

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 TƯƠNG NOÃN
TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

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 TƯƠNG NỮ
TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**

Chuyên ngành : Sản phụ khoa

Mã số : 62720131

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

- 1. GS.TS. Nguyễn Viết Tiến**
- 2. PGS.TS. Vũ Văn Tâm**

HÀ NỘI - 2019

Lời cảm ơn

Với sự nỗ lực của bản thân cùng với sự giúp đỡ của nhiều tập thể và cá nhân, tôi đã hoàn thành luận văn này. Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến:

GS.TS. Nguyễn Viết Tiến và PGS. TS. Vũ Văn Tâm, hai người Thầy kính yêu đã tận tình, nghiêm khắc hướng dẫn tôi thực hiện đề tài, động viên và giúp tôi giải quyết nhiều khó khăn vướng mắc trong quá trình thực hiện luận án, đóng góp cũng như tạo mọi điều kiện thuận lợi để giúp tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến Ban Giám Đốc Bệnh viện Phụ sản Trung Ương và toàn thể các bác sỹ, điều dưỡng trung tâm Hỗ trợ sinh sản Quốc Gia đã giúp đỡ tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn tới các Thầy Cô trong các hội đồng từ khi tôi làm nghiên cứu sinh đến nay, đã cho tôi các kiến thức quý báu để hoàn thành luận án.

Tôi cũng xin được bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới:

- Các Thầy Cô Bộ môn Sản Trường Đại học Y Hà Nội. Các thầy cô đã nhiệt tình dạy bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Đảng uỷ, ban giám hiệu, phòng Đào tạo sau đại học Trường Đại học Y Hà Nội, đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban giám đốc, tập thể cán bộ nhân viên khoa Hỗ trợ sinh sản Bệnh viện Phụ sản Hải Phòng đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong công tác cũng như hoàn thành luận án.

Xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp, bạn bè đã động viên khuyến khích và giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận án.

- Những bệnh nhân và người nhà bệnh nhân, đã giúp tôi thực hiện nghiên cứu và cung cấp cho tôi những số liệu vô cùng quý giá để tôi hoàn thành luận án.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn Bố, Mẹ đã sinh thành và nuôi dưỡng tôi khôn lớn và là nguồn động viên to lớn cổ vũ tôi học tập, phấn đấu, luôn bên cạnh tôi để rắn dạc và nâng đỡ tôi trong từng bước đi của cuộc đời. Tôi xin cảm ơn chồng và các con tôi là nguồn động viên, cổ vũ mạnh mẽ, chỗ dựa vững chắc cho tôi vượt qua mọi khó khăn thử thách. Tôi xin cảm ơn các anh, chị, em trong hai gia đình nội ngoại, bạn bè đã động viên, giúp đỡ và là chỗ dựa vô cùng to lớn để tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Hà Nội, ngày 18 tháng 11 năm 2019

Tác giả luận án

Vũ Thị Bích Loan

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Vũ Thị Bích Loan, Nghiên cứu sinh khóa 32 trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Sản Phụ Khoa, xin cam đoan:

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

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2019

Người viết cam kết

Vũ Thị Bích Loan

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AMH	Anti Mullerian Hormone	Hormon kháng ống Muller
BVPSTW		Bệnh viện Phụ sản Trung ương
CI	Confidence Interval	Khoảng tin cậy
CPA	Cryoprotectant agent	Chất bảo vệ lạnh
Cs		Cộng sự
E2		Estradiol
FET	Frozen embryo transfer	Chuyển phôi trữ đông
FSH	Follicle-stimulating hormon	Hormon kích thích nang trứng
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone	
hCG	Human chorionic gonadotropin	
HTSS		Hỗ trợ sinh sản
ICSI	Intra-cytoplasmic Sperm Injection	Tiêm tinh trùng vào noãn
IVF	In vitro fertilization	Thụ tinh ống nghiệm
KRNN		Không rõ nguyên nhân
KTBT		Kích thích buồng trứng
LH	Luteinizing hormon	Hormon tạo hoàng thể
MESA	Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration	Lấy tinh trùng từ mào tinh bằng vi phẫu
NMTC		Niêm mạc tử cung
NOA	non-obstructive azoospermia	Không có tinh trùng không do tắc nghẽn
OA	obstructive azoospermia	Không có tinh trùng do tắc nghẽn
OR	Odds ratio	Tỷ suất chênh
P4	Progesterone	
PCOS	Polycystic ovary syndrome	Hội chứng buồng trứng đa nang

PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng khuếch đại gen
PESA	Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration	Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da
PI	Pulsatility Index	Chỉ số đập
QKBT		Quá kích buồng trứng
RI	Resistance Index	Chỉ số trở kháng
ROC	ReceiverOperating Characteristic	Đường cong đặc trưng hoạt động bộ thu nhận
RR	Relative Risk	Nguy cơ tương đối
TEFNA	Testicular Fine Needle Aspiration	Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn bằng kim nhỏ
TESE	Testicular Sperm Extraction	Lấy tinh trùng từ tinh hoàn bằng phẫu thuật mở tinh hoàn
TTTON		Thụ tinh trong ống nghiệm
VS		Vô sinh
ZP	Zona pellucida	Màng trong suốt

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM VỀ VÔ SINH.....	3
1.1.1. Định nghĩa và phân loại	3
1.1.2. Tình hình vô sinh trên thế giới và Việt nam.	3
1.2. CƠ QUAN SINH DỤC NAM	4
1.2.1. Đặc điểm giải phẫu cơ quan sinh dục nam	4
1.2.2. Quá trình sinh tinh trùng.	6
1.2.3. Điều hoà hoạt động nội tiết nam giới.....	8
1.3. KHÔNG CÓ TINH TRÙNG TRONG TINH DỊCH	9
1.3.1. Không có tinh trùng không do tắc nghẽn.....	10
1.3.2. Không có tinh trùng do tắc nghẽn.....	12
1.3.3. Các kỹ thuật thu nhận tinh trùng trong các trường hợp vô tinh....	15
1.4. KỸ THUẬT TRỮ LẠNH TINH TRÙNG TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN .	18
1.4.1. Ảnh hưởng của quá trình bảo quản lạnh lên tinh trùng	19
1.4.2. Các quy trình đông lạnh tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật	21
1.5. QUY TRÌNH PHƯƠNG PHÁP PESA/ICSI SỬ DỤNG TINH TRÙNG ĐÔNG LẠNH	23
1.5.1. Kích thích buồng trứng	23
1.5.2. Chọc hút noãn và chuẩn bị noãn.	24
1.5.3. Rửa đông tinh trùng PESA để chuẩn bị tinh trùng	24
1.5.4. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn.....	25
1.6. MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KẾT QUẢ CỦA KỸ THUẬT PESA/ICSI SỬ DỤNG TINH TRÙNG ĐÔNG LẠNH	26
1.6.1. Yếu tố từ người chồng ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật PESA/ ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh.....	26

1.6.2. Yếu tố từ người vợ ảnh hưởng đến kết quả của kỹ thuật PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh.....	29
1.7. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ THU TINH TRONG ỐNG NGHIỆM VỚI TINH TRÙNG THU NHẬN TỪ PESA.....	32
1.7.1. Các nghiên cứu trên Thế giới.....	33
1.7.2. Các nghiên cứu trong nước	36
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	39
2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	39
2.2. Đối tượng nghiên cứu	39
2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu	39
2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ	39
2.2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả tiến cứu.....	40
2.2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu:	40
2.2.5. Quy trình nghiên cứu	41
2.3. Cách thức tiến hành.....	42
2.3.1. Cách thăm khám và kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu	42
2.3.2. Các biến số và tiêu chuẩn nghiên cứu.....	48
2.4. Kỹ thuật thu thập số liệu	53
2.5. Xử lý và phân tích số liệu	53
2.6. Không chế sai số và yếu tố nhiễu.....	54
2.7. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu	55
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	56
3.1. Một số đặc điểm của cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.	56
3.1.1. Đặc điểm của người chồng	56
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.....	59

3.2. Hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh vào bào tương noãn.....	62
3.2.1. Hiệu quả của phương pháp trữ lạnh tinh trùng chọc hút từ mào tinh ..	62
3.2.2. Hiệu quả của kích thích buồng trứng.....	67
3.2.3. Hiệu quả của tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn và nuôi cấy phôi.....	68
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.....	74
3.3.1. Các yếu tố của người chồng ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.....	74
3.3.2. Các yếu tố của người vợ ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.....	76
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	89
4.1. Bàn luận về đối tượng và phương pháp nghiên cứu	89
4.2. Bàn luận về đặc điểm của cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.....	92
4.2.1. Đặc điểm của người chồng	92
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	100
4.3. Bàn luận về hiệu quả của tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn.....	104
4.3.1. Bàn luận về ảnh hưởng của phương pháp trữ lạnh đến tinh trùng chọc hút từ mào tinh.....	104
4.3.2. Bàn luận về hiệu quả của kích thích buồng trứng.....	110
4.3.3. Bàn luận về hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn.	111
4.3.4. Kết quả khi sinh của nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.....	118

4.4. Bàn luận về một số yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của TTTON sử dụng tình trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.....	121
4.4.1. Mối liên quan giữa yếu tố người chồng đến kết quả TTTON	122
4.4.2. Các yếu tố của người vợ ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.....	126

KẾT LUẬN	142
-----------------------	------------

KHUYẾN NGHỊ

HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHỤ LỤC

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	So sánh hiệu quả của ICSI khi sử dụng tinh trùng tươi, tinh trùng trữ đông thu nhận từ mào tinh và tinh hoàn.	37
Bảng 3.1.	Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của người chồng	56
Bảng 3.2.	Tiền sử liên quan đến vô sinh nam không có tinh trùng.....	57
Bảng 3.3.	Mật độ tinh trùng trước trữ	58
Bảng 3.4.	Tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ	58
Bảng 3.5.	Thời gian trữ tinh trùng.....	59
Bảng 3.6.	Các chỉ số đánh giá dự trữ buồng trứng theo nhóm phác đồ kích thích buồng trứng.	61
Bảng 3.7.	Mối liên quan giữa mật độ tinh trùng trước đông với khả năng sử dụng sau rã đông	63
Bảng 3.8.	Mối liên quan giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước đông với khả năng sử dụng sau rã đông.....	64
Bảng 3.9.	Mối liên quan giữa thời gian trữ với khả năng sử dụng sau rã đông.	65
Bảng 3.10.	Đặc điểm và kết quả kích thích buồng trứng.....	67
Bảng 3.11.	Kết quả tiêm tinh trùng vào bào tương noãn	68
Bảng 3.12.	Kết quả chuyển phôi theo nhóm phác đồ kích thích buồng trứng.....	69
Bảng 3.13.	Tỷ lệ có thai lâm sàng cộng dồn sau từng chu kỳ chuyển phôi trong một chu kỳ kích thích buồng trứng	70
Bảng 3.14.	So sánh kết quả ICSI sử dụng tinh trùng tươi và tinh trùng rã đông chọc hút từ mào tinh	71
Bảng 3.15.	Đánh giá tỷ lệ có thai của các nhóm tinh trùng sau rã đông.....	72
Bảng 3.16.	Kết quả khi sinh của nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.	73
Bảng 3.17.	Các yếu tố người chồng ảnh hưởng kết quả có thai	74
Bảng 3.18.	Liên quan giữa mật độ tinh trùng trước trữ với tỷ lệ thụ tinh.....	74

Bảng 3.19.	Liên quan giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ với tỷ lệ thụ tinh ..	75
Bảng 3.20.	Liên quan giữa thời gian trữ và tỷ lệ thụ tinh	75
Bảng 3.21.	Mối tương quan giữa FSH, AMH và AFC, Estradiol ngày tiêm HCG với số noãn thu được sau chọc hút	76
Bảng 3.22.	Các yếu tố người vợ ảnh hưởng kết quả có thai	79
Bảng 3.23.	Liên quan giữa độ tuổi người vợ và tỷ lệ có thai lâm sàng	79
Bảng 3.24.	Liên quan thời gian vô sinh và tỷ lệ có thai lâm sàng	80
Bảng 3.25.	Liên quan giữa phác đồ điều trị và tỷ lệ có thai lâm sàng	80
Bảng 3.26.	Liên quan độ dày niêm mạc tử cung và tỷ lệ có thai lâm sàng...	81
Bảng 3.27.	Liên quan giữa tính chất NMTC và tỷ lệ có thai lâm sàng.....	81
Bảng 3.28.	Liên quan số lượng, chất lượng phôi chuyển và tỷ lệ có thai lâm sàng	82
Bảng 3.29.	Liên quan giữa kỹ thuật chuyển phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng .	82
Bảng 3.30.	Liên quan giữa điểm chuyển phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng.	83
Bảng 3.31.	Phân tích đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng.	84
Bảng 3.32.	Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng	85
Bảng 3.33.	Phân tích đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống.....	86
Bảng 3.34.	Phân tích đa biến các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống.	87
Bảng 4.1.	Cỡ mẫu nghiên cứu của một số tác giả.....	90
Bảng 4.2.	So sánh tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ có thai lâm sàng giữa các nghiên cứu	114
Bảng 4.3.	So sánh tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai lâm sàng các trường hợp ICSI bằng tinh trùng trữ lạnh và tinh trùng tươi từ mào tinh giữa các tác giả.....	116

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Phân loại vô sinh do người chồng	57
Biểu đồ 3.2. Nguyên nhân vô sinh kèm theo của người vợ	59
Biểu đồ 3.3. Phân bố đặc điểm số lần làm thụ tinh trong ống nghiệm	60
Biểu đồ 3.4. Đặc điểm phác đồ kích thích buồng trứng.....	60
Biểu đồ 3.5. Đặc điểm của tinh trùng sau rã	62
Biểu đồ 3.6. Ngưỡng mật độ tinh trùng trước đông tiên đoán khả năng chết toàn bộ sau rã đông.....	65
Biểu đồ 3.7. Ngưỡng tỷ lệ tinh trùng di động trước đông tiên đoán khả năng chết toàn bộ sau rã đông.	66
Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ có thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.....	70
Biểu đồ 3.9. Mối tương quan giữa nồng độ AMH và số noãn thu được sau chọc hút.....	77
Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa chỉ số AFC và số noãn thu được sau chọc hút	77
Biểu đồ 3.11. Mối tương quan giữa nồng độ FSH và số noãn thu được sau chọc hút.....	78
Biểu đồ 3.12. Mối tương quan giữa nồng độ E2 ngày tiêm HCG với số noãn thu được sau chọc hút	78

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Cấu tạo cơ quan sinh dục nam	5
Hình 1.2.	Cấu tạo tinh hoàn	6
Hình 1.3.	Quá trình sinh tinh trùng ở thành ống sinh tinh.....	8
Hình 1.4.	Lấy tinh trùng từ mào tinh bằng chọc kim qua da.....	16
Hình 1.5.	Lấy tinh trùng từ tinh hoàn bằng phẫu thuật xẻ tinh hoàn.....	18
Hình 1.6.	Tinh trùng trong dịch mô tinh hoàn.....	18
Hình 2.1.	Tube trữ lạnh.....	47
Hình 2.2.	Thùng chứa ni-tơ.....	47
Hình 2.3.	Máy hạ nhiệt độ	47
Hình 2.4.	Kính hiển vi đảo ngược.....	47
Hình 2.5.	Môi trường PVP.....	47
Hình 2.6.	Môi trường Sperm Freeze	47

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự ra đời của Louise Brown – em bé thụ tinh trong ống nghiệm đầu tiên trên thế giới tại Anh năm 1978 thực sự là một phép nhiệm màu kỳ diệu mang lại niềm hạnh phúc lớn lao được làm cha, làm mẹ cho các cặp vợ chồng vô sinh tưởng chừng như hoàn toàn vô vọng. Năm 1992, phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI – Intracytoplasmic sperm injection) được giới thiệu sau hàng loạt trường hợp thành công của Palermo (Bỉ) và cộng sự. Kỹ thuật này đã mở ra một thời đại mới trong điều trị hiếm muộn do nam cho những trường hợp trước đây không thể điều trị được.

Tại Việt Nam, tỷ lệ vô sinh chung từ 5 – 13%, vô sinh nam chiếm khoảng 40%, trong đó nguyên nhân không có tinh trùng trong tinh dịch (Azoospermia) chiếm khoảng 12% trong số những ca tinh dịch đồ bất thường, điều đó cho thấy số bệnh nhân cần được điều trị là không nhỏ [1],[2],[3]. Nguyên nhân có thể là sự tắc nghẽn trong quá trình di chuyển của tinh trùng (vô tinh bế tắc – obstructive azoospermia) hoặc sự giảm sinh tinh (vô tinh không bế tắc – non obstructive azoospermia). Việc thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng từ phẫu thuật đã được biết đến trên thế giới từ năm 1985 khi Temple - Smith và cộng sự báo cáo trường hợp IVF thành công đầu tiên với tinh trùng thu nhận từ mào tinh. Tuy nhiên, phương pháp điều trị này cho khả năng thành công thấp do chất lượng tinh trùng trích từ mào tinh kém nên thường xảy ra thất bại thụ tinh. Với sự ra đời của kỹ thuật ICSI, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ thai lâm sàng khi sử dụng tinh trùng từ mào tinh đã được cải thiện đáng kể. Mặc dù là phương pháp điều trị hiệu quả cho các bệnh nhân vô tinh, việc chọc hút thu nhận tinh trùng kết hợp với ICSI vẫn còn nhiều hạn chế [4],[5]. Đối với các trường hợp thất bại sau một chu kỳ, quá trình chọc hút sẽ được lặp lại tăng nguy cơ gây tổn thương không phục hồi lên mào tinh, tăng chi phí điều trị và áp lực tâm lý cho bệnh nhân. Kỹ thuật trữ lạnh tinh trùng

giúp giải quyết được vấn đề này. Tuy nhiên, số lượng và chất lượng tinh trùng từ mào tinh thường rất ít và kém nên khả năng thu nhận được tinh trùng sau trữ lạnh – rã đông rất thấp. Do đó, nhiều e ngại được đưa ra xung quanh hiệu quả của việc áp dụng quy trình trữ lạnh cho các tinh trùng này. Kể từ trường hợp em bé sinh ra đầu tiên bằng kỹ thuật ICSI sử dụng tinh trùng từ mào tinh đông lạnh, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm so sánh việc sử dụng tinh trùng tươi với tinh trùng trữ. Hầu hết các kết quả nghiên cứu đều cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa việc sử dụng tinh trùng thu nhận từ mào tinh tươi và đông lạnh [6],[7]. Tuy nhiên các nghiên cứu đều với cỡ mẫu nhỏ, không theo dõi dọc đến khi sinh bé và không đánh giá chi tiết các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống.

Tại Việt Nam, kỹ thuật thu nhận tinh trùng từ mào tinh sử dụng cho ICSI đã được thực hiện thành công, với sự ra đời của em bé đầu tiên vào năm 2002 [8]. Hiện nay có rất nhiều trung tâm đã thực hiện kỹ thuật này nhằm mang lại hiệu quả điều trị tối ưu cho bệnh nhân vô sinh nam, tuy nhiên đông lạnh tinh trùng từ mào tinh mới chỉ được thực hiện tại một số trung tâm lớn. Để không ngừng nâng cao chất lượng phục vụ bệnh nhân, để tìm hiểu một số yếu tố ảnh hưởng lên kết quả của phương pháp TTTON với tinh trùng đông lạnh thu nhận từ mào tinh và mở rộng kỹ thuật này cho các trung tâm khác ở Việt Nam, chúng tôi thực hiện 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.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM VỀ VÔ SINH

1.1.1. Định nghĩa và phân loại

Theo Tổ chức Y tế Thế giới, vô sinh là tình trạng một cặp vợ chồng không có thai sau một năm chung sống mà không dùng bất cứ một biện pháp tránh thai nào. Đối với những phụ nữ trên 35 tuổi thì thời gian này là 6 tháng để sớm có kế hoạch can thiệp điều trị, vì đối với phụ nữ càng lớn tuổi thì khả năng có thai càng giảm đi. Đối các trường hợp vô sinh đã biết nguyên nhân thì vấn đề thời gian không đặt ra nữa, ví dụ chữa ngoài tử cung đã cắt cả hai vòi tử cung hoặc các trường hợp vô sinh không có tinh trùng.

Vô sinh nguyên phát hay còn gọi là vô sinh I là trường hợp chưa có thai lần nào, vô sinh thứ phát hay còn gọi là vô sinh II là trước đó người phụ nữ đã có thai ít nhất một lần.

Vô sinh nữ là vô sinh mà nguyên nhân hoàn toàn do vợ, vô sinh nam là vô sinh mà nguyên nhân hoàn toàn do chồng. Vô sinh không rõ nguyên nhân là trường hợp cặp vợ chồng đã được làm tất cả các xét nghiệm thăm dò hiện có nhưng không tìm được nguyên nhân [9],[10].

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

Tỷ lệ vô sinh trên thế giới thay đổi theo từng nước và từng nghiên cứu, nhưng nhìn chung đều có xu hướng tăng lên trong những năm gần đây. Theo điều tra của Oakley và cộng sự tại Anh năm 2008 trên 60.000 phụ nữ thì thấy có tới 16% phụ nữ đã từng phải đi khám vì lý do hiếm muộn trong đó có 8% cần phải điều trị mới có khả năng có thai [11].

Nghiên cứu của Safarinnejad và cộng sự năm 2008 trên 12.285 cặp vợ chồng tại Iran thì tỷ lệ vô sinh là 8% trong đó vô sinh nguyên phát là 4,6%, và tỷ lệ vô sinh nguyên phát tăng dần từ 2,6% trong giai đoạn 1985-1989 đến 5,5% trong giai đoạn 1995-2000 [12].

Theo Bovin và cộng sự (2007) thì tỷ lệ vô sinh của các nước kém phát triển dao động từ 6,9 đến 9,3% [13]. Tỷ lệ vô sinh của các nước Châu Phi cao hơn nhiều so với các nước khác, từ 9% đến 21,2%, cá biệt ở Nigeria tỷ lệ vô sinh lên tới 20-30% [14],[15].

Karl và cộng sự báo cáo về tỷ lệ vô sinh của các nước đang phát triển tại hội nghị thường niên hội nội tiết sinh sản người châu Âu năm 2008 (ESHRE-2008) thì tỷ lệ vô sinh dao động từ 5% đến 25,7% [16]. Vahidi và cộng sự nghiên cứu trên 10.783 phụ nữ ở lứa tuổi 19 - 49 tuổi tại Iran cho thấy tỷ lệ vô sinh nguyên phát là 24,9% [17]. Theo Wilkes và cộng sự thì tỷ lệ vô sinh tại Anh là 9%, tuổi trung bình của nữ là 31 tuổi và thời gian vô sinh trung bình là 18 tháng [18].

Tại Việt nam, nghiên cứu trên toàn quốc do Bệnh viện Phụ sản Trung ương và Đại học Y Hà Nội tiến hành trên 14.300 cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ (15-49) ở 8 tỉnh đại diện cho 8 vùng sinh thái ở nước ta cũng xác định tỉ lệ vô sinh của các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh đẻ là 7,7%, trong đó vô sinh nguyên phát là 3,9% và vô sinh thứ phát là 3,8%. Đáng báo động có khoảng 50% cặp vợ chồng vô sinh có độ tuổi dưới 30 [19].

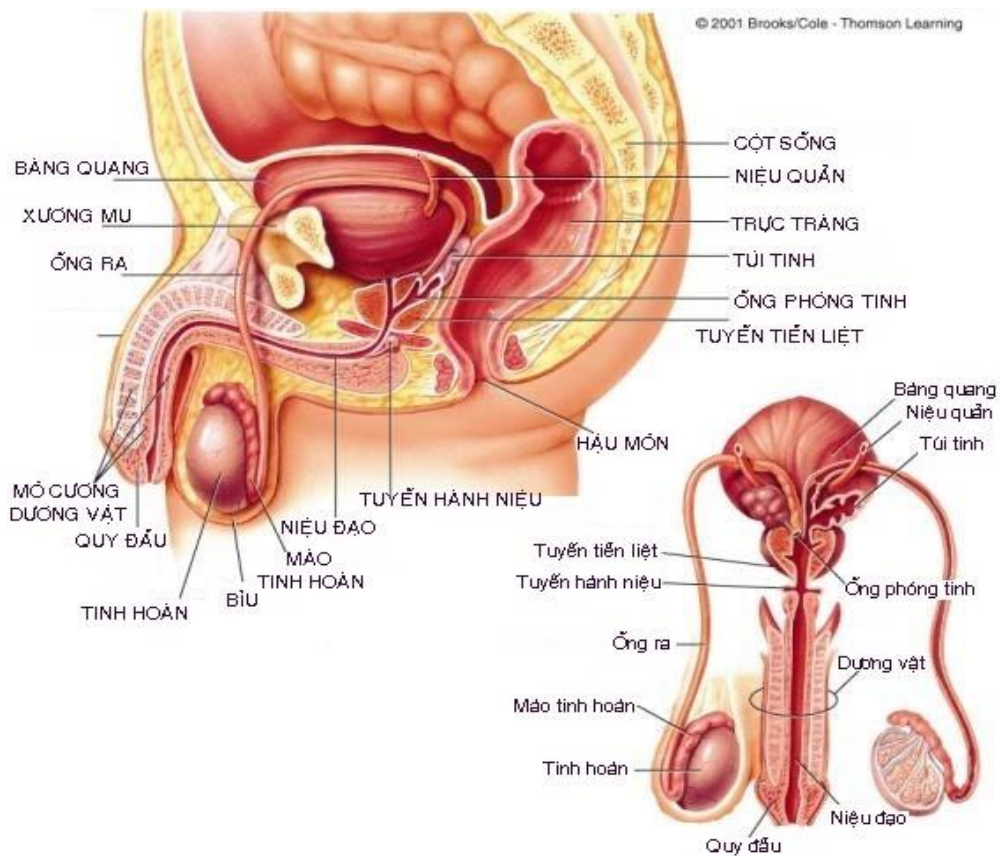
Theo nghiên cứu của Nguyễn Khắc Liêu và cs tại Viện Bảo vệ bà mẹ và trẻ sơ sinh (1993-1997) trên 1000 trường hợp vô sinh thì vô sinh nữ là 55,4%, vô sinh nam là 35,6% và không rõ nguyên nhân là 10%, trong đó vô sinh nữ nguyên nhân do tắc vòi tử cung 46,7% [20]. Theo Nguyễn Thành Như tại bệnh viện Bình dân (2001) thì vô sinh nam chiếm 30% các trường hợp vô sinh, còn theo Văn Thị Kim Huệ tại bệnh viện Trung ương Huế (2002) thì tỷ lệ vô sinh nam là 30%, nữ là 51,81% và do cả hai người là 16,36% [21],[22].

