

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



VŨ THỊ BÍCH LOAN

**NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ VÔ SINH NAM
BẰNG PHƯƠNG PHÁP TIÊM TINH TRÙNG ĐÔNG LẠNH
THU NHẬN TỪ PESA VÀO BÀO TỬ ĐÔNG NOÃN
TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 62720131

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

Công trình được hoàn thành tại:
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Người hướng dẫn khoa học: 1. GS.TS. Nguyễn Viết Tiến
2. PGS.TS. Vũ Văn Tâm

Phản biện 1: GS.TS. Cao Ngọc Thành

Phản biện 2: GS.TS. Nguyễn Đình Tảo

Phản biện 3: PGS.TS. Lê Hoàng

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại Trường Đại học Y Hà Nội

Vào hồigiờ.....ngày.....tháng.....năm 2019.

Có thể tìm hiểu luận án tại các thư viện:

- Thư viện Quốc Gia
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội
- Thư viện Bệnh viện Phụ sản Trung Ương

NHỮNG CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Vũ Thị Bích Loan, Nguyễn Viết Tiến, Vũ Văn Tâm (2015).** Kết quả bước đầu phương pháp tiêm tinh trùng trữ lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn trong điều trị vô sinh nam. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 93(1), 1-7.
2. **Vũ Thị Bích Loan, Nguyễn Viết Tiến, Vũ Văn Tâm (2016).** Một số yếu tố ảnh hưởng kết quả phương pháp tiêm tinh trùng từ mào tinh vào bào tương noãn trong điều trị vô sinh. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 102 (4), 26 - 34.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn ngày càng mở rộng tại các trung tâm Hỗ trợ sinh sản trên cả nước và trên Thế Giới. Phương pháp này giúp cho các cặp vợ chồng vô sinh do không có tinh trùng có cơ hội làm cha làm mẹ mà trước tưởng như bế tắc. Đặc biệt giảm chi phí điều trị, giảm nguy cơ gây tổn thương lên tinh hoàn và mào tinh, giảm áp lực tâm lý cho bệnh nhân và nhân viên y tế. Nhiều nghiên cứu trên Thế giới đã cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thành công khi sử dụng tinh trùng tươi hay tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh. Hầu hết các nghiên cứu này với cỡ mẫu nhỏ, không theo dõi dọc đến khi sinh em bé và không đánh giá chi tiết các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai. Tại Việt Nam phương pháp này mới chỉ được thực hiện ở các trung tâm lớn. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Nghiên cứu hiệu quả điều trị vô sinh nam bằng phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh thu nhận từ PESA vào bào tương noãn tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương”** với các mục tiêu sau:

1. *Đánh giá hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh thu nhận từ PESA vào bào tương noãn tại bệnh viện phụ sản Trung Ương.*
2. *Phân tích một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh thu nhận từ PESA vào bào tương noãn*

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Luận án đã đưa ra được tỷ lệ thành công khi sử dụng tinh trùng đông lạnh từ PESA tiêm vào bào tương noãn trên số chu kỳ KTBT và số chu kỳ chuyển phôi lớn, xác định được điểm cut off của mật độ và độ di động tinh trùng trước đông với khả năng tinh trùng chết hoàn toàn sau rã đông.
2. Nghiên cứu đầu tiên theo dõi và đánh giá từ khi khám lâm sàng, chọc hút mào tinh, trữ lạnh tinh trùng đến giai đoạn cuối cùng của điều trị vô sinh bằng thụ tinh trong ống nghiệm đó là khi đưa trẻ thụ tinh trong ống nghiệm ra đời.
3. Tổng kết tương đối toàn diện các yếu tố đơn biến và đa biến ảnh hưởng đến kết quả thành công của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh từ PESA vào bào tương noãn.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án bao gồm 143 trang, 4 chương, 34 bảng, 12 biểu đồ, 194 tài liệu tham khảo với 44 tài liệu tiếng Việt và 150 tài liệu tiếng nước ngoài.

Phần đặt vấn đề: 02 trang; chương 1: tổng quan tài liệu 36 trang; chương 2: đối tượng và phương pháp nghiên cứu 17 trang; chương 3 kết quả nghiên cứu 33 trang; chương 4 bàn luận 53 trang; kết luận 2 trang; khuyến nghị 1 trang; danh mục bài báo liên quan; tài liệu tham khảo; phụ lục.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Một số khái niệm về vô sinh

1.1.1. Định nghĩa và phân loại về vô sinh.

1.1.2. Tình hình vô sinh trên Thế giới và Việt Nam.

1.2. Cơ quan sinh dục nam

1.2.1. Đặc điểm giải phẫu cơ quan sinh dục nam

Cơ quan sinh dục nam gồm hai tinh hoàn nằm trong bìu, đường dẫn tinh, các tuyến của đường dẫn tinh và dương vật. Các tuyến phụ thuộc 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.

1.2.2. Quá trình sinh tinh trùng

Sinh tinh trùng ở người là một chuỗi các quá trình phức tạp với mục đích tạo ra những tinh trùng trưởng thành có khả năng thụ tinh với noãn. Tinh trùng được xem là một tế bào có kích thước nhỏ trong cơ thể. Đây là loại tế bào có tính biệt hóa cao độ để chứa thông tin di truyền từ người cha, có khả năng di chuyển trong đường sinh dục nữ, nhận biết và thụ tinh với noãn.

Quá trình sinh tinh diễn ra ở trong lòng ống sinh tinh của tinh hoàn thông qua quá trình nguyên phân để gia tăng số lượng và giảm phân để tạo bộ nhiễm sắc thể đơn bội. Sau khi được tạo thành, tinh trùng di chuyển vào mào tinh và trưởng thành ở đây trước khi được xuất tinh ra ngoài.

1.2.3. Điều hòa hoạt động nội tiết nam giới

1.3. Không có tinh trùng trong tinh dịch

Không có tinh trùng trong tinh dịch là trường hợp không tìm thấy tinh trùng trong mẫu xuất tinh đã được ly tâm 3000 vòng/phút trong 15 phút, không bao gồm trường hợp xuất tinh ngược dòng. Để kết luận trường hợp không có tinh trùng cần phải xét nghiệm 2 lần cách nhau 3-5 ngày.

Người ta phân loại các trường hợp không có tinh trùng trong tinh dịch làm hai loại chính là không có tinh trùng do tắc nghẽn (*obstructive azoospermia*) và không do tắc nghẽn (*non-obstructive azoospermia*).

1.3.1. Không có tinh trùng không do tắc nghẽn.

1.3.1.1. Bệnh lý vùng dưới đồi tuyến yên

- Hội chứng Kallmann
- Hội chứng Prader-Willi
- Thiếu FSH đơn thuần
- Hội chứng Laurence Moon Bandet Biedl
- Tăng prolactin trong máu.

1.3.1.2. Do bất thường di truyền

- Hội chứng Klinefelter
- Hội chứng XYY

- Rối loạn XX
- Hội chứng Noonan

1.3.1.3. Bệnh lý tinh hoàn

- Tinh hoàn lạc chỗ
- Không có tinh hoàn bẩm sinh
- Do viêm tinh hoàn
- Giãn tĩnh mạch thừng tinh

1.3.2. Không có tinh trùng do tắc nghẽn.

1.3.2.1. Tắc nghẽn trong tinh hoàn

- Hội chứng xoắn quá mức ống sinh tinh (hypercuvature syndrome)
- Tắc lưới tinh (rete testis obstruction)

1.3.2.2. Tắc nghẽn mào tinh

- Teo bẩm sinh một phần mào tinh
- Viêm mào tinh
- Chấn thương
- Không nối thông giữa ống ra (efferent ductules) và ống mào tinh (epididymal duct)

- Hội chứng Young.

1.3.2.3. Tắc ống dẫn tinh

- Bất sản ống dẫn tinh hai bên
- Xơ hóa nang
- Do viêm nhiễm

1.3.2.4. Tắc ống phóng tinh

1.3.3. Các kỹ thuật thu nhận tinh trùng trong các trường hợp vô tinh

- Lấy tinh trùng từ mào tinh bằng vi phẫu thuật (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration-MESA)
- Chọc hút tinh trùng từ mào tinh kim qua da (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration-PESA)
- Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn qua da (Testicular Fine Needle Aspiration-TEFNA).
- Lấy tinh trùng từ tinh hoàn bằng phẫu thuật xẻ tinh hoàn (Testicular Sperm Extraction - TESE)

1.4. Kỹ thuật trữ lạnh trong hỗ trợ sinh sản

1.4.1. Ảnh hưởng của quá trình bảo quản lạnh lên tinh trùng

Tổn thương tinh trùng trong quá trình trữ lạnh là do hiện tượng tạo thành các tinh thể đá trong và ngoài tế bào. Hiện tượng này xảy ra trong quá trình hạ nhiệt và gọi là hiện tượng shock lạnh. Hậu quả của sự hình thành tinh thể đá làm lượng nước ở thể lỏng giảm đi, do đó nồng độ các chất hòa tan tăng nên gây mất cân bằng về áp lực thẩm thấu, kéo nước từ bên trong tế bào ra ngoài, làm tổn thương màng lipoprotein của tế bào. Tổn thương do tinh thể đá này

không chỉ xảy ra trong quá trình đông lạnh mà cả quá trình rã đông. Tuy nhiên, bảo quản lạnh tinh trùng giúp bảo tồn khả năng sinh sản ở bệnh nhân thiểu tinh, nhược tinh hoặc kết hợp thiếu- nhược- quái tinh. Đồng thời có thể cải thiện số tinh trùng di động tiến tới và tăng tỷ lệ có thai ở bệnh nhân này khi thực hiện kỹ thuật thụ tinh nhân tạo. Việc bảo quản lạnh tinh trùng kết hợp với thụ tinh nhân tạo đường như là một phương pháp điều trị lý tưởng cho nam giới vô sinh.

1.4.2. Các quy trình đông lạnh tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật

Mặc dù mang đến cơ hội được làm cha ở các bệnh nhân vô tinh, quy trình thu nhận tinh trùng từ phẫu thuật nếu lặp lại nhiều lần sẽ gây những bất lợi sau:

- Tạo áp lực tâm lý lên bệnh nhân.
- Gây tổn thương lên tinh hoàn như: gây rối loạn cấu trúc của tinh hoàn, làm teo tinh hoàn không phục hồi, gây tổn thương lên quá trình sinh tinh và đặc biệt có thể làm mất chức năng nội tiết của tinh hoàn.

- Tăng chi phí điều trị.
- Tăng nguy cơ biến chứng (tụ máu bìu)

Đặc biệt một số trường hợp vẫn không tìm thấy tinh trùng khi thực hiện TESE vào ngày chọc hút trứng mặc dù kết quả giải phẫu bệnh là có tinh trùng. Trữ lạnh tinh trùng sẽ giúp đảm bảo có tinh trùng cho ICSI vào ngày chọc hút trứng. Theo nhiều nghiên cứu trên thế giới, không có sự khác biệt về kết quả thụ tinh khi sử dụng tinh trùng tươi hay tinh trùng đông lạnh từ mào tinh. Quy trình trữ lạnh tinh trùng ở các trung tâm thụ tinh trong ống nghiệm thường khác nhau về chi tiết và tùy thuộc vào từng điều kiện của mỗi trung tâm. Tuy nhiên, các quy trình này về cơ bản là giống nhau. Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da. Mẫu tinh trùng sẽ được đánh giá dưới KHV đảo ngược vật kính 10:

- 1+: có 1 - 3 tinh trùng sống trên 1 vi trường.
- 2+: có 4 - 10 tinh trùng sống trên 1 vi trường.
- 3+: có > 10 tinh trùng sống trên 1 vi trường

Trong trường hợp mẫu tinh trùng đánh giá 3+ sẽ được tư vấn cho bệnh nhân để đông lạnh.

1.5. Quy trình phương pháp PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh

1.5.1. Kích thích buồng trứng

1.5.2. Chọc hút noãn và chuẩn bị noãn

1.5.3. Rã đông tinh trùng PESA để chuẩn bị tinh trùng

1.5.4. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI)

1.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh

1.6.1. Yếu tố từ người chồng ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh

- Vị trí thu nhận tinh trùng.

- Nguyên nhân vô tình.
- Tuổi, xét nghiệm nội tiết của người chồng.
- Mật độ, tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ và thời gian trữ đông.

1.6.2. Yếu tố từ người vợ ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh.

- Nguyên nhân vô sinh
- Thời gian vô sinh
- Tuổi, các xét nghiệm nội tiết của người phụ nữ.
- Số lượng và chất lượng phôi chuyển vào buồng tử cung
- Độ dày và hình thái niêm mạc tử cung
- Kỹ thuật chuyển phôi.

1.7. Các nghiên cứu về thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng thu nhận từ PESA

CHƯƠNG 2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm HTSS Quốc gia- Bệnh viện PSTW

2.2. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1 năm 2014 đến hết tháng 9 năm 2017

2.3. Đối tượng nghiên cứu

* Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng:

- Các cặp vợ chồng đã được chẩn đoán là vô sinh do không có tinh trùng. Người chồng được khám, đo kích thước tinh hoàn, xét nghiệm nội tiết xác định là vô tinh do bế tắc. Làm test chọc hút có tinh trùng trong mào tinh, đánh giá trên KHV đảo ngược có trên 10 tinh trùng di động trong 1 vi trường.

