với $r = 0,348$, $p = 0,001$.

Yếu tố người chồng của 2 nhóm sảy thai và không sảy thai (Bảng 3.32)

Tuổi trung bình trong nhóm sảy thai là 29,33 năm, thấp hơn tuổi trung bình trong nhóm không sảy thai là 34,23 năm, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,057$, không thấy mối tương quan giữa tuổi chồng và tỉ lệ sảy thai.

BMI trung bình trong nhóm sảy thai là 22,67 kg/m², không khác biệt với BMI trung bình của nhóm không sảy thai là 23,08 kg/m², $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa BMI và tỉ lệ sảy thai.

Mật độ tinh trùng- MĐTT trong nhóm sảy thai là 20 triệu/ml, thấp hơn MĐTT trong nhóm không sảy thai là 57,87 triệu/ml, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa MĐTT và tỉ lệ sảy thai.

Tỉ lệ tinh trùng di động – TTĐĐ trung bình trong nhóm sảy thai là 35,33% tương đương với TTĐĐ trong nhóm không sảy thai là 35,16%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa TTĐĐ và tỉ lệ sảy thai.

Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng - DFI trung bình trong nhóm sảy thai là 20,13%, tương đương với DFI trung bình trong nhóm không sảy thai là 20,21%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nghiên cứu này không thấy mối tương quan giữa DFI và tỉ lệ sảy thai. Mức độ phân mảnh DNA trong nhóm sảy thai phù hợp với ngưỡng sảy thai của Lê Minh Tâm là 16,6%, diện tích dưới đường cong AUC = 0,56, 95%CI (0,48-0,64). Trái ngược với kết quả nghiên cứu của Borges (2019), khi nói về ảnh hưởng của DFI $\geq 30\%$ sẽ gây sảy thai gấp 2,5 lần nhóm DFI $< 30\%$, khi đã loại bỏ được yếu tố ảnh hưởng là nam và nữ. Nghiên cứu của Lê Minh Tâm (2021) tỉ lệ DFI trung bình của nhóm sảy thai cao hơn nhóm không sảy thai lần lượt là 34,5% và 22,7%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.^{70,76}

Ở bảng 3.25, nhóm sảy thai sớm (thai sinh hóa, thai lưu, sảy thai- EPL) DFI trung bình của nhóm sảy thai sớm thấp hơn DFI của nhóm không sảy thai sớm lần lượt là 15,57% và 20,65%, không có ý nghĩa với $p > 0,05$. Mức độ phân mảnh DNA trong nhóm sảy thai sớm phù hợp với ngưỡng sảy thai sớm của Lê Minh Tâm (2021) là 16,6%, AUC = 0,56, 95% CI (0,48-0,64). Nhưng, mức DFI trung bình của nhóm sảy thai sớm của Lê Minh Tâm (2021) là 26,3% cao hơn nhóm không sảy thai sớm là 23%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Có lẽ trong nghiên cứu của chúng tôi, DFI trung bình trong cả 2 nhóm sảy thai sớm và không sảy thai sớm đều ở ngưỡng trung bình DFI < 21%, nên DFI chưa ảnh hưởng nhiều đến tỉ lệ sảy thai hay tỉ lệ sảy thai sớm như một số nghiên cứu khác đề cập.^{70,76}

Mức độ phân mảnh DNA tinh trùng- DFI trung bình trong nhóm có thai sinh hóa là 11,84%, thấp hơn DFI trung bình trong nhóm không có thai sinh hóa là 20,76%, không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,131$. Nghiên cứu không tìm thấy mối tương quan giữa DFI và tỉ lệ thai sinh hóa. Điều này không phù hợp với quan điểm của Lê Minh Tâm (2021), mức DFI trung bình của nhóm có thai sinh hóa là 23,6% cao hơn nhóm không có thai sinh hóa là 23,3%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Phải chăng là do, tỉ lệ phân mảnh DNA của nhóm có thai sinh hóa trong nghiên cứu của tôi vẫn nằm trong ngưỡng có thai mà Lê Minh Tâm (2021) đưa ra là < 22,2%.⁷⁶

Thời gian vô sinh trung bình trong nhóm sảy thai là 6,67 năm, cao hơn thời gian vô sinh trung bình của nhóm không sảy thai là 3,07 năm, không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$, nhưng chúng tôi tìm thấy mối tương quan thuận giữa thời gian vô sinh và tỉ lệ sảy thai với $r = 0,348$, $p = 0,001$.

Yếu tố thụ tinh và phôi của 2 nhóm sảy thai và không sảy thai (Bảng 3.32)

Tỉ lệ thụ tinh (%) trung bình trong nhóm sảy thai là 87,57%, thấp hơn tỉ lệ thụ tinh trung bình trong nhóm không sảy thai là 89,11%, không có ý nghĩa

thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ sảy thai.

Tỉ lệ phôi tốt (%) trung bình trong nhóm sảy thai là 23,63%, thấp hơn tỉ lệ phôi tốt trung bình trong nhóm không sảy thai là 28,24 %, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phôi tốt và tỉ lệ sảy thai.

Tỉ lệ phôi xấu (%) trung bình trong nhóm sảy thai là 24,99 %, thấp hơn tỉ lệ phôi xấu trung bình trong nhóm không sảy thai là 30,63%, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa tỉ lệ phôi xấu và tỉ lệ sảy thai.

Số phôi chuyển trung bình trong nhóm sảy thai là 3,33 phôi, cao hơn số phôi chuyển trung bình trong nhóm không sảy thai là 2,49 phôi, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa số phôi chuyển và tỉ lệ sảy thai.

Số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm sảy thai là 1,67 chu kỳ, cao hơn số chu kỳ chuyển phôi trung bình trong nhóm không sảy thai là 1,34 chu kỳ, không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, không thấy mối tương quan giữa số chu kỳ chuyển phôi và tỉ lệ sảy thai.

Tỉ lệ sảy thai trong nghiên cứu của chúng tôi là 3,67% thấp hơn tỉ lệ sảy thai của các nghiên cứu khác như Nguyễn Thanh Dung (2012), Hồ Sỹ Hùng (2014), Naru (2008) lần lượt là 5,7%; 13,9%; 12,1%.^{107,74,66} Có lẽ là do trong nghiên cứu của chúng tôi, mức độ phân mảnh DNA tinh trùng không cao 20,13%, tuổi mẹ còn trẻ nên chất lượng noãn còn tốt, còn khả năng sửa chữa phân mảnh DNA tốt nên tỉ lệ sảy thai thấp, thấp hơn cả tỉ lệ sảy thai từ noãn hiến tặng như trong nghiên cứu của Thúy Nga (2012). Tỉ lệ sảy thai thấp cũng không ngoại trừ khả năng cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ.¹⁰⁸

Nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt với nhận định của một số tác giả cho rằng DFI cao ($DFI \geq 30\%$) liên quan đến tăng tỉ lệ sảy thai, có thể tăng tỉ lệ sảy thai gấp 2-3 lần so với nhóm có DFI thấp $< 30\%$. Nhiều tác giả cho rằng sảy thai tái phát và DFI cao có tương quan thuận với nhau.^{62,63,64} Nghiên cứu của Erbert (2018) nhận định, khi tế bào noãn của chính bệnh nhân vô sinh trong các chu kỳ được phân tích, không tìm thấy sự khác biệt về tỉ lệ sảy thai, khi bệnh nhân có cùng tuổi tác và mức độ phân mảnh DNA.¹⁰²

Ở bảng 3.33, khi các yếu tố về người vợ và người chồng tương đồng và trong giới hạn sinh sản như tuổi, AFC, AMH, BMI, M2, TTDD...cũng như các yếu tố về tỉ lệ thụ tinh, chất lượng phôi, số phôi và số chu kỳ chuyển phôi ổn định thì MĐTT ảnh hưởng đến tỉ lệ sảy thai, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhưng chưa tìm thấy mức độ phân mảnh DNA trung bình ảnh hưởng đến tỉ lệ sảy thai với $p > 0,05$, có lẽ do chất lượng noãn của những người trẻ trong nghiên cứu của chúng tôi còn tốt nên có khả năng sửa chữa mức độ phân mảnh DNA $< 30\%$.