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. Tinh hoàn hình trứng có chiều dài 4,1 cm đến 5,2cm và 2,5 đến 3,3cm chiều rộng, ở trẻ mới đẻ thể tích tinh hoàn

khoảng 3ml và tăng lên 15ml đến 30ml ở người trưởng thành. Mỗi tinh hoàn có khoảng 150 đến 200 tiểu thùy được ngăn cách bằng các vách xơ, mỗi tiểu thùy có khoảng 3 đến 4 ống sinh tinh có chức năng sản xuất ra tinh trùng, ống sinh tinh có chiều dài khoảng 30 cm đến 150 cm với đường kính 150 đến 200 μ m xếp cuộn lại với nhau. Xen giữa các ống sinh tinh là các tế bào Leydig có chức năng bài tiết ra testosterone. Các tế bào mầm và ống sinh tinh chiếm tới 99% thể tích tinh hoàn trong khi các tế bào Leydig chiếm khoảng 1% [23].

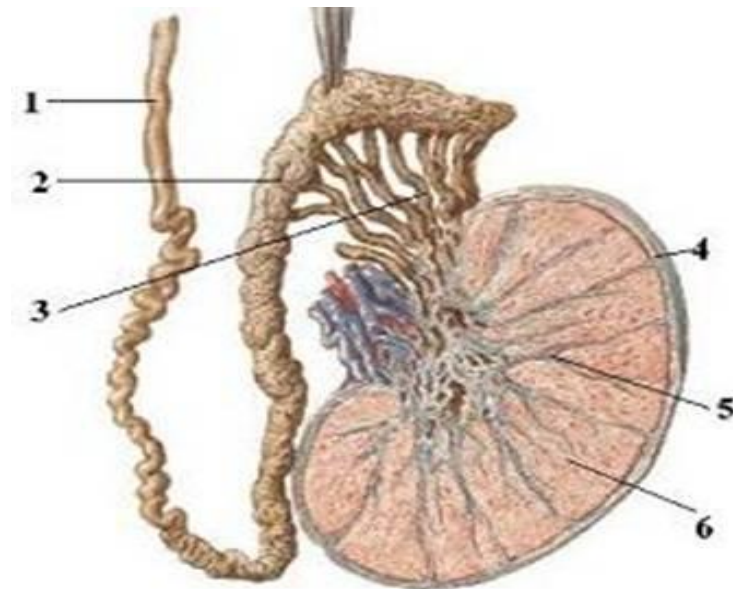


Hình 1.1. Cấu tạo cơ quan sinh dục nam[23]

Từ 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. Lưới tinh đổ vào 12- 20 ống ra, các ống ra tiến vào đoạn đầu mào tinh tạo thành các ống mào tinh. Các ống mào tinh hợp dần với nhau để tạo thành một ống dẫn tinh duy nhất nằm trong thừng tinh cùng với mạch máu, thần kinh và mô liên kết [24].

Các ống mào tinh có chiều dài lên tới 5 đến 6 mét mà mào tinh chỉ dài khoảng 4 đến 5 cm nên các ống này phải bện chặt với nhau. 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 nhỏ [25]. Theo Clavert và cộng sự thì 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 [26].

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.



Hình 1.2. Cấu tạo tinh hoàn [25]

1. Ống dẫn tinh 2. Thân mào tinh 3. Ống ra 4. Màng trắng
5. Vách gian tiểu thùy tinh hoàn 6. Tiểu thùy tinh hoàn

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 [27].

Tinh hoàn mỗi ngày sản xuất ra trên 100 triệu tinh trùng. Hiểu rõ quá trình sinh tinh có thể giúp cải thiện chức năng sinh sản cũng như phòng chống các ảnh hưởng bất lợi lên quá trình này.

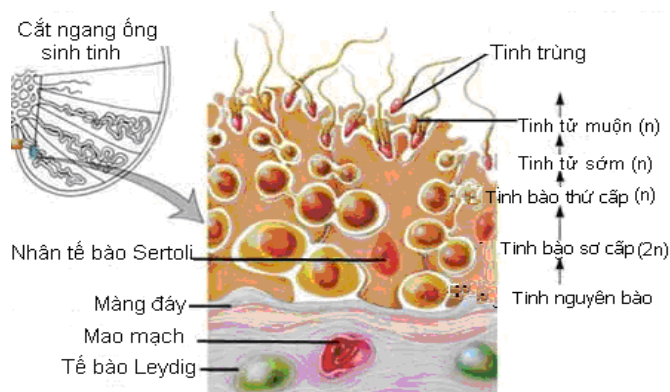
❖ *Các vị trí có thể thu nhận được tinh trùng từ cơ quan sinh dục*

Cơ quan sinh dục nam bao gồm tinh hoàn, mào tinh, ống dẫn tinh, túi tinh, dương vật với hành niệu đạo, các tuyến phụ của hệ sinh dục như tuyến tiền liệt, tuyến tinh, tuyến hành niệu đạo. Nắm vững giải phẫu học và sinh lý sinh tinh trùng, sự di chuyển từ nơi tạo thành đến khi được xuất ra ngoài qua quá trình xuất tinh giúp ta có thể xác định được các vị trí có thể thu nhận được tinh trùng từ cơ quan sinh dục [24].

Tinh trùng (giao tử đực) được tạo ra từ bên trong các ống sinh tinh. Các ống sinh tinh này nằm xen lẫn giữa các tế bào kẽ (hay còn gọi là tế bào Leydig), vốn có chức năng sản xuất hormone sinh dục. Ngay từ giai đoạn phôi thai, các tế bào mầm sinh dục đã được tìm thấy trong các ống sinh tinh ở tinh hoàn. Các tế bào này sau đó sẽ nguyên phân tạo ra các tinh nguyên bào. Tinh nguyên bào nằm ở thành ống sinh tinh, xen lẫn với các tế bào Sertoli, tạo thành hàng rào máu miễn dịch. Các tinh nguyên bào ở trạng thái bất hoạt cho đến tuổi dậy thì. Đến giai đoạn này, tinh nguyên bào sẽ phân chia liên tục nhờ quá trình nguyên phân, đảm bảo duy trì nguồn tế bào mới liên tục.

Một số tinh nguyên bào ngừng nguyên phân và bước vào giai đoạn biệt hóa thành tinh bào 1. Mỗi tinh bào 1 trải qua lần giảm phân thứ nhất tạo thành

2 tinh bào 2. Sau khi lần giảm phân thứ hai kết thúc, bốn tinh tử đơn bội được tạo thành. Quá trình này vẫn diễn ra ở thành ống sinh tinh.



Hình 1.3. Quá trình sinh tinh trùng ở thành ống sinh tinh [24]

Để trở thành tinh trùng, tinh tử phải trải qua quá trình biệt hóa về cấu trúc. Tinh tử dài ra, hình thành đuôi. Trong lúc quá trình này diễn ra, tinh tử vẫn liên kết chặt chẽ với lớp tế bào Sertoli thông qua lớp cầu nối tế bào chất. Chỉ đến khi tinh tử hoàn thành quá trình biệt hóa thành tinh trùng, chúng mới được giải phóng vào lòng ống sinh tinh. Từ ống sinh tinh, tinh trùng đi vào mào tinh, tiếp tục hoàn thiện quá trình trưởng thành. Tại đây, tinh trùng trải qua những biến đổi về hình thái, sinh lý, sinh hóa và chuyển hóa. Mào tinh là một ống xoắn với tổng chiều dài lên đến 5 – 7m, gồm 3 phần: phần đầu, phần thân và phần đuôi. Trong đó, phần đuôi được xem là nơi dự trữ và phân hủy tinh trùng nếu không có hiện tượng xuất tinh xảy ra. Người ta ghi nhận khả năng di động và thụ tinh tăng dần khi tinh trùng di chuyển từ đầu đến cuối ống mào tinh [28],[29],[30].

Theo lý thuyết, ta có thể thu nhận được tinh trùng bằng cách thực hiện phẫu thuật ở bất kỳ vị trí nào trong cơ quan sinh dục có sự hiện diện của tinh trùng. Tuy nhiên, trên thực tế, người ta chỉ lấy tinh trùng từ mào tinh và tinh hoàn vì hai bộ phận này có kích thước tương đối lớn và nằm bên ngoài cơ thể (ở bìu).

1.2.3. Điều hoà hoạt động nội tiết nam giới

Vùng dưới đồi bài tiết GnRH theo dạng xung, có tác dụng kích thích tuyến yên tổng hợp và bài tiết FSH và LH. Cũng giống như vùng dưới đồi,

tuyến yên bài tiết hai hormon này dưới dạng xung. Tại tinh hoàn FSH gắn vào các thụ thể trên bề mặt tế bào Sertoli, kích thích sản xuất tinh trùng. Trên bề mặt 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 testosterone. Nam giới bình thường mỗi ngày bài tiết khoảng 6mg testosterone, trong đó khoảng 98% tồn tại dưới dạng gắn với SHBG và albumin, chỉ có một phần nhỏ testosterone ở dạng tự do mới có hoạt tính sinh học. Hormon LH của vùng dưới đồi kích thích các tế bào Leydig tổng hợp và bài tiết testosterone [31].

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 [32].

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*) [33].

Không có tinh trùng không do tắc nghẽn là hậu quả của trường hợp chức năng sinh tinh của tinh hoàn bị tổn thương nặng nề làm không sản sinh ra tinh trùng. Đặc điểm các bệnh nhân này là tinh hoàn kích thước nhỏ, nồng độ FSH tăng cao. Nguyên nhân của loại này bao gồm suy vùng dưới đồi tuyến yên (*hypothalamus hypophyse*), các rối loạn di truyền, rối loạn hormon, tinh hoàn lạc chỗ hoặc xoắn tinh hoàn, các bệnh lý toàn thân.

Không có tinh trùng do tắc nghẽn là hậu quả của tắc nghẽn đường dẫn tinh cao hoặc thấp ở các vị trí mào tinh, ống dẫn tinh, túi tinh, hoặc ống phóng tinh. Trong trường hợp này tinh hoàn vẫn sản xuất ra tinh trùng nhưng do tắc nghẽn nên tinh trùng không xuất ra ngoài được. Đặc điểm của các bệnh nhân này là thể tích tinh hoàn thường bình thường, nồng độ FSH cũng bình thường.

Nguyên nhân loại này có thể là do thất ồng dẫn tinh, teo ồng dẫn tinh bẩm sinh, hậu quả của nhiễm khuẩn, di chứng sau các phẫu thuật thoát vị, tinh hoàn lạc chỗ...v.v ảnh hưởng đến toàn trạng cơ thể (do suy nhược), do tia xạ và nhiễm độc.

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: được mô tả đầu tiên năm 1944, tỷ lệ gặp khoảng 1/10.000 trẻ đẻ ra. Rối loạn chức năng vùng dưới đồi làm ảnh hưởng đến quá trình sản xuất và bài tiết các hormon hướng sinh dục. Bệnh mang tính chất di truyền từ bố sang con trai biểu hiện thiếu năng sinh dục có kèm theo rối loạn khứu giác. Điều trị các trường hợp này có thể dùng hormon GnRH theo dạng xung hay dùng các hormon hướng sinh dục dạng FSH và LH [34].

Hội chứng Prader-Willi: bệnh nhân béo phì, giảm trương lực cơ, tinh thần chậm chạp, thân hình nhỏ, suy sinh dục. Bệnh có tính chất gia đình do thiếu hụt GnRH dẫn đến thiếu hụt FSH và LH.

Thiếu FSH đơn thuần: bệnh nhân vẫn có các đặc tính sinh dục phụ, kích thước tinh hoàn bình thường, xét nghiệm nồng độ LH, testosterone bình thường. Do thiếu FSH nên không có hoặc rất ít tinh trùng trong tinh dịch. Điều trị các trường hợp này cần dùng FSH thay thế [35].

Hội chứng Laurence Moon Bandet Biedl: suy sinh dục do thiếu năng hormon hướng sinh dục, viêm võng mạc sắc tố, dị tật bàn tay, bàn chân, chậm phát triển tinh thần trì tuệ.

Tăng prolactin trong máu: Khi prolactin tăng cao có thể ảnh hưởng đến nồng độ một số hormon hướng sinh dục khác gây ra ảnh hưởng đến quá trình sản sinh tinh trùng. Nguyên nhân tăng prolactin máu có thể gặp trong bệnh lý khối u của tuyến yên, do một số thuốc có thể gây tăng và do sang chấn tâm lý [36],[37].

1.1.3.2. Do bất thường di truyền

Hội chứng Klinefelter. được Klinefelter mô tả lần đầu năm 1942 kiểu gen biểu hiện 47XXY, tần xuất gặp khoảng 1/600 trẻ nam sơ sinh. Đây là nguyên nhân phổ biến nhất gây không có tinh trùng không do tắc nghẽn. Bệnh nhân thường có nồng độ hormon hướng sinh dục tăng cao, testosterone thấp, rối loạn cương dương.

Hội chứng XYY: gặp khoảng 1-4/1000 trẻ nam sơ sinh, bệnh nhân có vóc dáng cao thường liên quan đến hành vi ngỗ ngược và phạm tội.

Rối loạn XX: thể trạng bé nhỏ, thiếu năng thần kinh, hai tinh hoàn bé mật độ chắc, dương vật bình thường hoặc nhỏ. Nồng độ FSH, LH cao nhưng Testosterone lại thấp.

Hội chứng Noonan: bệnh nhân có bộ NST giống hội chứng Turner 45X0 nhưng một đoạn NST Y dính vào một trong số các NST. Biểu hiện tinh hoàn nhỏ, testosterone thấp, FSH và LH tăng cao.

Một số các bất thường khác: nguyên nhân di truyền có thể gặp rất nhiều bệnh lý khác như hội chứng Down, hoặc một số các bất thường cấu trúc NST tuy nhiên hiếm gặp.

1.3.1.3. Bệnh lý tinh hoàn

Tinh hoàn lạc chỗ: Vị trí tinh hoàn lạc chỗ có thể gặp ở ổ bụng, trong ống bẹn. Điều trị các trường hợp này bằng phẫu thuật nếu tinh hoàn lạc chỗ kèm theo thoát vị bẹn, thoát vị đùi, ngoài ra có thể điều trị bằng hCG trong những năm đầu sau đẻ, nếu sau hai tuổi mà chưa xuống thì phải phẫu thuật vì để lâu có thể gây vô sinh [38].

Không có tinh hoàn bẩm sinh: không có tinh hoàn có thể hai bên (0,005% các trường hợp) hoặc một bên (0,02%). Nếu không có tinh hoàn hai bên biểu hiện bệnh giống như hoạn quan, không có các đặc tính sinh dục phụ như hệ lông tóc không phát triển, giọng nói giống nữ giới, bộ phận sinh dục không

phát triển. Ngược lại không có tinh hoàn một bên thì tinh hoàn bên kia sẽ phát triển bù trừ do vậy vẫn phát triển các đặc tính sinh dục phụ, có khi vẫn phát triển bình thường và không bị vô sinh.

Do viêm tinh hoàn: bệnh quai bị biến chứng có thể gây viêm teo tinh hoàn hai bên, đặc biệt là mắc bệnh trong độ tuổi dậy thì, kết quả là bị vô sinh không có tinh trùng. Giang mai, lậu nếu không được điều trị đúng cũng có thể gây viêm tinh hoàn, không có tinh trùng trong tinh dịch.

Giãn tĩnh mạch thừng tinh: là sự giãn và xoắn thành từng búi của tĩnh mạch tinh đoạn trong thừng tinh. Cho đến nay, cơ chế bệnh sinh gây tổn thương tinh hoàn ở bệnh nhân GTMTT vẫn chưa rõ, có thể do nhiều yếu tố gây ra trong đó giả thuyết do tăng nhiệt độ ở bìu (làm nhiệt độ tinh hoàn tăng lên 0,6-0,8°C) được chấp nhận nhiều nhất. Ngoài ra còn một số giả thuyết ít được chấp nhận như: trào ngược các chất chuyển hóa từ tuyến thượng thận - thận vào tĩnh mạch tinh, ứ đọng máu tĩnh mạch, tăng prostaglandine hoặc catecholamine trong tĩnh mạch tinh.

1.3.2. Không có tinh trùng do tắc nghẽn.

1.3.2.1. Tắc nghẽn trong tinh hoàn

Tắc nghẽn trong tinh hoàn chiếm khoảng 15% các trường hợp, có thể là do bẩm sinh nhưng hay gặp hơn là do viêm nhiễm và chấn thương, nếu do nguyên nhân viêm nhiễm hoặc chấn thương thì thường kèm theo cả tắc nghẽn ở mào tinh và đường dẫn tinh [39]. Vị trí tắc trong tinh hoàn có thể gặp ở các ống sinh tinh hoặc tắc ở lưới tinh. Tùy theo mức độ tổn thương ít hay nhiều, một bên hay hai bên mà có thể gây ra không có tinh trùng hoặc ít tinh trùng (*Oligozoospermia*).

Hội chứng xoắn quá mức ống sinh tinh (hypercuration syndrome): được Averbach và Wight mô tả lần đầu năm 1979. Người ta cũng không rõ bệnh mắc phải hay do di truyền, các ống sinh tinh xoắn quá mức làm cho ở

những điểm xoắn này dễ bị tắc nghẽn. Tuy nhiên thường không xoắn hoàn toàn tất cả các ống sinh tinh do vậy nên bệnh nhân thường bị ít tinh trùng. Chẩn đoán bằng sinh thiết tinh hoàn. Điều trị các trường hợp này chỉ bằng phương pháp chọc hút tinh hoàn làm IVF/ICSI [40].

Tắc lưới tinh (rete testis obstruction) được Guerin mô tả lần đầu năm 1981 và đến nay được xác định là nguyên nhân gây tắc trong tinh hoàn. Các ống lưới tinh trong trung thất tinh hoàn bị các tổ chức xơ làm tắc lại. Đa số các bệnh nhân này phát hiện thấy kháng thể kháng tinh trùng nên Hendry cho rằng có thể tắc lưới tinh là hậu quả của đáp ứng miễn dịch [41]. Sinh thiết tinh hoàn thường không phát hiện được tổn thương vì tắc ở lưới tinh. Đôi khi có thể quan sát được túi thừa ở ống sinh tinh. Điều trị các trường hợp này cũng bằng phương pháp IVF/ICSI bằng tinh trùng chọc hút từ tinh hoàn.

Một số bệnh lý như dừng sinh tinh nửa chừng, hội chứng chỉ có tế bào Sertoli, đảo lộn sự sắp xếp tế bào dòng tinh, giảm sản nặng quá trình sinh tinh, biến chứng quai bị có hồi phục. Những trường hợp này vẫn có thể tìm thấy tinh trùng khi làm micro TESE, nếu có tinh trùng sống vẫn có thể làm kỹ thuật ICSI cho bệnh nhân.

1.3.2.2. Tắc nghẽn mào tinh

Các nghiên cứu chỉ ra tắc nghẽn mào tinh là vị trí hay gặp nhất chiếm từ 30% đến 67% các trường hợp vô sinh không có tinh trùng. Các bệnh nhân này xét nghiệm FSH trong giới hạn bình thường [3],[40],[41],[42]. Tắc nghẽn bẩm sinh có thể gặp bất thường không có ống dẫn tinh hai bên, trong bệnh lý nhiễm trùng phổi xoang mãn tính (hội chứng Young) cũng có thể bị tắc ống mào tinh đoạn xa [43]. Tắc nghẽn mắc phải thường gặp nhiễm khuẩn do lậu cầu, do nhiễm Chlamydia, khi viêm nhiễm đường tiết niệu sinh dục thì mào tinh là vị trí hay bị tổn thương nhất, sau đó là tuyến tiền liệt, túi tinh và niệu đạo [44],[45]. Ngoài ra các chấn thương cấp hoặc mãn tính cũng có thể làm tắc ống dẫn tinh [46].

Teo bẩm sinh một phần mào tinh: tổn thương này cũng không thường gặp, có thể kèm theo teo một phần ống dẫn tinh. Khám lâm sàng khó phát hiện được các trường hợp này ngoại trừ có thể phát hiện được đầu mào tinh căng, giãn to. Điều trị cũng bằng phương pháp lấy tinh trùng từ mào tinh để làm ICSI.

Viêm mào tinh: có thể gặp ở bất kỳ vị trí nào của mào tinh, thậm chí cả ống dẫn tinh hoặc lưới tinh. Nguyên nhân cũng có nhiều loại khác nhau gây ra như lậu cầu, chlamydia, cytomegalovirus. Bệnh nhân có thể biểu hiện sưng đau tinh hoàn, có thể nổi hạch bẹn. Khám mào tinh có thể có nang ứ dịch.

Chấn thương: các tổn thương như chấn thương, xoắn tinh hoàn hay sau các phẫu thuật ở mào tinh có thể gây tắc nghẽn mào tinh.

Không nối thông giữa ống ra (efferent ductules) và ống mào tinh (epididymal duct): tổn thương này thường rất ít gặp nhưng thường bị hai bên nên gây ra không có tinh trùng. Thăm khám tinh hoàn có thể thấy mào tinh không dính chặt vào tinh hoàn. Điều trị bằng cách chọc hút tinh trùng từ lưới tinh để làm ICSI.

Hội chứng Young: được Young mô tả lần đầu năm 1970. Vào thời gian đó bệnh này khá phổ biến nhưng ngày nay bệnh ít gặp. Biểu hiện viêm phế quản, viêm xoang và không có tinh trùng. Vị trí tắc mào tinh thường gặp đoạn giữa mào tinh. Nguyên nhân của hội chứng này không rõ ràng, có giả thuyết cho rằng có thể do nhiễm độc thủy ngân mạn tính, do đột biến gen hoặc do di truyền vì người ta đã từng gặp trường hợp sinh đôi cùng mắc bệnh.

1.3.2.3. Tắc ống dẫn tinh

Tắc ống dẫn tinh, ống phóng tinh, bệnh lý bẩm sinh không có ống dẫn tinh, hoặc triệt sản bằng phương pháp thắt ống dẫn tinh và một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân sau thắt ống dẫn tinh nối lại ống dẫn tinh. Trong số các bệnh nhân thắt ống dẫn tinh thì có khoảng 5-10% bệnh nhân bị tắc ở mào tinh.

Bất sản ống dẫn tinh hai bên: bất thường này chỉ gặp khoảng 1% các trường hợp vô sinh do nam giới. Nhiều nghiên cứu chứng minh nam giới mắc

bệnh này thường mang gen đột biến xơ hóa dạng nang. Khám lâm sàng không sờ thấy ống dẫn tinh trong thừng tinh, tuy nhiên phải khám cẩn thận vì có thể nhầm ống dẫn tinh với mạch máu trong thừng tinh. Mào tinh trên chỗ tắc thường bị dẫn căng.

Xơ hóa nang: là bệnh di truyền do gen lặn nằm trên NST thường, gen này nằm trên NST số 7. Gen này tổng hợp protein vận chuyển màng, điều hòa hòa sản xuất dịch nhầy của niêm mạc đường hô hấp. Bệnh nhân bị xơ hóa nang biểu hiện nhiễm trùng hô hấp mạn tính, không có tinh trùng.

Do viêm nhiễm: các bệnh viêm nhiễm đường tiết niệu đều có thể gây viêm nhiễm đường dẫn tinh bao gồm cả ống dẫn tinh và mào tinh.

1.3.2.4. Tắc ống phóng tinh

Nguyên nhân có thể không có hoặc teo ống phóng tinh bẩm sinh hoặc do sau viêm nhiễm niệu đạo đoạn tiền liệt tuyến[47].

Tắc nghẽn ống phóng tinh có thể chia thành 2 thể: thể nang và thể hậu viêm. Thể nang thường có nguồn gốc bẩm sinh do sự tồn tại của nang ống Mueller hay xoang niệu dục ống phóng tinh có khi gây vỡ nang làm cho tinh trùng tiếp xúc với máu, tạo thành kháng thể kháng tinh trùng. Thể hậu viêm thường thứ phát sau viêm tiền liệt – niệu đạo cấp, bán cấp hay mạn tính. Clavert và cộng sự cho rằng mào tinh ít có khả năng đề kháng nên khi bị viêm niệu đạo dễ có nguy cơ viêm mào tinh [26].

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

1.3.3.1. Lấy tinh trùng từ mào tinh bằng vi phẫu thuật (*Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration-MESA*)

MESA là phương pháp thu tinh trùng bằng phẫu thuật ở mào tinh, đầu tiên được áp dụng thành công ở những người không tinh trùng do bất sản hai ống dẫn tinh bẩm sinh [45]. Trong kỹ thuật này, tinh hoàn sẽ được bóc lộ và qua đó, tinh trùng từ các ống tuyến trong mào tinh sẽ được thu thập. Theo

thống kê vào năm 1994, khi kết hợp với IVF, MESA cho tỷ lệ có thai vào khoảng 10-14%. Tuy nhiên với ICSI, tỷ lệ này tăng lên khoảng 34-35% [6]. Người ta thấy rằng tỷ lệ thành công trong việc thu được tinh trùng bằng MESA thường từ 90% trở lên [47].