- Người vợ không quá 40 tuổi.

- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

- Các trường hợp vợ vô sinh vì một trong những nguyên nhân sau:

+ Do đáp ứng kém với kích thích buồng trứng.

+ Do u xơ tử cung, polip, dính buồng tử cung...

+ Rối loạn phóng noãn do Prolactin trong máu cao.

- Loại trừ của người chồng:

+ Xuất tinh ngược dòng.

+ Xin tinh trùng.

- Có các bệnh lý nội ngoại khoa, truyền nhiễm, bệnh lây truyền qua đường tình dục, HIV/AIDS, các bệnh lý di truyền...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

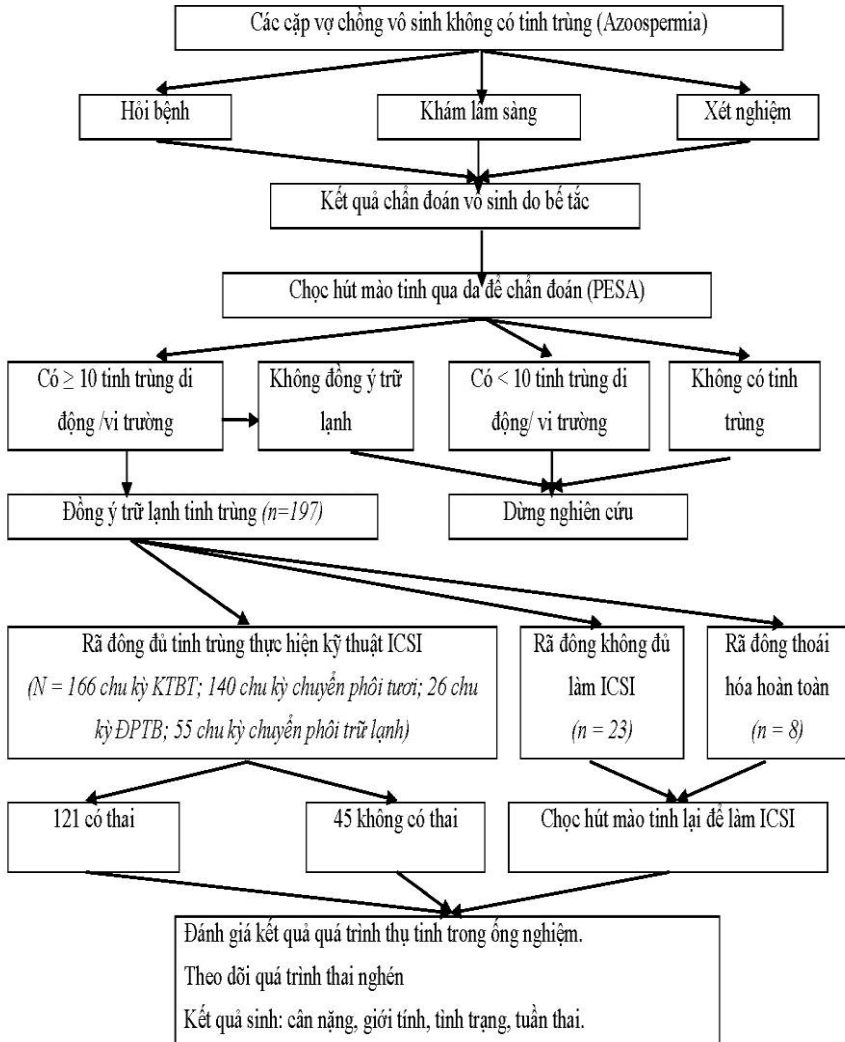
2.4.1. Thiết kế nghiên cứu: mô tả tiến cứu

2.4.2. Cỡ mẫu:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{P(1-P)}{(p\varepsilon)^2}$$

Theo nghiên cứu của Trương T.Thanh Bình (2012) tỷ lệ có thai LS của nhóm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh là 48,6%. Nghiên cứu chọn $\varepsilon = 0,17$. Thay vào công thức trên ta tính được cỡ mẫu là 140. Trên thực tế chúng tôi thu thập được 197 cặp vợ chồng tham gia vào nghiên cứu.

2.4.3. Quy trình nghiên cứu



2.5. Cách thức tiến hành

– Các cặp vợ chồng được khám lâm sàng làm xét nghiệm chuẩn đoán vô sinh không có tinh trùng do bế tắc. Thu nhận mẫu tinh trùng bằng chọc hút từ mào tinh qua da (PESA), nhỏ 1 giọt khoảng 10 μ l tinh dịch lên buồng đếm Makler, xác định mật độ và tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới. Tiến hành đông lạnh mẫu tinh trùng, cho mẫu tinh trùng chọc hút vào ống nghiệm 5ml đã được chuẩn bị trước 2 lớp thang nồng độ 45% và 90% mỗi lớp 0,5ml của hãng Vitrolife (*sperm grade*). Ly tâm 1500 vòng/ phút trong 15 phút. Hút lấy cặn tinh trùng ở đáy ống nghiệm, nhỏ vào ống nghiệm 5ml đã chuẩn bị sẵn 1ml môi trường IVF. Ly tâm 1500 vòng/ phút trong thời gian 5 phút. Hút lấy cặn 0,3ml ở đáy ống để trữ lạnh. Cân bằng dịch với môi trường trữ lạnh (*sperm freeze*) theo tỷ lệ 1:0,7, để trong nhiệt độ phòng 5 phút. Quy trình đông lạnh được thực hiện theo phương pháp dùng máy hạ nhiệt độ đã cài sẵn chương trình.

– Quy trình rã đông: Mẫu sau rã cho ra đĩa Petri nhỏ và soi dưới KHV đảo ngược vật kính 10 để đánh giá tinh trùng sống sau rã. Nếu soi có trên 2 tinh trùng sống trong 1 vi trường, mẫu được lọc rửa lại để loại bỏ chất bảo quản trước khi làm ICSI. Nếu soi có ít hơn 2 tinh trùng sống trong 1 vi trường, mẫu chỉ cần rửa với 1ml môi trường IVF, ly tâm 1500 vòng/ phút trong thời gian 5 phút. Hút lấy cặn ở đáy ống để làm ICSI. Cặn sau lọc rửa được soi lại dưới KHV đảo ngược, nếu thấy tinh trùng bất động hoàn toàn tiến hành làm Swim out trên đĩa Petri 60. Đặt 5-10 μ l cặn tinh trùng vào giữa các cột môi trường IVF, phủ dầu đặt trong tủ cây 5%CO₂ nhiệt độ 37°C khoảng 30 phút. Soi lại dưới KHV đảo ngược nếu không thấy tinh trùng sống bơi ra rìa giọt, hoặc số lượng tinh trùng sống ít hơn số trứng chọc hút của bệnh nhân thì tiến hành chọc hút lại mào tinh lấy tinh trùng tươi thực hiện ICSI.

– Các qui trình TTTON được tiến hành thường quy.

2.6. Các biến số và tiêu chuẩn nghiên cứu.

– Các biến số liên quan đến người chồng: tuổi, chỉ số xét nghiệm nội tiết, số lượng và độ di động tinh trùng trước đông, thời gian đông lạnh.

– Các biến số liên quan đến người vợ: tuổi, thời gian, loại vô sinh, chỉ số xét nghiệm nội tiết, số nang thứ cấp, liều FSH ban đầu, phác đồ KTBT, nồng độ E2, độ dày và hình ảnh NMTC ngày tiêm HCG.

– Các biến số liên quan đến chu kỳ TTTON: số noãn thu được, số noãn thụ tinh, số lượng và chất lượng phôi chuyển, kỹ thuật chuyển phôi.

2.7. Sử lý và phân tích số liệu: Thu thập theo phiếu điều tra, xử lý số liệu theo SPSS 16.0. Vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel 2010.

2.8. Không chế sai số và yếu tố nhiễu

2.9. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Đề tài được hội đồng khoa học và hội đồng y đức thông qua.
- Thông tin cá nhân được bảo đảm giữ bí mật.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu 197 cặp vợ chồng vô sinh có tình trạng đông lạnh chọc hút từ mào tinh (PESA) tại trung tâm Hỗ trợ sinh sản Quốc Gia từ 1/2014 đến tháng 1 năm 2017 phù hợp với tiêu chuẩn chọn lựa, chúng tôi thu được kết quả như sau

3.1. Một số đặc điểm của cặp vợ chồng có tình trạng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

3.1.1. Đặc điểm của người chồng

Bảng 3.1. Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của người chồng

Đặc điểm	Trung bình	Min	Max
Tuổi (năm)	31,4 ± 5,6	21	55
Thời gian vô sinh (năm)	4,2 ± 3,7	1	20
Thể tích tinh hoàn (ml)	17,65 ± 2,81	10	25
FSH (IU/L)	4,76 ± 2,89	1,09	33,87
LH (IU/L)	4,79 ± 2,76	1,19	16,43
Testosteron (nmol/L)	17,15 ± 7,44	1,8	41,76

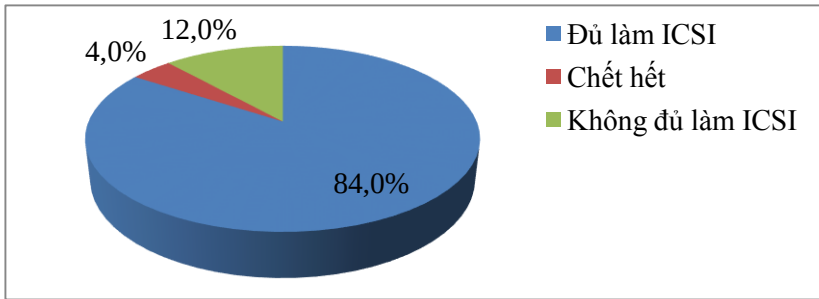
3.1.2. Đặc điểm của người vợ điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI có sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh

Bảng 3.6. Các chỉ số đánh giá dự trữ buồng trứng theo nhóm phác đồ KTBT

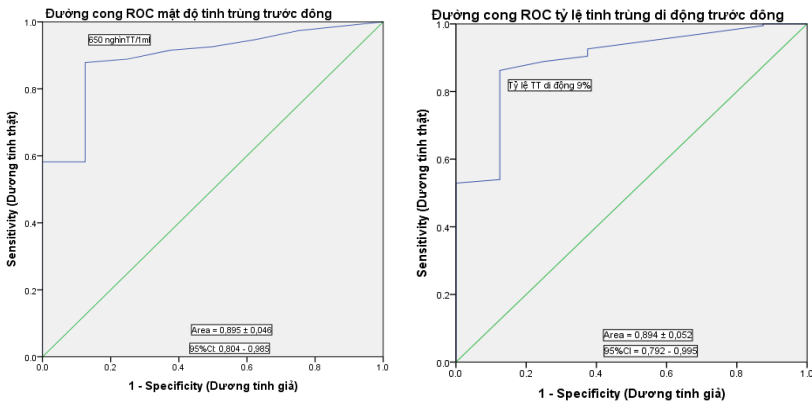
Phác đồ Chỉ số	Phác đồ đông vận		Phác đồ đối vận n = 78 (c)	Chung n = 166	p
	Phác đồ ngắn n = 30 (a)	Phác đồ dài n = 58 (b)			
FSH (IU/L)	6,52 ± 2,83	6,21±1,83	6,11±1,55	6,22±1,93	p(a/b)=0,530 p(a/c)=0,208 p(b/c)=0,471
LH (IU/L)	4,49±2,26	5,14±1,92	5,18±2,96	5,04±2,51	p(a/b)=0,043 p(a/c)=0,132 p(b/c)=0,449
Estradiol (pmol/ L)	38,99±24,34	36,51±27,67	34,65±18,76	36,08±23,14	p(a/b)=0,727 p(a/c)=0,487 p(b/c)=0,848
Prolactin (mIU/l)	427,71±309,7	451,63±225,5	406,21±235,9	425,96±246,6	p(a/b)=0,634 p(a/c)=0,977 p(b/c)=0,559
AFC	7,97±3,79	10,22±3,22	11,60±4,70	10,46±4,26	p(a/b)=0,022 p(a/c)=0,000 p(b/c)=0,020
AMH	4,15±4,02	4,57±2,65	5,28±3,02	4,83±3,12	p(a/b)=0,693 p(a/c)=0,060 p(b/c)=0,060
Tuổi vợ (năm)	31,3±6,34	27,76±3,98	27,09±3,99	28,08±4,73	p(a/b)=0,001 p(a/c)=0,000 p(b/c)=0,326

3.2. Hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh vào bào tương noãn (PESA/ICSI).

3.2.1. Hiệu quả của phương pháp trữ lạnh tinh trùng chọc hút từ mào tinh



Biểu đồ 3.5. Đặc điểm của tinh trùng sau rã



Biểu đồ 3.6. Ngưỡng mật độ tinh trùng trước đông tiên đoán khả năng chết toàn bộ sau rã đông: Với ngưỡng mật độ tinh trùng trước đông < 0,65 triệu /1ml tiên đoán sau rã đông tinh trùng bị chết toàn bộ với độ nhạy 87,8%; độ đặc hiệu 87,5%.