Bảng 3.34, chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA tinh trùng với tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ có thai, tỉ lệ có thai lâm sàng, cũng phù hợp nghiên cứu của Li (2024), Choi (2017); nhưng chúng tôi tìm thấy ngưỡng tiên lượng chất lượng phôi xấu 36,6%, AUC là 0,796 có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ khi $DFI \geq 30\%$.¹⁰⁹

4.4. Bàn luận về đóng góp mới và hạn chế của nghiên cứu

4.4.1. Đóng góp mới của nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy rằng, hình thái tinh trùng chưa có mối liên quan với kết quả thụ tinh, chất lượng phôi, tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai trong IVF/ICSI nhưng hình thái tinh trùng có ảnh hưởng đến tỉ lệ sảy thai sớm (EPL - thai sinh hóa, sảy thai, thai lưu). Bất thường đầu tinh trùng, bất thường

trung gian, bất thường đuôi tinh trùng đều làm tăng tỉ lệ sảy thai sớm, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ so với tinh trùng có hình thái bình thường.

Chúng tôi cũng phát hiện thấy mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với đặc điểm hình thái tinh trùng. Bất thường đầu tinh trùng làm tăng chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng cũng như tỉ lệ DFI > 30% cao hơn so với bất thường trung gian, bất thường đuôi hay tinh trùng có hình thái bình thường, có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

Tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng có giá trị chẩn đoán vô sinh cao hơn so với các chỉ số tinh dịch đồ. Xem xét diện tích dưới đường cong AUC và ngưỡng phân mảnh DNA của tinh trùng lần lượt (0,785; 0,639 và 20,2%; 15,4%) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, khi so với giới hạn mật độ tinh trùng, tinh trùng di động bình thường theo WHO 2010.

Tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng có liên quan tuyến tính với mật độ tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động theo phương trình (có ý nghĩa thống kê):

$$\%DFI = 77,334 - 0,275 * MDTT - 0,238 * TTDD \quad (p = 0,007; p = 0,02)$$

Tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng có mối tương quan với tỉ lệ thụ tinh và chất lượng phôi có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

- Tăng chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng làm giảm tỉ lệ thụ tinh, đặc biệt là mức độ DFI > 30% so với mức độ DFI < 30%, $p < 0,05$.

- Chỉ số DFI cao làm tăng tỉ lệ phôi xấu, giảm tỉ lệ phôi tốt. DFI cao liên quan tuyến tính nghịch với tỉ lệ phôi xấu:

$$\% \text{ Tỉ lệ phôi xấu} = 0,288 * \% DFI \quad (r = 0,288, p = 0,009)$$

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với tỉ lệ sảy thai. Khi các yếu tố tuổi, AFC, AMH, BMI, M2 của người vợ và TTDD của người chồng được điều chỉnh

trong giới hạn bình thường nhưng khi đó tỉ lệ sảy thai sẽ phụ thuộc tuyến tính vào mật độ tinh trùng.

4.4.2. Những hạn chế của nghiên cứu

Do chi phí xét nghiệm và thời gian nghiên cứu có hạn nên số lượng bệnh nhân 197 cặp vợ chồng vô sinh trong đó 90 cặp làm xét nghiệm Halosperm được theo dõi và đánh giá chưa phải là cỡ mẫu lớn. Mặt khác, các nhóm nghiên cứu chưa hoàn toàn đồng nhất.

Bệnh nhân và nhiều bác sĩ lâm sàng chưa thấy được tầm quan trọng của Halosperm nên còn hạn chế chỉ định xét nghiệm và tham gia nghiên cứu, từ nghiên cứu này gợi ý và định hướng cho nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu, phạm vi và quy mô lớn hơn để có những kết luận thuyết phục hơn.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu 197 cặp vợ chồng vô sinh được làm IVF/ICSI, sau đó chuyển phôi và theo dõi đến thai 12 tuần tại Trung tâm hỗ trợ sinh sản và công nghệ mô ghép Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, chúng tôi rút ra một số kết luận:

1. Mối liên quan giữa đặc điểm hình thái tinh trùng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm IVF/ICSI.

- Bất thường hình thái tinh trùng có xu hướng làm giảm tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ phôi tốt, tăng tỉ lệ phôi xấu xong không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai, tỉ lệ có thai lâm sàng, tỉ lệ thai diễn tiến trong nghiên cứu lần lượt là 42,54%, 64,29%, 58,79% và 51,94%. Hình thái tinh trùng chưa thấy ảnh hưởng đến các tỉ lệ trên.

- Bất thường hình thái tinh trùng làm tăng tỉ lệ sảy thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

2. Mối liên quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA của tinh trùng với đặc điểm hình thái tinh trùng và kết quả thụ tinh trong ống nghiệm ICSI.

2.1 Mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với đặc điểm hình thái tinh trùng.

- Bất thường đầu tinh trùng làm tăng tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng, nhiều tinh trùng có tỉ lệ phân mảnh cao $\geq 30\%$ hơn là tỉ lệ phân mảnh DFI $< 30\%$, $p < 0,05$.

- Chỉ số về phân mảnh DNA tinh trùng có giá trị trong chẩn đoán vô sinh hơn chỉ số về tinh dịch đồ, ngưỡng phân mảnh tinh trùng là 20,2%; 15,4% để đánh giá vô sinh dựa theo mật độ tinh trùng và tỉ lệ tinh trùng di động (tiêu chuẩn WHO 2010), $p < 0,05$

- Chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng có mối tương quan nghịch với mật độ và tỉ lệ tinh trùng di động theo phương trình:

$$\%DFI = 77,334 - 0,275 * MDTT - 0,238 * TTDD \quad (p = 0,007; p = 0,02)$$

2.2. Mối liên quan giữa tỉ lệ phân mảnh DNA tinh trùng và kết quả thụ tinh trong ống nghiệm IVF/ICSI.

- Chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng $\geq 30\%$ làm giảm tỉ lệ thụ tinh so với nhóm DFI $< 30\%$, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng $\geq 30\%$ làm tăng tỉ lệ phôi xấu, mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng có tương quan tuyến tính nghịch với tỉ lệ phôi xấu theo phương trình:

$$\% \text{ Tỉ lệ phôi xấu} = 0,288 * \% \text{ Tỉ lệ DFI} \quad (r = 0,288, p = 0,009).$$

- Chỉ số phân mảnh $\geq 30\%$ làm giảm tỉ lệ phôi tốt ở ngưỡng $\geq 30\%$ với $p = 0,035$.

- Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng làm giảm tỉ lệ làm tổ, tỉ lệ có thai và tỉ lệ thai lâm sàng, xong không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

- Mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng chưa thấy liên quan đến tỉ lệ sảy thai.

KHUYẾN NGHỊ

- Xét nghiệm phân mảnh DNA của tinh trùng, Halosperm là xét nghiệm đáng tin cậy và phù hợp với điều kiện Việt Nam, nên được xem xét và tiến hành cùng với xét nghiệm tinh dịch đồ để đánh giá chức năng sinh sản của nam giới tốt hơn trong trường hợp mẫu tinh trùng có nhiều bất thường hình thái.