Tuy có một số yếu điểm như tính xâm lấn cao cũng như đòi hỏi người thực hiện phải có kỹ năng thao tác vi phẫu, nhưng khả năng chẩn đoán kèm theo là một ưu thế của kỹ thuật này: cho phép thám sát toàn bộ vùng bìu. Một ưu điểm quan trọng khác là với kỹ thuật này, số lượng tinh trùng thu được nhiều và có thể được trữ lạnh. Kỹ thuật này hiện nay ít được dùng.

1.3.3.2. Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration-PESA)

So với MESA, PESA là một phương pháp ít xâm lấn được Craft và Shrivastav mô tả năm 1994 (PESA) có thể được thực hiện dưới gây tê tại chỗ, với tỷ lệ thành công khoảng 65% [48]. Lợi điểm của PESA là ít xâm lấn, có thể thực hiện được nhiều lần, đơn giản hơn và mẫu tinh trùng thu được thường ít lẫn máu và xác tế bào. Hơn nữa, PESA không cần đòi hỏi kỹ thuật cao, tỷ lệ thành công cũng tương đương với MESA [49]. Nhiều nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh cũng tỷ lệ thai lâm sàng giữa kỹ thuật MESA và PESA.



Hình 1.4. Chọc hút tinh trùng từ mào tinh qua da (PESA) [48]

1.3.3.3. Chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn qua da (Testicular Fine Needle Aspiration-TEFNA)

Năm 1996 Lewin là người đầu tiên mô tả phương pháp chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn [50].

Có nhiều phương pháp để thu được tinh trùng từ tinh hoàn hoặc để chẩn đoán tế bào học. Kỹ thuật chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn được thực hiện qua kim số 21G (hoặc nhỏ hơn), vì thế kỹ thuật này có tên là Testicular Fine Needle Aspiration-TEFNA). Đây là những kỹ thuật đơn giản, dễ thực hiện và có thể không cần gây mê toàn thân.

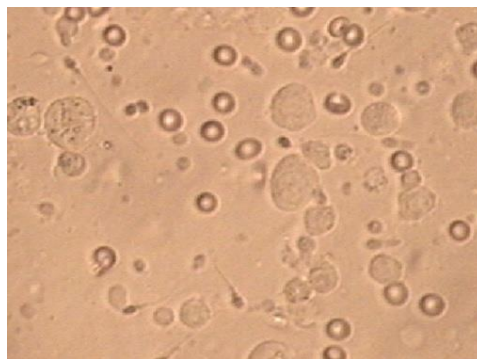
Ở những người sinh tinh bình thường, tỷ lệ thu được tinh trùng là 96% khi sử dụng kỹ thuật TEFNA [6]. Trong một nghiên cứu so sánh hiệu quả giữa TESE và TEFNA, người ta thấy không có sự khác biệt giữa tỷ lệ thụ tinh, phân chia phôi hay tỷ lệ có thai với kỹ thuật ICSI.

1.3.3.4. Lấy tinh trùng từ tinh hoàn bằng phẫu thuật xẻ tinh hoàn (Testicular Sperm Extraction - TESE)

Kỹ thuật này tương tự sinh thiết tinh hoàn trong chẩn đoán. Để có thể thu được tinh trùng trong kỹ thuật này, các mẫu lấy được sẽ được tách nhỏ hoặc được sử dụng một số loại men để tăng khả năng thu được tinh trùng từ các ống sinh tinh như Hyaluronidase, DNAase. Ở những bệnh nhân có rối loạn quá trình sinh tinh, tỷ lệ thu được tinh trùng vào khoảng 50% (Turek và cs, 1999). Một số nghiên cứu cho thấy ở những người có hội chứng Klinefelter (47, XXY), tinh trùng có thể thu được từ khoảng 50% bệnh nhân[6] và ghi nhận đứa bé đầu tiên đã ra đời từ cặp vợ chồng có hội chứng này vào năm 1997. Quá trình sinh tinh diễn ra bất thường và thường xuất hiện rải rác, thành lập từng khu vực có sinh tinh xen lẫn với không sinh tinh. Hơn nữa, một trong những lợi điểm của TESE là có thể trữ lạnh mẫu mô tinh hoàn để sử dụng sau này.



Hình 1.5. Lấy tinh trùng từ tinh hoàn bằng phẫu thuật xẻ tinh hoàn (TESE) [47]



Hình 1.6. Tinh trùng trong dịch mô tinh hoàn [50]

1.4. KỸ THUẬT TRỮ LẠNH TINH TRÙNG TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN

Năm 1776, Spallazani lần đầu tiên báo cáo về khả năng sống sót của tinh trùng sau khi được lưu trữ trong tuyết. Năm 1866 Mategazza đã đưa ra những gợi ý về 1 ngân hàng lưu trữ tinh trùng. Nhưng phải đến năm 1949, khi Pole và đồng sự đã khám phá ra khả năng bảo vệ tế bào ở nhiệt độ thấp của glycerol, thì trữ lạnh tinh trùng mới thực sự trở thành 1 trong những kỹ thuật quan trọng và được phát triển. Từ những năm 70 của thế kỷ trước các ngân hàng tinh trùng đã được thành lập ở nhiều quốc gia Châu Âu, nhằm đem lại cơ hội sinh sản sau này cho các trường hợp phải phẫu thuật thắt ống dẫn tinh [51].

Tại Việt Nam, trữ lạnh tinh trùng được thực hiện ở bệnh viện Từ Dũ lần đầu tiên năm 1995. Năm 2007 Nguyễn Phương Thảo Tiên đã nghiên cứu về bảo quản lạnh sâu mẫu tinh trùng đã được lọc rửa tại Bộ môn Mô Phôi trường Đại học Y Hà Nội. Phạm Thị Thu Thủy năm 2011 và Lê Ngọc Dung năm

2017 cũng nghiên cứu về bảo quản lạnh sâu ở những mẫu nhuọc tinh đã được lọc rửa. Kỹ thuật thu nhận tinh trùng từ mào tinh sử dụng cho ICSI đã được thực hiện thành công, với sự ra đời của em bé đầu tiên vào năm 2002, Trương Thị Thanh Bình năm 2013 đã báo cáo đề tài trữ lạnh tinh trùng chọc hút từ mào tinh và tinh hoàn. Như vậy kỹ thuật trữ lạnh tinh trùng ngày càng phát triển và hoàn thiện, góp phần rất quan trọng nhằm nâng cao tỷ lệ thành công của kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

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

Mục tiêu bảo quản tinh trùng lạnh sâu là tinh trùng sau bảo quản có chất lượng cao nhất. Theo tiêu chuẩn của Hiệp hội Ngân hàng Mô Hoa Kỳ: Tỷ lệ tinh trùng di động sau bảo quản phải đạt được $\geq 50\%$ so với tỷ lệ tinh trùng di động trước bảo quản [52]. Tinh trùng là tế bào nhỏ so với noãn hoặc tế bào phôi, lượng nước của tinh trùng thấp (khoảng 50%) và màng tế bào có tính linh động do có nhiều acid béo không no nên có khả năng sống sót khi nhiệt độ giảm đột ngột. Tuy nhiên, trữ lạnh vẫn có những ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của tinh trùng [53]. 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 [54]. Hiện tượng tái tạo tinh thể sẽ xảy ra ở cả nội và ngoại bào khi nhiệt độ tăng lên dưới dạng những hạt tinh thể nhỏ [55]. Chất bảo quản lạnh chủ yếu được sử dụng trong bảo quản tinh trùng là glycerol, đây là loại chất bảo vệ lạnh có khả năng thẩm qua màng tế bào, làm thay đổi áp suất thẩm thấu, thay thế nước trong tế bào, bên cạnh đó glycerol không tạo thành tinh thể đá nên tránh được tổn thương màng cũng như bào quan của tinh trùng. Tuy nhiên,

việc bổ sung và loại bỏ glycerol trong trữ đông có khả năng ảnh hưởng không tốt đến tinh trùng như: thay đổi tính chất vật lý của tế bào chất (các bào quan, độ nhớt của tế bào chất), thay đổi tính thấm và độ ổn định của lớp màng phospholipid kép, thay đổi protein bề mặt màng, tổn thương acrosom... dẫn tới giảm chất lượng, chết tinh trùng [56]. Có thể hạn chế các tổn thương tinh trùng do đông lạnh bằng các phương pháp như cải thiện chất lượng tinh dịch trước bảo quản lạnh, lựa chọn tinh trùng để bảo quản, sử dụng các chất bảo quản tốt nhất và áp dụng các kỹ thuật làm lạnh - rã đông thích hợp [57]. Nghiên cứu tổn thương do lạnh lên chức năng ty thể, độ di động, hình thái và khả năng sống của tinh trùng, Esteves (2007) đưa ra kết quả: sau khi rã đông, tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường giảm 37% ($p=0,001$), tất cả các thông số di động của tinh trùng đều giảm tương tự, sự hấp thu Rhodamine 123 (chất để đánh giá hoạt động của ty thể) trong ty thể tinh trùng giảm 36% và khả năng sống của tinh trùng giảm 31% [58]. Nghiên cứu của Nguyễn Phương Thảo Tiên (2007) về chất lượng tinh trùng sau bảo quản lạnh đối với các mẫu tinh dịch bình thường cũng cho kết quả tương tự. Tác giả cho biết: khả năng di động, khả năng sống của tinh trùng sau bảo quản lạnh giảm đi có ý nghĩa thống kê ($p<0,001$) so với trước bảo quản lạnh, tỷ lệ bất thường về hình thái vi thể tinh trùng tăng lên sau bảo quản lạnh và thời gian bảo quản lạnh càng dài thì chất lượng tinh trùng càng giảm [59]. Theo Terai K và cộng sự (2010), có mối tương quan nghịch giữa độ di động của tinh trùng và tỷ lệ các chất ức chế di động tinh trùng có trong tinh tương ở các mẫu tinh dịch nhược tinh ($r = - 0,68$, $p<0,05$). Các chất này có thể là nguyên nhân của một số những rối loạn về di động của tinh trùng sau khi hóa lỏng tinh dịch [60]. Zhiling Li và cộng sự (2010) đã chứng minh: bảo quản lạnh gây ra các tổn thương đối với tinh trùng người thông qua giả thuyết về sự hình thành các gốc oxy hóa (ROS). Việc cung cấp ascorbate và catalaza một cách thích hợp vào môi trường bảo quản lạnh có thể ngăn chặn sự hình thành ROS [61]. Năm 2010, Yogev L nghiên cứu ảnh hưởng của bảo quản lạnh lên sự toàn vẹn DNA của tinh trùng của 34 nam giới có khả năng sinh sản

bình thường và 166 nam giới bị vô sinh, trong đó: 80 trường hợp tinh trùng bất thường về hình dạng, 32 trường hợp tinh trùng bình thường, 30 trường hợp nhược tinh - quái tinh và 24 trường hợp bất thường phối hợp thiếu - nhược quái tinh. Tác giả cho biết sự toàn vẹn DNA của tinh trùng sau bảo quản lạnh ở các mẫu tinh dịch bình thường cao hơn đáng kể so với các mẫu tinh dịch bất thường ($p < 0,001$), các mẫu quái tinh và nhược tinh có các mảnh vỡ nhiễm sắc nhiều hơn ở nhóm tinh trùng bình thường [62]. Nghiên cứu của Phạm Thị Thu Thủy (2011) về chất lượng tinh trùng sau bảo quản lạnh đối với các mẫu tinh dịch nhược tinh cũng cho kết quả tương tự [63]. Mặc dù bảo quản lạnh tinh trùng có rất nhiều tiến bộ về quy trình và chất lượng chất bảo quản lạnh nhưng chất lượng tinh trùng sau rã đông vẫn có tỷ lệ lớn tinh trùng chết và mất khả năng di động, đặc biệt là ở những mẫu tinh dịch bất thường. Tỷ lệ tinh trùng sống sau bảo quản lạnh của mẫu tinh trùng bất thường (29%) ít hơn so với các mẫu tinh trùng bình thường (48%). Tuy nhiên, bảo quản lạnh tinh trùng giúp bảo tồn khả năng sinh sản ở bệnh nhân thiếu tinh, nhược tinh hoặc kết hợp thiếu- nhược- quái tinh [64], [65]. 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 dường như là một phương pháp điều trị lý tưởng cho nam giới vô sinh [66].

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

Năm 1985, Temple-Smith và cộng sự báo cáo trường hợp thụ tinh trong ống nghiệm (phương pháp IVF cổ điển) thành công đầu tiên với tinh trùng thu nhận từ mào tinh. Sự kiện này đã mở ra một cơ hội mới cho các bệnh nhân vô tinh. Sau đó, khi kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI) ra đời vào năm 1992, kỹ thuật ICSI với tinh trùng thu được từ mào tinh nhanh chóng được áp dụng trên các bệnh nhân vô tinh. Năm 1993, tinh trùng thu nhận từ mô tinh hoàn đã được sử dụng thành công cho ICSI bởi Schoysman và cộng sự [7].

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 [67], [68].

- Tăng chi phí điều trị.

- Tăng nguy cơ biến chứng (tụ máu bìu)

Đặc biệt, đối với bệnh nhân vô tinh không bế tắc (non-obstructive), 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. Trong khi đó, quy trình kích thích buồng trứng đã được tiến hành. Trữ lạnh tinh trùng sẽ giúp đảm bảo có tinh trùng cho ICSI vào ngày chọc hút trứng. Do đó, nhiều nghiên cứu trữ lạnh tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật đã được tiến hành ngay sau đó [69],[70]. Theo nhiều nghiên cứu trên thế giới, không có sự khác biệt về kết quả thụ tinh khi sử dụng tinh trùng mào tinh hoặc tinh hoàn đông lạnh so với tinh trùng từ mào tinh và tinh hoàn tươi [6],[71]. Riêng đối với tinh trùng từ mô tinh hoàn, có nghiên cứu cho rằng mặc dù tỉ lệ thụ tinh là như nhau nhưng tỉ lệ làm tổ khi sử dụng tinh trùng mô tinh hoàn tươi cao hơn so với sử dụng tinh trùng từ mô tinh hoàn trữ lạnh - rã đông [72]. Vấn đề này gây nhiều tranh cãi và vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu.

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. Mẫu tinh trùng trích xuất từ mào tinh được lọc rửa ở ống nghiệm 5ml được chuẩn bị trước hai lớp thang nồng độ 45% và 90%. Mẫu được quay ly tâm 1500 vòng trong 15 phút. Lấy cặn lọc tinh trùng cho vào trong ống nghiệm 5 ml có sẵn 1 ml IVF (Vitrolife), quay ly tâm 1500 vòng trong 5 phút, hoặc chỉ rửa đơn thuần với môi trường nuôi cấy. Cặn ly tâm được bổ sung chất bảo quản, rồi được cho vào ống trữ lạnh (cryovial) hoặc cọng rạ (straw)... và để cân bằng ở nhiệt độ phòng khoảng 10-15 phút trước khi trữ lạnh. Trữ lạnh tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật thường được thực hiện với nhiều đơn vị bảo quản để có thể kiểm tra được khả năng sống của tinh trùng sau rã đông trước khi tiến hành chọc hút noãn. Trong trường hợp không có tinh trùng sống sau rã đông, có thể tiến hành một trong các lựa chọn sau: lặp lại quy trình phẫu thuật thu tinh trùng, xin tinh trùng, trữ đông noãn.

1.5. QUY TRÌNH PHƯƠNG PHÁP PESA/ICSI SỬ DỤNG TINH TRÙNG ĐÔNG LẠNH

Thụ tinh trong ống nghiệm bằng phương pháp PESA/ICSI là một phương pháp hiệu quả để điều trị các trường hợp vô sinh do chồng không có tinh trùng trong mẫu tinh dịch, nhưng vẫn chọc hút được tinh trùng từ mào tinh. Mẫu tinh trùng sau khi chọc hút từ mào tinh nếu đủ điều kiện sẽ được đông lạnh lại để sử dụng cho kỹ thuật ICSI mà người chồng không cần phải chọc hút lại, giảm nguy cơ tai biến, giảm áp lực tâm lý, giảm giá thành cho bệnh nhân.

Các bước điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI bao gồm kích thích buồng trứng, chọc hút noãn, rã đông tinh trùng, tiêm tinh trùng vào bào tương noãn, nuôi cấy phôi, chuyển phôi, hỗ trợ hoàng thể sau chuyển phôi.

1.5.1. Kích thích buồng trứng

Cũng giống như chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm thông thường, mục đích kích thích buồng trứng trong PESA/ICSI nhằm thu được nhiều nang noãn, nhiều phôi để làm tăng tỷ lệ thành công. Có nhiều phác đồ kích thích buồng trứng.

Phác đồ dài được sử dụng chất đồng vận (GnRHa) để ức chế tuyến yên, sau đó kích thích buồng trứng bằng Gonadotropin ngoại sinh (FSH). Trong phác đồ ngắn, FSH được sử dụng sau khi dùng GnRHa một vài ngày. Trong phác đồ đối vận, antagonist được sử dụng nhằm mục đích tránh đỉnh LH sớm.

Theo dõi trong quá trình kích thích bằng siêu âm và định lượng estradiol huyết thanh (E2). Khi có ít nhất 2 nang kích thước 18mm sẽ tiêm hCG trưởng thành noãn.

1.5.2. Chọc hút noãn và chuẩn bị noãn.

Noãn được chọc hút qua đường âm đạo dưới hướng dẫn siêu âm, sau mũi tiêm hCG 34 - 36 tiếng. Dịch nang chuyển vào phòng Lab để nhặt noãn dưới kính hiển vi đảo ngược.

Ủ noãn khoảng 2 giờ. Tách tế bào hạt ra khỏi noãn. Đánh giá chất lượng noãn trước khi làm ICSI.

Noãn sau khi được chọc hút sẽ ủ trong 2-3 giờ. Tách tế bào hạt xung quanh bằng enzyme hyaluronidase, có tác dụng làm bong các tế bào hạt ra khỏi noãn. Tách tế bào hạt giúp đánh giá chất lượng noãn và làm ICSI dễ dàng.

Đánh giá độ nguyên vẹn, độ trưởng thành của noãn. Chỉ có noãn metaphase II (MII) mới có thể tiến hành làm ICSI. Nhận định noãn MII là noãn không có nang mầm và cực cầu I đã bị đẩy ra ngoài.

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

Tinh trùng PESA đông lạnh từ trước được rã đông vào sáng ngày chọc hút noãn của vợ, lấy ống chứa mẫu tinh trùng ra khỏi bình trữ cho vào nước ấm 37°C và để cho rã đông trong thời gian 10 – 15 phút. Tùy theo chất lượng mẫu mà lọc hoặc rửa lại để loại bỏ chất bảo quản trước khi làm ICSI. Cặn được soi dưới vật kính 10 kính hiển vi đảo ngược đánh giá lại chất lượng tinh trùng xem có đủ để làm ICSI cho bệnh nhân hay không. Nếu tinh trùng sau rã đông không đủ hoặc chết toàn bộ, tiến hành chọc hút lại mào tinh để lấy tinh trùng tươi làm ICSI cho bệnh nhân.

1.5.4. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) [73].

1.5.4.1. Kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn.

Trước khi kỹ thuật ICSI được giới thiệu thì một loạt các kỹ thuật hỗ trợ thụ tinh được báo cáo, bao gồm kỹ thuật vi thao tác phẫu tích một phần màng zona (partial zona dissection - PZD), kỹ thuật tiêm tinh trùng vào dưới màng zona (subzonal sperm injection - SUZI). Tuy nhiên kết quả của các kỹ thuật này không được khả quan nên ít được áp dụng và ngày nay không còn được thực hiện nữa [74],[75],[76],[77],[78],[79].

Kỹ thuật ICSI được Palermo giới thiệu lần đầu tiên năm 1992, từ đó đến nay kỹ thuật này được áp dụng một cách rộng rãi tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản trên thế giới. Chỉ định của kỹ thuật cũng được mở rộng nhiều đặc biệt là các trường hợp vô sinh nam [80],[81].

Kỹ thuật được tiến hành trên kính hiển vi có gắn hệ thống vi thao tác. Noãn đã được tách tế bào hạt, đặt trên đĩa ICSI và giữ bằng kim giữ sao cho cực dưới noãn tiếp xúc với đáy đĩa, cực cầu nằm ở vị trí 6 giờ hoặc 12 giờ nhằm tránh làm tổn thương thoi vô sắc khi chọc kim vào bào tương noãn.

Tinh trùng được hút vào kim tiêm noãn, bơm đẩy ra sát phía đầu kim. Đẩy kim tiêm vào thẳng màng bào tương noãn, khi đầu kim tiêm vào đến khoảng giữa noãn thì màng noãn sẽ bị thủng (quan sát thấy màng noãn vị trí chọc kim rung lên, bào tương và tinh trùng bị đẩy ngược trở lại lòng kim tiêm).

Bơm tinh trùng vào bào tương noãn Sau khi rút kim, quan sát lại chỗ chọc, vị trí chọc phải có hình nón với đỉnh nón quay vào phía trong noãn, nếu quan sát thấy đỉnh nón quay ra ngoài thì nguy cơ bào tương noãn sẽ bị rò rỉ qua lỗ chọc [82],[83].

1.5.4.2. Kiểm tra thụ tinh sau làm ICSI, chuyển phôi và theo dõi.

Khoảng 12 đến 17 giờ sau khi thực hiện ICSI sẽ kiểm tra sự thụ tinh, số lượng và kích thước tiền nhân. Đánh giá sự phân chia của phôi sau 24 giờ, số lượng và kích thước các phôi bào [82].

Đánh giá sự phát triển phôi vào ngày 1, 2 về số lượng phôi bào, độ đồng đều, các mảnh vỡ. Chuyển phôi vào ngày 2 hoặc ngày 3. Phôi dư thừa sẽ được trữ lạnh. Hỗ trợ hoàng thể sau chuyển phôi. Xác định có thai bằng xét nghiệm β hCG >25 IU/l sau chuyển phôi 2 tuần. Thai lâm sàng khi siêu âm có túi thai, âm vang và tim thai.

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.

1.6.1.1. Vị trí thu nhận tinh trùng.

Tournaye lần đầu tiên vào năm 1994 thực hiện thành công trích tinh trùng từ mào tinh để thực hiện ICSI. Theo Goldstein (2002) và Nicopoullos (2004), PESA có thể gây tổn thương nhiều mào tinh do chọc hút mù và số lượng tinh trùng hút được thường không đủ để trữ lạnh [84],[85],[86]. Tuy nhiên, theo Nguyễn Thành Như và Mineru, Dohle (1998), PESA nên là kỹ thuật ưu tiên hàng đầu vì PESA có chi phí thấp hơn phẫu thuật mở và không cần rạch da, vẫn đáp ứng được mục tiêu lấy tinh trùng và không đòi hỏi kinh nghiệm phẫu thuật bìu của một bác sỹ tiết niệu [87],[88],[89],[90].

Thành công của PESA (hút có tinh trùng) là 80,6% theo Nguyễn Thành Như (2005), 89% theo Craft và 62% theo Dohle (1998). Những trường hợp thất bại chúng ta dễ dàng chuyển sang TESE.

Mục tiêu của thu nhận tinh trùng là nhằm thu được tinh trùng chất lượng tốt nhất có thể, số lượng tinh trùng đủ để thực hiện ICSI ngay tức thì và đủ để trữ lạnh dành cho những lần ICSI sau. Trong những trường hợp vô tinh, tinh trùng có thể trích từ ống dẫn tinh, mào tinh hay tinh hoàn. Tinh trùng từ ống dẫn tinh thường “già”, nhiều khả năng ADN bị hư hại nên kỹ thuật này ít được thực hiện. Tinh trùng di động tốt nhất là tại mào tinh. Tinh trùng tại tinh hoàn thường là non, nhưng vẫn có tinh trùng di động cho dù FSH cao và tinh

hoàn nhỏ. Palermo và cs 1999 đã so sánh 44 chu kỳ ICSI với tinh trùng từ mào tinh với 106 chu kỳ từ tinh hoàn thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai lâm sàng. Tương tự Janzen và cs 2000 cũng cho kết quả tương tự không có sự khác biệt về tỉ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai và tỷ lệ sinh sống giữa nhóm tinh trùng từ mào tinh và tinh hoàn lần lượt là: 78,2% - 76,9%, 67% - 61%, 57% - 51%. Nicopoullos và cs năm 2004 nghiên cứu 127 chu kỳ sử dụng tinh trùng từ mào tinh và 27 chu kỳ từ tinh hoàn thấy rằng không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh (49% và 46%), tỷ lệ làm tổ (13% và 11%), tỷ lệ thai lâm sàng (25% và 22%), tỷ lệ trẻ sinh sống (18% và 13%) [91].