Biểu đồ 3.7. Ngưỡng tỷ lệ tinh trùng di động trước đông tiên đoán khả năng chết toàn bộ sau rã đông: Với ngưỡng tinh trùng di động trước đông < 9% tiên đoán khả năng tinh trùng chết toàn bộ sau rã đông với độ nhạy 86,2% và độ đặc hiệu là 87,5%.

3.2.2. Hiệu quả của kích thích buồng trứng

Bảng 3.10. Đặc điểm và kết quả kích thích buồng trứng

Phác đồ Chỉ số	PD đồng vận		PD đối vận (n=78) (c)	Chung n=166	p
	PD ngắn (n=30) (a)	PD dài (n=58) (b)			
Tổng liều FSH trung bình (IU)	2092,5 ± 795,2	1742,7 ± 530,2	1588,1 ± 585,4	1733,3 ± 633,7	$p(a/b)=0,037$ $p(a/c)=0,000$ $p(b/c)=0,071$
Số ngày dùng FSH trung bình (ngày)	9,3 ± 1,1	9,9 ± 0,7	9,6 ± 0,7	9,6 ± 0,8	$p(a/b)=0,000$ $p(a/c)=0,122$ $p(b/c)=0,004$
Tổng số noãn	285	706	986	1977	
Số noãn trung bình	9,5 ± 6,0	12,2 ± 4,9	12,6 ± 7,2	11,9 ± 6,3	$p(a/b)=0,023$ $p(a/c)=0,015$ $p(b/c)=0,409$
Niêm mạc tử cung (mm)	11,3 ± 2,1	11,9 ± 2,4	10,9 ± 1,7	11,3 ± 2,1	$p(a/b)=0,151$ $p(a/c)=0,274$ $p(b/c)=0,007$

3.2.3. Hiệu quả của tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn và nuôi cấy phôi

Bảng 3.11. Kết quả tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Phác đồ Chỉ số	Phác đồ đồng vận		PD đối vận (n=78) (c)	Chung (166)	p
	PD ngắn (n=30) (a)	PD dài (n=58) (b)			
Tổng số phôi	186	438	650	1274	
Số phôi TB	6,2 ± 3,75	7,53 ± 3,91	8,33 ± 5,76	7,67 ± 4,89	$p(a/c)<0,05$
TL thụ tinh (%)	82,9 ± 18,7	82,8 ± 18,8	81,7 ± 17,5	82,3 ± 18,1	$p > 0,05$

Bảng 3.12. Kết quả chuyển phôi theo nhóm phác đồ kích thích buồng trứng

Phác đồ Chỉ số	PD đồng vận		PD đối vận (n=64)	Chung (n=140)	p
	PD ngắn (n=26)	PD dài (n=50)			
Tổng số phôi chuyển	76	151	200	427	
Số phôi chuyển TB	2,92 ±0,79	3,02±0,62	3,13±0,74	3,05±0,72	p>0,05
Tổng số túi thai	23	51	59	133	
Tỷ lệ làm tổ	23/76 (30,2%)	51/151 (33,8%)	59/200 (29,5%)	133/427 (31,1%)	p>0,05
Tỷ lệ đa thai	23,1%	34,0%	26,6%	28,6%	p>0,05
Tỷ lệ sinh sống	46,2%	56,0%	48,4%	50,7%	p>0,05

Bảng 3.13. Tỷ lệ có thai lâm sàng cộng dồn sau từng chu kỳ chuyển phôi trong một chu kỳ KTB

		Thai lâm sàng (n/N; %)
Chuyển phôi tươi	Số chu kỳ CP tươi N=140	86/140 (61,4%)
	Số chu kỳ KTB N=166	86/166 (51,8%)
Chuyển phôi trữ lạnh (N =55)		35/55 (63,6%)
Thai cộng dồn (N=166)		121/166 (72,9%)

Bảng 3.14. So sánh kết quả ICSI sử dụng tinh trùng tươi và tinh trùng rã đông chọc hút từ mào tinh

Chỉ số	Tinh trùng đông lạnh	Tinh trùng tươi	p
Số noãn trung bình	11,91 ± 6,34	14,19 ± 5,49	0,062
Số phôi trung bình	7,67 ± 4,89	8,71 ± 4,58	0,273
Tỷ lệ thụ tinh (%)	82,3 ± 18,1	80,24 ± 17,47	0,503
Số phôi tốt trung bình	5,67 ± 4,52	5,84 ± 3,92	0,85
Số phôi chuyển trung bình	3,05±0,72	2,79 ± 1,15	0,496
Kết quả có thai lâm sàng/ chu kỳ CP	61,4%	59,3%	0,497
Tỷ lệ làm tổ	31,1%	24,7%	0,259

Bảng 3.15. Kết quả khi sinh của nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

Kết quả	n/N	Tỷ lệ %	Trung bình (Min-Max)
Phương pháp sinh - Sinh mổ. - Sinh thường	61/71 10/71	85,9% 14,1%	
Tuổi thai khi sinh - < 37 tuần - ≥ 37 tuần	24/71 47/71	33,8% 66,2%	36,8 ± 2,41 tuần (28 - 40) tuần
Cân nặng khi sinh: - < 2500 gram. - ≥ 2500 gram	41/102 61/102	40,2% 59,8%	2660,3 ± 698,1 gram (800 – 3900) gram
Số em bé khi sinh: - Sinh 1 - Sinh 2	40/71 31/71	56,3% 43,7%	
Giới tính: - Trai - Gái	55/102 47/102	53,9% 46,1%	
Dị tật bẩm sinh	0/102	0%	
Chết chu sinh	1/102	0,98%	

3.3. Một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh vào bào tương noãn

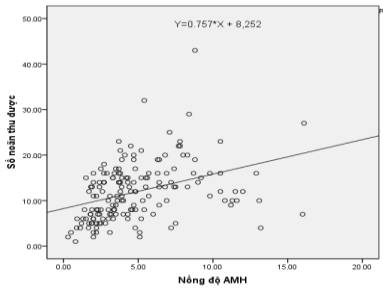
3.3.1. Các yếu tố của người chồng ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm

Bảng 3.16. Các yếu tố người chồng ảnh hưởng kết quả có thai

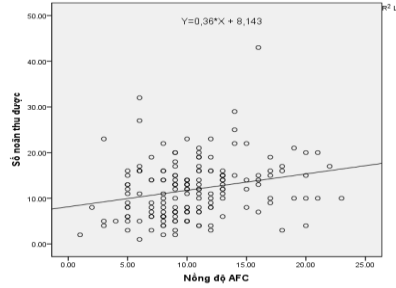
Yếu tố	Có thai (n = 86)	Không có thai (n = 54)	P
Tuổi (năm)	31,3 ± 5,5	32,2 ± 6,7	0,368
FSH (IU/L)	4,81 ± 3,8	4,51 ± 1,76	0,591
LH (IU/L)	4,59 ± 2,77	4,57 ± 2,02	0,963
Testosterone	17,17 ± 7,42	17,77 ± 6,38	0,627
Thể tích tinh hoàn (ml)	17,59 ± 3,01	18,28 ± 2,14	0,148

3.3.2. Các yếu tố của người vợ ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm

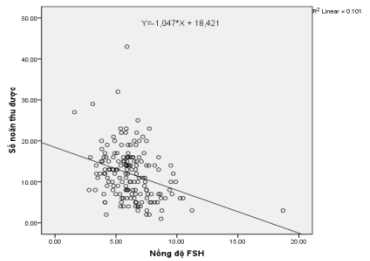
3.3.2.1. Các yếu tố của người vợ liên quan đến số noãn thu được sau chọc hút



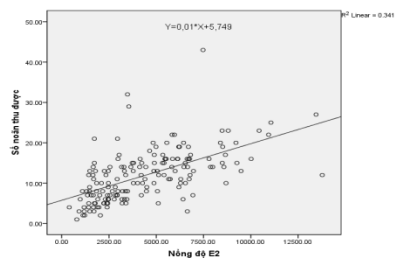
Biểu đồ 3.9. Mối tương quan giữa nồng độ AMH và số noãn



Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa AFC và số noãn



Biểu đồ 3.11. Mối tương quan giữa nồng độ FSH và số noãn



Biểu đồ 3.12. Mối tương quan giữa nồng độ E2 và số noãn

3.3.2.2. Các yếu tố của người vợ liên quan đến tỷ lệ có thai lâm sàng.

Bảng 3.22. Các yếu tố người vợ ảnh hưởng kết quả có thai

Yếu tố	Có thai n = 86	Không có thai n = 54	p
Tuổi (năm)	28,1 ± 4,22	28,9 ± 5,7	0,321
Thời gian vô sinh	3,95 ± 3,08	4,78 ± 4,71	0,213
Niêm mạc tử cung	11,49 ± 2,2	11,27 ± 2,05	0,568
Số noãn chọc hút	11,2 ± 4,63	9,31 ± 5,04	0,025
Số phôi thu được	7,52 ± 3,95	5,72 ± 3,77	0,009
Số phôi chuyển	3,15 ± 0,52	2,89 ± 0,92	0,034
Tỷ lệ thụ tinh	83,7% ± 16,1%	81,9% ± 21,7%	0,586

Bảng 3.31. Phân tích đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng.

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ thai lâm sàng	OR	95%CI	p
Tuổi vợ ≤ 35 tuổi >35 tuổi	79 (62,7%) 7 (50,0%)	0,595	0,196 - 1,802	0,259
Thời gian vô sinh ≤ 10 năm > 10 năm	83 (63,8%) 3 (30,0%)	0,246	0,06 - 0,983	< 0,05
Hình ảnh NMTC Ba lá Không ba lá	80 (71,4%) 6 (21,4%)	0,109	0,04 – 0,289	< 0,001
Độ dày NMTC 8 – 14mm Khác	76 (61,3%) 10 (62,5%)	1,053	0,359 – 3,083	0,577
Số lượng phôi chuyển < 3 phôi ≥ 3 phôi	4 (23,5%) 82 (66,7%)	6,5	1,994 – 21,189	< 0,001
Chất lượng phôi chuyển < 2 phôi tốt ≥ 2 phôi tốt	22 (38,6%) 64 (77,1%)	5,359	2,559 – 11,224	< 0,0001
Điểm chuyển phôi ≤ 4 điểm 5 – 6 điểm	14 (38,9%) 72 (69,2%)	0,283	0,128 – 0,623	0,01

Bảng 3.32. Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ có thai (%)	OR hiệu chỉnh	95% CI	p
Thời gian vô sinh ≤ 10 năm > 10 năm	83 (63,8%) 3 (30,0%)	0,394	0,073 – 2,145	0,283
Hình ảnh NMTC Ba lá Không ba lá	80 (71,4%) 6 (21,4%)	0,108	0,037 – 0,318	< 0,001
Số lượng phôi chuyển < 3 phôi ≥ 3 phôi	4 (23,5%) 82 (66,7%)	1,840	0,434 – 7,809	0,408
Chất lượng phôi chuyển < 2 phôi tốt ≥ 2 phôi tốt	22 (38,6%) 64 (77,1%)	3,342	1,333 – 8,376	< 0,01
Điểm chuyển phôi ≤ 4 điểm 5 – 6 điểm	14 (38,9%) 72 (69,2%)	0,520	0,190 – 1,422	0,203

3.3.2.3. Các yếu tố liên quan đến tỷ lệ trẻ sinh sống.

Bảng 3.33. Phân tích đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống.

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ trẻ sinh sống (%)	OR hiệu chỉnh	95% CI	p
Tuổi vợ ≤ 35 tuổi >35 tuổi	65 (51,6%) 6 (42,9%)	0,976	0,56 - 1,701	0,931
Thời gian VS ≤ 10 năm > 10 năm	68 (52,3%) 3 (30,0%)	0,391	0,097 - 1,578	0,187
Hình ảnh NMTC Ba lá Không ba lá	67 (59,8%) 4 (14,3%)	0,109	0,04 – 0,289	< 0,001
Độ dày NMTC 8 – 14mm Khác	63 (50,8%) 8 (50,0%)	0,968	0,342 – 2,743	0,952
Số lượng phôi chuyển < 3 phôi ≥ 3 phôi	3 (17,6%) 68 (55,3%)	5,77	1,578 – 21,099	<0,01
Chất lượng phôi chuyển < 2 phôi tốt ≥ 2 phôi tốt	17 (29,8%) 54 (65,1%)	4,381	2,122 – 9,046	<0,0001
Điểm CP ≤ 4 điểm 5 – 6 điểm	10 (27,8%) 61 (58,7%)	0,271	0,119 – 0,62	<0,01

Bảng 3.34. Phân tích đa biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống.