- Tiếp tục nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để có những đánh giá tốt hơn, sâu hơn về ảnh hưởng của hình thái tinh trùng, mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng đến kết quả IVF/ICSI và mối liên quan giữa mức độ phân mảnh DNA của tinh trùng với hình thái tinh trùng riêng biệt khác.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ
CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Vũ Thị Tuất, Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Khang Sơn. Mối liên quan giữa đứt gãy DNA của tinh trùng và hình thái tinh trùng. Tạp chí Y học Việt Nam. Tháng 3/2023. Số 2, tập 524: 231-235.
2. Vũ Thị Tuất, Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Khang Sơn. Ảnh hưởng của đứt gãy DNA tinh trùng đến kết quả IVF/ICSI. Tạp chí Y học Việt Nam. Tháng 3/2023. Số 1B, Tập 524: 102-106.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Demir B ABGea. Effect of spermmorphology on clinical outcome parameters in ICSI cycles. *Clinical and experimental obstetrics & gynecology*. 2012:144-6.
2. Brincat D, Catania S, Wismayer PS, Calleja-Agius J. Male factors in ART outcome prediction. *Gynecol Endocrinol*. 2015:31:1-7.
3. Olezszczuk K, Augustinsson L, Bayat N, Giwercman A, Bungum M. Prevalence of high DNA fragmentation index in male partners of unexplained infertile couples. *Andrology*. 2013:1:357-360.
4. Simon L, Carrell D.T. Sperm DNA damage measured by comet assay. *Methods Mol.Biol*. 2013:927:137-146.
5. French DB, Sabanegh ES, Goldfarb J, Desai N. Does severe teratozoospermia affect blastocyst formation, live birth rate and other clinical outcome parameters in ICSI cycles? *Fertil Steril*. March 2010:93(4):1097-1103.
6. Champroux A, Torres-Carreira J, Gharagozloo P, Drevet JR, Kocer A. Mammalian sperm nuclear organization: resiliencies and vulnerabilities. *Basic Clin Androl*. 2016:26(1):17.
7. Osman A, Alsomait H, Seshadri S, El-Toukhy T, Khalaf Y. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2015:30(2):120-127.
8. Simon L, Zini A, Dyachenko A, Ciampi A, Carrell DT. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl*. 2017:19: 80-90.

9. Deng C, Li T, Xie Y, et al. Sperm DNA fragmentation index influences assisted reproductive technology outcome: A systematic review and meta-analysis combined with a retrospective cohort study. *Andrologia*. 2019;51(6): e13263.
10. Kim SM, Kim SK, Jee BC, Kim SH. Effect of Sperm DNA Fragmentation on Embryo Quality in Normal Responder Women in In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Yonsei Med J*. 2019;60(5):461-466.
11. Gat I, Li N, Yasovich N, et al. Sperm DNA fragmentation index does not correlate with blastocyst euploidy rate in egg donor cycles. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrino*. 2018;34(3): 212-216.
12. Wyns C, C. M.-M.-X. Spermatogonial survival after cryopreservation and short-term orthotopic immature human cryptorchid testicular tissue grafting to immunodeficient mice. *Hum Reprod*. 2007:1603-1611.
13. Lekamge DN, L. M. Increased gonadotrophin stimulation does not improve IVF outcomes in patients with predicted poor ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet*. 2007:515-521.
14. Trần Thị Trung Chiên, Trần Văn Hanh, Phạm Gia Khánh, Lê Văn Vệ và cs. Nghiên cứu một số vấn đề vô sinh nam giới và lựa chọn kỹ thuật lọc rửa, lưu trữ tinh trùng để điều trị vô sinh. *Đề tài cấp nhà nước - Hà Nội*. 2001.
15. Trần Đức Phần, Hoàng Thu Lan. Đặc điểm tinh dịch của những người đàn ông trong các cặp vợ chồng thiếu năng sinh sản. *Báo cáo hội nghị khoa học, Trường Đại học Y Hà Nội*. 2001.
16. Thảo PN. *Tìm hiểu một số đặc điểm, yếu tố liên quan và những biện pháp điều trị vô sinh tại bệnh viện PSTU năm 2003 2004*. Luận văn thạc sỹ Y học.

17. Quyền NQ. *Bài giảng giải phẫu học tập 2*. Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Y học; tái bản 2020.
18. Bondil P, Costa P, Daures JP, et al. Clinical study of the longitudinal deformation of the flaccid penis and of its variations with aging. *Eur Uro*. 1992: Vol.21(4), 284–286.
19. Phạm Phan Đình, Trịnh Bình, Đỗ Kính. Hệ sinh dục nam. *Mô học*: Nhà xuất bản Y học Hà Nội; 1998.
20. Kandeel F, Swerdloff R, Pryor J. Anatomy of the Male reproductive Tract. *Male Reproductive Dysfunction, Pathology and Treatment*: Informa Healthcare; 2007.
21. Jequier AM. The Anatomy and Physiology of the Male Genital Tract. *Male infertility a guide for the clinician*; 2000.
22. Katz DF, et al. Morphometric analysis of spermatozoa in the assessment of human male fertility. *J Androl*. 1986;7: 203.
23. Baccetti B, et al. Further observations on the morphogenesis of the round – headed human spermatozoa. *Andrologia*. 1997: 9:255.
24. Christan F Hoogendijk, Thinus F Kruger, Roelof Menkveld. Anatomy and molecular morphology of the spermatozoon. Male Infertility diagnosis and treatment. *Informav*. 2007:3-11.
25. Aitken, R.J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reproduction, Fertility and Development* 7. 1995:659-668.
26. Lee JD, Kamiguchi Y, Yanagimachi R. Analysis of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberrant head morphologies after injection into mouse oocytes. *Hum Reprod*. 1996;11:1942.

27. Devos A, et al. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2003; 79:42.
28. Mukai C and Okuno M. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol Reprod* 71. 2004:540-547.
29. Wennemuth G, Carlson AE, Harper AJ and Babcock DF. Bicarbonate actions on flagellar and Ca²⁺ channel responses: initial events in sperm activation. *Development*. 2003;130:1317-1326.
30. Pacey AA, Davise N, Warren MA, Baratt CLR and Cooke ID. Hyperactivation may assist human spermatozoa to detach from intimate association with the endosalpinx. *Human Reprod*. 1995;10, 2603-2609.
31. Organization WH. *laboratory manual for the examination and processing of human semen*: Cambridge university press; 2010.
32. Organization WH. *laboratory manual for the examination and processing of human semen*: Cambridge university press; 2021.
33. Nguyễn thị Hiệp Tuyết, Đặng thị Hồng Nhân, Nguyễn thị Thái Thanh. Correlations between abnormalities of morphological details and DNA fragmentation in human sperm. *Original Article*. 2022;49: 40-48.
34. Hòa PTVT. *Bệnh học nam giới với sinh sản và tình dục*: NXB Y học Hà Nội; 2012.
35. Hùng HS. *Vô sinh nam*: Nhà xuất bản Y học Hà Nội; 2017.
36. Centola G, Ginsburg K. Evaluation and treatment of the infertile male. *Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press*. 1996.
37. Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med*. 2001;345: 1388–93.

38. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. 2001;75: 674–7.
39. Seli E, Sakkas D. Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. *Hum Reprod Update*. 2005;11: 337–49.
40. Muratori M, Marchiani S, Tamburrino L, Baldi E. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin. *Cham: Springer*. 2019:75-85.
41. Aitken RJ, De Iuliis GN. Origins and consequences of DNA damage in male germ cells. *Reprod Biomed Online*. 2007;14: 727-33.
42. L O. Mechanisms of spermiogenesis and spermiation and how they are disturbed. *Spermatogenesis*. 2015;4: e979623.
43. Abbotts R, Wilson DM 3rd. Coordination of DNA single strand break repair. *Free Radic Biol Med*. 2017;107: 228-44.
44. Martin-Hidalgo D, Bragado MJ, Batista AR, Oliveira PF, Alves MG. Antioxidants and male fertility: from molecular studies to clinical evidence. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8:89.
45. De Lamirande E, Gagnon C. The dark and bright sides of reactive oxygen species on sperm function. In: Gagnon C, editor. *The male gamete: from basic science to clinical applications*. IL: Cache River Press. 1999:455–67.
46. Zini A, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl*. 1993;16: 183–8.
47. Pino V, Sanz A, Valdés N, Crosby J, Mackenna A. The effects of aging on semen parameters and sperm DNA fragmentation. *JBRA Assist Reprod*. 2020;24: 82-6.