1.6.1.2. Nguyên nhân vô tinh.

Vô tinh do tắc nghẽn thường quá trình sinh tinh bình thường nên nhiều khả năng chọc hút được tinh trùng di động, vô tinh không do tắc nghẽn thường phức tạp hơn [92],[93],[94],[95]. Có nhiều nghiên cứu đưa ra những kết luận khác nhau. Tarlatzin và cs 1998 cho rằng tỷ lệ thụ tinh có xu hướng giảm ở nhóm không tắc nghẽn so với nhóm tắc nghẽn. Tương tự Mansour 2005 so sánh kết quả ICSI sử dụng tinh trùng từ tinh hoàn ở nhóm không tắc nghẽn thấy tỷ lệ làm tổ thấp hơn có ý nghĩa 13,4% so với 24,5% ở nhóm không tắc nghẽn, tuy nhiên tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng không khác biệt [96]. Ngược lại Imad. M và cs năm 1998 đã nghiên cứu 28 bệnh nhân do thiếu năng tinh trùng, 19 bệnh nhân tắc nghẽn, 30 bệnh nhân không có tinh trùng không do tắc nghẽn thấy tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng ở cả 3 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê [97].

Theo nghiên cứu của Sandro C. Esteves và Ashok Agarwal (2013) so sánh giữa các nhóm tinh trùng OA, tinh trùng NOA và tinh trùng xuất tinh: tỉ lệ sinh sống ở nhóm NOA thấp hơn có ý nghĩa thống kê (21,4%) so với nhóm OA (37,5%) và tinh trùng xuất tinh (32,3%) [98]. Tương tự, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0.001$) về tỉ lệ thai lâm sàng giữa các nhóm: 48,9% (OA), 28,6% (NOA) và 41,7% (xuất tinh). Không có sự khác biệt về tuổi thai, sinh non, trọng lượng thai, sẩy thai, thai ngoài, đa thai giữa các nhóm. Tỉ lệ tử

vong chu sinh và dị tật bẩm sinh lần lượt 2,8% và 1,6% và không khác biệt giữa các nhóm. Theo tổng quan 20 nghiên cứu cũng của Esteves và Agarwal cho thấy không khác biệt hoặc có giảm kết cục có thai khi so sánh OA và NOA. Nhìn chung, phần lớn không có sự khác biệt kết cục chu sinh (ngắn hạn) và tỉ lệ dị tật bẩm sinh ở những trẻ có cha OA và NOA.

Theo Nicopoullou và cs (2004) thực hiện một phân tích gộp từ 10 báo cáo (734 chu kì: 677 ca chuyển phôi) cho thấy tăng đáng kể tỉ lệ thụ tinh (relative risk [RR] 1.18; 95% confidence interval (CI):1.13-1.23) và thai lâm sàng (RR 1.36; 95% CI:1.10-1.69) nhưng không khác biệt về tỉ lệ thai tiến triển ở nam giới OA so với NOA.

1.6.1.3. Tuổi của người chồng

Đối với những cặp vợ chồng lớn tuổi tỷ lệ có thai giảm đồng thời nguy cơ trong quá trình mang thai tăng theo độ tuổi, vì vậy đánh giá ảnh hưởng tuổi của người chồng trong trường hợp không có tình trùng do tắc nghẽn đến kết quả TTTON là rất quan trọng. Một số nghiên cứu cho rằng không có mối liên quan giữa tuổi của người chồng tới tỷ lệ có thai sau khi giới hạn tuổi của người vợ trong kỹ thuật ICSI. Tuy nhiên khi tuổi của người chồng tăng thì chức năng của mào tinh sẽ giảm dần và mảnh vỡ DNA của tinh trùng sẽ tăng khi lưu trữ trong mào tinh. Một nghiên cứu thấy rằng với trường hợp vô sinh do tắc nghẽn, sử dụng tinh trùng từ mào tinh thì tỷ lệ có thai lâm sàng, tỷ lệ bé em bé về nhà giảm có ý nghĩa thống kê. Theo nghiên cứu của Yang Yu (2017) với tuổi của người chồng dưới 35 thì tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai lâm sàng không khác nhau khi sử dụng tinh trùng từ mào tinh hay tinh hoàn, với người chồng trên 35 tuổi thì tỷ lệ phôi tốt giảm nhưng tỷ lệ làm tổ cao có ý nghĩa thống kê khi sử dụng tinh trùng từ tinh hoàn so với mào tinh [99]. Samir Elhanbly (2015) nghiên cứu trên 85 bệnh nhân bất sản ống dẫn tinh 2 bên làm ICSI với tinh trùng chọc hút từ mào tinh được chia làm 3 nhóm tuổi < 30 tuổi, 30 - 40 tuổi và > 40 tuổi. Ông thấy rằng số lượng tinh trùng chọc hút giảm (0,63 triệu, 0,31 triệu, 0,18 triệu),

tỷ lệ có thai lâm sàng giảm (55,5%, 43,7%, 23,1%), tỷ lệ bé em bé về nhà cũng giảm (48,1%, 40,6%, 11,5%) có ý nghĩa thống kê khi tuổi người chồng tăng với $p < 0,01$ [100]. Mathieu, Klonoff, và Ford cũng kết luận tương tự là tỷ lệ có thai lâm sàng giảm khi tuổi người chồng tăng [101],[102],[103].

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

1.6.2.1. Nguyên nhân vô sinh

Theo Hédon, nhóm nguyên nhân tắc vòi tử cung tỷ lệ có thai cao nhất, nhóm nguyên nhân vô sinh do chồng có tỷ lệ thụ tinh và phân chia phôi thấp hơn nhóm chồng có tinh dịch đồ bình thường. Nhóm bệnh nhân đáp ứng buồng trứng kém tỷ lệ có thai thấp hơn nhóm đáp ứng bình thường [104].

French và cộng sự 2009 nghiên cứu các cặp vợ chồng làm ICSI vì bất thường hình thái tinh trùng đã kết luận khi chọn tinh trùng hình thái bình thường thì phôi sau thụ tinh phát triển hoàn toàn bình thường [105].

Ngoài ra một số nguyên nhân vô sinh khác như lạc nội mạc tử cung, tử cung có nhân xơ cũng làm giảm tỷ lệ có thai.

1.6.2.2. Thời gian vô sinh

Thời gian vô sinh ảnh hưởng đến kết quả điều trị, thời gian vô sinh càng lâu thì tỷ lệ thành công trong điều trị vô sinh càng giảm. Theo Erwin Rabaw và cs thì thời gian lập gia đình đến khi điều trị trong khoảng 3 năm thì kết quả điều trị vô sinh đạt tỷ lệ 50%, còn từ 3-5 năm thì tỷ lệ giảm còn 25%. Vì vậy cần phải cung cấp thông tin về sức khỏe sinh sản tới cộng đồng người dân giúp cho các cặp vợ chồng có hiểu biết đúng đắn, để quyết định thời điểm đi khám và điều trị vô sinh càng sớm càng tốt.

1.6.2.3. Tuổi của người phụ nữ

Tuổi là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến cơ hội có thai của người phụ nữ, khoảng 11% phụ nữ không có thai sau 34 tuổi, 33% không có con sau 40 tuổi, 87% sẽ không có con sau 45 tuổi [106]. Tuổi cũng là một trong những

yếu tố quan trọng để đánh giá và tiên lượng đáp ứng buồng trứng. Tuổi càng cao thì dự trữ của buồng trứng càng giảm, do đó đáp ứng với các thuốc kích thích buồng trứng giảm thể hiện ở nồng độ FSH tăng, nồng độ AMH giảm, AFC giảm và pha nang noãn ngừng lại sẽ ảnh hưởng đến kết quả kích thích buồng trứng. Chất lượng noãn kém làm ảnh hưởng đến chất lượng phôi nên khả năng có thai giảm [107]. Tuy nhiên tuổi không được coi là nguyên nhân của vô sinh bởi vì tuổi thể hiện tình trạng sinh lý hơn là tình trạng bệnh lý [108]

Nhiều nghiên cứu đã kết luận tuổi của phụ nữ ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ có thai trong TTTON, về mặt sinh học tuổi thích hợp để một người phụ nữ có thai là trong khoảng 20 đến 30 tuổi, trên 30 tuổi khả năng có thai bắt đầu giảm đi và đặc biệt sau 35 tuổi khả năng có thai giảm đi rất nhanh chưa kể đến tỷ lệ mang thai bất thường cũng tăng lên. Nghiên cứu của Yeung W.S (2007) cho thấy tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ thai tiến triển cao hơn ở những người phụ nữ dưới 35 tuổi và tỷ lệ sảy thai cao hơn ở những người trên 35 tuổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [109], Eftekhari M (2014) cũng nhận thấy tuổi mẹ là yếu tố ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai lâm sàng cao hơn có ý nghĩa thống kê ở phụ nữ dưới 35 tuổi so với trên 35 tuổi (57,7% so với 29,2%) [110].

Cho đến nay người ta thấy rằng tỷ lệ thành công giảm chủ yếu do giảm đáp ứng của buồng trứng với Gonadotropin dẫn đến giảm số noãn thu được, giảm tỷ lệ làm tổ do chất lượng noãn kém, thêm vào đó là nguy cơ thai bất thường cũng tăng cao có ý nghĩa ở phụ nữ lớn tuổi. Sự phát triển của NMTC không thích hợp cho sự làm tổ và phát triển của phôi.

1.6.2.4. Số lượng và chất lượng phôi chuyển vào buồng tử cung

Số lượng và chất lượng phôi chuyển là yếu tố quan trọng nhất quyết định sự thành công của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. Một số nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng: số lượng phôi chuyển càng nhiều thì tỷ lệ có thai càng cao đồng thời tỷ lệ đa thai cũng tăng. Các chứng cứ cho thấy tỷ lệ có thai giảm khi

chất lượng phôi chuyển giảm. Tỷ lệ có thai giảm từ 53,8% ở bệnh nhân có ít nhất 1 phôi tốt xuống còn 26.3% ở những bệnh nhân không có phôi tốt [111]. Theo nghiên cứu của Lê.T.Phương Lan và Cs (2007) thì các bệnh nhân không có phôi tốt tỷ lệ có thai giảm còn 3,7% so với 19,3% khi có ≥ 2 phôi tốt [112].

1.6.2.5. Hình ảnh và độ dày của NMTC

Sự thành công của kỹ thuật TTTON phụ thuộc vào hai yếu tố quan trọng nhất là chất lượng phôi và sự sẵn sàng đón phôi về làm tổ của nội mạc tử cung. Việc đánh giá chất lượng nội mạc tử cung trực tiếp trước khi chuyển phôi gặp phải nhiều khó khăn. Đo độ dày nội mạc tử cung là phương pháp đánh giá gián tiếp chất lượng của niêm mạc. Nhiều tác giả đã tập trung nghiên cứu về vai trò của độ dày nội mạc tử cung lên kết quả điều trị TTTON, tuy nhiên đặc điểm chung trong kết quả của các nghiên cứu này đó là sự mâu thuẫn trong khả năng tiên lượng cũng như giá trị ngưỡng có thể sử dụng để tiên lượng cho bệnh nhân [113].

Một số nghiên cứu trước đó chỉ ra rằng tỷ lệ có thai giảm rõ rệt khi độ dày NMTC $< 8\text{mm}$. Nghiên cứu của Vương Thị Ngọc Lan (2002) cũng cho thấy độ dày NMTC ở nhóm có thai dày hơn nhóm không có thai với $p < 0,01$. Tuy nhiên một số nghiên cứu lại cho kết quả không có sự khác biệt về độ dày NMTC giữa hai nhóm có thai và không có thai với $p > 0,05$ [114].

Hồ Ngọc Anh Vũ và cs (2017) nghiên cứu hồi cứu trên 8120 chu kỳ chuyển phôi với 4417 chu kỳ chuyển phôi tươi và 3703 chu kỳ chuyển phôi đông lạnh thấy rằng độ dày nội mạc tử cung có liên quan với tỷ lệ có thai diễn tiến ở cả các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi trữ trong TTTON với giá trị ngưỡng lần lượt là 11mm và 9mm [115]. Tuy nhiên giá trị ngưỡng trong các nghiên cứu trước đây tìm thấy là 8mm (Kasius và cs 2014; Fang và cs 2016; Yuang và cs 2016; Ma và cs (2017) [113],[116],[117],[118].

Hình dạng NMTC cũng là yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả có thai trong TTTON. Kết quả một số nghiên cứu cho kết quả khác nhau: có nghiên cứu thấy rằng tỷ lệ lâm sàng cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm NMTC có hình dạng 3 lá với $p < 0,05$. Nhưng cũng có nghiên cứu lại thấy không có sự khác biệt.

1.6.2.6. Kỹ thuật chuyển phôi

Kỹ thuật chuyển phôi là khâu cuối cùng trong quy trình TTTON và là khâu cũng rất quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả có thai trong TTTON sử dụng tinh trùng đông lạnh thu nhận từ phẫu thuật. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy: chuyển phôi dễ, sạch thì tỷ lệ có thai cao hơn hẳn chuyển phôi khó và catheter có máu hoặc nhày.

Khảo sát ảnh hưởng của kỹ thuật chuyển phôi, tại trung tâm hỗ trợ sinh sản bệnh viện Phụ sản Trung ương (2005) phân tích 868 trường hợp IVF/ICSI cho thấy tỷ lệ có thai giảm đáng kể từ 33,6% xuống 19,2% khi so sánh các trường hợp chuyển phôi dễ với chuyển phôi khó [119]. Mansour (1994) cũng đưa ra kết luận tương tự với tỷ lệ 20% và 4%.

1.7. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM VỚI TINH TRÙNG THU NHẬN TỪ PESA

Trong bối cảnh chung của xã hội hiện đại, tình trạng sức khỏe sinh sản trong cộng đồng đã có những biến đổi rõ rệt. Ở nam giới, khả năng sinh sản được đánh giá dựa vào tinh dịch đồ. Trong đó, vô tinh là nguyên nhân của 10 – 20% các trường hợp có bất thường về tinh dịch đồ. 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 PESA 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 PESA vẫn tồn tại nhiều nguy cơ (ví dụ: tổn thương không

phục hồi ở mào tinh) và bất lợi cho bệnh nhân (áp lực tâm lý, tăng chi phí điều trị...) nếu phải lặp lại quy trình nhiều lần. Do đó, kỹ thuật ICSI với tinh trùng thu nhận từ PESA tươi hoặc đông lạnh – rã đông 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.

Từ đó cho đến nay có rất nhiều nghiên cứu về phương pháp điều trị vô sinh do nam không có tinh trùng. Có rất nhiều phương pháp trích xuất tinh trùng trong các trường hợp này. Một số tác giả nghiên cứu trích xuất tinh trùng từ mào tinh [104],[105], một số nghiên cứu trích xuất tinh trùng từ tinh hoàn. Có tác giả chủ trương phẫu tích mở tinh hoàn hoặc mào tinh nhưng cũng có những tác giả nghiên cứu phương pháp chọc hút bằng kim nhỏ tránh làm tổn thương. Một số nghiên cứu khẳng định phương pháp chọc hút từ mào tinh có hiệu quả, nhanh, ít bị tổn thương, nhưng một số nghiên cứu cũng kết luận trích rạch tinh hoàn cũng cho tỷ lệ thành công cao.

Theo hướng dẫn của hiệp hội sinh sản Hoa kỳ (ASRM) thì việc lựa chọn phương pháp trích xuất tinh trùng nào phụ thuộc vào sở thích và kinh nghiệm của bác sỹ điều trị, vào phương pháp mà các nhà mô phôi học áp dụng trong phòng thí nghiệm. Nói chung tỷ lệ thành công không phụ thuộc vào phương pháp và vị trí lấy tinh trùng. Phương pháp nào cũng có thể lấy đủ tinh trùng để cho thụ tinh với noãn [81].

1.7.1. Các nghiên cứu trên Thế giới

Tournaye lần đầu tiên vào năm 1994 thực hiện thành công trích tinh trùng từ mào tinh để thực hiện ICSI. Theo Goldstein (2007) và Nicopoulllos (2004) PESA có thể gây tổn thương nhiều mào tinh do chọc mù và số lượng tinh trùng hút được không đủ để trữ lạnh [85],[89]. Tuy nhiên theo Nguyễn Thành Như (2005), Mineru Dohle (1998), PESA nên là kỹ thuật ưu tiên hàng đầu vì có chi phí thấp hơn phẫu thuật mở và không cần rạch da vẫn lấy được tinh trùng, có thể lặp lại nhiều lần mà vẫn hiệu quả [88],[90].

Năm 1995, Nagy Z thực hiện 59 chu kỳ tiêm tinh trùng lấy từ chọc hút mào tinh qua da vào bào tương noãn trên 54 bệnh nhân không có tinh trùng do thất bại khi nối ống dẫn tinh, không có ống dẫn tinh bẩm sinh, liệt dương và suy một phần tinh hoàn. Tỷ lệ có thai là 30,5% trên số chu kỳ KTBT và 33,3% trên số chu kỳ chuyển phôi, tỷ lệ làm tổ là 14,2%. Tác giả đã kết luận PESA là phương pháp chọc hút tinh trùng trong các trường hợp không có tinh trùng do tắc nghẽn đơn giản, hiệu quả an toàn, ít gây biến chứng như các phương pháp phẫu thuật mở [120].

Colpi và cộng sự (2010) nhận thấy kỹ thuật PESA khả năng thu nhận được tinh trùng khoảng 70%, thủ thuật này có thể tiến hành lại vẫn lấy được tinh trùng di động và khả năng thụ tinh tương đương lần chọc hút đầu tiên [121].

Năm 2002 Grégory Garia và cộng sự báo cáo thực hiện 71 chu kỳ IVF/ICSI cho 42 cặp vợ chồng vô sinh không có tinh trùng, 49 chu kỳ thực hiện với tinh trùng lấy từ mào tinh, 22 chu kỳ với tinh trùng lấy từ tinh hoàn. Cả hai phương pháp trích xuất tinh trùng đều bằng phẫu thuật mở. Tỷ lệ thụ tinh tương ứng là 88% và 68%. Kết quả có 13 trường hợp có thai trong tổng số 71 chu kỳ điều trị đạt 18,3% [122].

Năm 2004 Lin YH nghiên cứu 56 cặp vợ chồng vô sinh không có tinh trùng. Tác giả so sánh kết quả giữa hai nhóm sử dụng tinh trùng trữ lạnh và tinh trùng tươi. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ có thai ở nhóm tinh trùng trữ lạnh lần lượt là 71,6%, 14,0% và 40,6%, còn ở nhóm sử dụng tinh trùng tươi là 69,2%, 13,2% và 41,2% không có sự khác biệt giữa hai nhóm. Tác giả kết luận tinh trùng chọc hút bằng phương pháp PESA có đủ để trữ lạnh/rã đông trước khi làm thụ tinh trong ống nghiệm [123].

Nicopoulos và cs năm 2004 cũng nghiên cứu 64 và 90 chu kỳ sử dụng tinh trùng tươi và đông lạnh từ mào tinh, kết quả cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh (48% và 48%), tỷ lệ làm tổ (15% và 12%), tỷ lệ thai lâm sàng (23% và 26%) hay tỷ lệ sinh sống (18% và 17%).

Năm 2008 Naru nghiên cứu 517 cặp vợ chồng được điều trị bằng phương pháp ICSI của ba nhóm lấy tinh trùng từ mào tinh (69 trường hợp), tinh hoàn (47 trường hợp) và từ mẫu xuất tinh (421 trường hợp tinh trùng ít và bình thường). Kết quả cho thấy tỷ lệ có thai tương ứng là 43,5%, 36,2% và 41,4%. Tỷ lệ sảy thai tương ứng là 16,7%, 23,5%, và 12,1%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ có thai cũng như sảy thai giữa các nhóm với $p > 0,05$ [124].

Năm 2012 Wael Jamal và cs đã so sánh 81 chu kỳ ICSI sử dụng tinh trùng từ mẫu xuất tinh với 41 chu kỳ tinh trùng lấy từ phẫu thuật (30 PESA và 14 TESE). Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi, tỷ lệ có thai giữa hai nhóm [125].

Jacson R.Kovac năm 2014 đã nghiên cứu 68 cặp vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn trong đó 51 chu kỳ thực hiện PESA, 17 chu kỳ sinh thiết tinh hoàn. Tác giả nhận thấy 100% chu kỳ PESA thu nhận được tinh trùng và 40 chu kỳ có tinh trùng đông lạnh, tỷ lệ thụ tinh và có thai là 77,7% và 48,6%, 11 chu kỳ sử dụng tinh trùng đông lạnh thì tỷ lệ thụ tinh và có thai là 73,6% và 54,5%. Tác giả kết luận PESA là kỹ thuật hiệu quả, đơn giản và an toàn để thu được tinh trùng và không có sự khác biệt khi sử dụng tinh trùng tươi hay đông lạnh khi thực hiện ICSI [126].

Không chỉ dừng lại ở kỹ thuật trích xuất tinh trùng/tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. Các tác giả còn tiếp tục nghiên cứu trữ lạnh mẫu tinh trùng để sử dụng cho lần sau. Jin và cộng sự đã tiến hành trữ lạnh mẫu tinh trùng sau làm PESA chẩn đoán. Tác giả so sánh kết quả có thai giữa nhóm tinh trùng trữ lạnh/rã đông với nhóm tinh trùng mới chọc hút. Kết quả cho thấy tỷ lệ thụ tinh 'nhóm tinh trùng trữ lạnh cao hơn so với nhóm tinh trùng tươi (84,05% vs 73,29%, $p < 0,05$), còn lại tỷ lệ có thai, tỷ lệ làm tổ không khác nhau [122]. Nghiên cứu này tác giả chỉ mới bắt đầu thực hiện trên 27 bệnh nhân và chưa tính được tỷ lệ sống sót sau rã đông.

Mặc dù có nhiều nghiên cứu về vô sinh không có tinh trùng nhưng các nghiên cứu cũng chưa chỉ ra được phương pháp trích xuất tinh trùng nào là tối ưu chính vì vậy Proctor và cộng sự (2010) tiến hành nghiên cứu phân tích gộp so sánh các phương pháp trích xuất tinh trùng để đưa ra khuyến cáo xem nên áp dụng kỹ thuật nào để trích xuất tinh trùng, tuy vậy nghiên cứu này cũng chưa đưa ra được kết luận thỏa đáng. Mặc dù số liệu không đủ để đưa ra được kết luận nhưng tác giả cũng khuyến nghị nên chọn phương pháp đơn giản và ít xâm lấn nhất để trích xuất tinh trùng.

1.7.2. Các nghiên cứu trong nước

Nghiên cứu của Trương Thị Thanh Bình và cs (2011) trên 249 ca từ mào tinh trong đó có 206 ca tinh trùng tươi và 43 ca tinh trùng đông lạnh, thấy rằng tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ thai lâm sàng không khác biệt nhau với $p > 0,05$ (70,9%, 40,9% so với 72%, 48,6%) [127].

Năm 2012, Mai Kim Châu và cs đã nghiên cứu 44 ca lấy tinh trùng từ phẫu thuật tại bệnh viện Phụ sản Hùng Vương, trong đó có 16 ca tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh và 5 ca tinh trùng đông lạnh. Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ có thai lâm sàng lần lượt là 66,5% và 46,2% so với 62,8% và 40%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [128].

Ng.T.Liên Hương năm 2014 nghiên cứu tại bệnh viện phụ sản Trung ương so sánh ngẫu nhiên có đối chứng trên 65 chu kỳ PESA/ICSI chia làm 2 nhóm: nhóm 1 có 30 chu kỳ sử dụng tinh trùng tươi, nhóm 2 có 35 chu kỳ tinh trùng đông lạnh. Kết quả thu được tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi phân chia, tỷ lệ phôi tốt, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ làm tổ giữa hai nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê [129].

Năm 2014 Vũ Nhật Khang đánh giá trên 120 trường hợp ICSI với tinh trùng thu nhận từ mào tinh trữ lạnh tại bệnh viện An Sinh thấy tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt, tỷ lệ thai lâm sàng lần lượt là: 71,8%; 45,65%; 41,16% [130].

Bảng 1.1. So sánh hiệu quả của ICSI khi sử dụng tinh trùng tươi, tinh trùng trữ đông thu nhận từ mào tinh và tinh hoàn.

Nguồn gốc tinh trùng	Tác giả	Số chu kỳ	Khác biệt
Tinh hoàn	Friedler và cs 1997 [60]	25 chu kỳ tinh trùng tươi 14 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)
	Ben và cs 2003 [71]	12 chu kỳ tinh trùng tươi 34 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)
	Huang và cs 2000 [67]	14 chu kỳ tinh trùng tươi 8 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)
	De Croo và cs 1998 [72]	65 chu kỳ tinh trùng tươi 35 chu kỳ tinh trùng đông	Có sự khác biệt ($P < 0,05$) về tỷ lệ TT và sinh sống
	Kee Sang Park 2002 [131]	9 chu kỳ tinh trùng tươi 25 chu kỳ đông lạnh	Không có sự khác biệt ($p > 0,05$)
Mào tinh	Tournaye và cs 1999[68]	157 chu kỳ tinh trùng tươi 118 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)
	Sukcharoen và cs 1999 [132]	5 chu kỳ tinh trùng tươi 13 chu kỳ tinh trùng đông	Có sự khác biệt ($P < 0,05$)
	Sukcharoen và cs 2002[133]	53 chu kỳ tinh trùng tươi 13 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)
	Shibahara và cs 2001 [134]	5 chu kỳ tinh trùng tươi 40 chu kỳ tinh trùng đông	Không có sự khác biệt ($P > 0,05$)

Kết quả từ bảng trên cho thấy hầu hết các tác giả đều nhận thấy không có sự khác biệt khi thực hiện kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng đông lạnh hay tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh. Điều này gợi mở cho chúng tôi nghiên cứu về hiệu quả của thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh tại Việt Nam để tận dụng được nguồn mẫu quý hiếm giảm được chi phí, giảm đau đớn và chủ động cho cả thầy thuốc và bệnh nhân.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Nghiên cứu được tiến hành nghiên cứu tại Trung tâm HTSS Quốc Gia.
- Thời gian tiến hành nghiên cứu từ tháng 1 năm 2014 đến tháng 9 năm 2017. Trong đó chọn lựa và thu thập bệnh nhân từ tháng 1/2014 đến 1/2017 và theo dõi có thai sinh sống đến tháng 9/2017.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu

- Các cặp vợ chồng đã được chẩn đoán là vô sinh do không có tinh trùng: ít nhất hai lần xét nghiệm tinh dịch cách nhau 4 tuần không có tinh trùng trong căn tinh dịch ly tâm.
- Người chồng được khám, đo kích thước tinh hoàn, xét nghiệm nội tiết xác định là vô tinh do bế tắc. Người chồng được 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, được tư vấn nếu đồng ý tham gia nghiên cứu mẫu được đông lạnh để sử dụng cho TTTON không cần làm phẫu thuật lần 2.
- Người vợ không quá 40 tuổi.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Các trường hợp vợ vô sinh vì một trong những nguyên nhân sau:
 - + Đáp ứng kém với kích thích buồng trứng.
 - + 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...