Các chỉ tiêu	Tỷ lệ trẻ sinh sống (%)	OR hiệu chỉnh	95% CI	p
Hình ảnh NMTC Ba lá Không ba lá	67 (59,8%) 4 (14,3%)	0,122	0,038 – 0,395	< 0,001
Số lượng phôi chuyển < 3 phôi ≥ 3 phôi	3 (17,6%) 68 (55,3%)	1,904	0,425 – 8,536	0,4
Chất lượng phôi chuyển < 2 phôi tốt ≥ 2 phôi tốt	17 (29,8%) 54 (65,1%)	2,731	1,146– 6,508	< 0,05
Điểm chuyển phôi ≤ 4 điểm 5 – 6 điểm	10 (27,8%) 61 (58,7%)	0,477	0,177 – 1,283	0,143

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

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

Với thiết kế nghiên cứu là mô tả cắt ngang và tiến hành nghiên cứu tiền cứu, dựa vào công thức tính cỡ mẫu phù hợp trong nghiên cứu này cỡ mẫu tối thiểu là 140 bệnh nhân, chúng tôi đã chọn được 197 bệnh nhân được theo dõi dọc đến khi sinh em bé. Đối với những trường hợp đông lạnh tinh trùng chọc hút từ mào tinh đây là cỡ mẫu lớn đủ đại diện cho một quần thể nghiên cứu, thực hiện tại một trong những trung tâm hỗ trợ sinh sản lớn và uy tín nhất trong cả nước làm cho sai số trong nghiên cứu giảm đi và kết quả nghiên cứu chính xác hơn, hiện tại chưa có một nghiên cứu nào trong cả nước có cỡ mẫu lớn và theo dõi bệnh nhân đến khi sinh em bé như nghiên cứu của chúng tôi.

4.2. Bàn luận về đặc điểm của cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

4.2.1. Đặc điểm của người chồng

Người chồng trong nghiên cứu có độ tuổi trung bình, thể tích tinh hoàn trung bình và các chỉ số xét nghiệm nội tiết đều trong ngưỡng của nhóm

chọc hút có tinh trùng ở các nghiên cứu của các tác giả như Hồ Sỹ Hùng (2014), Trịnh Thế Sơn (2013).

4.2.2. Bàn luận về đặc điểm của người vợ điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI có sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh

Nhìn chung các chỉ số đánh giá dự trữ buồng trứng đều trong giới hạn bình thường chứng tỏ đáp ứng buồng trứng tốt. So sánh các yếu tố tiên lượng về đáp ứng buồng trứng ở ba phác đồ KTBT cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ FSH, Estradiol, Prolactin giữa các nhóm bệnh nhân. Tuy nhiên có sự khác biệt về nồng độ LH giữa nhóm dùng phác đồ ngắn với nhóm dùng phác đồ dài.

4.3. Bàn luận về hiệu quả của tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn.

4.3.1. Bàn luận về ảnh hưởng của phương pháp trữ lạnh đến tinh trùng chọc hút từ mào tinh

4.3.1.1. Hiệu quả của tinh trùng sau rã đông

Trong nghiên cứu của chúng tôi 197 mẫu sau rã đông có 166 mẫu đủ dùng cho kỹ thuật ICSI chiếm tỷ lệ 84%, 23 mẫu rã không đủ dùng cho ICSI phải tiến hành chọc hút lại mào tinh chiếm tỷ lệ 12%, có 8 mẫu sau rã bị chết toàn bộ cũng phải chọc hút lại mào tinh lấy tinh trùng tươi làm ICSI chiếm tỷ lệ 4%. Tương tự như nghiên cứu của Vũ Đình Tuấn và cs (2014), trên 17 mẫu tinh trùng đông lạnh từ phẫu thuật thì sau rã 15 mẫu đủ dùng cho ICSI chiếm tỷ lệ 88,2%, 1 mẫu không đủ dùng, 1 mẫu tinh trùng chết chiếm 11,8% [128].

4.3.1.2. Mối liên quan giữa mật độ tinh trùng trước đông với khả năng sử dụng sau đông

Theo bảng 3.7 cho thấy nếu mật độ tinh trùng trước trữ càng nhiều thì khả năng tinh trùng sau rã đủ để làm ICSI càng cao. Có mối liên quan chặt chẽ giữa số lượng tinh trùng trước đông với tình trạng tinh trùng sau rã với $p < 0,001$. Vì đây là mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh nên mật độ và độ di động rất ít, hơn nữa chúng tôi thường chọc hút tối thiểu khi có tinh trùng di động là dùng lại không cố lấy thêm mẫu để hạn chế tối đa can thiệp vào mào tinh của bệnh nhân, chính vì vậy mẫu sau khi rã đông rất ít và quý giá chúng tôi chỉ đánh giá sơ bộ xem có đủ để làm ICSI với noãn của bệnh nhân hay phải chọc lại mà không lấy để đọc chính xác mật độ, độ di động sau rã.

4.3.1.3. *Mối liên quan giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước đông và khả năng sử dụng sau rã.*

Bảng 3.8 cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước đông với tình trạng tinh trùng sau rã với $p < 0,001$. Tương tự như nghiên cứu của Lê Ngọc Dung (2017) thấy sau rã đông, tỷ lệ di động và tỷ lệ di động tiến tới đều thấp hơn đáng kể so với trước bảo quản, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, đặc biệt ở những mẫu tinh trùng được lọc rửa bằng thang nồng độ, tỷ lệ di động giảm rõ rệt, nhất là tỷ lệ di động tiến tới, giảm gần 10 lần, từ 39,8% xuống còn 4,9%

4.3.1.4. *Ngưỡng mật độ và tỷ lệ di động tinh trùng trước đông tiên đoán khả năng tinh trùng chết toàn bộ sau khi rã đông*

Theo biểu đồ 3.6 và 3.7 thì diện tích đường cong ROC của mật độ tinh trùng trước trữ bằng $0,895 \pm 0,046$; CI = 0,804 – 0,985 với độ tin cậy 95%, của tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ bằng $0,894 \pm 0,052$; CI = 0,792 – 0,995 với độ tin cậy 95%. Như vậy mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động trước đông rất có giá trị để tiên đoán kết quả tinh trùng chết toàn bộ sau rã đông. Với ngưỡng mật độ tinh trùng dưới 650 ngàn/ml tiên lượng sau rã mẫu tinh trùng sẽ chết toàn bộ với độ nhạy là 87,8% và độ đặc hiệu là 87,5%. Còn với ngưỡng tỷ lệ tinh trùng di động trước đông dưới 9% thì tiên lượng mẫu sau rã chết toàn bộ với độ nhạy là 86,2% và độ đặc hiệu là 87,5%

4.3.2. *Bàn luận về hiệu quả kích thích buồng trứng*

Bảng 3.10 so sánh số noãn trung bình trong từng phác đồ KTBT chúng tôi thấy số noãn trung bình trong nhóm phác đồ ngắn ít hơn phác đồ dài và phác đồ đối vận có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Số noãn trung bình của nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$

4.3.3. *Bàn luận về hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn.*

4.3.3.1. *Tỷ lệ thai lâm sàng của phương pháp PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh.*

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 166 trường hợp rã đông đủ tinh trùng thực hiện kỹ thuật ICSI, 140 ca chuyển phôi tươi và 26 ca phải đông phôi toàn bộ. Nếu tính tỷ lệ có thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi thì

86 ca có thai lâm sàng chiếm tỷ lệ 61,4% trên số chu kỳ chuyển phôi. Kết quả của chúng tôi tương tự hoặc cao hơn các nghiên cứu của tác giả khác trong nước và trên Thế giới (Bảng 4.2).

4.3.3.2. Tỷ lệ có thai cộng dồn sau chuyển phôi tươi và phôi trữ lạnh.

Theo bảng 3.13 tỷ lệ thai lâm sàng sau chuyển phôi tươi đạt 51,8% trên số chu kỳ KTBT, tỷ lệ thai lâm sàng sau chuyển phôi trữ đạt 63,6%. Tỷ lệ thai lâm sàng cộng dồn sau chuyển phôi tươi và phôi trữ lạnh là 72,9% trên số chu kỳ KTBT. Trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ theo dõi được một chu kỳ KTBT vì mẫu tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh có chất lượng rất kém chỉ đủ rã đông một lần để làm ICSI, bệnh nhân được theo dõi tiếp một chu kỳ chuyển phôi đông lạnh để đánh giá kết quả

4.3.3.3. So sánh kết quả ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh và tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh

Theo kết quả bảng 3.14 cho thấy hai nhóm tương đồng với nhau về số noãn trung bình, số phôi trung bình, số phôi tốt trung bình và số phôi chuyển trung bình khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ ở nhóm tinh trùng đông lạnh có xu hướng cao hơn so với nhóm tinh trùng tươi ($82,3 \pm 18,1\%$, $61,4\%$, $31,1\%$, và $80,24 \pm 17,47\%$, $59,3\%$, $24,7\%$) tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.3.4. Kết quả khi sinh của nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh

Chúng tôi tiến hành theo dõi dọc bệnh nhân từ khi bắt đầu điều trị và trong suốt thời gian thai nghén đến khi sinh em bé. Kết thúc nghiên cứu tỷ lệ sinh sống đạt 82,6% (71/82), tương tự nghiên cứu của Ng.T.Mỹ Dung (2011) là 83,79% và U-B.Wennerholm (2000) là 76,8% [178],[179]. Nếu tính trên 140 bệnh nhân được chuyển phôi tươi thì tỷ lệ thai sinh sống là 50,7%, cao hơn so với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013) là 25,6% và Nicopoulllos (2004) là 18,4%. Đa số các nghiên cứu trước đó chỉ dừng lại ở kết quả có thai lâm sàng, rất ít nghiên cứu đi đến kết quả thai sinh sống vì vậy trên thực tế rất khó so sánh tỷ lệ đẻ thai sống giữa các nghiên cứu vì phụ thuộc vào thời gian kéo dài nghiên cứu. Với tỷ lệ sinh sống là 50,7% trên số chu kỳ chuyển phôi tươi, đây là kết quả mong đợi và giá trị nhất để đánh giá hiệu quả của chương

trình TTTON nói chung và TTTON với tình trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh nói riêng.

4.4. Bàn luận về một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của TTTON sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

4.4.1. Môi liên quan giữa yếu tố người chồng đến kết quả TTTON

4.4.1.1. Yếu tố người chồng liên quan đến tỷ lệ có thai

Nhìn chung tỷ lệ có thai ít phụ thuộc vào đặc điểm của người chồng như tuổi, nồng độ hormone hoặc thậm chí chất lượng mẫu tinh trùng. Bảng 3.17. cho thấy không có sự khác biệt về độ tuổi trung bình của chồng, nồng độ FSH, nồng độ LH, nồng độ testosterone cũng như thể tích tinh hoàn giữa hai nhóm có thai và không có thai với $p > 0,05$

4.4.1.2. Liên quan giữa mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ, thời gian trữ và tỷ lệ thụ tinh.

Bảng 3.18 nhóm có mật độ tinh trùng trước đông trên 5 triệu đạt tỷ lệ thụ tinh trên 70% là cao nhất (82,1%). Bảng 3.19. cho thấy tỷ lệ tinh trùng di động trước đông trên 30% thì tỷ lệ thụ tinh $> 70\%$ đạt cao nhất là 81,8%, không thấy sự khác biệt giữa mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ, thời gian trữ và tỷ lệ thụ tinh $> 70\%$ với $p > 0,05$.

4.4.2. Các yếu tố của người vợ ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.

4.4.2.1. Các yếu tố của người vợ liên quan đến số nang noãn chọc hút

Đánh giá dự trữ buồng trứng trước khi KTBT trong TTTON có vai trò rất quan trọng để chọn được phác đồ KTBT phù hợp. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả ba giá trị AMH, FSH và E2 đều có mối tương quan với số noãn thu được sau chọc hút trong đó AMH và E2 là liên quan đồng biến còn FSH là liên quan nghịch biến, nghĩa là nồng độ AMH và E2 càng cao thì số noãn thu được càng nhiều và ngược lại, nồng độ FSH càng cao thì số noãn thu được càng ít.

4.4.2.2. Ảnh hưởng của số noãn chọc hút và số phôi thu được đến kết quả có thai lâm sàng.

Nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa số noãn chọc hút và số phôi thu được với tỷ lệ có thai lâm sàng. Theo bảng 3.22 số noãn chọc hút được và số phôi thu ở nhóm có thai là $11,2 \pm 4,63$ và $7,52 \pm 3,95$ cao hơn ở nhóm

không có thai là $9,31 \pm 5,04$ và $5,72 \pm 3,77$ với $p < 0,05$. Như vậy số noãn thu được càng cao, số phôi càng nhiều thì càng có cơ hội lựa chọn được những phôi tốt để chuyển cho bệnh nhân, góp phần làm tăng cơ hội có thai cho nhóm bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọn hút từ mào tinh.

4.4.2.3. Liên quan giữa số lượng và chất lượng phôi chuyển với tỷ lệ có thai lâm sàng.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra rằng có mối liên quan giữa số lượng phôi chuyển và kết quả có thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Chất lượng phôi chuyển càng tốt thì tỷ lệ có thai càng cao. Bảng 3.28 khi so sánh giữa nhóm chuyển 1 phôi tốt với nhóm không có phôi tốt nào tỷ lệ có thai cao gấp 1,81 lần với $OR = 1,81$; $CI (0,60 - 5,44)$. Khi so sánh nhóm chuyển ít nhất 2 phôi tốt với nhóm chỉ có 1 phôi tốt thì tỷ lệ có thai là 77,1% so với 46,7% với $OR = 4,4$; $CI (1,8 - 10,6)$.

4.4.2.4. Ảnh hưởng của niêm mạc tử cung đến kết quả có thai lâm sàng

Bảng 3.26 cho thấy độ dày NMTC trung bình ở nhóm có thai là $11,49 \pm 2,2$ mm, ở nhóm không có thai là $11,27 \pm 2,05$ mm, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,568$. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết luận của của tác giả V.M. Ngọc (2012) không thấy sự khác biệt giữa hai nhóm có và không có thai với $p > 0,05$.

Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy tỷ lệ có thai ở nhóm NMTC ba lá là 71,4%, nhóm NMTC không ba lá là 21,4%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết luận này tương tự nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014), Zhao và cộng sự (2012) [139],[187].

Như vậy độ dày NMTC càng cao thì tỷ lệ thai lâm sàng có xu hướng tăng tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa, NMTC ba lá vào ngày cho HCG có giá trị tiên lượng tốt cho kết quả có thai trong TTTON với tinh trùng đông lạnh từ mào tinh.

4.4.2.6. Hồi quy đơn biến và đa biến ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ sinh sống

Bảng 3.31 và bảng 3.34 phân tích các yếu tố đơn biến ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống cho thấy thời gian vô sinh càng lâu thì tỷ lệ có thai càng giảm, tỷ lệ trẻ sinh sống cũng giảm đặc biệt khi thời gian vô sinh

hơn 10 năm và tỷ lệ có thai giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Với các yếu tố trong thời điểm chuyển phôi có thể thấy hình ảnh NMTC ba lá là điều kiện rất thuận lợi cho phôi làm tổ và phát triển, trong khi độ dày NMTC quá dày và quá mỏng cũng làm giảm tỷ lệ có thai, giảm tỷ lệ sinh sống nhưng không có ý nghĩa thống kê. Chất lượng phôi tốt, số lượng phôi chuyển nhiều và điểm chuyển phôi cao là những yếu tố quan trọng làm tăng khả năng có thai cũng như trẻ sinh sống ở những chu kỳ chuyển phôi sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh.

Chúng tôi tổng hợp và phân tích đa biến các yếu tố để đánh giá mức độ tác động tổng hợp của các yếu tố lên tỷ lệ có thai và tỷ lệ sinh sống. Trong đó, yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất lên kết quả của chuyển phôi là chất lượng phôi chuyển và hình ảnh NMTC vào ngày tiêm hCG. Kết quả của chúng tôi tương tự như tác giả P. Kovacs Sz. Matyas K. Boda S.G.Kaali (2003) nghiên cứu trên cỡ mẫu 1228 chu kỳ IVF/ICSI khi phân tích hồi qui đa biến nhận thấy tuổi, chất lượng phôi, độ dày NMTC, phác đồ điều trị ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến kết quả có thai lâm sàng. Việc sử dụng tinh trùng chọc hút từ mào tinh đông lạnh – rã đông thường được lựa chọn nhờ vào các ưu điểm như: giảm tổn thương, giảm chi phí và áp lực tâm lý cho bệnh nhân, chủ động trong điều trị. Tuy nhiên, nhiều người vẫn còn e ngại về tính hiệu quả của quy trình trữ lạnh. Do đó, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm đánh giá hiệu quả của quy trình này. Nói chung, các số liệu cho đến hiện nay trên y văn đều cho thấy không có sự khác biệt về hiệu quả điều trị giữa sử dụng tinh trùng tươi hay tinh trùng sau rã đông cho những trường hợp tinh trùng chọc hút từ mào tinh. Tỷ lệ thai lâm sàng từ báo cáo của chúng tôi là tương đương hoặc cao hơn đa số các báo cáo trên y văn thế giới. Điều này cho thấy hiệu quả của quy trình đông lạnh tinh trùng từ mào tinh của chúng tôi xây dựng trong điều kiện Việt Nam có thể tương đương với các quy trình hiện nay trên thế giới.

Hiện nay, một số cơ sở y tế thực hiện thủ thuật PESA chẩn đoán không có điều kiện hoặc không áp dụng đông lạnh để lưu trữ tinh trùng ngay là lãng phí và có thể tạo nguy cơ không đáng có cho bệnh nhân khi phải làm thủ thuật lại ở lần điều trị sau đó. Với sự phát triển của kỹ thuật TTTON trong nước, các bệnh nhân vô tinh đã có nhiều cơ hội tiếp cận các kỹ thuật hiện đại, khả năng có được con bằng phương pháp TTTON cũng trở nên dễ dàng hơn.

Kỹ thuật ICSI sử dụng tinh trùng thu nhận từ mào tinh đã được triển khai thành công tại Việt Nam từ năm 2002. Mặc dù mang đến nhiều cơ hội làm cha cho các bệnh nhân vô tinh, kỹ thuật thu nhận tinh trùng từ phẫu thuật vẫn tồn tại nhiều nguy cơ và bất lợi cho bệnh nhân nếu phải lặp lại quy trình nhiều lần. Do đó, kỹ thuật ICSI với tinh trùng đông lạnh chọn lọc từ mào tinh ngày càng có vai trò quan trọng trong việc nâng cao chất lượng và hiệu quả điều trị trong lĩnh vực y tế nói chung và ngành thụ tinh trong ống nghiệm nói riêng.

KẾT LUẬN

1. Hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh sau thu nhận từ PESA vào bào tương noãn

- Về hiệu quả của phương pháp

- Đây là phương pháp có hiệu quả trong thụ tinh trong ống nghiệm:

Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ có thai lâm sàng trên số chu kỳ KTBT và trên số chu kỳ chuyển phôi lần lượt là 82,3%; 31,1%; 51,8% và 61,4%.

- Kết thúc nghiên cứu có 71 trường hợp sinh sống với 102 em bé 55 bé trai và 47 bé gái.

- + Tuổi thai trung bình là $36,8 \pm 2,41$ tuần.

- + Tỷ lệ sinh đôi là 43,7% (31/71), sinh 1 thai là 56,3% (40/71).

- + Cân nặng trung bình là $2660,3 \pm 698,1$ gram.

- + Không có trường hợp nào dị tật bẩm sinh.

- Về đặc điểm tinh trùng PESA sau rã đông cho kỹ thuật ICSI

- 84% trường hợp tinh trùng sau rã đông đủ để thực hiện kỹ thuật ICSI, chỉ 12% trường hợp phải PESA thêm và 4% phải PESA lại.

- Có mối liên quan giữa mật độ và tỷ lệ tinh trùng di động trước đông với khả năng sử dụng sau rã đông ($p < 0,001$).

- Có thể tiên đoán được khả năng tinh trùng chết toàn bộ sau rã đông dựa vào mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động trước đông.

- + Mật độ tinh trùng dưới 0,650 triệu/ml tiên đoán khả năng tinh trùng chết toàn bộ sau rã với độ nhạy 87,8% và độ đặc hiệu 87,5%.

- + Tỷ lệ tinh trùng di động dưới 9% tiên đoán khả năng tinh trùng sau rã chết toàn bộ với độ nhạy 86,2% và độ đặc hiệu 87,5%.

2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh sau thu nhận từ PESA vào bào tương noãn.

- Tuổi, nồng độ FSH, LH, nồng độ testosterone và thể tích tinh hoàn của người chồng không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng.
- Mật độ, tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ, thời gian trữ lạnh không ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh của noãn.
- Nồng độ AMH, FSH, E2 có mối tương quan đến số noãn thu được sau chọc hút.
- Số lượng, chất lượng phôi chuyển, hình thái niêm mạc tử cung và điểm chuyển phôi là những yếu tố đơn biến ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống.
- Phân tích hồi quy đa biến cho thấy hình thái niêm mạc tử cung và chất lượng phôi chuyển là hai yếu tố ảnh hưởng mạnh đến kết quả thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống.

KHUYẾN NGHỊ

Qua kết quả nghiên cứu thu được chúng tôi có các khuyến nghị sau:

1. Các trung tâm hỗ trợ sinh sản nên trữ đông thường qui mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh giúp chủ động điều trị, giảm chi phí, giảm stress, giảm đau đớn và hạn chế số lần chọc hút mào tinh.
2. Các trường hợp mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh có mật độ dưới 650 nghìn/ml; độ di động dưới 9% không nên trữ đông vì khả năng tinh trùng sau rã chết toàn bộ rất cao.
3. Các trường hợp điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh mà niêm mạc tử cung không thuận lợi vào ngày chọc hút noãn nên cân nhắc đông phôi toàn bộ để chuyển vào chu kỳ sau.

HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

1. Thực hiện nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và so sánh giữa tinh trùng tươi và tinh trùng trữ lạnh chọc hút từ mào tinh.
2. Thực hiện nghiên cứu hiệu quả của tiêm tinh trùng vào bào tương noãn sử dụng tinh trùng tươi và đông lạnh sinh thiết từ tinh hoàn.

BACKGROUND

Injection of frozen sperm from epididymis into intracytoplasmic is wide opened in centers of assisted reproduction all over the world. This method helps infertile couple which husband hasn't sperm. It helps reduce treatment cost, reduce risk of teste damage and epididymis damage. It reduces the depression on patient and health worker. There are a lot of international researches which prove that there's no different of successful rate between fresh sperm and frozen sperm which is withdrew from epididymis. Almost of theme has small sample size, which isn't a longitudinal study up to the end of pregnancy and doesn't give out the evaluation of factors of pregnancy rate. In Vietnam, this method is already used in large centers. Consequently, we conduct the research: "Evaluate the effectiveness of man fertility treatment by intracytoplasmic sperm injection after PESA in national hospital of obstetrics and gynecology" with targets:

1. *Evaluate the effectiveness of intracytoplasmic sperm injection procedure after PESA in national hospital of obstetrics and gynecology*
2. *Analyze some factors affected the effectiveness of this procedure.*

SIGNIFICATION OF THESIS

4. This thesis gives the successful rate of using frozen sperm from PESA to inject into cytoplasm by cycles of ovarian trigger and cycles of embryo transfer. Identify the cut-off point of density and motility of sperm before frozen and risk of totally death after unfrozen.
5. For the first time this thesis research and follow patient from examination, epididymal aspiration, sperm freezing and up to final stage of infertility treatment when the baby was born.
6. To summarize in detail all the factors and multi-variants which affect the result of ICSI procedure after PESA.

THESIS OUTLINE

Thesis consists of 142 pages, 4 chapters, 34 tables, 12 charts, 194 references (44 in Vietnamese and 150 in foreign language).

Situation : 2 pages; chapter 1- Introduction: 36 pages; chapter 2- Design of study: 17 pages; chapter 3- Results: 33 pages; chapter 4- Discussion: 52 pages. Conclusion: 2 page; Proposal 1 page; List of relevant publics; List of references; Appendix.

CHAPTER I: ACKNOWLEDGEMENT

1.8. Definition of infertility:

1.8.1. Classification of infertility:

1.8.2. Infertile situation in Viet Nam and other countries:

1.9. Male genital organ:

1.9.1. Characteristics:

This organ has two testicles in scrotum, vas deferens, glands of sperm tube and penis. Glands belongs to sperm tube include: seminal vesical, prostate, bulbourethral glands and urethra glands. Theses glands excrete secretion which mingling with sperm cells to create semen.

1.9.2. Production of sperm cell:

Production of sperm cell is a chain of compicated procedure result in creation of mature sperm which can be fertiled with egg. Sperm is a small cell in human body. This is a highly diffirentiated cell to contain genetic information of father, which can be move in female genital tract, regconize and fertilize with ovule.

Sperm was created in the seminiferous tubules of testicle by mitosis for increasing number and meiosis to make haploid. After its creation, sperm move into epididymis and develop until ejaculation.

1.9.3. Regulation of male endocrine activity

1.10. Aspermia in semen

Aspermia is no sperm found in semen after ejaculation and centrifugal 3000 rpm, reverse ejaculation non included. And this test has to be done 2 times in 3-5 days.

1.10.1. *Non- obstructive azoospermia.*

1.10.1.1.

iseases of pituitary and hypothalamus:

- *Syndrome Kallmann*
- *Syndrome Prader-Willi*
- *Simple lack of FSH*
- *Syndrome Laurence Moon Bandet Biedl*
- *Increased serum prolactin.*

1.10.1.2.

enetic disorders:

- *Syndrome Klinefelter*
- *Syndrome XYY*
- *Disorder of XX*
- *Syndrome Noonan*

1.10.1.3.

isease of testicle:

- *Ectopic testicle*
- *Genital atresia of testicle*
- *Testicle inflammation*
- *Varicose veins of the spermatic cord*

D

G

D

1.10.2. **Obstructive azoospermia.**

1.10.2.1.

Obstruction intra testicle

- Hypercurvature syndrome
- Rete testis obstruction

1.10.2.2.

Obstructive epididymis

- Atresia partial of epididymis
- Inflamed epididymis
- Injury
- Stuck between efferent ductules and epididymal duct
- Syndrome Young.

1.10.2.3.

Obstruction in vas deferens

- Atresia bilateral
- Cystic fibrosis
- Inflammation

1.10.2.4.

Obstruction of ejection tubes

1.10.3. **Technic to obtain sperm in case of aspermia:**

- Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration-MESA
- **Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration-PESA**
- Testicular Fine Needle Aspiration-TEFNA
- Testicular Sperm Extraction - TESE

1.11.

Freezing technic in assisted procreation:

1.11.1. **Affect of freezing cycle to sperm**

Damage of sperm in the procedure of freezing is consequence of forming icy crystal intra and extra cellular. This phenomena is occurred when decrease the temperature which create a condition of shock. This damage is not only in the procedure of freezing but also thawing stage. Obviously, sperm freezing helps preserve the ability of procreation in patient with oligo- spermia, dysmorphic spermia. It also improve the number of sperm motility and the pregnant rate. Sperm freezing in cooperation with invitro fertilization make a ideal method for male- infertility treatment.