48. Sharma R, Harlev A, Agarwal A, Esteves SC. Cigarette smoking and semen quality: a new meta-analysis examining the effect of the 2010 World Health Organization laboratory methods for the examination of human semen. *Eur Urol*. 2016;70: 635-45.
49. Akang EN, Oremosu AA, Osinubi AA, James AB, Biose IJ, Dike SI, et al. Alcohol-induced male infertility: Is sperm DNA fragmentation a causative? *J Exp Clin Anat*. 2017;16: 53-9.
50. Tanaka T, Kobori Y, Terai K, Inoue Y, Osaka A, Yoshikawa N, et al. Seminal oxidation-reduction potential and sperm DNA fragmentation index increase among infertile men with varicocele. *Hum Fertil (Camb)*. 2020.
51. Pearce KL, Hill A, Tremellen KP. Obesity related metabolic endotoxemia is associated with oxidative stress and impaired sperm DNA integrity. *Basic Clin Androl*. 2019;29:6.
52. Desai NR, Kesari KK, Agarwal A. Pathophysiology of cell phone radiation: oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009;7:114.
53. Fernandez JL MLGVSEGJEMea. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertil Steril*. 2005;84: 833–42. 59- 66.
54. Li Z, Wang L, Cai J, Huang H. Correlation of sperm DNA damage with IVF and ICSI outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2006;23: 367–76.
55. Simon L, Murphy K, Shamsi MB, Liu L, Emery B, Aston KI, et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Hum Reprod*. 2014;29: 2402-12.

56. Zhang Z, Zhu L, Jiang H, Chen H, Chen Y, Dai Y. Sperm DNA fragmentation index and pregnancy outcome after IVF or ICSI: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32: 17-26.
57. Wdowiak A, Bakalczuk S, Bakalczuk G. The effect of sperm DNA fragmentation on the dynamics of the embryonic development in intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Bio.* 2015;15: 94100.
58. Evgeni E, Lymberopoulos G, Touloupidis S, Asimakopoulos B. Sperm nuclear DNA fragmentation and its association with sperm quality in Greek men. *Andrologia.* 2015;47, 1166-1174.
59. Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? Pros and cons. *J Androl.* 2009;30: 219-29.
60. Simon L, Emery BR, Carrell DT. Review: Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaeco.* 2017;44: 38-56.
61. Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2008;23: 2663-8.
62. Khadem N, Poorhoseyni A, Jalali M, Akbary A, Heydari ST. Sperm DNA fragmentation in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Andrologia.* 2014;46: 126-30.
63. Roque M, Esteves SC. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol.* 2018;50: 583603.
64. Pabuccu EG, Caglar GS, Tangal S, Haliloglu AH, Pabuccu R. Testicular versus ejaculated spermatozoa in ICSI cycles of normozoospermic men with high sperm DNA fragmentation and previous ART failures. *Andrologia.* 2017.

65. Govaerts, F.Devveker, I. Koenig, I.place et al. "Comparison af pregnancy outcome after intracytoplasmic sperm injetion and in - vitro fertilization". *Human Reproduction*. 1998:13(6):1514-1518.
66. Naru T. Sulaiman MN, Kidwai A, et al. Intracytoplasmic Sperm injection outcome using ejaculated sperm and retrieved sperm in azoospernic men. *Urol J.Spring*. 2008:5(2):106 - 10.
67. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Detection of DNA fragmentation and meiotic segregation in human with isolated teratozoospermia. *J Assist Reprod Genet*. 2011:28(1): 41-48.
68. Cissen M, Wely MV, Scholten I, Mansell S, Bruin JP, Mol BW, et al. Measuring sperm DNA fragmentation and clinical outcomes of medically assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016:11: e0165125.
69. Antonouli S, Papatheodorou A, Panagiotidis Y, et al. The impact of sperm DNA fragmentation on ICSI outcome in cases of donated oocytes. *Arch Gynecol Obstet*. 2019:300(1): 207-215.
70. Borges E, Zanetti BF, Setti AS, Braga DP de AF, Provenza RR, Iaconelli A. Sperm DNA fragmentation is correlated with poor embryo development, lower implantation rate, and higher miscarriage rate in reproductive cycles of non–male factor infertility. *Fertil Steril*. 2019:112(3):483-490.
71. Jakubik-Uljasz J, Gill K, Rosiak-Gill A, Piasecka M. Relationship between sperm morphology and sperm DNA dispersion. *Transl Androl Urol*. 2020:9(2): 405-415.
72. Jiang S, Li L, Li F, Li M. Establishment of predictive model for analyzing clinical pregnancy outcome based on IVF-ET and ICSI assisted reproductive technology. *Saudi J Biol Sci*. 2020:27(4): 1049–56.

73. Zhang Q, Wang X, Zhang Y, Lu H, Yu Y. Nomogram prediction for the prediction of clinical pregnancy in Freeze-thawed Embryo Transfer. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2022; 22(1): 629.
74. Hùng HS. *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*. Luận án tiến sĩ Y học.
75. Khai NTM. *Đánh giá hiệu quả của chuyển phôi trữ đông cho bệnh nhân thụ tinh ống nghiệm tại BVPSTW giai đoạn 2012-2014*. Trường Đại học Y Hà Nội 2017.
76. Le MT, Nguyen TV, Nguyen TTT, Nguyen HTT, Le DD, Nguyen VQH. Predictive Significance of Sperm DNA Fragmentation Testing in Early Pregnancy Loss in Infertile Couples Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection. *Res Rep Urol*. 2021;13: 313-323.
77. Choi HY, Kim SH, Choi YM and et al. Impact of sperm DNA fragmentation on clinical in vitro fertilization outcomes. Original article. *Clin. Exp Reprod Med* 2017; 44(4): 224-231.
78. Hồ Mạnh Tường, Đặng Quang Vinh, Vương Thị Ngọc Lan. *Thụ tinh trong ống nghiệm*. Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản tổng hợp; 2021.
79. Thảo LTT. Kỹ thuật chuyển phôi và một số yếu tố ảnh hưởng. *Hosrem. Org. Vn*. 2021.
80. Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Thị Ngọc Phượng, Nguyễn Song Nguyên, Hồ Mạnh Tường, Vương Thị Ngọc Lan. Nguyên lý của sự kích thích buồng trứng. *Hiếm muộn- vô sinh và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản*: NXB y học; 2002.
81. Fernández JL, M. L. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. *J Androl*. 2003.