2.2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả tiến cứu.

2.2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu:

Công thức tính cỡ mẫu:

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

Trong đó:

$Z_{(1-\alpha/2)}$ = Hệ số tin cậy với $\alpha=0,05 \rightarrow Z_{1-\alpha/2}=1,96$

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% [127].

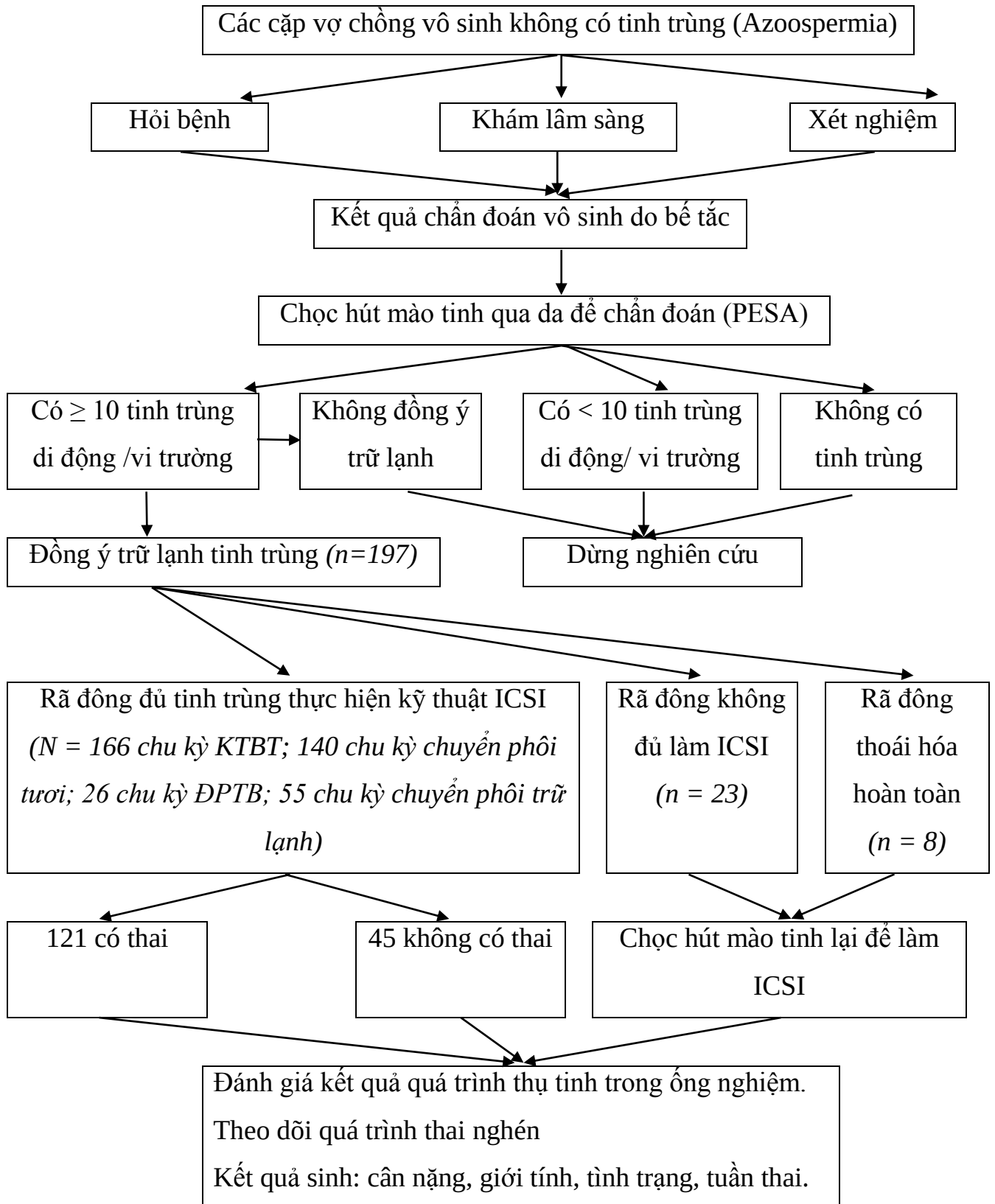
$1-\varepsilon$: mức độ chính xác mong muốn của kết quả nghiên cứu.

ε thông thường chọn từ (0,1 - 0,4). 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.

2.2.5. Quy trình nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Các bước tiến hành nghiên cứu

2.3. Cách thức tiến hành

2.3.1. Cách thăm khám và kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu (Theo quy trình đang thực hiện tại Trung tâm HTSS quốc Gia)

2.3.1.1. Khám người chồng:

- Hỏi nghề nghiệp, tiền sử bệnh.
- Quan sát sẹo mổ vùng bẹn, đùi.
- Tinh hoàn: vị trí, kích thước tinh hoàn của bệnh nhân được ước lượng theo thể tích bằng ml dùng thước đo Prader so sánh với mẫu tinh hoàn có sẵn với các thể tích từ 1ml đến 25ml.
- Thừng tinh: có sờ thấy ống dẫn tinh không, có giãn tĩnh mạch thừng tinh hay không.
- Xét nghiệm nội tiết: FSH, LH, Testosteron, Prolactin.

2.3.1.2. Thu nhận mẫu tinh trùng bằng chọc hút từ mào tinh qua da (PESA)

- Bệnh nhân nằm trên bàn thủ thuật, sát trùng bộ phận sinh dục, vùng bẹn, đùi và tầng sinh môn.
- Trải khăn vô khuẩn che kín hai chân, bụng và tầng sinh môn, để hở cơ quan sinh dục.
- Giữ tinh hoàn trong lòng bàn tay, cố định mào tinh bằng ngón tay cái và ngón trỏ, làm căng da bìu vị trí mào tinh sẽ chọc kim.
- Dùng bơm tiêm 1ml, kim 23G, trong bơm tiêm có sẵn 0,3ml môi trường IVF, chọc vuông góc vào mào tinh, vừa hút vừa rút từ từ kim ra để hút được tinh dịch từ ống mào tinh.
- Nhỏ dịch hút được vào đĩa Petri nhỏ, quan sát dưới kính hiển vi soi nổi với độ phóng đại vật kính 10 để tìm tinh trùng.
- Đánh giá kết quả có tinh trùng theo quy định trong Labo trung tâm HTSS Quốc Gia

(+): có 1 - 3 tinh trùng sống trên 1 vi trường vật kính 10.

(++): có 4 - 10 tinh trùng sống trên 1 vi trường vật kính 10.

(+++): có > 10 tinh trùng sống trên 1 vi trường vật kính 10

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.

2.3.1.3. Quy trình trữ lạnh mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh

- Dịch mào tinh được thu nhận và trữ lạnh trước khi tiến hành kích thích buồng trứng ở người vợ.
- 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*) bằng cách nhỏ từ từ mẫu vào phía trên hai lớp này.
- 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 của hãng Vitrolife.
- 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, nhỏ từng giọt môi trường và trộn đều tránh tạo bọt.
- Cho vào ống trữ lạnh đã được đánh dấu tên, mã số bệnh nhân, 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
- Nhúng ống trữ lạnh vào bình chứa ni tơ để trữ lạnh.

2.3.1.4. Quy trình rã đông

- Lấy ống chứa mẫu tinh trùng trữ lạnh ra khỏi bình chứa.
- Cho ống trữ vào nước ấm 37⁰C và để cho rã đông trong khoảng 10-15ph
- Mẫu sau rã cho ra đĩa Petri nhỏ và soi dưới kính hiển vi 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 (giống qui trình trữ lạnh).
- + Nếu soi có ít hơn 2 tinh trùng sống trong 1 vi trường, mẫu chỉ cần rửa với 1ml môi trường IVF của hãng Vitrolife, 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 cấy 5%CO₂ nhiệt độ 37⁰C khoảng 1 giờ. 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

2.3.1.5. Quy trình thụ tinh trong ống nghiệm.

- Kích thích bằng phác đồ dài, ngắn agonist hoặc phác đồ đối vận antagonist. Lựa chọn phác đồ và liều ban đầu phụ thuộc vào đánh giá dự trữ buồng trứng của bệnh nhân: tuổi người vợ, nồng độ FSH, LH, E₂, AMH và số nang noãn thứ cấp.
- Định lượng Estradiol, progesterone ngày 7 tiêm FSH.
- Siêu âm nang noãn ngày thứ 8 tiêm FSH, đếm tất cả các nang ở hai buồng trứng. Đo đường kính nang noãn bằng cách đo từ bờ trong đến bờ trong. Đo 1 đường kính nếu thấy nang tròn đều, hoặc đo 2 đường kính vuông góc để lấy kích thước trung bình nếu nang không tròn đều.
- Khi có ít nhất 2 nang noãn có kích thước trên 18mm thì sẽ gây trưởng thành nang noãn bằng 5000-10000 IU hCG/ GnRHa tiêm bắp .
- Chọc hút noãn dưới hướng dẫn của siêu âm đường âm đạo 34-36 giờ sau mũi tiêm hCG.
- Tìm và nhặt noãn trong dịch nang dưới kính hiển vi soi nổi, cho noãn vào đĩa và ủ trong tủ cấy, thời gian 2 giờ.

- Noãn sau chọc hút được tách bỏ các lớp tế bào hạt xung quanh (cumulus và corona) trong môi trường có chứa enzyme Hyaluronidase bằng cách hút noãn lên xuống nhiều lần bằng pipet có đường kính nhỏ dần.
- Rã đông mẫu tinh trùng cùng ngày chọc hút để chuẩn bị thực hiện ICSI.
- Đánh giá tinh trùng sau khi rã, nếu không đủ tinh trùng để làm ICSI hoặc tinh trùng bị chết toàn bộ sẽ tiến hành chọc hút lại mào tinh để lấy tinh trùng tươi thực hiện kỹ thuật ICSI cho bệnh nhân.
- Chuẩn bị đĩa ICSI gồm 5 giọt môi trường IVF và một giọt môi trường PVP (được pha loãng với môi trường IVF theo tỉ lệ 1:1), phủ dầu.
- Chuyển (load) noãn và tinh trùng lên cùng một đĩa và tiến hành tiêm tinh trùng vào bào tương noãn dưới kính hiển vi soi nổi có gắn hệ thống vi thao tác:
 - + Cố định noãn bằng kim giữ noãn ở vị trí 9h, đặt noãn sát đáy đĩa thao tác, cực cầu nằm ở vị trí 12h hoặc 6h.
 - + Dùng kim tiêm cố định và bất động bằng cách cửa đuôi tinh trùng. Hút tinh trùng vào kim tiêm.
 - + Chọc kim tiêm noãn qua màng bào tương vào thẳng trong noãn ở vị trí 3h.
 - + Hút ngược ít bào tương noãn vào kim tiêm khi chắc chắn kim đã xuyên thủng màng bào tương thì bơm từ từ tinh trùng vào bào tương noãn rồi rút kim ra.
- Cho noãn đã làm ICSI vào đĩa cấy và đặt trong tủ cấy nhiệt độ 37°C, CO₂ 5%.
- Kiểm tra thụ tinh 16 - 18 giờ sau ICSI. Noãn thụ tinh bình thường khi quan sát thấy 2 tiền nhân.
- Đánh giá sự phân chia của phôi, chất lượng phôi dựa vào tốc độ phân chia của phôi, độ đồng đều của các phôi bào, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương.
- Chuyển phôi ngày 3 dưới hướng dẫn của siêu âm:

- + Bệnh nhân nhịn tiểu, nằm trên bàn thủ thuật. Siêu âm quan sát được niêm mạc tử cung, ống cổ tử cung theo đường cắt dọc.
- + Đặt mỏ vịt, lau sạch âm đạo, cổ tử cung bằng môi trường IVF.
- + Luồn catheter vỏ ngoài qua lỗ trong cổ tử cung, thông báo cho Lab hút phôi vào trong catheter số lượng phôi chuyển dưới 4 phôi, tùy thuộc vào chất lượng và số lượng phôi bệnh nhân có.
- + Luồn catheter nòng trong đã hút sẵn phôi vào buồng tử cung qua catheter vỏ ngoài làm đường dẫn.
- + Bơm nhẹ để đặt phôi vào trong buồng tử cung. Rút catheter và tháo mỏ vịt ra.
- + Kiểm tra lại Catheter xem có sót phôi, có nhày máu hay không, nếu có sót phôi sẽ tiến hành chuyển phôi lại.
- + Đánh giá điểm chuyển phôi dựa vào bảng điểm chuyển phôi.
- Hỗ trợ hoàng thể bằng progesteron 800mg đặt âm đạo.
- Phôi dư thừa sẽ được trữ lạnh và rã đông khi chuyển phôi trữ lạnh bằng phương pháp thủy tinh hóa.
- Định lượng β hCG máu sau 2 tuần chuyển phôi, nếu nồng độ β hCG trên 25IU/L sẽ siêu âm sau 2 tuần.
- Siêu âm: có túi thai hoặc âm vang thai hoặc hoạt động tim thai, chẩn đoán có thai lâm sàng. Đếm số lượng túi thai.
- Trường hợp bệnh nhân không có thai sau chuyển phôi tươi sẽ được chuyển phôi trữ lạnh sau 3 tháng nếu bệnh nhân có phôi trữ lạnh.
- Trường hợp đông phôi toàn bộ do quá kích buồng trứng hoặc do niêm mạc tử cung không thuận lợi sẽ được chuẩn bị niêm mạc và chuyển phôi đông lạnh những chu kỳ sau.
- Nếu bệnh nhân có từ 3 thai sẽ được giảm thai khi xác định rõ tim thai trên siêu âm (thường sau chuyển phôi 35 ngày).

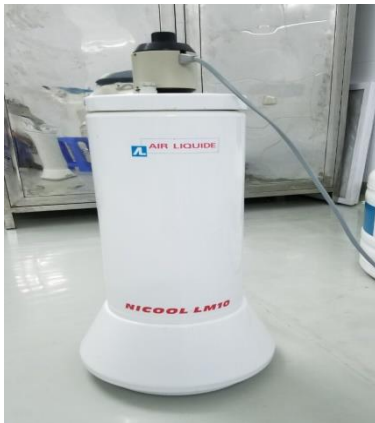
2.3.1.6. Các phương tiện phục vụ nghiên cứu



Hình 2.1. Tube trữ lạnh (cryotube)



Hình 2.2. Thùng chứa ni-tơ



Hình 2.3. Máy hạ nhiệt độ



Hình 2.4. Kính hiển vi đảo ngược

❖ Môi trường



Hình 2.5. Môi trường PVP



Hình 2.6. Môi trường Sperm Freeze

❖ Các thuốc được sử dụng trong nghiên cứu

- GnRH antagonist được dùng là Cetrorelix (Cetrotide của Merk) hoặc Ganirelix (Orgalutran của MSD) hàm lượng 0,25mg tiêm dưới da bụng hàng ngày.
- GnRH agonis được sử dụng là triptorelin với biệt dược Diphereline do công ty Beaufour Ipsen sản xuất, hàm lượng 0,1mg.
- FSH tái tổ hợp (FSHr): được sản xuất dưới dạng ống, dùng tiêm dưới da với liều rất đa dạng từ 50IU đến 600IU dưới các tên biệt dược: Puregon (của Organon), Gonal-F (của Merk), Menopure (của Fering), Follitrope (LG-Korea).
- hCG (human chronic gonadotropin): hCG tái tổ hợp biệt dược Ovitrell (6500IU) tiêm bắp, hCG chiết xuất từ nước tiểu phụ nữ mãn kinh có biệt dược là Pregnyl hàm lượng 5000IU tiêm bắp.

❖ Các phương tiện nghiên cứu

- Máy siêu âm đầu dò âm đạo tần số 7,5MHz. Hãng ALOKA SSD 1400 (Nhật Bản).
- Máy AXSIM ABBOTT (Mỹ) định lượng các hormon nội tiết bằng kỹ thuật E.I.A (Enzym Immuno Assay): FSH (IU/L), LH (U/L), Estradiol (pg/ml), Progesteron (nmol/l), định lượng β hCG (IU/L).
- Tủ nuôi cấy phôi ở nhiệt độ 37⁰C và 5% CO₂: Thermoforma (Mỹ)
- Kính hiển vi soi nổi Olympus (Nhật)
- Kính hiển vi đảo ngược và bộ vi thao tác của hãng Olympus (Nhật)
- Các loại môi trường xử lý noãn và nuôi cấy phôi, xử lý tinh trùng và đông lạnh tinh trùng của Vitrolife (Thụy Điển).

2.3.2. Các biến số và tiêu chuẩn nghiên cứu.

2.3.2.1 Các biến số liên quan đến người chồng

- Tuổi: tính theo năm.
- Tiền sử bệnh, nghề nghiệp

- Xét nghiệm nội tiết: FSH, LH, Testosteron, Prolactin.
 - Đo kích thước tinh hoàn: dựa vào thước đo Prader
 - Phương pháp thu nhận tinh trùng: PESA.
 - Vị trí chọc hút tinh trùng tại mào tinh
 - Số lượng tinh trùng thu được sau phẫu thuật, sau rã đông: tính bằng phương pháp đếm dưới vật kính 10 kính hiển vi đảo ngược
 - 1+ : có 1 - 3 tinh trùng di động/ vi trường.
 - 2+ : có 4 - 10 tinh trùng di động/ vi trường.
 - 3+ : có ≥ 10 tinh trùng di động/ vi trường
 - Đặc điểm tinh trùng thu nhận: Nhỏ 1 giọt khoảng 10 μ l lên buồng đếm Makler, đánh giá mật độ, độ di động tinh trùng dưới kính hiển vi quang học độ phóng đại 200 lần.
 - + Đếm 3 hàng hoặc 3 cột bất kỳ, sau đó chia 3 lấy kết quả trung bình nhân với 10⁶/ml. Nếu mật độ tinh trùng ít sẽ tiến hành đếm cả 100 ô vuông, số lượng tinh trùng đếm được nhân với 10⁵/ml.
 - + Tỷ lệ tinh trùng di động: Theo tiêu chuẩn WHO 2010:
 - PR (progressive motility): di động tiến tới, khi tinh trùng di động nhanh, thành đường thẳng hoặc vòng tròn lớn mà không tính đến tốc độ di chuyển.
 - NP (non – progressive motility): di động không tiến tới hoặc di động tại chỗ.
 - IM (immotility): tất cả các trường hợp tinh trùng không di động.
- Xác định tỷ lệ tinh trùng di động được đếm bằng máy bách phân bạch cầu sau đó tính tỷ lệ phần trăm mỗi loại. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới PR.
- Đặc điểm của tinh trùng sau rã đông: có đủ làm ICSI hay không hay chết toàn bộ.
 - Thời gian đông: tính bằng tháng.

2.3.2.2. Các biến số liên quan đến người vợ

- Tuổi vợ, thời gian vô sinh: tính theo năm.
- Loại vô sinh: vô sinh I, vô sinh II.
- Xét nghiệm nội tiết: được xét nghiệm vào ngày thứ 2-3 của chu kỳ kinh FSH, LH, E2, Prolactin.
- Xét nghiệm AMH.
- Số lượng nang thứ cấp.
- Chụp tử cung vòi tử cung có bơm thuốc cản quang.
- Nguyên nhân vô sinh kèm theo.
- Các phác đồ KTBT: phác đồ dài, ngắn, Agonist, Antagonist.
- Liều FSH ban đầu, tổng liều điều trị, số ngày điều trị.
- Nồng độ Estradiol (E2), Progesteron ngày tiêm HCG.
- Độ dày NMTC ngày tiêm HCG: được đo bằng siêu âm đầu dò âm đạo ở mặt cắt dọc giữa của tử cung, đo độ dày NMTC ở khoảng cách lớn nhất tính từ ranh giới giữa NMTC và cơ tử cung, NMTC được đánh giá là tốt nhất khi trong khoảng 8-14mm.

Điểm đánh giá độ dày NMTC:

- + 2 điểm: $8\text{mm} \leq \text{NMTC} < 14\text{mm}$: là tốt nhất.
- + 1 điểm: $7\text{mm} \leq \text{NMTC} < 8\text{mm}$, hoặc $\text{NMTC} = 14\text{mm}$.
- + 0 điểm: $\text{NMTC} < 7\text{mm}$, hoặc $\text{NMTC} > 14\text{mm}$
- Đặc điểm NMTC: có hình ảnh 3 lá (hình hạt cafe) hay không.

2.3.1.3. Các biến số liên quan đến chu kỳ TTON

- Số noãn sau chọc hút: Tính bằng phương pháp đếm dưới KHV soi nổi.
- Số noãn trưởng thành: được xác định bởi sự xuất hiện thể cực thứ nhất ở khoang quanh noãn.
- Chất lượng noãn: tốt, trung bình, xấu, MI, GV, thoái hóa.
- Số noãn thụ tinh: được xác nhận dựa trên sự xuất hiện của các tiền nhân khi kiểm tra thụ tinh 16-18h sau ICSI.

- Tỷ lệ thụ tinh: được tính bằng số noãn thụ tinh trên tổng số noãn được ICSI.
- Số phôi tạo thành: Số phôi được tính dựa trên sự phân chia các trứng đã thụ tinh.

- Đánh giá chất lượng phôi: Đánh giá thường quy của Trung tâm Hỗ trợ sinh sản Quốc Gia dựa theo tiêu chuẩn của Ariff Bonso dựa vào tỷ lệ các mảnh vỡ bào tương (fragments), tốc độ phân chia của phôi và độ đồng đều của các tế bào, phôi được chia làm 4 độ, phôi tốt là phôi độ 3 và độ 4:

+ Phôi độ 4 (phôi có chất lượng rất tốt – top quality embryo - TQE): có 4 - 5 tế bào vào ngày thứ 2 hoặc có 7 - 8 tế bào vào ngày thứ 3, các tế bào đồng đều, không có mảnh vỡ (fragments).

+ Phôi độ 3 (phôi có chất lượng tốt): có 4 - 5 tế bào vào ngày thứ 2 hoặc có 7 - 8 tế bào vào ngày thứ 3, các tế bào đồng đều, tỷ lệ mảnh vỡ (fragments) < 10%.

+ Phôi độ 2 (phôi trung bình): có 3 - 4 tế bào vào ngày thứ 2 hoặc có 6 - 8 tế bào vào ngày thứ 3, các tế bào không đồng đều hoặc tỷ lệ mảnh vỡ bào tương lớn hơn 10% và ít hơn 25%.

+ Phôi độ 1 (phôi xấu): có 2 tế bào vào ngày thứ 2 hoặc có ≤ 5 tế bào vào ngày thứ 3 hoặc tỷ lệ mảnh vỡ bào tương >25%.

- Số phôi chuyển vào buồng tử cung.

- Kỹ thuật chuyển phôi:

+ Chuyển phôi dễ.

+ Chuyển phôi khó

- Điểm kỹ thuật chuyển phôi:

+ 2 điểm: catheter sau chuyển phôi sạch, không nhầy máu, không sót phôi, không kẹt CTC, không nóng cổ tử cung.

+ 1 điểm: catheter sau chuyển phôi có nhầy hoặc/ và kẹt CTC, không sót phôi, không nóng CTC.

+ 0 điểm: catheter sau chuyển phôi có máu hoặc sốt phôi, hoặc phải nong CTC.

- Điểm chất lượng phôi chuyển:

+ 2 điểm: có ≥ 2 phôi tốt.

+ 1 điểm: chỉ có 1 phôi tốt .

+ 0 điểm: không có phôi tốt

- Tổng điểm chuyển phôi được đánh giá theo quy định của trung tâm HTSS Quốc gia: là tổng điểm của 3 yếu tố: điểm niêm mạc tử cung, điểm chất lượng phôi chuyển và điểm kỹ thuật chuyển phôi, cao nhất là 6 điểm và thấp nhất là 0 điểm.

- Thai sinh hóa: Sau chuyển phôi 14 ngày, xét nghiệm $\beta hCG > 25IU/ml$ nhưng không phát triển thành thai lâm sàng.

- Nồng độ βhCG sau 14 ngày chuyển phôi.

- Tỷ lệ làm tổ của phôi: Bằng tổng số túi thai phát hiện trên siêu âm trên tổng số phôi chuyển vào buồng tử cung.

- Số thai lâm sàng: xác định khi phát hiện thấy túi thai và hoạt động tim thai trong lòng tử cung qua siêu âm.

- Tỷ lệ thai lâm sàng: số chu kỳ có túi thai trên siêu âm/ số chu kỳ chuyển phôi.

- Số trẻ được sinh ra: Số trẻ sinh ra đủ tháng (từ 38-41 tuần) khỏe mạnh từ PESA – ICSI tinh trùng đông lạnh.

- Tỷ lệ sinh thai đủ tháng: bằng số thai sinh đủ tháng (từ 38-41 tuần) trên tổng số thai lâm sàng.