1.11.2. **Freezing procedure of sperm sample from operation.**

Despite of bringing a chance to become father for the patient, the repetitions of this procedure has some disadvantages:

- Create psychological pressure on patients
- Causing damage to testicles: disrupt the structure of testicle, making

testicle atrophy without recovering, damage to the spermatogenesis especially loss the endocrine function testicle.

- Increase treatment cost.
- Increased risk of complications (scrotal hematoma)

Especially with patient who have non-obstructive aspermia, sometimes it's impossible to find sperm by TESE on the day of ovule aspiration despite of having sperm positive in result of anatomy-pathology. While the procedure of ovule trigger is already begun, freezing of sperm helps ensure that sperm is available for ICSI on the day of ovule. Therefore, some studies freeze the sperm has conducted right after that. Base on international studies, there are no difference between conception rate between the thaw sperm and fresh sperm or sperm from epididymis. Process of sperm freezing is a little different in IVF- centers but it bases on the same principle: Percutaneous epididymal sperm aspiration. The sample of sperm acquired will be evaluated by objective 10 reversal microscope:

- 1+: 1 - 3 alive sperms on 1 field.
- 2+: 4 - 10 alive sperms on 1 field.
- 3+: > 10 alive sperms on 1 field

The patient with the sperm sample 3+ will be suggested to process of sperm freezing.

1.12. Process of PESA/ICSI with frozen- thawed sperm:

1.12.1. Ovulation stimulation

1.12.2. Ovule aspiration and ovule preparation

1.12.3. Thaw the frozen sperm from PESA for preparation

1.12.4. Intracytoplasmic sperm injection

1.13. Some factors affecting the result of PESA/ICSI using frozen sperm

1.13.1. Factors from the husband

- The position of sperm aspiration.
- Cause of infertility.
- Age of the husband.
- Density, sperm motility rate before storage and freezing time.

1.13.2. Factors from the wife.

- Cause of infertility
- Infertility time
- Age and endocrine tests.
- Numbers and quality of transferred embryo
- Thickness and uterine mucosa morphology
- Embryo transfer technic.

1.14. Research on IVF with sperm acquired after PESA

CHAPTER 2: MATERIALS AND METHODS

2.1. Place of study: National assisted reproductive center – national Hospital of Obstetrics and Gynecology.

2.2. Time of study: 1/2014 – 9/2017

2.3. Subjects

* Inclusion criteria:

Infertile couples were diagnosed with azoospermia. The clinical testing suggested a diagnosis of obstructive azoospermia. There were 10 motile sperm in a microscopic field

- female partner age ≤ 40 years old.

- Consent to take part in study

* Exclusion criteria:

- female partner

- + Poor ovarian response.

- + uterine fibroids, polyps, uterine adhesions...

- + ovarian disorder: Hyperprolactinemia.

- Male partner:

- + retrograde ejaculation.

- + sperm receiver

- Internal medical diseases, infectious diseases, STDs, HIV/AIDS, genetic diseases

2.4. Methods

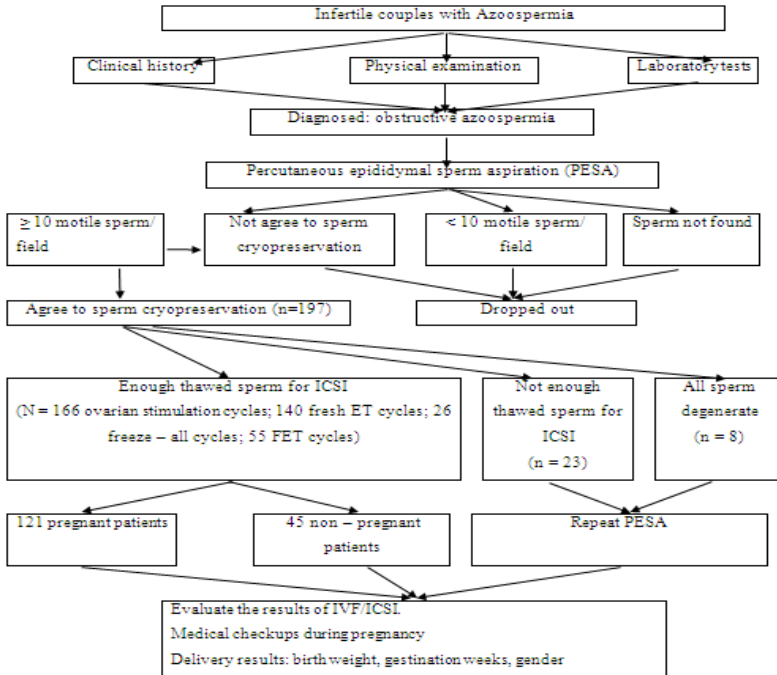
2.4.1. Design of study: a prospective, descriptive study

2.4.2. Sample size:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{P(1-P)}{(p\varepsilon)^2}$$

According to Truong T.Thanh Binh's study (2012), the clinical pregnancy rate in the frozen epididymal sperm group was 48.6%. This study selected $\varepsilon = 0.17$. We calculated the sample size was 140. In fact, the study included 197 couples.

2.4.3. Study diagram



2.5. Study process

- Evaluated the percentage of motile and total number of sperm on a Makler Chamber. Cryopreserved sperm: Mixed the semen sample well with the density gradient medium in a test-tube by layering 0.5 ml of 45% density gradient medium over 0.5 ml of 90% density gradient medium. Centrifuged at 1500xg for 15 minutes. Removed most of the supernatant from the sperm pellet. Added 1 ml of IVF solution. Centrifuged at 1500 rpm for 5 minutes. Removed supernatant and gently diluted 0.3ml of sperm pellet with a small amount of sperm freezing medium until reaching a ratio of 1:0.7 at room temperature in 5 minutes. The freezing process was performed by a pre-set thermostat 5.

- Thawing process: The sample then dissolves to produce a small Petri dish and under the microscope p reverses the 10 objective object to evaluate the sperm after decaying. If there are more than 2 sperm in a microbe, the filtered sample is washed back to remove preservatives before making ICSI. If there are less than 2 sperm in a

field, the sample should only be washed with 1ml IVF medium, centrifuged 1500 rpm for 5 minutes. Suction the residue at the bottom of the tube to make ICSI. The sediment after washing is re-examined under reverse KHV, if the immobile sperm is completely carried out, Swim out on the Petri plate 60. Put 5-10 μ l of sperm residue between the IVF environmental columns, cover the oil with 5% CO₂ incubator with temperature of 37°C is about 30 minutes. If it is reversed under KHV if there is no live sperm swimming on the edge of the droplet, or the number of spermatozoa is less than the number of eggs sucked by the patient, it is necessary to re-attract the spermatozoa to get fresh sperm to perform ICSI.

■ IVF/ICSI

2.6. Main variables

- Male partner variables: age, hormonal levels, sperm count and motility before cryopreservation, cryopreservation time
- female partner variables: age, duration of infertility, infertility types, hormonal levels, AFC, FSH starting dose, ovarian stimulation protocols, E2 level, endometrial thickness at the day of hCG
- IVF treatment variables : number of oocytes, number of fertilization oocytes, quality and quantity of ET, ET technique

2.7. data analysis: statistical analyses were performed by SPSS software version 16.0. charts were created by Excel version 2010.

2.8. Errors and noise factors control

2.9. Ethics of research

- The study outline has been adopted and approved by the scientific council
- The patient information is kept confidential

CHAPTER 3: RESULTS

3.1. Baseline characteristics of infertile couples undergoing PESA/ICSI used cryopreserved sperm

3.1.1. Baseline characteristics of male partners

Table 3.1. Baseline characteristics of male partners

Parameters	Mean $\pm$ SD	Min	Max
Age (years)	31,4 $\pm$ 5,6	21	55
Duration of infertility (years)	4,2 $\pm$ 3,7	1	20
Testicular volumes (ml)	17,65 $\pm$ 2,81	10	25
FSH (IU/L)	4,76 $\pm$ 2,89	1,09	33,87
LH (IU/L)	4,79 $\pm$ 2,76	1,19	16,43
Testosterone (nmol/L)	17,15 $\pm$ 7,44	1,8	41,76

3.1.2. Baseline characterist of female partners undergoing PESA/ICSI used cryopreserved sperm

Table 3.6. Ovarian reserve markers according to ovarian stimulation protocols

protocols parameters	Agonist protocol		Antagonist protocol n = 78 (c)	both n = 166	p
	Short protocol n = 30 (a)	Long protocol n = 58 (b)			
FSH (IU/L)	6,52 ± 2,83	6,21±1,83	6,11±1,55	6,22±1,93	p(a/b)=0,530 p(a/c)=0,208 p(b/c)=0,471
LH (IU/L)	4,49±2,26	5,14±1,92	5,18±2,96	5,04±2,51	p(a/b)=0,043 p(a/c)=0,132 p(b/c)=0,449
Estradiol (pmol/ L)	38,99±24,34	36,51±27,67	34,65±18,76	36,08±23,14	p(a/b)=0,727 p(a/c)=0,487 p(b/c)=0,848
Prolactin (mIU/l)	427,71±309,7	451,63±225,5	406,21±235,9	425,96±246,6	p(a/b)=0,634 p(a/c)=0,977 p(b/c)=0,559
AFC	7,97±3,79	10,22±3,22	11,60±4,70	10,46±4,26	p(a/b)=0,022 p(a/c)=0,000 p(b/c)=0,020
AMH	4,15±4,02	4,57±2,65	5,28±3,02	4,83±3,12	p(a/b)=0,693 p(a/c)=0,060 p(b/c)=0,060
Female partner age (years)	31,3±6,34	27,76±3,98	27,09±3,99	28,08±4,73	p(a/b)=0,001 p(a/c)=0,000 p(b/c)=0,326

3.2. The efficacy of PESA/ICSI using frozen sperm

3.2.1. The efficacy of frozen epididymal sperm

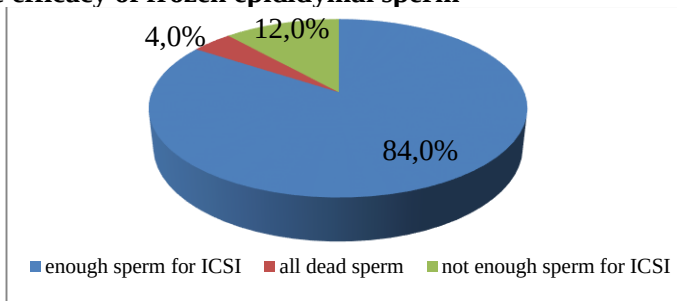


Chart 3.6. Pre-frozen sperm density threshold for indentifying possibility of sperm death after thawing

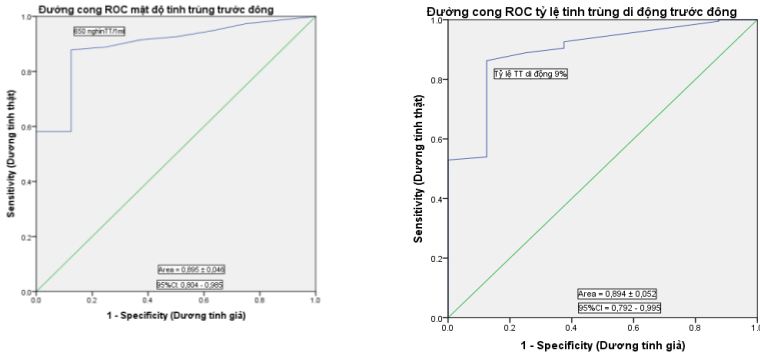


Chart 3.7. Pre-frozen sperm motility rate threshold for indentifying possibility of sperm death after thawing

3.2.2. The efficacy of ovarian stimulation

Table 3.10. Characteristics and outcomes of ovarian stimulation

Protocol/ Parameter	GnRH Agonist		GnRH Antagonist (n=78) (c)	Both n=166	P
	Short protocol (n=30) (a)	Long protocol (n=58) (b)			
Total dose of FSH (IU)	2092,5 ± 795,2	1742,7 ± 530,2	1588,1 ± 585,4	1733,3 ± 633,7	p(a/b)=0,037 p(a/c)=0,000 p(b/c)=0,071
Duration of FSH stimulation (days)	9,3 ± 1,1	9,9 ± 0,7	9,6 ± 0,7	9,6 ± 0,8	p(a/b)=0,000 p(a/c)=0,122 p(b/c)=0,004
No of oocytes	285	706	986	1977	
Mean of oocytes per cycle	9,5 ± 6,0	12,2 ± 4,9	12,6 ± 7,2	11,9 ± 6,3	p(a/b)=0,023 p(a/c)=0,015 p(b/c)= 0,409
Endometrial hickness (mm)	11,3 ± 2,1	11,9 ± 2,4	10,9 ± 1,7	11,3 ± 2,1	p(a/b)=0,151 p(a/c)=0,274 p(b/c)= 0,007

3.2.3. The efficacy of ICSI using cryopreserved sperm and embryo culture

Table 3.11. Outcomes of ICSI

Protocols Parameters	GnRH Agonist		GnRH Antagonist (n=78) (c)	Both (166)	P
	Short Protocol (n=30) (a)	Long protocol (n=58) (b)			
No of embryos	186	438	650	1274	
Mean of embryos per cycle	6,2 ± 3,75	7,53 ± 3,91	8,33 ± 5,76	7,67 ± 4,89	p(a/c)<0,05
Fertilization rate (%)	82,9 ± 18,7	82,8 ± 18,8	81,7 ± 17,5	82,3 ± 18,1	p > 0,05