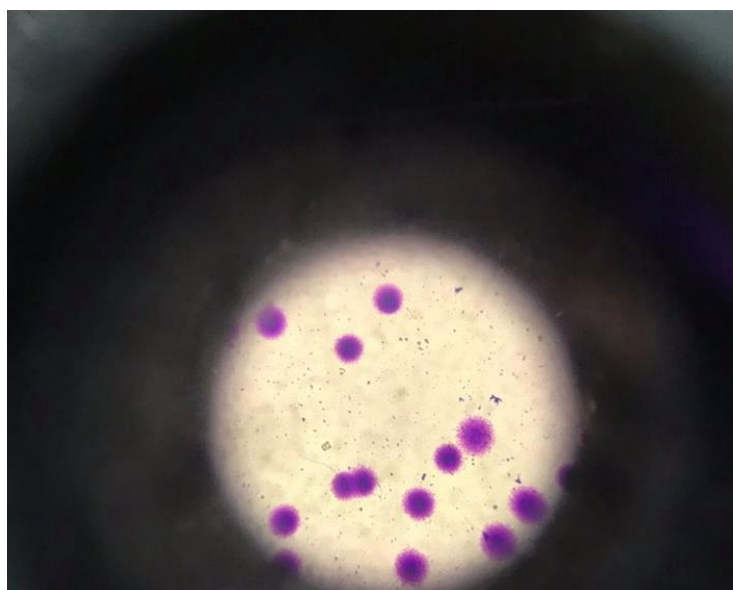
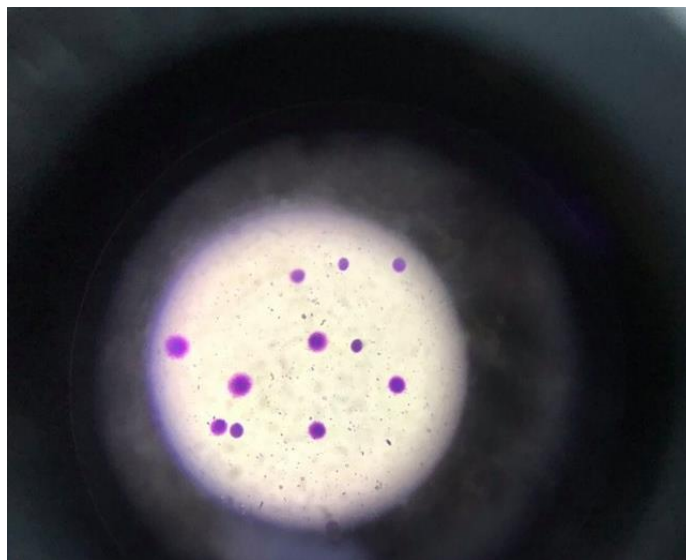
82. Esteves SC, Santi D, Simon M. An update on clinical and surgical interventions to reduce sperm DNA fragmentation in infertile men. *Research and Reports in Urology. Original Research*. 2021:313-323.
83. Ashok A, Eva T, Rakesh S. Relationship amongst teratozoospermia seminal oxidative stress and male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2014;12:45.
84. Colasante A, Minasi MG, Scarselli F, et al. The aging male: Relationship between male age, sperm quality and sperm DNA damage in an unselected population of 3124 men attending the fertility centre for the first time. *Arch Ital Urol Androl Organo Uff Soc Ital Ecogr Urol E Nefrol*. 2019;90(4):254-259.
85. Kaltsas A, Moustakli E, Zikopoulos A, et al. Impact of Advanced Paternal Age on Fertility and Risks of Genetic Disorders in Offspring. *Genes*. 2023;14(2): 486.
86. Macdonald AA, Stewart AW, Farquhar CM. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in New Zealand men: a cross-sectional study in fertility clinics. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013;28(12): 3178-3187.
87. Dehghanpour F, Tabibnejad N, Fesahat F, Yazdinejad F, Talebi AR. Evaluation of sperm protamine deficiency and apoptosis in infertile men with idiopathic teratozoospermia. *Clin Exp Reprod Med*. 2017;44(2): 73-78.
88. Ten Broek RPG, Krielen P, Di Saverio S, et al. Bologna guidelines for diagnosis and management of adhesive small bowel obstruction (ASBO): 2017 update of the evidence-based guidelines from the world society of emergency surgery ASBO working group. *World J Emer Surg WJES*. 2018;13:24.

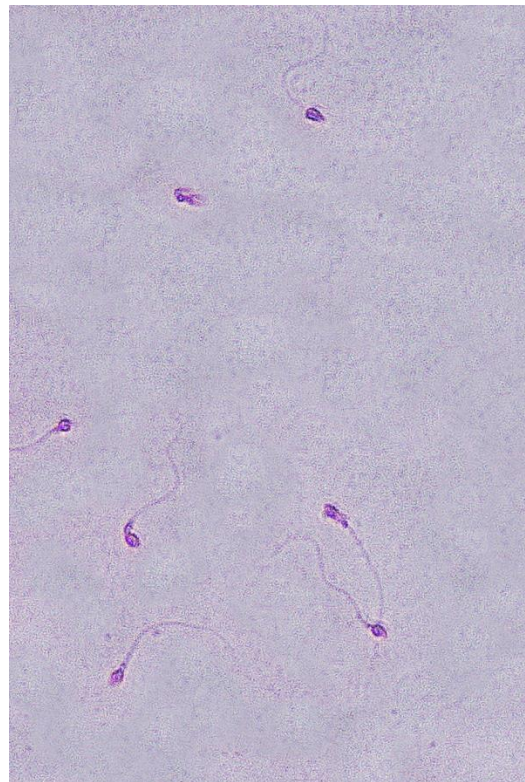
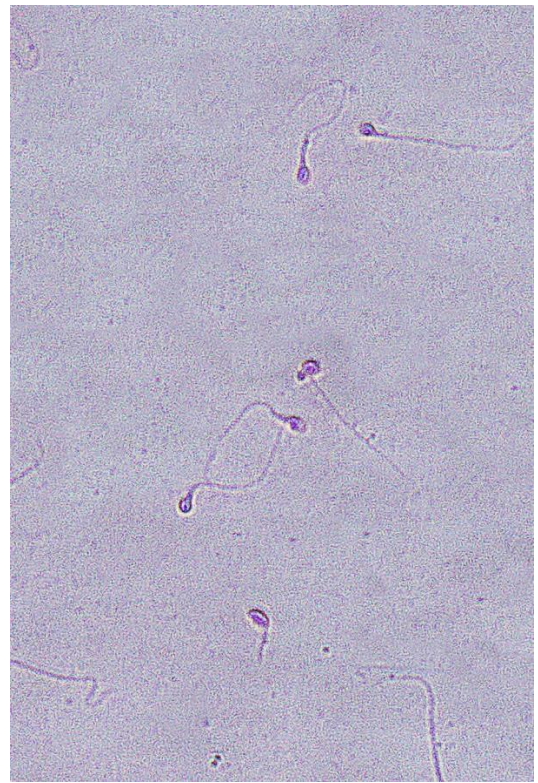
89. Esteves SC. Should a couple with failed in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and elevated sperm DNA fragmentation use testicular sperm for the next cycle? *Eur Urol Focus* 2018.
90. Hoi NX. Xác định yếu tố liên quan đối với tỉ lệ có thai lâm sàng trong thụ tinh ống nghiệm năm 2010-2015 tại Bệnh viện Phụ Sản Trung ương. *Tạp chí y học Việt Nam*. 2017:459 – tháng 10- số 1.
91. Palermo GD, O'Neill CL, Chow S, et al. Intracytoplasmic sperm injection: state of the art in humans. *Reprod Camb Engl*. 2017:154(6):93-110.
92. Wang YY, Lai TH, Chen MF, Lee HL, Kuo PL, Lin YH. SEPT14 Mutations and Teratozoospermia: Genetic Effects on Sperm Head Morphology and DNA Integrity. *J Clin Med*. 2019: 8(9): E1297.
93. Eleftheriadou A, Francis A, Wilcox M, Jayaprakasan K. Frozen Blastocyst Embryo Transfer: Comparison of Protocols and Factors Influencing Outcome. *J Clin Med*. 2022:11(3): 737.
94. Bu Z, Wang K, Dai W, Sun Y. Endometrial thickness significantly affects clinical pregnancy and live birth rates in frozen-thawed embryo transfer cycles. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2016:32(7): 524-528.
95. CNY F. Day 3 v.s. Day 5 Embryo Transfer. November 21, 2022. Available at: <https://www.cnyfertility.com/day-3-vs-day-5-embryo-transfer>. Accessed January 31, 2023.
96. Gonzalez DC, Ory J, Blachman-Braun R, Nackeeran S, Best JC, Ramasamy R. Advanced Paternal Age and Sperm DNA Fragmentation: A Systematic Review. *World J Mens Health*. 2022:40(1):104-115.
97. Garolla A, Cosci I, Bertoldo A, Sartini B, Boudjema E, Foresta C. DNA double strand breaks in human spermatozoa can be predictive for assisted reproductive outcome. *Reprod Biomed Online*. 2015:31: 100-7.