- Tỷ lệ đa thai: số trường hợp có ≥ 2 thai có hoạt động tim thai/ tổng số trường hợp có thai lâm sàng có hoạt động tim thai.

- Thai sảy: là hiện tượng gián đoạn thai nghén trước 22 tuần.

- Thai lưu: Là hiện tượng thai bị chết còn lưu lại trong BTC từ 48h trở lên mà chưa được tổng xuất ra ngoài.
- Thai đẻ non: là hiện tượng gián đoạn thai nghén khi thai có thể sống được (nghĩa là tuổi thai từ 22-37 tuần).
- Cân nặng của trẻ lúc sinh.
- Cách thức sinh: sinh thường hay sinh mổ.
- Tỷ lệ trẻ trai - gái.

2.4. Kỹ thuật thu thập số liệu

Bệnh nhân được hỏi theo bảng thu nhận số liệu, các kết quả khám và xét nghiệm cũng được thu thập.

Các số liệu về mẫu nghiên cứu sẽ được thu nhập trực tiếp và liên tục vào chương trình SPSS, các dữ liệu về chất lượng phôi, mã bệnh nhân được ghi trong sổ nhật ký lab thụ tinh ống nghiệm, vị trí cất tinh trùng đông lạnh được ghi trong sổ theo dõi đông tinh.

2.5. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được kiểm tra hàng ngày, được kiểm tra lại trước khi nhập phiếu trên máy tính bằng phần mềm Epi Info 6.04. Có sử dụng phần kiểm tra (CHECK). Số liệu được làm sạch, sau đó xử lý phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0. Các biến số được tính toán và trình bày theo số lượng phần trăm.

- Các kiểm định (Test) thống kê, kiểm định giả thuyết và ước lượng khoảng được sử dụng để đánh giá sự khác biệt. Giá trị p, RR và 95% CI được tính.
- So sánh các tỷ lệ bằng kiểm định “khi” bình phương (χ^2). So sánh các giá trị trung bình bằng T-Student test. Sử dụng Anova test, Fisher test.
- Phân tích hồi quy đơn biến và nhị biến để đánh giá các yếu tố liên quan đến kết quả thụ tinh trong ống nghiệm.

Phân tích hồi quy nhị biến logistics tính theo công thức:

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

Trong đó:

Ln: log của cơ số e

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

X_i là các biến độc lập

B_i là hệ số tương quan

B_0 là hằng số

- Sử dụng đường cong ROC để tìm ngưỡng mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động để tiên đoán khả năng tinh trùng bị thoái hóa hoàn toàn sau rã đông.

- Tính hệ số tương quan (r) giữa AMH, FSH, AFC, E2 và số noãn thu được

- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.6. Không chế sai số và yếu tố nhiễu

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

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

Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm HTSS Quốc Gia với các Bác sỹ và chuyên viên phôi học có kinh nghiệm và trình độ chuyên môn cao, thực hiện đồng bộ theo quy trình kỹ thuật tin cậy được phê duyệt.

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

2.7. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Trước khi tiến hành thu thập số liệu phải có sự đồng ý của đối tượng nghiên cứu: Ký vào bản cam kết thực hiện các kỹ thuật HTSS và đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

- Bệnh nhân có quyền từ chối tham gia nghiên cứu tại bất kỳ thời điểm nào.

- Các thông tin riêng liên quan đến bệnh nhân được giữ kín, các số liệu thu thập chỉ được phục vụ cho nghiên cứu và được thông báo cho trường và bệnh viện.

- Mục tiêu nghiên cứu, các kỹ thuật áp dụng trong nghiên cứu không làm ảnh hưởng tới sức khỏe cũng như quyền lợi của của đối tượng nghiên cứu. Mục đích chính của đề tài là góp phần định hướng cho công tác điều trị hiệu quả hơn.

- Đảm bảo cho có đủ số lượng và chất lượng tinh trùng để thực hiện ICSI.

- Đảm bảo không xảy ra sai sót trong quá trình thao tác kỹ thuật.

- Được Giám đốc Trung tâm Hỗ trợ sinh sản cho phép thực hiện nghiên cứu theo đề cương đã được phê duyệt.

- Các thủ tục hành chính trong nghiên cứu phải tuân thủ đúng theo qui định và luật pháp Việt Nam đã ban hành trong lĩnh vực HTSS.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu 197 cặp vợ chồng vô sinh có tình trùng 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 trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

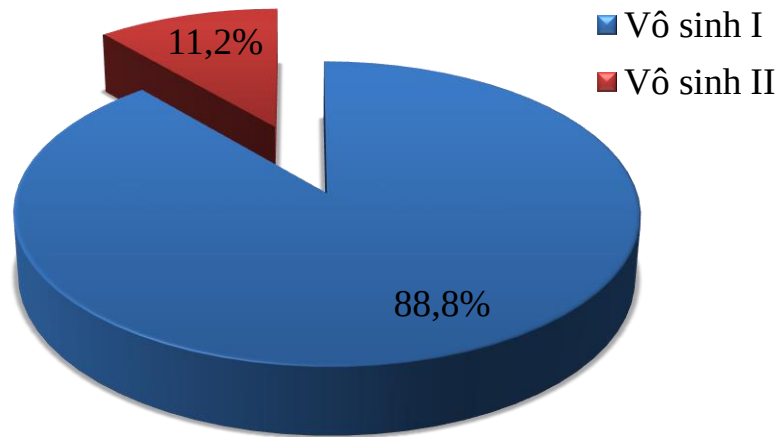
3.1.1. Đặc điểm của người chồng

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

Nhận xét:

Bảng 3.1. cho thấy đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của người chồng có giá trị trung bình đều nằm trong giới hạn bình thường.



Biểu đồ 3.1. Phân loại vô sinh do người chồng

Nhận xét:

Có 175 trường hợp chồng vô sinh nguyên phát chiếm tỷ lệ 88,8% và 22 trường hợp vô sinh thứ phát chiếm tỷ lệ 11,2%.

Bảng 3.2. Tiền sử liên quan đến vô sinh nam không có tình trùng

Tiền sử	n/N	%
Phẫu thuật vùng bẹn	5/197	2,5%
Bệnh STD	62/197	31,5%
Không có tiền sử	131/197	66,5%

Nhận xét:

- Trong 197 trường hợp chọc hút có tình trùng đông lạnh thì 67 trường hợp có yếu tố nguy cơ cao trong tiền sử chiếm tỷ lệ 34%.
- Có 1 trường hợp vừa có tiền sử phẫu thuật vùng bẹn vừa có bệnh STD.

Bảng 3.3. Mật độ tinh trùng trước trữ

Mật độ TT/ml (Triệu/ml)	n	Tỷ lệ %
< 1	58	29,5%
1 – 5	96	48,7%
> 5	43	21,8%
Tổng	197	100%
Mật độ trung bình	5,99 ± 2,00 triệu/ml	

Nhận xét:

Bảng 3.3 cho thấy trong 197 mẫu nghiên cứu thì có 58 mẫu có mật độ tinh trùng trước trữ dưới 1 triệu/ml chiếm tỷ lệ 29,5%. 139 mẫu có mật độ tinh trùng trước trữ trên 1 triệu /ml chiếm tỷ lệ 70,5%. Mật độ tinh trùng trung bình là 5,99 ± 2,00 triệu/ml.

Bảng 3.4. Tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ

Tỷ lệ TT di động	n	Tỷ lệ %
< 10%	32	16,2%
10% - 30%	131	66,5%
> 30%	34	17,3%
Tổng	197	100%
Tỷ lệ di động TB	20,92% ± 13,97%	

Nhận xét:

- Trong mẫu nghiên cứu 165 trường hợp có tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ trên 10% chiếm tỷ lệ 83,8%.

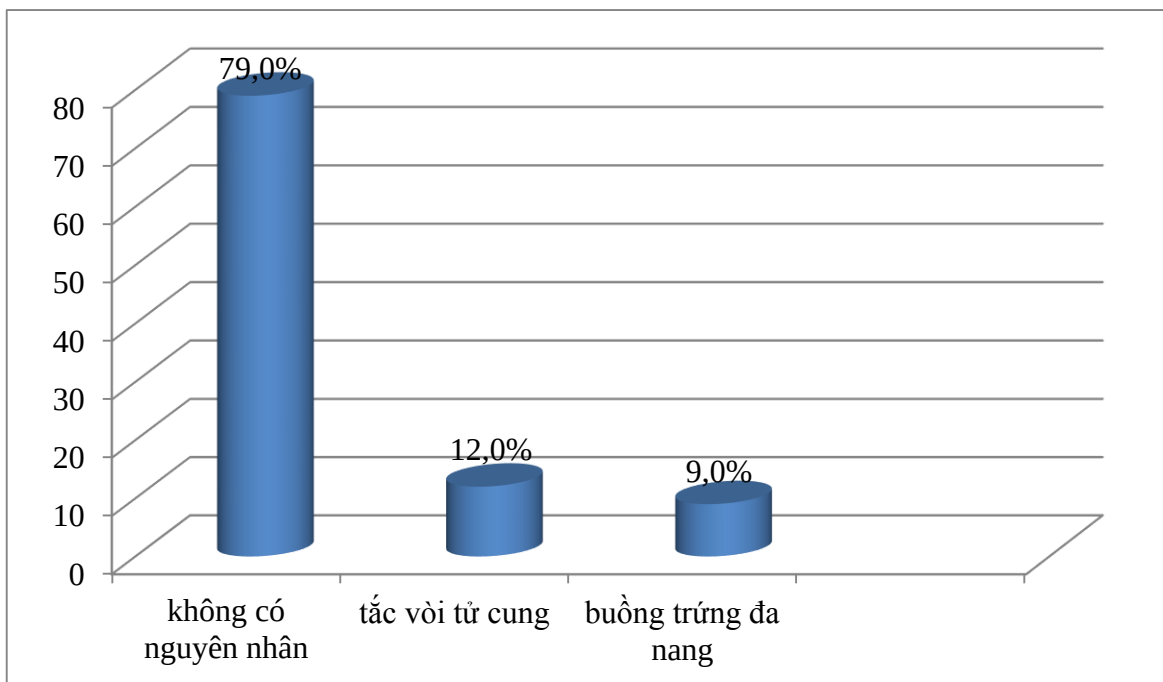
- Tỷ lệ tinh trùng di động trung bình là 20,92% ± 13,97%.

Bảng 3.5. Thời gian trữ tinh trùng

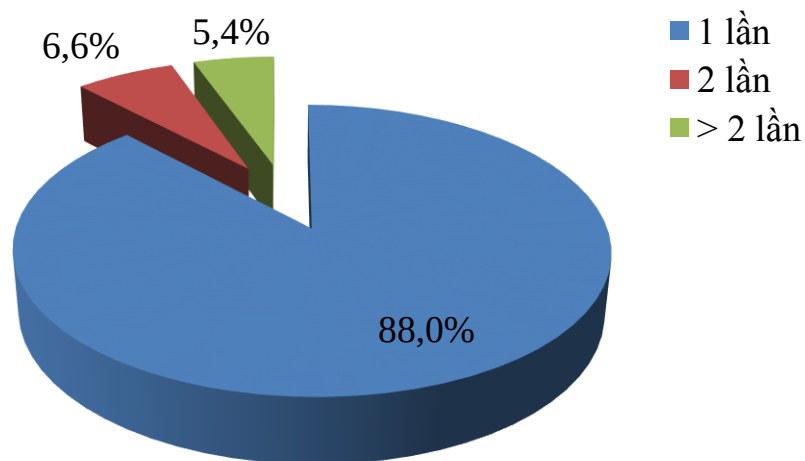
Thời gian trữ	n	Tỷ lệ %
< 6 tháng	130	66,0%
6 – 12 tháng	56	28,4%
>12 tháng	11	5,6%
Tổng	197	100%
Trung bình (tháng)	5,79 ± 6,1	

Nhận xét: Đa số thời gian trữ tinh trùng dưới 12 tháng chiếm tỷ lệ 94,6%.

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

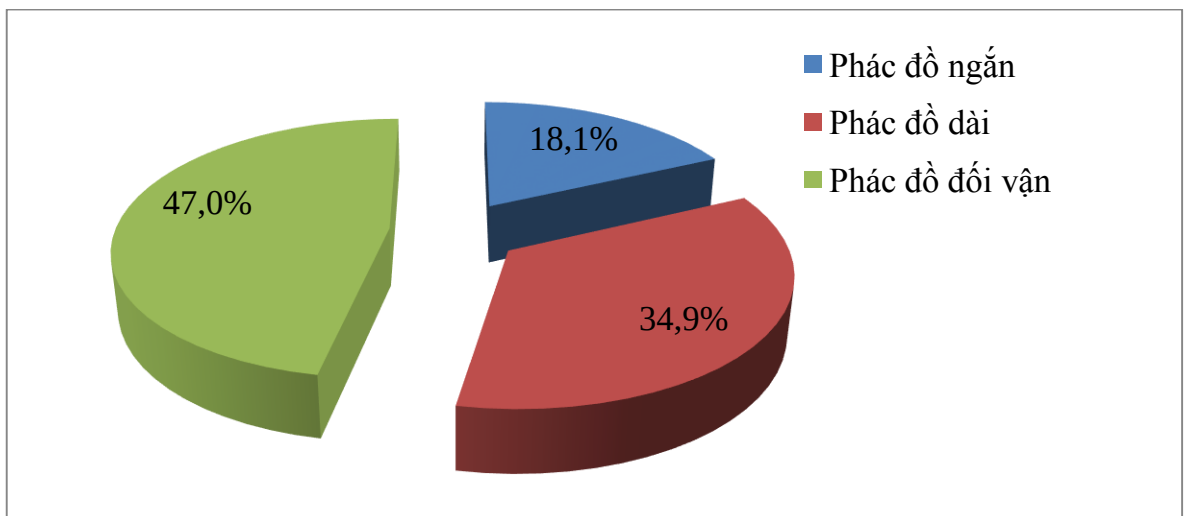
**Biểu đồ 3.2. Nguyên nhân vô sinh kèm theo của người vợ**

Nhận xét: đa phần người vợ không có nguyên nhân vô sinh chiếm 79,0%.



Biểu đồ 3.3. Phân bố đặc điểm số lần làm thụ tinh trong ống nghiệm

Nhận xét: Trong 166 chu kỳ làm PESA/ICSI có sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh thì có 146 trường hợp làm thụ tinh trong ống nghiệm lần 1 chiếm tỷ lệ cao nhất 88,0%.



Biểu đồ 3.4. Đặc điểm phác đồ kích thích buồng trứng

Nhận xét: Trong tổng số 166 chu kỳ kích thích buồng trứng có sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh có 58 chu kỳ kích thích bằng phác đồ dài chiếm tỷ lệ 34,9%, 30 chu kỳ kích thích bằng phác đồ ngắn chiếm tỷ lệ 18,1% và 78 chu kỳ được kích thích bằng phác đồ đối vận chiếm 47%.

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

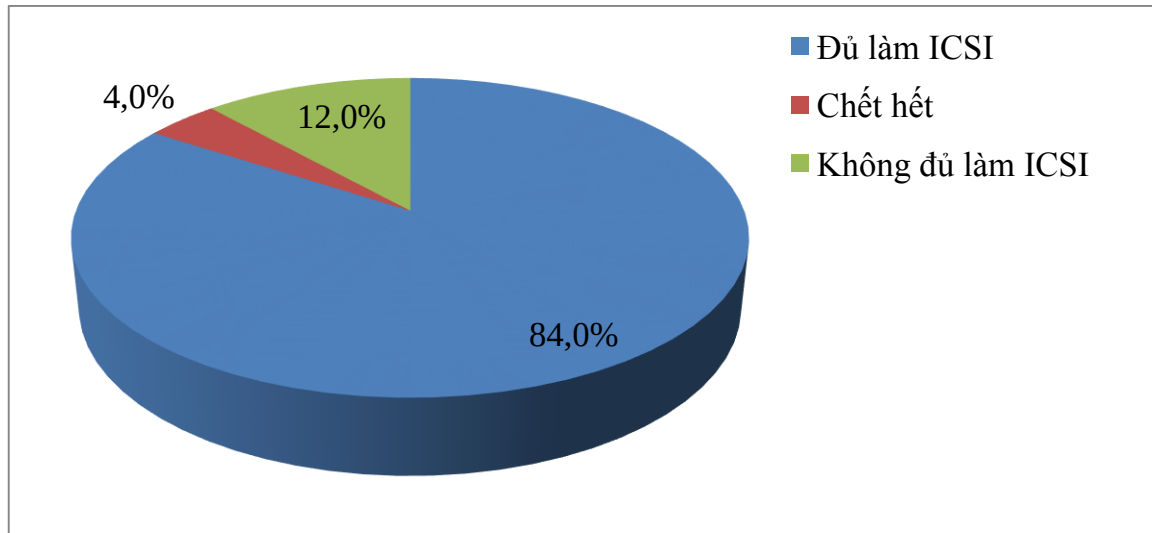
Phác đồ Chỉ số	Phác đồ đồng vận		Phác đồ đối vận n = 78 (c)	Chung n = 166	P
	Phác đồ ngắn n = 30 (a)	Phác đồ dài n = 58 (b)			
FSH (IU/L)	6,52 ± 2,83	6,21±1,83	6,11±1,55	6,22±1,93	p(a/b)=0,530 p(a/c)=0,208 p(b/c)=0,471
LH (IU/L)	4,49±2,26	5,14±1,92	5,18±2,96	5,04±2,51	p(a/b)=0,043 p(a/c)=0,132 p(b/c)=0,449
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

Nhận xét:

- Nồng độ LH của nhóm phác đồ ngắn và phác đồ dài khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Số lượng nang thứ cấp khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa ba phác đồ kích thích buồng trứng với $p < 0,05$.
- Tuổi vợ giữa nhóm phác đồ ngắn với phác đồ dài và phác đồ ngắn với phác đồ đối vận khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

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

Nhận xét:

- 197 mẫu sau rã đông có 166 mẫu đủ tinh trùng dùng cho kỹ thuật ICSI chiếm tỷ lệ 84,0%.
- 23 mẫu rã không đủ tinh trùng dùng cho ICSI phải tiến hành chọc hút lại mào tinh chiếm tỷ lệ 12,0%.
- Có 8 mẫu sau rã tinh trùng bị chết toàn bộ cũng phải chọc hút lại mào tinh lấy tinh trùng tươi làm ICSI chiếm tỷ lệ 4,0%.

Bảng 3.7. Mối liên quan giữa mật độ tinh trùng trước đông với khả năng sử dụng sau rã đông

TT sau rã Mật độ TT trước đông (Triệu/ml) Đủ dùng Chọc lại p					
	n	%	n	%	
< 1 (n=58)	34	58,6%	24	41,4%	< 0,001
1 – 5 (n=96)	93	96,9%	3	3,1%	
>5 (n=43)	39	90,7%	4	9,3%	
Tổng số mẫu TT (n=197)	166	84,3%	31	15,7%	

Nhận xét:

- Khi mật độ tinh trùng trước đông dưới 1triệu/ml thì sau rã khả năng phải chọc lại mào tinh là 41,4%.
- Có mối liên quan chặt chẽ giữa số lượng tinh trùng trước đông với tình trạng tinh trùng sau rã với $p < 0,001$.

Bảng 3.8. Mối liên quan giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước đông với khả năng sử dụng sau rã đông

TT sau rã Tỷ lệ TT di động trước đông	Đủ dùng		Chọc lại		p
	n	%	n	%	
<10% (n=32)	10	31,3%	22	68,7%	< 0,001
10% - 30% (n=131)	123	93,9%	8	6,1%	
> 30% (n=34)	33	97,1%	1	2,9%	
Tổng số mẫu TT (n=197)	166	84,3%	31	15,7%	

Nhận xét:

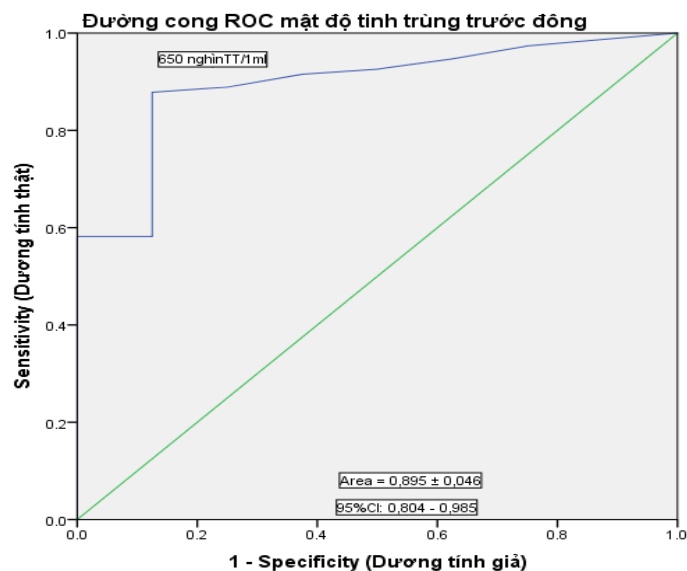
- Có mối liên quan chặt chẽ giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước đông với tình trạng tinh trùng sau rã.
- Với tỷ lệ tinh trùng di động trước đông dưới 10% thì sau rã chỉ có 31,3% đủ dùng cho ICSI còn lại phải chọc hút mào tinh lấy tinh trùng tươi.

Bảng 3.9. Mối liên quan giữa thời gian trữ với khả năng sử dụng sau rã đông.

TT sau rã Thời gian bảo quản	Đủ dùng		Chọc lại		p
	n	%	n	%	
< 6 tháng (n=130)	111	85,4%	19	14,6%	> 0,05
6 - 12 tháng (n=56)	47	83,9%	9	16,1%	
>12 tháng (n=11)	8	72,7%	3	27,3%	
Tổng số mẫu TT (n=197)	166	84,3%	31	15,7%	

Nhận xét:

- Đa số các trường hợp đều bảo quản tinh trùng dưới 12 tháng (81,8%).
- Sự khác biệt về thời gian trữ và khả năng sử dụng sau rã đông không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

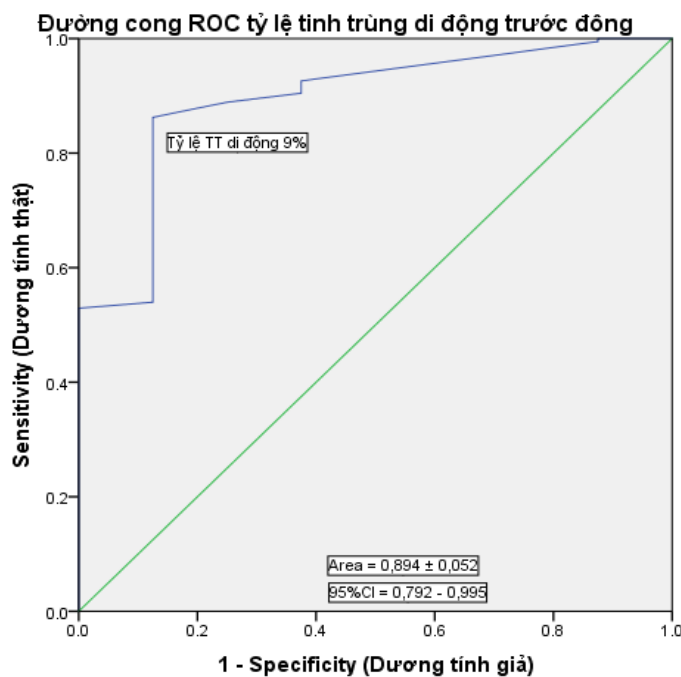


Biểu đồ 3.6. Ngưỡng mật độ tinh trùng trước đông tiên đoán khả năng chết toàn bộ sau rã đông

Biểu đồ 3.6 cho thấy:

- Diện tích dưới đường cong ROC biểu diễn mật độ tinh trùng trước đông là $0,895 \pm 0,046$; CI = 0,804 – 0,985 với độ tin cậy 95%. Như vậy có thể dựa vào mật độ tinh trùng trước đông có thể tiên đoán được khả năng tinh trùng có 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.

Nhận xét:

- Diện tích dưới đường cong ROC biểu diễn tỷ lệ tinh trùng di động trước đông bằng $0,894 \pm 0,052$; CI = 0,792 – 0,995 với độ tin cậy 95%. Như vậy dựa vào tỷ lệ tinh trùng di động trước đông có thể tiên đoán được khả năng tinh trùng có 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	$p(a/b)=0,151$ $p(a/c)=0,274$ $p(b/c)=0,007$

Bảng 3.10 cho thấy:

- Sự khác biệt về tổng liều sử dụng FSH giữa các phác đồ khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Số ngày điều trị trung bình là $9,6 \pm 0,8$ ngày, sự khác biệt về số ngày điều trị giữa các nhóm phác đồ khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Số noãn trung bình thu được ở nhóm phác đồ ngắn so với nhóm phác đồ dài và so với nhóm phác đồ đối vận ít hơn có nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Độ dày niêm mạc tử cung trung bình ở nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

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

Nhận xét:

- Nhóm phác đồ ngắn có số phôi trung bình thấp hơn so với nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận, và khác biệt về số phôi trung bình giữa nhóm phác đồ ngắn với nhóm phác đồ đối vận có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sự khác biệt về số phôi trung bình giữa nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

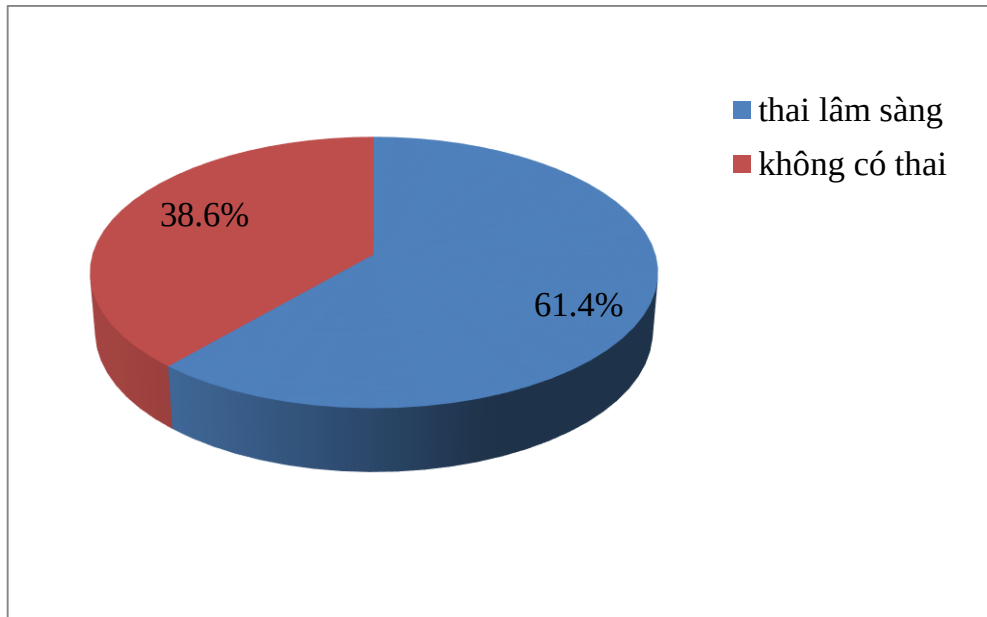
- Sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh giữa các nhóm phác đồ khác nhau không có ý nghĩa với $p > 0,05$.