Table 3.12. Outcomes of embryos transferred according to ovarian stimulation protocols

protocols parameters	GnRH Agonist		GnRH Antagonist (n=64)	Both (n=140)	P
	Short protocol (n=26)	Long protocol (n=50)			
No of embryos transferred	76	151	200	427	
Mean of embryos transferred per cycle	2,92 ± 0,79	3,02 ± 0,62	3,13 ± 0,74	3,05 ± 0,72	p > 0,05
No of gestation sacs	23	51	59	133	
Implantation rate	23/76 (30,2%)	51/151 (33,8%)	59/200 (29,5%)	133/427 (31,1%)	p > 0,05
Multiple pregnancy rate	23,1%	34,0%	26,6%	28,6%	p > 0,05
Live birth rate	46,2%	56,0%	48,4%	50,7%	p > 0,05

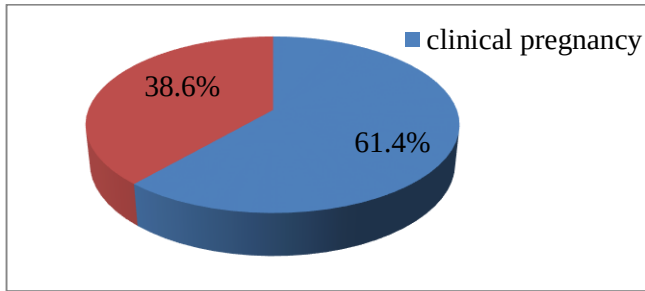


Chart 3.8. Clinical pregnancy rate per embryo transfer cycle using PESA - cryopreserved sperm

Table 3.13. Cumulative clinical pregnancy rate according to transferred embryos in each ovarian stimulation cycle

		Clinical pregnancy/ cycle (n/N; %)
Fresh embryo transfer	Fresh cycles N=140	86/140 (61,4%)
	Ovarian stimulation cycles N=166	86/166 (51,8%)
FET cycles (N =55)		35/55 (63,6%)
Cumulative cycles (N=166)		121/166 (72,9%)

Table 3.14. Comparison of ICSI outcomes, according to sperm used fresh or cryopreserved-thawed sperm

Parameters	thawed	Fresh	P
Mean of oocytes	11,91 ± 6,34	14,19 ± 5,49	0,062
Mean of embryos	7,67 ± 4,89	8,71 ± 4,58	0,273
Fertilization rate (%)	82,3 ± 18,1	80,24 ± 17,47	0,503
Good embryos	5,67 ± 4,52	5,84 ± 3,92	0,85
Mean of transferred embryos per cycle	3,05±0,72	2,79 ± 1,15	0,496
Pregnancy rate	61,4%	59,3%	0,497
Implantation rate	31,1%	24,7%	0,259

Table 3.16. Dilevery result of the group using frozen sperm from

epididymal

Results	n/N	rate %	mean (Min-Max)
Delivery methods - Cesarean section - vaginal delivery	61/71 10/71	85,9% 14,1%	
Gestational age at delivery - < 37 gestation weeks - $\geq$ 37 gestation weeks	24/71 47/71	33,8% 66,2%	36,8 $\pm$ 2,41 gestation weeks (28 - 40) gestation weeks
Birth weight: - < 2500 gram. - $\geq$ 2500 gram	41/102 61/102	40,2% 59,8%	2660,3 $\pm$ 698,1 gram (800 – 3900) gram
No of live births: - Singleton - Twin	40/71 31/71	56,3% 43,7%	
Gender: - male - female	55/102 47/102	53,9% 46,1%	
Neonatal malformation rate	0/102	0%	
Perinatal mortality rate	1/102	0,98%	

3.3. Factors related to the outcome of intra-cytoplasmic injection sperms frezzed aspirated from epididymal.

3.3.1. Male factors related to the outcome of ICSI

Table 3.17: Factors males related to pregnancy rate.

Factors	Pregnancy (n = 86)	No Pregnancy (n = 54)	p
Age (years)	31,3 $\pm$ 5,5	32,2 $\pm$ 6,7	0,368
FSH (IU/L)	4,81 $\pm$ 3,8	4,51 $\pm$ 1,76	0,591
LH (IU/L)	4,59 $\pm$ 2,77	4,57 $\pm$ 2,02	0,963
Testosterone	17,17 $\pm$ 7,42	17,77 $\pm$ 6,38	0,627
Volume of epididymal (ml)	17,59 $\pm$ 3,01	18,28 $\pm$ 2,14	0,148

3.3.2. Female factors related to the outcome of ICSI

3.3.2.1. Female factors related to the number of oocyte

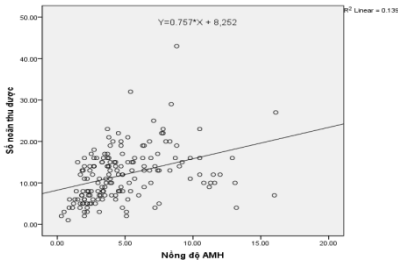


Figure 3.9. Correlation of the concentration AMH and number of oocyte retrieved.

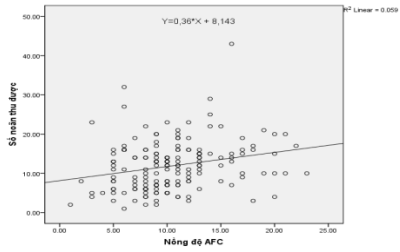


Figure 3.10. Correlation of AFC and number of oocyte retrieved.

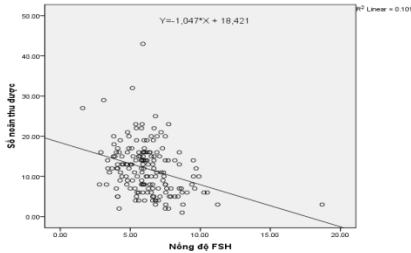


Figure 3.11. Correlation of the concentration FSH and number of oocyte retrieved.

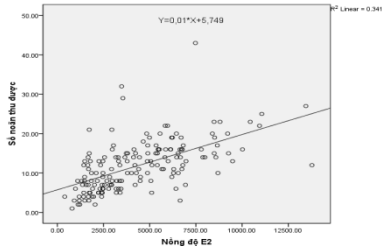


Figure 3.12. Correlation of the concentration E2 and number of oocyte retrieved.

3.3.2.2. Female factors related to the clinical pregnancy rate.

Table 3.22. Female factors related to the pregnancy rate

Factors	Pregnancy (n = 86)	No Pregnancy (n = 54)	p
Age (years)	28,1 ± 4,22	28,9 ± 5,7	0,321
Infertility time (months)	3,95 ± 3,08	4,78 ± 4,71	0,213
Endometrium thickness	11,49 ± 2,2	11,27 ± 2,05	0,568
Oocyte retrieved	11,2 ± 4,63	9,31 ± 5,04	0,025
Number of embryos	7,52 ± 3,95	5,72 ± 3,77	0,009
Number of embryo transfer	3,15 ± 0,52	2,89 ± 0,92	0,034
Fertilization rate	83,7% ± 16,1%	81,9% ± 21,7%	0,586

Table 3.31. Single variable analysis the factors related to clinical pregnancy rate.

	Clinical pregnancy rate	OR	95%CI	p
Female age (years) ≤ 35 years >35 years	79 (62,7%) 7 (50,0%)	0,595	0,196 - 1,802	0,259
Infertility time (years) ≤ 10 years > 10 years	83 (63,8%) 3 (30,0%)	0,246	0,06 - 0,983	< 0,05
Type of endometrium Triple-line No triple - line	80 (71,4%) 6 (21,4%)	0,109	0,04 – 0,289	< 0,001
Thickness of endometrium 8 – 14 mm The others	76 (61,3%) 10 (62,5%)	1,053	0,359 – 3,083	0,577
Number of embryo tranfer < 3 embryo ≥ 3 embryo	4 (23,5%) 82 (66,7%)	6,5	1,994 – 21,189	<0,001
Quality of embryo tranfer < 2 good embryo ≥ 2 good embryo	22 (38,6%) 64 (77,1%)	5,359	2,559 – 11,224	<0,0001
Points tranfer embryo ≤ 4 points 5 – 6 points	14 (38,9%) 72 (69,2%)	0,283	0,128 – 0,623	0,01

Table 3.32. Multivariable regression analysis the factors related to clinical pregnancy rate.

	Clinical pregnancy rate (%)	OR adjusted	95% CI	p
Infertility time (years)				
≤ 10 years	83 (63,8%)	0,394	0,073 – 2,145	0,283
> 10 years	3 (30,0%)			
Type of endometrium				
Triple-line	80 (71,4%)	0,108	0,037 – 0,318	< 0,001
No triple - line	6 (21,4%)			
Number of ET				
< 3 embryo	4 (23,5%)	1,840	0,434 – 7,809	0,408
≥ 3 embryo	82 (66,7%)			
Quality of ET				
< 2 good embryo	22 (38,6%)	3,342	1,333 – 8,376	< 0,01
≥ 2 good embryo	64 (77,1%)			
Points ET				
≤ 4 points	14 (38,9%)	0,520	0,190 – 1,422	0,203
5 – 6 points	72 (69,2%)			

3.3.2.3. Factors related to the live birth rate.

Table 3.33. Single variable analysis the factors related to the live birth rate.

	Live birth rate (%)	OR adjusted	95%CI	p
Female age (years)				
≤ 35 years	65 (51,6%)	0,976	0,56 - 1,701	0,931
>35 years	6 (42,9%)			
Infertility time (years)				
≤ 10 years	68 (52,3%)	0,391	0,097 - 1,578	0,187
> 10 years	3 (30,0%)			
Type of endometrium				
Triple-line	67 (59,8%)	0,109	0,04 – 0,289	< 0,001
No triple - line	4 (14,3%)			
Thickness of endometrium				
8 – 14 mm	63 (50,8%)	0,968	0,342 – 2,743	0,952
The others	8 (50,0%)			
Number of ET				
< 3 embryo	3 (17,6%)	5,77	1,578 – 21,099	<0,01
≥ 3 embryo	68 (55,3%)			
Quality ET				
< 2 good embryo	17 (29,8%)	4,381	2,122 – 9,046	<0,0001
≥ 2 good embryo	54 (65,1%)			
Points ET				
≤ 4 points	10 (27,8%)	0,271	0,119 – 0,62	<0,01
5 – 6 points	61 (58,7%)			

Table 3.34. Multivariable regression analysis the factors related to the

live birth rate.

	Live birth rate (%)	OR adjusted	95% CI	p
Type of endometrium				
Triple-line	67 (59,8%)		0,038	
No triple - line	4 (14,3%)	0,122	– 0,395	< 0,001
Number of ET				
< 3 embryo	3 (17,6%)	1,904	0,425	
≥ 3 embryo	68 (55,3%)		– 8,536	0,4
Quality of ET				
< 2 good embryo	17 (29,8%)	2,731	1,146– 6,508	< 0,05
≥ 2 good embryo	54 (65,1%)			
Points ET				
≤ 4 points	10 (27,8%)	0,477	0,177	
5 – 6 points	61 (58,7%)		– 1,283	0,143

CHAPTER 4: DISCUSSION

4.1. Comment on subjects and methodology

We carried out the prospective crosssectional study with the sample size of 140 patients which was estimated by a suitable formula, we recruited 197 patients and following them up until delivery. We used frozen sperms extracted by PESA procedure carried out in a large and highly qualified assisted reproductive center, the sample size in our study is large enough to represent for the whole population. As our study was conducted on a good sample size, we can eliminated and controled bias and that helped create the accurate outcomes in our study. Until now, our study has been the first one conducted on such a large sample size and with patient following – up until the patients' deliveries.

4.2. Comment on the characteristics of the couples with the husbands undergone PESA aracteristics of the male patients.

4.2.1. Comment on the male patients' characteristics.

The male patients were at average age, testicular volume was average and endocrine investigation results were similar to that of the patients who underwent PESSA in other studies of Hồ Sỹ Hùng (2014), Trịnh Thế Sơn (2013).

4.2.2. Comment on the female patients' characteristics.

In general, the investigation results of ovarian reservation were in normal range and proved the normal response in the female patients . When we

compared the ovarian response prognosis factors in the three ovarian stimulation protocols, the results showed that there were no differences between FSH, Estradiol, Prolactin level in the three different patient groups. However, there was difference in patients' LH level between short protocol and long protocol.