98. Cui ZL, Zheng DZ, Liu YH, Chen LY, Lin DH, Feng-Hua Lan null. Diagnostic Accuracies of the TUNEL, SCD, and Comet Based Sperm DNA Fragmentation Assays for Male Infertility: a Meta-analysis Study. *Clin Lab*. 2015;61(5-6): 525-535.
99. Wiweko B, Utami P. Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility. *Basic Clin Androl*. 2017;27:1.
100. González-Marín C, Gosálvez J & Roy R. Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells. *Int J Mol Sci*. 2012;13,14026–14052.
101. GY Kim. What should be done for men with sperm DNA fragmentation? *Clin Exp Reprod Med*. 2018;45(3): 101-109.
102. Esbert M, Pacheco A, Soares SR, Amorós D, Florensa M, Ballesteros A, et al. High sperm DNA fragmentation delays human embryo kinetics when oocytes from young and healthy donors are microinjected. *Andrology*. 2018;6: 697-706.
103. Fernández-Díez C, González-Rojo S, Montfort J, Le Cam A, Bobe J, Robles V, Pérez-Cerezales S & Herráez MP. Inhibition of zygotic DNA repair: transcriptome analysis of the off spring in trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Reproduction*. 2015;149, 101–111.
104. Casanovas A, Ribas-Maynou J, Lara-Cerrillo S, JimenezMacedo AR, Hortal O, Benet J, et al. Double-stranded sperm DNA damage is a cause of delay in embryo development and can impair implantation rates. *Fertil Steril*. 2019;111: 699-707.
105. Ribas- Maynou J, Benet J. Single and Double Strand Sperm DNA Damage: Different Reproductive Effects on Male Fertility. *Genes*. 2019;10(2): 105.

106. Sun TC, Zhang Y, Li HT, et al. Sperm DNA fragmentation index, as measured by sperm chromatin dispersion, might not predict assisted reproductive outcome. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018;57(4): 493-498.
107. Dung NTT. *Đánh giá kết quả của phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm cho nhận noãn tại trung tâm hỗ trợ sinh sản Quốc gia Bệnh viện Phụ sản trung ương năm 2012*. Luận văn Thạc sỹ Y học.
108. Nga PT. *Nghiên cứu kết quả thụ tinh ống nghiệm của phác đồ GnRH antagonist tại bệnh viện phụ sản trung ương 2012*. Luận văn Bác sỹ chuyên khoa cấp 2.
109. Fei L, Xiao Y D, Mingming L and et al. Sperm DNA fragmentation index affect pregnancy outcomes and offspring safety in assisted reproductive technology *Sci Rep*.2024;14;356.

MỘT SỐ HÌNH ẢNH MINH HỌA





PHỤ LỤC
DANH MỤC CHUẨN BỊ ĐỂ THỰC HIỆN KỸ THUẬT

TT	Mã dùng chung (nếu có)	Danh mục chuẩn bị	Đơn vị	Số lượng
(1)	(2)	(3)	(4)	
1.		Nhân lực		
1.1		Nhân lực trực tiếp		
<i>1</i>		Kỹ thuật viên xét nghiệm	Người	1
<i>2</i>		Bác sỹ/CN xét nghiệm	Người	1
1.2		Nhân lực hỗ trợ thực hiện dịch vụ		
<i>1</i>		Hộ lý	Người	1
2		Dụng cụ, vật tư (được sử dụng trực tiếp)		
2.1.		Vật tư		
<i>1</i>		Đầu côn 100ul	Cái	5
<i>2</i>		Đầu côn 1000ul	Cái	5
<i>3</i>		Pipet nhựa	Cái	5
<i>4</i>		Ống eppendorf 1,5 ml	Cái	5
<i>5</i>		Ống eppendorf 0,2 ml	Cái	5
<i>6</i>		Găng tay làm xét nghiệm	Đôi	2
<i>7</i>		Găng tay hộ lý	Đôi	1
<i>8</i>		Dung dịch rửa tay	ml	50
<i>9</i>		Dung dịch sát khuẩn nhanh	ml	50
<i>10</i>		Khẩu trang giấy	Cái	1
<i>11</i>		Giấy lau tay	Tờ	5
<i>12</i>		Lam kính	cái	2
2.2.		Dụng cụ		
<i>1</i>				
<i>2</i>				
<i>3</i>				

TT	Mã dùng chung (nếu có)	Danh mục chuẩn bị	Đơn vị	Số lượng
2.3		Vật liệu		
1				
2				
...				
3.		Hoá chất, sinh phẩm		
3.1		Hoá chất		
1		Thuốc nhuộm Giemsa	ml	50
2		Cồn 70%	ml	100
3		Cồn 90%	ml	100
4		Cồn 100%	ml	100
5				
3.2		Sinh phẩm		
1		Halosperm test	Test	2
2				
...				
4.		Trang thiết bị (sử dụng trực tiếp)		
1		Kính hiển vi	Cái	1
2		Máy li tâm	Chiếc	1
3		Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm	Cái	1
4		Tủ lạnh lưu mẫu	Cái	1
5		Điều hòa nhiệt độ 18.000 BTU	Cái	1
6		Máy tính	Cái	1
7		Máy in Canon	Cái	1
8		Thiết bị lưu điện	Cái	1
9		Quạt thông gió	Cái	1
10		Nhiệt kế	Cái	1

PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN

Nhóm tình trùng

Mã hồ sơ

Họ tên vợ

Sđt

địa chỉ

Họ tên chồng

Vợ

BMI	1. < 18	2. 18-25	3. > 25		
Tuổi	1. < 35	2. 35-40	3. > 40		
AMH	1. < 1.12	2. $\geq 1,12$	3. ≥ 10		
AFC	1. < 5	2. ≥ 5			
VS	1. VS I	2. VS II			
Thời gian vô sinh	1. < 3 năm	2. 3-5 năm	3. ≥ 10 năm		
Tiền sử kinh nguyệt	1.Đều	2. Không đều			
Tiền sử sản khoa	1. Có thai	2. Sống	3. Hút	4.Sảy lưu	5.Cntc
Vòi trứng	1. Tắc	2.Thông	3. Ứ dịch	4. Không ứ dịch	
Tiền sử IUI (số lần)	Tiền sử IVF (số lần)				
Tổng trứng M2	1.<5 trứng	2. 5-15 trứng	3. ≥ 15 trứng		
Chất lượng trứng	1. Tốt	2.Trung bình	3. Xấu (SER,PVS, quầng bào tương)		

Chồng

Tuổi	1.<35	2.35-40	3.>40	
BMI	1.<18	2.18-25	3.>25	
Vô sinh	1. VSI	2.VSII		
Thời gian vô sinh	1.<3 năm	2.3-5 năm	3.>5 năm	
Nghề nghiệp	1. Lái xe	2.MT nóng	3.khác	
Yếu tố ảnh hưởng	1. Không	2.hút thuốc	3.rượu	4.ma túy
Bệnh ảnh hưởng	1. Không	2.quai bị	3.GTMT	4.viêm
Mật độ tinh trùng	1.< 1 tr	2.1-5 tr	3.>=5 tr	
TT di động (PR%)	1.< 40%	2.>= 40%		
Hình thái tinh trùng	1.nhóm TT(BT)	2.nhóm DD		
Nhóm DD	1.DD đầu	2.DD khác		
Loại DD đầu	1.Dài	2.Tròn	3.ít crosom	
Halosperm	1.< 15%	2.15-30%	3.>=30%	
% Tỷ lệ thụ tinh				
Tổng phôi	1.D2D3	2.D4	3.D5D6	
Chất lượng phôi	1. Tốt	2. Xấu		