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 trung bình	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

Nhận xét:

- Sự khác biệt về số phôi chuyển trung bình giữa các nhóm phác đồ là không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.
- Tỷ lệ đa thai, tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ trẻ sinh sống của phác đồ dài có xu hướng cao nhất, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ có thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

Nhận xét: Trong 166 trường hợp rã đông đủ tinh trùng thực hiện kỹ thuật ICSI, có 140 ca chuyển phôi tươi và 26 ca phải đông phôi toàn bộ, thì 86 ca có thai lâm sàng chiếm tỷ lệ 61,4% và 54 ca không có thai chiếm tỷ lệ 38,6% trên số chu kỳ chuyển phôi.

Bảng 3.13. Tỷ lệ có thai lâm sàng cộng dồn sau từng chu kỳ chuyển phôi trong một chu kỳ kích thích buồng trứng

		Thai lâm sàng (n/N; %)
Chuyển phôi tươi	Số chu kỳ CP tươi N=140	86/140 (61,4%)
	Số chu kỳ KTBT 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%)

Nhận xét:

- Có 166 chu kỳ được kích thích buồng trứng trong đó 140 chu kỳ được chuyển phôi tươi thì thai lâm sàng đạt tỷ lệ 51,8% trên số chu kỳ kích thích buồng trứng.

- 55 chu kỳ rã đông phôi có 1 chu kỳ phôi rã bị thoái hóa, 54 chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh thai lâm sàng đạt tỷ lệ 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.

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 chuyển phôi	61,4%	59,3%	0,497
Tỷ lệ làm tổ	31,1%	24,7%	0,259

Nhận xét:

- Số noãn trung bình, số phôi trung bình tạo thành, số phôi tốt trung bình và số phôi chuyển giữa hai nhóm tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.
- Tỷ lệ thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi và tỷ lệ làm tổ của nhóm tinh trùng đông lạnh có xu hướng cao hơn nhóm tinh trùng tươi tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.15. Đánh giá tỷ lệ có thai của các nhóm tinh trùng sau rã đông.

Kết quả Tinh trùng trữ lạnh		Thai lâm sàng	Không có thai	Tổng
Rã đông đủ	Chuyển phôi tươi (n = 140)	86 (61,4%)	54 (38,6%)	166
	ĐPTB (n = 26)	19 (73,1%)	7 (26,9%)	
Rã đông không đủ	Chuyển phôi tươi (n = 20)	12 (60,0%)	8 (40,0%)	23
	ĐPTB (n = 3)	3 (100%)	0 (0%)	
Rã đông chết toàn bộ	Chuyển phôi tươi (n = 7)	4 (57,1%)	3 (42,9%)	8
	ĐPTB (n = 1)	1 (100%)	0 (0%)	

Nhận xét:

- Sự khác biệt về tỷ lệ thai lâm sàng giữa 3 nhóm được chuyển phôi tươi của tinh trùng sau rã không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.
- Tất cả các trường hợp sau rã không đủ tinh trùng hoặc chết toàn bộ khi chọc hút lại mào tinh thì đều có tinh trùng tươi để thực hiện ICSI.

**Bảng 3.16. 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%	

Nhận xét: Nghiên cứu có 71 trường hợp sinh sống, hầu hết là sinh mổ chiếm 85,9%. Trong 102 em bé sinh, cân nặng trung bình khoảng 2660 gram, cân nặng ≥ 2500 gram chiếm tỷ lệ 59,8%. Có 1 trường hợp chết chu sinh do non tháng và nhẹ cân chiếm 0,98%. Không có trường hợp nào trẻ bị dị tật bẩm sinh.

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 3.17. Các yếu tố người chồng ảnh hưởng đến 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

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tuổi trung bình, nồng độ các hormon FSH, LH, Testosteron, thể tích tinh hoàn của người chồng giữa hai nhóm có thai và không có thai với $p > 0,05$.

Bảng 3.18. Liên quan giữa mật độ tinh trùng trước trữ với tỷ lệ thụ tinh

Tỷ lệ thụ tinh Mật độ TT (Triệu/ml)	Tỷ lệ thụ tinh >70%	Tỷ lệ thụ tinh ≤70%	Tổng	p
< 1	25 (73,5%)	9 (26,5%)	34 (100%)	>0,05
1 - 5	73 (78,5%)	20 (21,5%)	93 (100%)	
>5	32 (82,1%)	7 (17,9%)	39 (100%)	
Tổng	130 (78,3%)	36 (21,7%)	166 (100%)	

Từ bảng 3.18 nhận thấy mật độ tinh trùng trước đông càng nhiều thì tỷ lệ thụ tinh trên 70% có xu hướng càng cao tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.19. Liên quan giữa tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ với tỷ lệ thụ tinh

Tỷ lệ TT Tỷ lệ tinh trùng di động trước đông	Tỷ lệ thụ tinh >70%	Tỷ lệ thụ tinh ≤ 70%	Tổng	p
< 10%	8 (80,0%)	2 (20,0%)	10 (100%)	> 0,05
10% - 30%	95 (77,2%)	28 (22,8%)	123 (100%)	
>30%	27 (81,8%)	6 (18,2%)	33 (100%)	
Tổng	130 (8,3%)	36 (21,7%)	166 (100%)	

Nhận xét:

- Với tỷ lệ tinh trùng di động trước đông trên 30% thì tỷ lệ thụ tinh hơn 70% đạt cao nhất 81,8%.
- Tuy nhiên sự khác biệt về tỷ lệ tinh trùng di động trước đông và tỷ lệ thụ tinh không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.20. Liên quan giữa thời gian trữ và tỷ lệ thụ tinh

Tỷ lệ TT Thời gian trữ	Tỷ lệ thụ tinh >70%	Tỷ lệ thụ tinh ≤ 70%	Tổng	p
≤ 6 tháng	85 (76,6%)	26 (23,4%)	111 (100%)	>0,05
6 tháng – 12 tháng	40 (85,1%)	7 (14,9%)	47 (100%)	
>12 tháng	5 (62,5%)	3 (37,5%)	8 (100%)	
Tổng	130 (78,3%)	36 (21,7%)	166 (100%)	

Nhận xét: Sự khác biệt về thời gian trữ tinh trùng với tỷ lệ thụ tinh không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

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

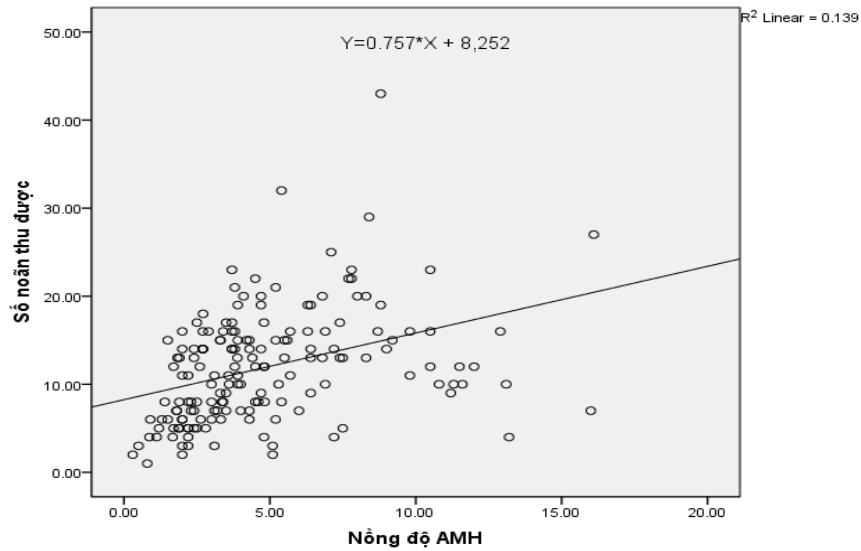
3.3.2.1. Các yếu tố của người vợ liên quan đến số noãn thu được sau chọc hút

Bảng 3.21. Mối tương quan giữa FSH, AMH và AFC, Estradiol ngày tiêm HCG với số noãn thu được sau chọc hút

Xét nghiệm	Hệ số tương quan Spearman (r)	p
AMH (ng/ml)	0,372	<0,001
AFC	0,242	0,002
FSH (IU/L)	-0,318	<0,001
Estradiol (pg/ml)	0,584	<0,001

Nhận xét:

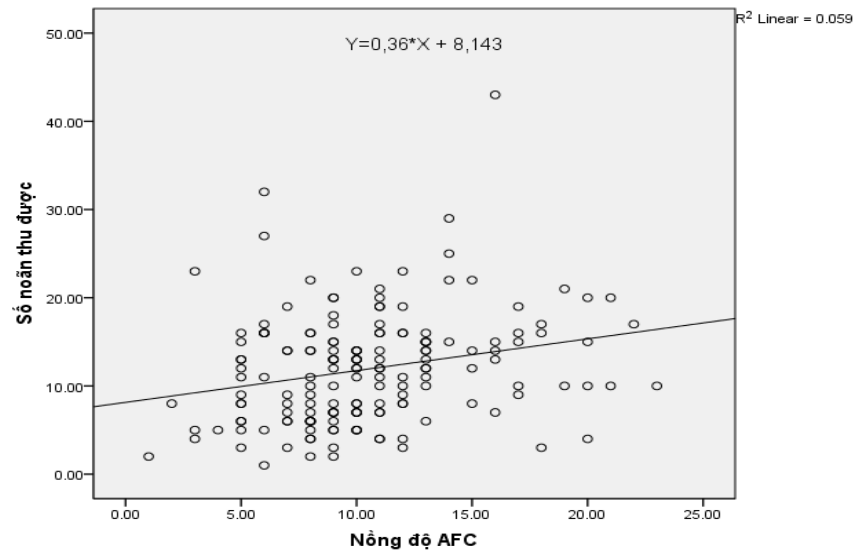
- AMH, FSH và E2 có mối tương quan với số noãn thu được sau chọc hút trong đó E2 có mối tương quan chặt nhất với r là 0,584, tiếp đến là AMH với $r = 0,372$ và FSH (r là -0,318) với $p < 0,05$.
- AFC có mối tương quan thấp với số noãn thu được sau chọc hút r là 0,242.
- FSH có mối tương quan nghịch với số noãn thu được sau chọc hút nghĩa là FSH tăng thì số noãn thu được giảm.
- E2 và AMH có mối tương quan thuận với số noãn thu được, E2 và AMH tăng thì số noãn sau chọc hút có xu hướng tăng.



Biểu đồ 3.9. Mối tương quan giữa nồng độ AMH và số noãn thu được sau chọc hút

Biểu đồ 3.9 cho thấy có mối liên quan đồng biến ($r=0,372$) giữa số nang noãn thu được sau chọc hút với nồng độ AMH theo phương trình:

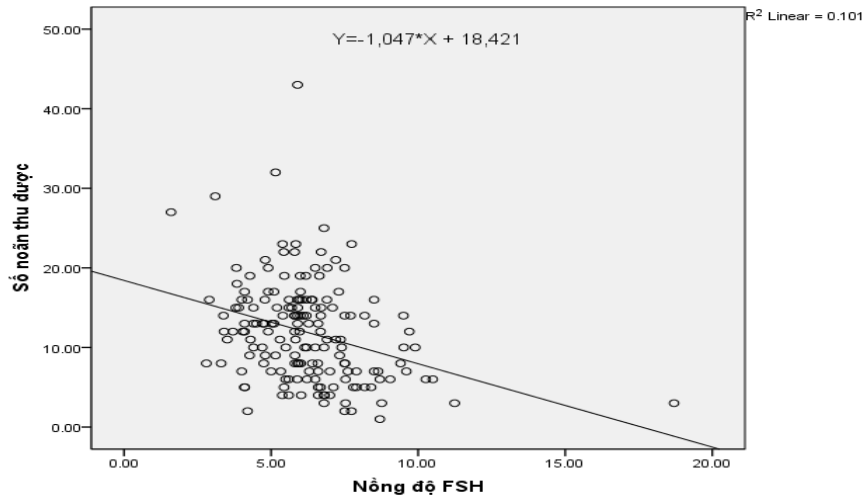
$$Y = 0,757 * X + 8,252 \text{ với } p < 0,001$$



Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa chỉ số AFC và số noãn thu được sau chọc hút

Nhận thấy có mối liên quan đồng biến thấp giữa số noãn thu được sau chọc hút với chỉ số AFC ($r = 0,242$) theo phương trình.

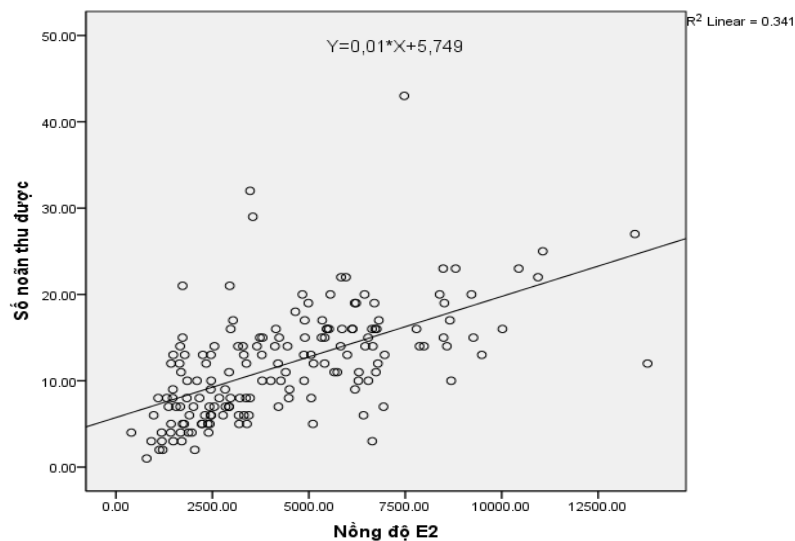
$$Y = 0,36 * X + 8,143 \text{ với } p=0,002.$$



Biểu đồ 3.11. Mối tương quan giữa nồng độ FSH và số noãn thu được sau chọc hút

Nhận thấy có mối liên quan nghịch biến ($r = -0,318$) giữa số noãn thu được sau chọc hút với nồng độ FSH theo phương trình.

$$Y = -1,047 * X + 18,421 \text{ với } p < 0,001.$$



Biểu đồ 3.12. Mối tương quan giữa nồng độ E2 ngày tiêm hCG với số noãn thu được sau chọc hút

Nhận xét: Có mối liên quan chặt giữa nồng độ E2 ngày tiêm hCG với số noãn thu được sau chọc hút ($r = 0,584$) theo phương trình:

$$Y = 0,01 * X + 5,749 \text{ với } p < 0,001.$$

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

Nhận xét:

- Không có sự khác biệt về tuổi trung bình của người vợ, thời gian vô sinh, độ dày NMTC và tỷ lệ thụ tinh giữa hai nhóm có và không có thai với $p > 0,05$.
- Có sự khác biệt về số noãn trung bình, số phôi thu được và số phôi chuyển trung bình giữa hai nhóm có thai và không có thai với $p < 0,05$.

Bảng 3.23. Liên quan giữa độ tuổi người vợ và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thai lâm sàng Độ tuổi	Có thai	Không có thai	Tổng	p
≤ 25	26 (63,4%)	15 (36,6%)	41(100%)	0,647
26 - 35	53 (62,4%)	32 (37,6%)	85 (100%)	
>35	7 (50,0%)	7 (50,0%)	14 (100%)	
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (100%)	

Nhận xét:

- Tỷ lệ có thai lâm sàng có xu hướng giảm dần khi tuổi của người vợ tăng lên.
- Sự khác biệt về tuổi của mẹ giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,647$.

Bảng 3.24. Liên quan thời gian vô sinh và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thai lâm sàng Thời gian vô sinh	Có thai	Không có thai	Tổng	p
< 5 năm	66 (62,3%)	41 (35,7%)	106 (100%)	0,078
5 – 10 năm	17 (70,8%)	7 (29,2%)	24 (100%)	
> 10 năm	3 (30,0%)	7 (70,0%)	10 (100%)	
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (100%)	

Nhận xét: Tỷ lệ thai lâm sàng có xu hướng giảm khi thời gian vô sinh tăng. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.25. Liên quan giữa phác đồ điều trị và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thai lâm sàng Phác đồ	Có thai	Không có thai	Tổng	p
Phác đồ ngắn	15 (57,7%)	11 (42,3%)	26 (100%)	0,702
Phác đồ dài	33 (66,0%)	17 (34,0%)	50 (100%)	
Phác đồ đối vận	38 (59,4%)	26 (40,6%)	64 (100%)	
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (100%)	

Nhận xét: Tỷ lệ có thai lâm sàng cao nhất ở phác đồ dài tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.26. Liên quan độ dày niêm mạc tử cung và tỷ lệ có thai lâm sàng

Độ dày niêm mạc (mm) \ Thai lâm sàng	Có thai (n = 86)	Không có thai (n = 54)	Tổng
< 8,0	0 (0%)	1 (100%)	1(100%)
8,0 - 10,0	31 (66,0%)	16 (34,0%)	47 (100%)
10,1 - 12,0	29 (55,8%)	23 (44,2%)	52 (100%)
12,1 – 14,0	16 (64,0%)	9 (36,0%)	25 (100%)
> 14,0	10 (66,7%)	5 (33,3%)	15 (100%)
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (140%)
Niêm mạc trung bình (mm)	11,49 ± 2,2	11,27 ± 2,05	p = 0,568

Bảng 3.26 cho thấy:

- Không có trường hợp nào NMTC dưới 8mm có thai.
- NMTC mỏng nhất là 6mm, dày nhất là 18,5mm.
- Với NMTC trên 8mm không thấy sự khác biệt về tỷ lệ có thai giữa các nhóm với $p > 0,05$.

Bảng 3.27. Liên quan giữa tính chất NMTC và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thai lâm sàng \ Hình ảnh NMTC	Có thai	Không có thai	Tổng	p	OR (CI 95%)
Ba lá	80 (71,4%)	32 (28,6%)	112 (100%)	<0,001	0,109 0,04 - 0,294
Không ba lá	6 (21,4%)	22 (78,6%)	28 (100%)		
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140(100%)		

Nhận xét:

- NMTC không ba lá thì tỷ lệ có thai chỉ bằng 0,109 lần so với dạng ba lá.
- Sự khác biệt về hình ảnh NMTC và tỷ lệ có thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Bảng 3.28. Liên quan số lượng, chất lượng phôi chuyển và tỷ lệ có thai lâm sàng

Số phôi chuyển	Tỷ lệ có thai (%)	OR, 95%CI
0 phôi tốt (a)	29,6% (8/27)	OR(a/b) = 1,81; CI (0,60 - 5,44) OR(a/c) = 8,0; CI (3,0 - 21,1) OR(b/c) = 4,4; CI (1,8 - 10,6)
1 phôi tốt (b)	46,7% (14/30)	
≥2 phôi tốt (c)	77,1% (64/83)	
p < 0,001		

Nhận xét:

- Khi chuyển ít nhất 2 phôi tốt thì tỷ lệ có thai cao gấp 4,4 lần so với khi chuyển có 1 phôi tốt, và cao gấp 8,0 lần so với khi chuyển không có phôi tốt nào sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
- Sự khác biệt về số phôi, chất lượng phôi chuyển với tỷ lệ có thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê với **p < 0,001**.

Bảng 3.29. Liên quan giữa kỹ thuật chuyển phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng

Thai lâm sàng Kỹ thuật CP	Có thai	không	Tổng	p	OR(CI95%)
CP dễ	86 (61,9%)	53 (38,1%)	139 (100%)	0,39	0,38 (0,31-0,47)
CP khó	0 (0%)	1 (100%)	1(100%)		
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (100%)		

Nhận xét: Trong 140 chu kỳ chuyển phôi chỉ có 1 chu kỳ chuyển phôi khó và chu kỳ này không có thai, sự khác biệt về kỹ thuật chuyển phôi và kết quả có thai không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.30. Liên quan giữa điểm chuyển phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng.

Thai lâm sàng Điểm chuyển phôi	Có thai	Không có thai	Tổng	p
1 điểm	0	0	0	<0,001
2 điểm	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)	
3 điểm	0 (0%)	3 (100%)	3 (100%)	
4 điểm	14 (45,2%)	17 (54,8%)	31 (100%)	
5 điểm	17 (48,6%)	18 (51,4%)	35 (100%)	
6 điểm	55 (79,7%)	14 (20,3%)	69 (100%)	
Tổng	86 (61,4%)	54 (38,6%)	140 (100%)	
Điểm chuyển phôi Trung bình	5,48 ± 0,76	4,72 ± 1,02		

Nhận xét: Điểm chuyển phôi càng cao thì tỷ lệ có thai lâm sàng càng cao, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

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

Nhận xét:

- Số lượng phôi chuyển càng nhiều, chất lượng càng tốt, điểm chuyển phôi càng cao thì tỷ lệ có thai lâm sàng càng cao.
- Những trường hợp có hình ảnh NMTC không ba lá thì có thai lâm sàng chỉ bằng 0,109 lần dạng NMTC ba lá, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$.
- Thời gian vô sinh càng dài thì tỷ lệ thai lâm sàng càng giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Tuổi mẹ ≤ 35 tuổi, niêm mạc tử cung từ 8 – 14 mm thì tỷ lệ có thai lâm sàng có xu hướng cao hơn khi tuổi mẹ > 35 tuổi và độ dày niêm mạc khác 8 – 14mm, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Sau khi loại bỏ yếu tố “tuổi mẹ” và “Độ dày NMTC” không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai trong phân tích đơn biến, chúng tôi đưa các yếu tố vào phân tích hồi quy nhị biến logistics để xem xét vai trò của các biến khi tác động cùng lúc trong chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

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

Nhận xét:

- Sau khi đưa vào mô hình hồi quy nhị biến chúng tôi thấy yếu tố hình ảnh NMTC và chất lượng phôi chuyển có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.
- Yếu tố thời gian vô sinh, số lượng phôi chuyển và điểm chuyển phôi trong phân tích đơn biến có ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng nhưng khi đưa vào phân tích hồi quy đa biến, hiệu chỉnh các yếu tố khác lại không ảnh hưởng với $p > 0,05$.

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	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 vô sinh ≤ 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 chuyển phôi ≤ 4 điểm 5 – 6 điểm	10 (27,8%) 61 (58,7%)	0,271	0,119 – 0,62	< 0,01

Nhận xét:

- Hình ảnh NMTC, số lượng phôi, chất lượng phôi chuyển và điểm chuyển phôi là các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.
- Tuổi vợ càng trẻ ≤ 35 tuổi, thời gian vô sinh càng ngắn, độ dày NMTC từ 8 – 14mm thì tỷ lệ trẻ sinh sống có xu thế cao hơn tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Sau khi loại bỏ yếu tố “tuổi mẹ”, “thời gian vô sinh” và “Độ dày NMTC” không ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống trong phân tích đơn biến, chúng tôi đưa các yếu tố vào phân tích hồi quy nhị biến logistics để xem xét vai trò của các biến khi tác động cùng lúc đến tỷ lệ trẻ sinh sống trong chu kỳ TTTON sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh.

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

Nhận xét:

- Sau khi đưa vào hồi qui nhị biến chúng tôi nhận thấy yếu tố hình ảnh NMTC và chất lượng phôi chuyển ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- NMTC không ba lá thì tỷ lệ trẻ sinh sống chỉ bằng 0,122 lần so với NMTC có hình ảnh ba lá với $p < 0,001$.
- Khi chuyển ít nhất 2 phôi tốt thì tỷ lệ trẻ sinh sống cao gấp 2,731 lần khi chuyển ít hơn 2 phôi tốt CI:(1,146– 6,508).
- Các yếu tố số lượng phôi chuyển và điểm chuyển phôi trong phân tích đơn biến thì có ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống, tuy nhiên khi hiệu chỉnh với các yếu tố khác trong phân tích đa biến thì không có ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống với $p > 0,05$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

Trong những năm gần đây, vấn đề vô sinh được quan tâm một cách đặc biệt và có nhiều hướng giải quyết đột phá nhờ vào sự tiến bộ của y học, đặc biệt là các vấn đề về vô sinh do nam mà từ trước tưởng chừng như bế tắc. Cùng với sự tiến bộ của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản, mà đầu tiên là kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intra Cytoplasmic Sperm Injection - ICSI) đã giải quyết được rất nhiều các trường hợp vô sinh do nam giới. Sự hiểu biết sâu hơn về cơ chế bệnh sinh của vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn đã giúp điều trị thành công cho các trường hợp vô sinh không có tinh trùng.