4.3. Comment on the effectiveness of ICSI using frozen sperm extracted from epididymides.

4.3.1. Comment on effects of the frozen method on the quality of the sperms extracted from epididymides.

4.3.1.1. The effectiveness defrosting sperms in ICSI cycles

In our study, among 197 defrost sperm samples, there was 166 samples which were used in ICSI (84%), 23 poor samples(12%), 8 samples (4%) with dead defrost sperms could not be used and we had to repeat the PESA in the patients and used fresh sperms to perform ICSI. Our study showed the similar results in the Vu Dinh Tuan et al study (2014) when they collected 17 sperm samples by surgery they were all frozen, after defrostration 15 samples had enough sperms to perform ICSI (88,2%), 1 poor sample and 1 dead sample which could not be used (11,8%)

4.3.1.2. Relation between fresh sperm concentration and their utility after defrost.

The table 3.7 shows that the higher sperm concentration of a fresh sample was the more its defrost sperm sample would be able to be used in ICSI. There was a strong relation between the fresh sperm concentration with their condition after defrost ($p < 0,001$). As they were samples extracted from epididymides, their concentration and mobility were limited. Moreover, we always performed minimally invasive aspiration: we stop aspiration if we saw mobile sperms as it helped prevent the invasion toward the patients' epididymides. Therefore, defrost sperm samples would be very precious and we only adjust the number of sperms whether they were enough to perform ICSI or we have to repeat PESA but we could not use them to determine the sperm concentration and mobility after defrost.

4.3.1.3. Relation between pre-freezing progressive sperm rate and their utility after defrost.

The table 3.8 shows that there was a strong relation between the mobility rate of fresh sperms and the utility of defrost sperms ($p < 0,001$). Lê Ngọc Dung's study (2017) showed that the rate of mobility and progressive mobility of the defrost sperm samples was significantly lower than that of their fresh samples ($p < 0,05$). She found that in the defrost samples which were collected by using

4.3.1.4. Concentration cut off and the mobility rate of sperms in the

fresh samples to predict the degeneration rate of sperms in the defrost samples.

According to the charts 3.6 and 3.7, the ROC area: of fresh sperm concentration is $0,895 \pm 0,046$; 95% CI = 0,804 – 0,985, of the rate of fresh sperm mobility is $0,894 \pm 0,052$; 95% CI = 0,792 – 0,995. We concluded that sperm concentration and the rate of sperm mobility in the fresh samples are good factors to predict the degenerative sperm rate in their defrost samples. With the cut off of 650.000/ml of sperm concentration predict the all defrost sperms will be degenerative with the sensitivity of 87,8% and the specificity of 87,5%. The cut off of the sperm rate of under 9% in the fresh sample predicts the degeneration of all defrost sperms with the sensitivity of 86,2% and the specificity of 87,5%.

4.3.2. Comment on the outcomes of ovarian stimulation

The table 3.10 shows that the mean number of oocytes retrieved in the short protocol group is significantly smaller than that in the long protocol and in the antagonist protocol ($< 0,05$). The mean number of oocytes retrieved from long protocol and antagonist protocol is not significantly different ($p > 0,05$)

4.3.3. Comment on the effectiveness of the ICI

4.3.3.1. The clinical pregnancy rate of PESA/ICSI with frozen sperms.

There were 166 cases who had enough defrost sperms for ICSI, 140 cases had fresh embryo transfer and 26 cases had all embryos frozen. The rate of clinical pregnancy per transfer cycles accounted for 61,4% (86/140), which is similar to or higher than that of other studies in Viet Nam and in the world (Table 4.2).

4.3.3.2. Cumulative pregnancy rate after fresh embryo transfer and frozen embryo transfer.

According to the table 3.13 the rate of clinical pregnancy of fresh embryo transfer and frozen embryo transfer per ovarian cycles was 51,8% and 63,6%, respectively; the cumulative clinical pregnancy rate of frozen embryo and fresh embryo transfer per cycles was 72,9%. In our study, we could only follow-up one ovarian stimulation cycle as the PESA frozen sperm samples after defrostration were usually at poor quality and only enough for one time of ICSI. The patients were then follow-up in one frozen embryo – transfer cycle.

4.3.3.3. Compare the ICSI outcomes in the PESA frozen sperm and PESA fresh sperm groups

The table 3.14 compares the rate of fertilization, implantation, and clinical

pregnancy between the two groups. The table shows that the two groups have similar mean number of retrieved oocyte, embryos, high quality embryos and the transferred embryos ($p > 0,05$). The rates of fertilization, implantation and clinical pregnancy of the PESA - frozen sperm group were likely higher than that of the PESA - fresh sperm group ($82.3 \pm 18.1\%$, 61.4% , 31.1% , and $80.24 \pm 17.47\%$, 59.3% , 24.7%). However, the difference was not significant ($p > 0,05$).

4.3.4. Live birth rate of PESA – frozen sperm ICSI cycles.

We followed – up the patients from the beginning of treatment, through out their pregnancy period and until they could gave birth to babies. Our live birth rate is $82,6\%$ ($71/82$). The result is similar to that of Ng.T.Mỹ Dung (2011) with live birth rate of $83,79\%$. In 140 patients with fresh embryo transfers, the live birth rate is $50,7$. Most of the previous studies only gave the results of clinical pregnancy rate and very few studies showed the live birth rate so it is very difficult for us to give comment on the difference in live birth rate among the studies. The live birth rate per fresh embryo transfer is $50,7\%$ in our study. It is the most expected and primary outcome to evaluate the effectiveness of the IVF/ICSI in general and PESA – frozen sperm ICSI in particular.

4.4. Comment on some factors which affect the outcomes of PESA – frozen sperm IVF/ICSI

4.4.1. Male factors and outcomes of IVF/ICSI

4.4.1.1. Male factors and pregnancy rate

In general, the pregnancy rate is weakly related to the male factors, namely age, hormone levels or the sperm sample quality. The table 3.17 shows that there was no difference in mean values of male age, FSH level, LH level and testosterone as well as testicular volume between pregnancy group and non-pregnancy group ($p > 0,05$).

4.4.1.2. Effects of concentration of pre-frozen sperms, rate of progressive pre-frozen sperms, time of freezing on the fertilization rate.

We could not see the difference in terms of fertilization rate of more than 70% in differnt groups of pre-frozen sperm concentration, rate of progressive pre-frozen sperms, time of freezing ($p > 0,05$).

4.4.2. Female factors which could affect the IVF/ICSI outcomes.

4.4.2.1. Relation between female factors and number of retrieved oocytes

Ovarian reserve assessment plays an essesential role in choosing an appropriate ovarian stimulation protocol in IVF/ICSI. Our study shows that level of AMH, FSH and E2 were all correlated with the number of retrieved oocytes. Among these factors, AMH and E2 levels had the positive correlation and FSH level had the negative correlation with the number of retrieved oocytes.

4.4.2.2. The relation between the number of retrieved oocytes, collected embryos and the clinical pregnancy rate.

Our study shows that there was a correlation between the number of retrieved oocytes, the number of collected embryos and the rate of clinical pregnancy. According to the table 3.22, the mean number of retrieved oocytes and collected embryos in the pregnancy group was $11,2 \pm 4,63$ and $7,52 \pm 3,95$ respectively which was higher than that of $9,31 \pm 5,04$ and $5,72 \pm 3,77$ in the non-pregnancy group ($p < 0,05$). It is concluded that the more the number of retrieved oocytes and the collected embryos are, the more high quality embryos can be selected to be transferred. This obviously contributes to the higher rate of pregnancy in PESA – ICSI.

4.4.2.3. Relation between number and quality of transferred embryos and the clinical pregnancy rate

Our study shows that there was a positive correlation between the number of transferred embryos and the clinical pregnancy rate ($p < 0,05$) (table 3.22). The quality of transferred embryos is key factor which has influence on the IVF/ICSI outcomes. Our result reveals that patients who have higher quality embryos transferred will have the higher rate of clinical pregnancy ($p < 0,05$). Table 3.28 compare the two groups: group with at least one level 4 – embryo or level 3 –embryo transferred and the left (had level 1 or level 2 – embryos transferred). In the first group the clinical pregnancy rate is 1.81 time higher than that in the second group but the difference is not statistically significant (OR = 1,81; CI (0,60 - 5,44)). The clinical pregnancy rate in the group with at least 2 high quality embryos (level 4 and/or level 3) is 4.4 times and 8.0 times higher than that in the group with only one high quality embryos (77,1% vs 46,7%, OR = 4,4; CI (1,8 – 10,6)).

4.4.2.4. The effect of endometrial thickness and endometrial pattern on pregnancy rate

Table 3.26 shows that the mean value of endometrial thickness in the pregnancy group was $11,49 \pm 2,2$ mm, and in the non-pregnancy group was $11,27 \pm 2,05$ mm, the difference was not statistically significant ($p = 0,568$). In our study shows that the pregnancy rate in the three-line pattern endometrium group is statistically significant higher than that in non – three line pattern endometrium group (71,4% vs 21,4%, $p < 0,001$).

In general, the higher endometrial thickness is the higher rate of clinical pregnancy will be however the difference is not statistically significant. Three – line endometrial pattern at hCG day is a good prognosis factor for clinical

pregnancy rate in patients with PESA/ICSI.

4.4.2.5. Monovariate regression and multivariate regression on the clinical pregnancy rate and live birth rate.

The table 3.31 and 3.34 analyzes the variables which affect separately on the clinical pregnancy rate and live birth rate. At the time of embryo transfer, three –line pattern of endometrium is the best condition for the implantation and development of embryos, while endometrium is too thin or too thick are not favorable conditions and they may decrease the pregnancy rate and live birth rate. However, the difference of clinical pregnancy rate and live birth rate among the group of different endometrial thickness is not statistically significant ($p > 0.05$). The higher embryo quality, higher number of transferred embryos and higher embryo transfer score are important factors contributes to higher rates of clinical pregnancy higher live birth rate in the patients treated by PESA- IVF/ICSI.

We analyze multivariate regression of the factors to access how they affect to the pregnancy rate and live birth rate. We found that the factor which had the greatest influence on the embryo transfer outcomes was the embryo quality and the endometrial pattern on the day of hCG.. The use of PESA defrost sperms is preferred as it has advantages: minimal invasive, lower cost and less psychological tension for patients. However, there have been concerns on the effectiveness of the freezing process. Therefore, many researchers have studied it. In general, evidences show that there is no difference between using PESA defrost sperms and PESA fresh sperms. The clinical pregnancy rate in our study is similar or higher to that of other studies. It proves that our PESA protocol is as effective as the other protocols used in the world.

Currently, some assisted reproductive centers in Viet Nam have performed PESA to diagnose but cannot do sperm – freezing. This is waste of time and money and may cause harm to patients as they have to undergo the procedure again in the next treatment. By the development of IVF/ICSI technique in Viet Nam, azoospermia patients have chance to approach to the modern treatment and help them to have their own children as the PESA technique has been introduced in Viet Nam since 2002. However, the repetition of the technique may be harmful to the patients. Therefore, the PESA - ICSI with frozen sperms has been very important method to improve the quality and effectiveness of IVF/ICSI.

CONCLUSION

3. The efficacy of the PESA – ICSI with frozen sperms

- The effective of method

- This is an effective method in vitro fertilization

The rate of fertilization, implantation, clinical pregnancy per ovarian stimulation cycle, clinical pregnancy per embryo transfer cycle of frozen sperm -PESA/ICSI is 82,3%, 31,1%, 51,8% and 61,4%, respectively.

- There have been 71 cases achieving live births of 102 newborns: 55 boys and 47 girls and the newborn mean weigh is $2660,3 \pm 698,1\text{gr}$

■ Characteristic of PESA sperm after thawing technique for ICSI

- 84% of patients after defrosting process had enough sperms to treated with IVF/ICSI, only 12% required PESA again to have more sperms and 4% with no sperms alive after defrost who required PESA to have new sperms.

- There was relation between the pre-freezing sperm concentration, the progressive sperm rate trước đông and the utility of the defrost samples ($p < 0,001$).

- We can predict the likelihood of degeneration/death of all the defrost sperms by pre-freezing sperm concentration and rate of pre-freezing progressive sperms.

+ *Pre-freezing sperm concentration of under 0,65m/ml predict the probability of death of all defrost sperms with the sensitivity of 87,8% and the specificity of 87,5%.*

+ *The rate of less than 9% of pre-freezing progressive sperms predict the likelihood of death of all defrost sperms with the sensitivity of 86,2% and the specificity of 87,5%.*

2. Some impact factors of PESA-ICSI using frozen sperms.

- Male factors namely: age, FSH level, LH level, testosterone level have no effect on the clinical pregnancy rate.

- Sperm concentration, rate of pre-freezing progressive sperms, time of freezing have no effect on the fertilization.

- AMH, FSH, E2 levels have the positive correlation with the number of retrieved oocytes.

- The number and quality of transferred embryos, endometrial pattern and embryo transfer score are independent factors which influence the clinical pregnancy rate and live birth rate.

- Multivariate regression analysis shows that endometrial pattern and quality of transferred embryos are the factors which have the greatest effect on the clinical pregnancy rate and live birth rate.

RECOMMENDATIONS

From our study results, we would like to have some following suggestions:

4. IVF centers should have the regular protocol of PESA-sperm freezing that helps reduce treatment cost, stress and invasive procedure for patients.
5. Patients with PESA pre-freezing sperm concentration of under 650.000/1m, less than 9% of pre-freezing progressive sperms, should not have sperm freezing as the likelihood of sperm degeneration is extremely high.
6. Patients undergoing PESA/ICSI with their sperms frozen with unfavorable condition of endometrium on the day of oocyte retrieve should be considered to have their all embryos frozen to be used in the next cycle.

RECOMMENDATION FOR POSSIBLE FUTURE STUDIES

3. To do the research with a large sample size and compare the using of PESA fresh sperms and PESA frozen sperms.
4. Study the outcomes of ICSI with frozen PESA sperms and fresh PESA sperms.