Cách thức CP	Ngày CP	Số lượng	Kết quả	Số túi thai và diễn biến
ET				
FET lần 1				
FET lần 2				
FET lần 3				

1. Tỷ lệ phôi tốt
2. Tỷ lệ phôi xấu
3. Tỷ lệ có thai
4. Tỷ lệ làm tổ
5. Tỷ lệ có thai của ET
6. Tỷ lệ có thai sau FET D3
7. Tỷ lệ có thai sau FET D4
8. Tỷ lệ có thai sau FET D5

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Mã hồ sơ	Họ tên	Năm sinh	Địa chỉ
1	2103007418	Nguyễn Hoài L	1990	Hà Nội
2	2103182984	Phan Thu H	1992	Hà Nội
3	2103201911	Phùng Thị H	1989	Hà Nội
4	2103261707	Nguyễn Nhật Á	1986	Hà Nội
5	2104072121	Ngô Thị Hồng L	1982	Nghệ An
6	2103112633	Vũ Thị Q	1990	Hà Nội
7	2109221544	Chu Thị O	1988	Hà Nội
8	2101272283	Phạm Thị M	1989	Hà Nội
9	2011162432	Bùi Thị Thanh L	1987	Hà Nội
10	2011182706	Nguyễn Mai Th	1987	Hà Nội
11	2011191800	Quách Thị H	1989	Ninh Bình
12	2011211678	Hà Thị X	1986	Thanh Hóa
13	2207253759	Đặng Thị Ngọc N	1984	Hà Nội
14	2010212553	Bùi Thị H	1992	Hà Nội
15	2011253106	Nguyễn Lan A	1989	Hà Nội
16	2011301690	Mai Quỳnh Nh	1994	Hà Nội
17	2103090701	Trương Thị H	1987	Hải Dương
18	2012013002	Hoàng Thị T	1983	Thanh Hóa
19	2012022970	Bùi Thị M	1990	Hà Nội
20	2107131344	Võ Hương L	1988	Hà Nội
21	2012072130	Phạm Thị Th	1994	Quảng Ninh
22	2012112355	Trần Thị Thu H	1992	Thái Nguyên
23	2012130054	Nguyễn Thị Thu H	1996	Phú Thọ
24	2012171727	Nguyễn Thị Phương H	1991	Bắc Giang
25	2011122021	Lê Thị Hồng Ph	1989	Hà Nội
26	2010301143	Nguyễn Thị Thu H	1995	Vĩnh Phúc
27	2010222612	Phạm Thị Thu Tr	1995	Quảng Ninh
28	2010282734	Trần Thị Đ	1995	Thanh Hóa

29	2010221233	Lê Phương L	1993	Hà Nội
30	2010073503	Phạm Thu Th	1985	Hà Nội
31	2009301194	Chu Thị L	1995	Bắc Ninh
32	2106085696	Lê Thị Mỹ H	1986	Hà Nội
33	2009232533	Nguyễn Thị Nh	1993	Bắc Ninh
34	2011161379	Nguyễn Thị Xuân L	1993	Hải Dương
35	2008131417	Lù Thu H	1991	Hà Nội
36	2103182909	Nguyễn Thúy Ng	1995	Hà Nội
37	2103172090	Tạ Thị A	1989	Hà Nội
38	2103222852	Nguyễn Thúy Ng	1983	Bắc Ninh
39	2110020296	Nguyễn Thị T	1989	Hà Nội
40	2103050103	Trần Thị Thu H	1992	Hà Nội
41	2012049814	Trần Thị Hồng V	1990	Lào Cai
42	2104014402	Trần Hoàn Nh	1992	Hà Nội
43	2104082949	Đỗ Thị Nh	1995	Bắc Ninh
44	2105062351	Vũ Thị Thanh H	1993	Hà Nội
45	2011272457	Ngô Thị Thu Tr	1986	Hà Nội
46	2010101600	Nguyễn Lan H	1988	Hà Nội
47	2012152187	Lê Thị Th	1992	Phú Thọ
48	2010051842	Trần Thị Phương Th	1990	Hà Nội
49	2010092137	Trần Thị Phương A	1984	Hà Nội
50	2003061304	Nguyễn Thị Lan A	1992	Hà Nội
51	1908030962	Nguyễn Thùy L	1987	Hà Nội
52	2009042267	Nguyễn Thị M	2000	Thanh Hóa
53	2011141517	Nguyễn Thị Trà M	1985	Quảng Ninh
54	2011141860	Trần Thị Ng	1988	Hà Nam
55	2009200054	Nguyễn Thị Hòa H	1988	Vĩnh Phúc
56	2105260637	Nguyễn Thị Như Th	1991	Hà Nội
57	2010180079	Phạm Thị Hồng H	1985	Hà Nội
58	2101271584	Vũ Thị Qu	1987	Hà Nội
59	2005272422	Nguyễn Thị Thanh Ng	1986	Hà Nội
60	1910171733	Nguyễn Thị Nh	1987	Thanh Hóa

61	2010311540	Đinh Thị Anh Đ	1992	Hà Nội
62	2210182111	Đinh Thị Thu L	1981	Hải Phòng
63	2010101878	Mạc Thị Quỳnh A	1990	Hà Nội
64	2010122302	Ngọc Thị D	1992	Hà Nội
65	2010132527	Phạm Thu Th	1985	Hà Nội
66	1904081609	Nguyễn Thị H	1993	Hà Nội
67	2010222198	Bùi Hương G	1983	Hà Nội
68	2010262201	Lê Thị H	1986	Hải Phòng
69	2010261731	Trần Thị Hồng L	1988	Hà Nội
70	2112250677	Trần Thị U	1989	Lai Châu
71	2103302354	Lưu Thị Ph	1988	Thanh Hóa
72	2104072263	Trần Bích Ng	1994	Hà Nội
73	2011162511	Đỗ Thị Nh	1990	Vĩnh Phúc
74	2101300968	Ngô Minh Ng	1995	Hà Nội
75	2012142536	Đặng Thị Thu H	1982	Hung Yên
76	2107100984	Nguyễn Thị Th	1995	Thanh Hóa
77	2011022273	Kim Thị M	1982	Hà Nội
78	1911251875	Phạm Huyền Th	1994	Hà Nội
79	2012051476	Mai Thị Thu H	1992	Hà Nội
80	2101183376	Nguyễn Thị Kim A	1995	Hà Nội
81	2105062315	Nguyễn Thúy L	1988	Hà Nội
82	2011122541	Nguyễn Thị Huệ L	1981	Hà Nội
83	2206172831	Trần Thị H	1991	Hà Nội
84	2104051867	Trịnh Thị Lan A	1987	Thanh Hóa
85	2204090065	Trương Thị Mai C	1991	Phú Thọ
86	2103222429	Nguyễn Thị M	1987	Hà Nội
87	2103312909	Tạ Thị Phương Th	1992	Hà Nội
88	2106167240	Nguyễn Thị Minh Ph	1997	Hà Nội
89	2105121572	Đỗ Thị Ph	1995	Vĩnh Phúc
90	2105121568	Lương Thị Ngọc Y	1999	Hải Phòng
91	2105071674	Trần Thị Hương Th	1996	Hải Phòng
92	2106071673	Phan Lan Thùy D	1991	Quảng Bình

93	2108140268	Vi Thị H	1991	Yên Bái
94	2106114109	Phạm Thị Huyền Tr	1995	Yên Bái
95	2103162484	Đào Thị Thu Tr	1982	Hải Phòng
96	2006241140	Trần Thị Lan A	1993	Nam Định
97	2008261919	Trần Thị Thu Th	1979	Hà Nội
98	2103092828	Nguyễn Thị Hương L	1990	Hà Nội
99	2008121657	Phạm Khánh Ch	1991	Hà Nội
100	2008191241	Lăng Thị Kim H	1992	Hà Nội
101	2007152834	Phạm Thị H	1994	Nam Định
102	2009051153	Trần Thị Thùy L	1989	Hà Nội
103	1909281864	Nguyễn Thúy Ng	1998	Hà Nội
104	2009130067	Nguyễn Tú A	1993	Hà Nội
105	2006101171	Nguyễn Thị O	1996	Hải Dương
106	2009181544	Đỗ Thị Thu V	1985	Hà Nội
107	2009232013	Đình Hải H	1990	Hà Nội
108	2009231819	Hoàng Thị Thu H	1992	Thái Nguyên
109	2009242615	Nguyễn Thị Thanh H	1979	Hà Nội
110	2007162126	Nguyễn Thị Ch	1986	Hà Nam
111	2010062654	Lê Thị Ngọc Y	1992	Hải Dương
112	2010054085	Vương Thị Th	1995	Hà Nội
113	2012092802	Mai Thị H	1988	Hà Nội
114	2010040102	Trần Phương Nh	1984	Hà Nội
115	2209261361	Trần Thị Lệ Qu	1983	Phú Thọ
116	1904171944	Nguyễn Thị H	1987	Hà Nội
117	2011051258	Lê Thị Ng	1995	Hà Nội
118	2011121839	Đào Thu Tr	1989	Hà Nội
119	2112272036	Lê Thị Phương Th	1988	Ninh Bình
120	2205191921	Tạ Thị M	1992	Bắc Ninh
121	2112102141	Nghiêm Thị Ng	1993	Hải Dương
122	2112181508	Tạ Quỳnh A	1995	Hà Nội
123	2011132268	Trần Thị Ph	1993	Hà Nội
124	2008131526	Văn Thị H	1991	Nghệ An

125	2107021948	Nguyễn Thị L	1992	Sơn La
126	2008220704	Nguyễn Thị Ngọc Á	1989	Hà Nội
127	2008260388	Lê Thị Trà M	1987	Hà Nội
128	2206151795	Vũ Thu Th	1995	Bắc Ninh
129	2008291154	Đoàn Thị Bích Th	1982	Vĩnh Phúc
130	2008312351	Trần Thị H	1985	Phú Thọ
131	2010262555	Nguyễn Thị Thùy D	1998	Hà Nội
132	2012051785	Khổng Thị Th	1984	Hà Nội
133	2012081977	Đinh Thị Phương Th	1990	Hà Nội
134	2010231706	Trần Thị Hải V	1993	Hà Nội
135	2012032119	Đoàn Thị Lan H	1990	Hà Nội
136	2112112788	Trần Thị L	1990	Hà Nội
137	2003031117	Nguyễn Thị Phương Th	1983	Hà Nội
138	2112212350	Lê Đỗ Thị Ngọc Nh	1993	Quảng Bình
139	2112231066	Bùi Thanh X	1997	Hà Nội
140	2008191186	Lê Thị L	1993	Hà Nội
141	2104261994	Nguyễn Ánh Ng	1993	Hà Nội
142	2202141079	Trịnh Thị L	1981	Hà Nội
143	2008211320	Nguyễn Tú L	1987	Hà Nội
144	2112130931	Nguyễn Thị H	1986	Hòa Bình
145	2209241069	Trần Thị Bích Ng	1986	Hà Nội
146	2005230808	Hoàng Thùy A	1991	Hà Nội
147	2010222722	Phạm Thị Thu H	1993	Thái Bình
148	2012032731	Nguyễn Thị B	1993	Thái Bình
149	2010290505	Vũ Thị Th	1992	Hà Nội
150	2112040564	Nguyễn Thị Phương L	1984	Nghệ An
151	2112041400	Lê Thị Th	1982	Hà Nam
152	2111290977	Trần Thị Thu Tr	1986	Quảng Ninh
153	2105150356	Trần Thị Kim Th	1981	Hà Nội
154	2208251949	Nguyễn Thị Th	1991	Hà Nội
155	2104223698	Nguyễn Thị H	1987	Hà Nội
156	2112201023	Lê Nguyệt H	1992	Quảng Bình

157	2104203317	Phạm Thị Lan H	1989	Hung Yên
158	2105030059	Lê Thị T	1989	Hải Dương
159	2207091579	Lã Hà A	1987	Hà Nội
160	2112112848	Sầm Thị H	1990	Tuyên Quang
161	2111271702	Nghiêm Thị Đ	1979	Hải Dương
162	2112271638	Phạm Thu H	1994	Hà Nội
163	2112071147	Hồ Thị Hương Gi	1992	Hà Nội
164	2003111046	Nguyễn Thị Th	1992	Vĩnh Phúc
165	2104282885	Đình Huyền Tr	1990	Hà Nội
166	2111302955	Phùng Phương H	1989	Hà Nội
167	2112011319	Nguyễn Thị Thùy Tr	1999	Hà Nội
168	2112030796	Ngô Thị Thu Th	1992	Hà Nội
169	2103232280	Nguyễn Thị L	1994	Hà Nội
170	2112041165	Hoàng Thị A	1993	Hà Nội
171	2112130931	Trần Thị Bích Ng	1994	Lào Cai
172	2112251077	Nguyễn Ngọc H	1992	Hà Nội
173	2008150751	Bùi Lan A	1987	Hà Nội
174	2001021296	Nguyễn Thị Th	1989	Hà Tĩnh
175	2005122605	Mạc Thị Hương L	1995	Hà Nội
176	2010212594	Nguyễn Minh Ng	1990	Hà Nội
177	2008251861	Lê Thùy D	1990	Hà Nội
178	2008010764	Bùi Thị L	1994	Ninh Bình
179	2009060068	Đào Thị Qu	1995	Hà Nội
180	2011253100	Trịnh Thị D	1989	Nam Định
181	2012032695	Trần Thị Ngọc L	1997	Hà Nội
182	2010311096	Nguyễn Thị H	1992	Hà Nội
183	2012051341	Đỗ Thị H	1979	TP. Hồ Chí Minh
184	2110220637	Nguyễn Thị Ng	1993	Hà Nội
185	2109231160	Bùi Thị Ng	1991	Hà Nội
186	2011262942	Vũ Thị Kim D	1980	Tuyên Quang
187	2111301618	Phi Thị Ph	1994	Hà Nội
188	2112021461	Nguyễn Thị Hà Ph	1984	Hà Nội

189	2111271791	Vũ Thúy H	1986	Hà Nội
190	2112021320	Trần Thị Thanh H	1990	Hà Nội
191	2112040766	Nguyễn Hoàng D	1987	Hà Nội
192	1911181689	Phạm Thị S	1988	Vĩnh Phúc
193	2112063838	Hoàng Thị Hải Y	1991	Nghệ An
194	2010262155	Tạ Hoàng H	1987	Hà Nội
195	2008080677	Nguyễn Thị H	1993	Hà Nội
196	1907121471	Nhiệm Thị Nh	1993	Hải Dương
197	2109260086	Đỗ Y M	1985	Hà Nội

Hà nội, ngày tháng năm 2023

**Xác nhận của
giáo viên hướng dẫn**

**Xác nhận của phòng KHTH
Bệnh viện Đại học Y Hà nội**