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

Đối tượng trong nghiên cứu này là 197 bệnh nhân nam được khám lâm sàng, tư vấn, làm xét nghiệm hormon FSH, LH, Testosteron, Prolactin, xét nghiệm tinh dịch đồ 2 lần được chẩn đoán vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn. Những bệnh nhân này được chọc hút mào tinh và đông tinh tại Trung tâm Hỗ trợ sinh sản Quốc Gia từ tháng 1 năm 2014 đến tháng 1 năm 2017.

Các đối tượng nghiên cứu được lựa chọn theo đúng các tiêu chuẩn đưa ra trong phần đối tượng và phương pháp nghiên cứu, giúp làm giảm các sai số ngẫu nhiên trong khi chọn mẫu nghiên cứu.

Với thiết kế nghiên cứu là mô tả cắt ngang và tiến hành nghiên cứu tiến 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.

Tham khảo cỡ mẫu trong các nghiên cứu về đông lạnh tinh trùng từ mào tinh trong và nước ngoài cho thấy các cỡ mẫu khác nhau theo bảng sau:

Bảng 4.1. Cỡ mẫu nghiên cứu của một số tác giả

Tác giả và năm nghiên cứu	n	Mục tiêu nghiên cứu
Pasquale Patrizio (2000)[135]	22	Đánh giá kết quả ICSI khi sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh
Jas Kalsi (2010) [136]	43	Đánh giá kết quả ICSI khi sử dụng tinh trùng đông lạnh và tươi chọc hút từ mào tinh
Jin L (2006) [137]	27	Đánh giá kết quả ICSI khi sử dụng tinh trùng đông lạnh và tươi chọc hút từ mào tinh
Trương.T.Thanh Bình (2012) [127]	43	Kết quả ICSI của các chu kỳ điều trị sử dụng tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật tươi và đông lạnh
Ng. T. Thái Thanh (2015) [138]	17	Đánh giá kết quả nuôi cấy phôi thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng trữ lạnh sau phẫu thuật trích tinh trùng
Ng. T. Liên Hương (2014) [129]	35	So sánh kết quả có thai của tinh trùng tươi và rã đông thu được từ phương pháp chọc hút mào tinh qua da
Vũ.T.Bích Loan	197	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

Như vậy so với các nghiên cứu khác cỡ mẫu trong nghiên cứu này là lớn, để có được số lượng nghiên cứu lớn như vậy là do thực hiện với thời gian dài hơn 3 năm và địa điểm lấy mẫu nghiên cứu tại trung tâm hỗ trợ sinh sản lớn, do vậy kết quả nghiên cứu là rất đáng tin cậy.

197 cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh được tiến hành kích thích buồng trứng làm thụ tinh trong ống nghiệm. Chỉ có 166 mẫu tinh trùng đông lạnh sau rã đủ để thực hiện kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn chiếm tỷ lệ 84%. 31 chu kỳ phải chọc hút lại mào tinh vào ngày chọc hút noãn để lấy tinh trùng tươi cho kỹ thuật ICSI chiếm tỷ lệ 15,7%, trong đó có 23 mẫu không đủ dùng chiếm tỷ lệ 12% những trường hợp này là do số lượng noãn chọc hút được rất nhiều mà tinh trùng sau rã không đủ để tiêm với số noãn đó, 8 mẫu tinh trùng rã đông bị chết hoàn toàn chiếm tỷ lệ 4%.

Trong 166 cặp vợ chồng điều trị bằng phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn có 140 chu kỳ được chuyển phôi tươi, 26 chu kỳ đông phôi toàn bộ do quá kích buồng trứng phải chuyển phôi đông lạnh. Có 86 trường hợp có thai lâm sàng sau chu kỳ chuyển phôi tươi.

101 chu kỳ điều trị có phôi trữ lạnh và trong thời gian nghiên cứu có 55 chu kỳ được rã đông, trong đó có 26 chu kỳ do đông phôi toàn bộ thì có 1 chu kỳ phôi bị thoái hóa, 35 chu kỳ có thai lâm sàng trên tổng số 55 chu kỳ rã đông/chuyển phôi. Còn lại 56 bệnh nhân còn phôi trữ lạnh chưa chuyển.

Kết thúc nghiên cứu có tổng số 121 trường hợp có thai lâm sàng sau chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh.

31 trường hợp sau rã tinh trùng không đủ hoặc chết hết sẽ tiến hành chọc hút lại mào tinh lấy tinh trùng làm thụ tinh trong ống nghiệm, các trường hợp này chúng tôi theo dõi đến khi có thai lâm sàng.

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

4.2.1.1. Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của người chồng.

Tuổi trung bình của các bệnh nhân vô sinh nam trong nghiên cứu là $31,4 \pm 5,6$ năm, người ít tuổi nhất là 21 tuổi và nhiều tuổi nhất là 55 tuổi (bảng 3.1). Nghiên cứu của chúng tôi tương tự của Hồ Sỹ Hùng (2014) độ tuổi của bệnh nhân nam vô sinh không có tinh trùng là $32,37 \pm 5,5$ năm, của Nguyễn Biên Thùy (2011) thì độ tuổi trung bình của bệnh nhân cũng là $32 \pm 5,7$ năm [139],[140]. Nghiên cứu của Shyh (2010) là $30,1 \pm 4,2$ năm ở nhóm chọc hút có tinh trùng và $29,8 \pm 4,5$ năm ở nhóm chọc hút không có tinh trùng [141]. Nghiên cứu của Seyed độ tuổi của bệnh nhân là $33,2 \pm 6,1$ năm ở nhóm chọc hút có tinh trùng và $34,5 \pm 5,8$ năm ở nhóm chọc hút không có tinh trùng [142]. Độ tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Tr.T.T. Bình (2012) là $36,81 \pm 8,16$ năm của R.Kovac (2014) là 37 ± 1 năm [127]. Nicopoulllos (2004) nghiên cứu 154 chu kỳ ICSI từ tinh trùng phẫu thuật thì độ tuổi trung bình của bệnh nhân có tinh trùng từ mào tinh là 40,6 tuổi [91]. Sự khác biệt này có thể do tuổi kết hôn của các khu vực khác nhau trên thế giới nên phát hiện bệnh sớm hay muộn cũng khác nhau.

Thời gian vô sinh trung bình của các bệnh nhân nam có tinh trùng đông lạnh từ mào tinh trong nghiên cứu của chúng tôi là $4,2 \pm 3,7$ năm, tương đương với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là $4,09 \pm 3,4$ năm ở nhóm chọc hút mào tinh có tinh trùng, Ng.T.Thái Thanh (2015) nhận thấy thời gian vô sinh trung bình của nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh là $3,82 \pm 3,24$ năm [138]. Yan Jiang (2013) nghiên cứu 20 cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh từ mào tinh thì thời gian vô sinh là $4,1 \pm 4,7$ năm [143]. So với nghiên cứu của Hán Mạnh Cường (2010), thời gian vô sinh của các bệnh nhân điều trị bằng

phương pháp IVF đơn thuần là $5,1 \pm 3,6$ năm, chứng tỏ các bệnh nhân vô sinh không có tinh trùng thường đi khám và được điều trị sớm hơn vì chỉ cần làm xét nghiệm tinh dịch đồ và một số xét nghiệm sinh hóa có thể chẩn đoán xác định là vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn và được điều trị kịp thời[144].

Theo Meschede và cs (1995) thì thể tích tinh hoàn của đàn ông Châu Âu bình thường khoảng 12 - 30ml (trung bình 18ml)[145]. Tại Việt Nam, theo nghiên cứu của Ng.Thành Như (2006), thể tích tinh hoàn trung bình của người trưởng thành là $17,2 \pm 5,4$ ml[146]. Do phần lớn thể tích tinh hoàn (80%) bao gồm các ống sinh tinh và tế bào mầm sinh dục, số lượng những tế bào này giảm được thể hiện rõ nét bằng giảm thể tích tinh hoàn. Người ta thấy rằng giảm thể tích tinh hoàn cho dù là một bên hay hai bên đều liên quan tới giảm khả năng sinh tinh.

Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá kích thước tinh hoàn bằng thước đo Prader có sẵn các thể tích chuẩn tính từ 1 đến 25ml để ước lượng thể tích tinh hoàn của bệnh nhân. Thể tích tinh hoàn trung bình trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi là $17,65 \pm 2,81$ ml đặc biệt không có trường hợp nào dưới 10ml. Nghiên cứu của chúng tôi tương tự nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) cũng nhận thấy thể tích tinh hoàn trung bình ở nhóm chọc hút có tinh trùng là $16,78 \pm 2,2$ ml, và với ngưỡng thể tích tinh hoàn trên 13,75ml tiên đoán chọc hút được tinh trùng với độ nhạy 97%, độ đặc hiệu 75,9% cũng không có trường hợp nào tinh hoàn nhỏ hơn 10ml. Tương tự nghiên cứu của Ng.T. Diễm Thu (2015) thể tích tinh hoàn trung bình ở nhóm sinh thiết có tinh trùng là $16,7 \pm 11,4$ ml [147]. So với nghiên cứu của Goran (1999), thể tích tinh hoàn nhóm chọc hút mào tinh có tinh trùng là $19,8 \pm 4,4$ ml (14 đến 30ml), nghiên cứu của Tournayer (1997), thể tích tinh hoàn ở nhóm chọc hút có tinh trùng là $17,5 \pm 1,0$ ml. Thể tích tinh hoàn bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi nhỏ hơn so

với nghiên cứu của các tác giả khác có thể do sự khác nhau về chủng tộc. Chủng tộc người Châu Á thường nhỏ hơn người Châu Âu và Châu Mỹ [148].

FSH là một trong những chỉ số lâm sàng thường được nhắc nhiều nhất dùng tiên lượng khả năng sinh tinh trong vô tinh. Trong tinh hoàn, ngoài các tế bào sinh tinh còn có hai loại tế bào khác là tế bào Leydig và tế bào Sertoli. Tế bào Sertoli nằm xen kẽ trong biểu mô sinh tinh tương tự như tế bào hạt của nang noãn. Tế bào Leydig tương tự tế bào vỏ của buồng trứng nằm trong mô kẽ của tinh hoàn. Quá trình sinh tinh có sự tham gia của hai loại tế bào này tương tác lẫn nhau thông qua receptor LH và FSH. LH kích thích tế bào Leydig bài tiết ra testosterone, testosterone gắn với ABP trong ống sinh tinh, chỉ có khoảng 2% testosterone ở dạng tự do và có tác dụng sinh học. FSH kích thích tế bào Sertoli bài tiết ra ABP một loại protein mang [149].

Trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ FSH trung bình là $4,76 \pm 2,89$ IU/l tương tự nghiên cứu của Trịnh Thế Sơn và cs (2013) trên 50 bệnh nhân vô tinh tắc nghẽn cũng cho kết quả nồng độ FSH là $4,32 \pm 2,85$ IU/l, Hồ Sỹ Hùng (2014) cũng nhận thấy nồng độ FSH trung bình ở nhóm chọc hút có tinh trùng là $4,76 \pm 2,7$ IU/l, Nguyễn Biên Thùy và Cs (2011) thấy nồng độ FSH trung bình ở nhóm chọc hút có tinh trùng là $4,8 \pm 2,3$ IU/L tương tự như kết quả nghiên cứu của chúng tôi [139],[140],[150]. So với kết quả nghiên cứu của Goran (1999) nhóm chọc hút có tinh trùng có nồng độ FSH là $3,8 \pm 2,0$, Shyh (2010) thì nồng độ FSH trong nhóm chọc hút có tinh trùng là $7,94 \pm 4,95$ [141],[148].

Ở nam giới vô tinh, điều quan trọng là xác định vô tinh bẩm tắc hay không tắc. Giá trị tiên đoán phù hợp trong trường hợp bẩm tắc là FSH bình thường cùng với thể tích tinh hoàn hai bên bình thường. Tuy nhiên không phải lúc nào cũng như vậy, khoảng 29% nam giới mặc dù có FSH bình thường nhưng lại có khiếm khuyết về khả năng sinh tinh [151] Theo nghiên cứu của Ng.Thành Như và cs (2009) trên 256 bệnh nhân vô tinh không bẩm tắc,

với $FSH < 8 \text{ mIU/ml}$ thì 48% có sinh tinh bình thường và 22,73% sinh tinh kém, 22,73% sinh tinh nửa chừng, 6,06% hội chứng một lớp tế bào Sertoli đơn thuần (SCO). Khi $FSH > 30 \text{ mIU/ml}$ thì 3,3% sinh tinh kém, 10% sinh tinh nửa chừng, 36,67% SCO, 50% xơ hóa toàn ống sinh tinh. Trong nghiên cứu này chúng tôi có 6 trường hợp có nồng độ FSH hơn 10 IU/l , trong đó có 1 trường hợp $FSH = 33,87 \text{ IU/l}$ vẫn có tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh [152]. Ramasamy R và cs (2009) cho thấy FSH tăng cao không là yếu tố ảnh hưởng tới kết quả thu nhận tinh trùng. Tỷ lệ thu nhận tinh trùng trong nhóm $FSH < 15$, 15-30, 31-45 và $> 45 \text{ IU/mL}$ lần lượt là 51%, 60%, 67% và 60%. FSH thường tăng cao là bệnh nhân có bất thường về khả năng sinh tinh nhưng không phải lúc nào cũng đúng. Vì vậy, tăng FSH trong máu là yếu tố chỉ điểm có vấn đề về sinh tinh, trong khi đó FSH bình thường không đảm bảo khả năng sinh tinh còn nguyên vẹn [153].

LH tác động vào các tế bào Leydig để sản xuất testosterone, FSH có vai trò khởi động quá trình sinh tinh và LH có vai trò quan trọng trong duy trì sản sinh tinh trùng. Trong nghiên cứu này nồng độ LH trung bình là $4,79 \pm 2,89 \text{ IU/L}$ tương tự với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) cho thấy nồng độ LH ở nhóm chọc hút mào tinh có tinh trùng là $4,69 \pm 2,71 \text{ IU/l}$. Trịnh Thế Sơn và cs (2013) cũng cho kết quả nồng độ LH các bệnh nhân không có tinh trùng do tắc nghẽn là $4,00 \pm 2,82 \text{ IU/l}$, tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Trong khi Liliana Ramos (2004) khi nghiên cứu trên 138 bệnh nhân vô tinh thì không thấy sự khác biệt về nồng độ LH giữa nhóm chọc hút có tinh trùng và không có tinh trùng (3,0 và 3,1) [154]. Điều này có thể giải thích khi tinh hoàn bị tổn thương thì không chỉ biểu mô sinh tinh bị tổn thương (cả biểu mô sinh tinh và tế bào Sertoli cùng bị tổn thương vì tế bào Sertoli cũng nằm trong biểu mô sinh tinh) mà mô kẽ cũng bị tổn thương nhưng ở mức độ tổn thương

không trầm trọng như biểu mô sinh tinh. Chính vì vậy chức năng nội tiết của tinh hoàn không bị giảm nhiều như chức năng ngoại tiết.

Nồng độ testosterone cao sẽ ức chế làm giảm tiết LH, làm tế bào Leydig giảm tiết testosterone. Nồng độ thấp sẽ kích thích gây tăng tiết LH, kích thích tế bào Leydig tổng hợp testosterone. Người ta thấy trên các bệnh nhân bị đột biến receptor testosterone thì quá trình sinh tinh sẽ diễn ra một cách không bình thường và thực nghiệm trên động vật cắt bỏ tuyến yên mà cho liều cao testosterone thì quá trình sinh tinh vẫn diễn ra một cách bình thường. Tuy nhiên nồng độ testosterone cao hơn mức sinh lý cũng có thể làm giảm số lượng tinh nguyên bào và ảnh hưởng tới quá trình sinh tinh. Nồng độ Testosterone trung bình của chúng tôi là $17,15 \pm 7,44\text{nmol/l}$, tương tự như Lilima Ramos (2004) nồng độ testosterone ở nhóm chọc hút có tinh trùng là 15nmol/l , Hồ Sỹ Hùng (2014) cũng nhận thấy nồng độ testosterone nhóm chọc hút có tinh trùng là $19,59 \pm 6,2\text{nmol/l}$ cũng không chênh lệch nhiều với nhóm không có tinh trùng là $15,33 \pm 8,3\text{nmol/l}$. Do chức năng nội tiết không giảm nhiều nên nồng độ testosterone ở nhóm chọc hút có tinh trùng cũng không chênh lệch nhiều so với nhóm chọc hút không có tinh trùng. Trên lâm sàng khi khám cho các bệnh nhân chọc hút không có tinh trùng thấy các đặc tính sinh dục phụ vẫn bình thường, sinh hoạt tình dục bình thường. Chính vì điều này nên một số bệnh nhân không nghĩ mình bị bệnh, chủ quan không đi khám sớm [139],[154].

4.2.1.2. Loại vô sinh của người chồng.

Trong tổng số 197 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, 175 trường hợp vô sinh nguyên phát chiếm tỷ lệ 88,8%, 22 trường hợp vô sinh thứ phát chiếm 11,2% các trường hợp (Biểu đồ 3.1). Nghiên cứu của chúng tôi tương tự như nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) vô sinh nguyên phát chiếm tỷ lệ 94,4%, vô sinh thứ phát chiếm tỷ lệ 5,6%. Kết quả của chúng tôi khác so với kết quả của Nguyễn Xuân Huy (2003) nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân làm TTTON chung

thì tỷ lệ vô sinh nguyên phát là 43,8% và vô sinh thứ phát là 56,2%, còn Vũ Minh Ngọc (2006) nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân sử dụng phác đồ dài thấy tỷ lệ vô sinh nguyên phát là 47,8%, còn vô sinh thứ phát là 52,2% [155],[156].

Mặc dù không xác định được chính xác nguyên nhân gây ra không có tinh trùng nhưng trong nghiên cứu cho thấy đa số các trường hợp vô sinh thứ phát có liên quan với các yếu tố nguy cơ gây tắc đường dẫn tinh như tiền sử mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục đặc biệt là viêm niệu đạo do lậu.

4.2.1.3. Tiền sử liên quan đến vô sinh nam do không có tinh trùng

Bảng 3.2 cho thấy 31,5% bệnh nhân có tiền sử mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục, 2,5% bệnh nhân có tiền sử phẫu thuật vùng bẹn, có 1 bệnh nhân vừa có tiền sử phẫu thuật vùng bẹn vừa mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục. Nghiên cứu của chúng tôi khác với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) nhận thấy 19,2% các trường hợp có yếu tố nguy cơ, trong đó 4,8% có tiền sử phẫu thuật vùng bẹn, 14,4% các trường hợp có tiền sử quai bị và bệnh lây truyền qua đường tình dục. Sự khác nhau này có thể là do đối tượng nghiên cứu khác nhau, chúng tôi nghiên cứu trên nhóm chọc hút đã có tinh trùng và tinh trùng đủ điều kiện để đông lạnh, còn nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng trên nhóm vô sinh không có tinh trùng chung có thể do tắc nghẽn hoặc không do tắc nghẽn.

Trong nghiên cứu này cho thấy viêm nhiễm đường tiết niệu, đặc biệt viêm niệu đạo do lậu có nguy cơ gây tắc nghẽn đường dẫn tinh rất cao. Hậu quả các trường hợp tắc nghẽn đường dẫn tinh sẽ không có tinh trùng trong mẫu xuất tinh, mà chỉ có thể lấy tinh trùng bằng cách chọc hút từ mào tinh.

Chúng tôi không ghi nhận các bệnh nhân có tiền sử bị quai bị vì nhận thấy rất ít bệnh nhân còn nhớ mình có bị quai bị hay không vì đa phần bị mắc bệnh từ nhỏ và đặc biệt quai bị có biến chứng viêm tinh hoàn hay không.

Trữ lạnh tinh trùng là một quy trình quan trọng không thể thiếu được của mỗi trung tâm hỗ trợ sinh sản. Tinh trùng người chịu được một biên độ làm lạnh và làm ấm nhất định. Chúng không dễ dàng bị tổn hại bởi quá trình làm lạnh nhanh ban đầu (sốc lạnh). Nguyên nhân có thể là do màng tế bào tinh trùng là màng Lipid kép, cấu tạo từ các acid béo không bão hòa nên tính linh động cao. Ngoài ra chúng có sức chịu đựng cao hơn các loại tế bào khác đối với các thương tổn gây ra từ quá trình đông lạnh là do lượng nước trong nội bào ít hơn (khoảng 50%). Tuy nhiên, quá trình đông lạnh vẫn có thể có tác động xấu lên chức năng tinh trùng người, đặc biệt là độ di động. Trung bình khoảng 50% tinh trùng di động sống sót sau khi đông và rã đông. Việc tối ưu hóa quá trình trữ đông sẽ giảm thiểu những bất lợi này và có thể làm tăng tỷ lệ thai lâm sàng.

4.2.1.4. Mật độ tinh trùng trước khi trữ lạnh

Trong 197 mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh được đông lạnh có 139 mẫu đạt mật độ tinh trùng trên 1 triệu /ml chiếm tỷ lệ 70,5%. Mật độ tinh trùng trung bình trước trữ là $5,99 \pm 2,00$ triệu/ml. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự nghiên cứu của Shevach Friedler (1998) có mật độ tinh trùng chọc hút từ mào tinh trước trữ là 0,1 – 10 triệu/ml [93], Turco.D.M thấy mật độ tinh trùng trước trữ của nhóm chọc hút từ mào tinh là $6,7 \pm 2,1$ triệu/ml [157]. Kết quả của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Vũ Đình Tuấn (2011) ghi nhận 5 trường hợp đông lạnh tinh trùng từ mào tinh có mật độ tinh trùng trước trữ là 20,2 triệu/ml [128], Herman Tournaye (1999) sử dụng kỹ thuật MESA để lấy tinh trùng từ mào tinh thì mật độ tinh trùng trung bình trước đông là 10,8 triệu/ml [6]. Sở dĩ có sự khác nhau như vậy có thể do cỡ mẫu nghiên cứu khác nhau, kỹ thuật lấy tinh trùng từ mào tinh là khác nhau. Chúng tôi chỉ chọc hút tối thiểu khi có tinh trùng là dừng lại không cố gắng chọc nhiều lần ảnh hưởng đến mào tinh của bệnh nhân mà vẫn đảm bảo đủ lượng tinh trùng đông lạnh cho bệnh nhân.

4.2.1.5. Tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ

Trong chu kỳ tiêm tinh trùng vào bào tương noãn, tinh trùng di động là một thông số rất quan trọng cho quá trình thụ tinh và có thai của bệnh nhân vì nó cho biết khả năng sống của tinh trùng, mặc dù tinh trùng không di động cũng không loại trừ được khả năng sống.

Tỷ lệ tinh trùng di động trung bình trong mẫu nghiên cứu là $20,92\% \pm 13,97\%$. Nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả của Ashok Agarwal (2006) tiến hành chọc hút và đông lạnh tinh trùng cho 23 bệnh nhân có tỷ lệ tinh trùng di động trung bình trước trữ là $20,13\% \pm 7,28\%$ [158]. Turco.D.M và cs nghiên cứu trên 37 bệnh nhân chọc hút tinh trùng từ mào tinh cũng có tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ là 21% [157]. Kết quả của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Trương Thị Thanh Bình (2012) trên 25 mẫu mô tinh hoàn có tỷ lệ tinh trùng sống trước trữ $12,40 \pm 8,01$ [127], Herman Tournaye (1999) nghiên cứu trên 118 cặp vợ chồng có tinh trùng đông lạnh từ kỹ thuật MESA thì tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ là 10,6%. Còn Vũ Đình Tuấn và cs (2011) tiến hành kỹ thuật PESA cho 21 trường hợp, trong đó 16 mẫu tươi có tỷ lệ tinh trùng di động B là 3%, 5 mẫu đông lạnh có tỷ lệ tinh trùng di động trước trữ là 5% di động B [128].

Nagy và cs (1995) cho rằng độ di động của tinh trùng là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến kết quả thành công của kỹ thuật ICSI với các trường hợp tinh trùng tươi từ mẫu xuất tinh [120]. Tương tự, Nagy (1998) nghiên cứu trên bệnh nhân lấy tinh trùng từ tinh hoàn thì tỷ lệ thụ tinh giảm có ý nghĩa khi tiêm tinh trùng không di động so với tinh trùng di động (45,8% và 64,9%) [159]. Vì vậy thực hiện kỹ thuật thu được tinh trùng di động là một yếu tố quan trọng để lựa chọn tinh trùng tiêm vào bào tương noãn.

4.2.1.6. Thời gian trữ tinh trùng.

Tinh trùng được bảo quản trong Ni tơ lỏng trong khoảng thời gian dài có thể sử dụng cho hỗ trợ sinh sản được không? Câu hỏi này đã được Kellecher S và cs công bố năm 2001 nghiên cứu “bảo quản tinh trùng dài ngày”, 64 mẫu tinh trùng được bảo quản trong khoảng thời gian từ 1 đến 15 năm, 90% số mẫu được sử dụng cho hỗ trợ sinh sản là những mẫu lưu trữ dưới 10 năm và bệnh nhân đã có thai khi làm ICSI (trung bình sau 3 chu kỳ), IVF thường quy (trung bình trong 8 chu kỳ), với IUI (trung bình 6 chu kỳ) [160]. Theo Joseph Feldschuh (2005) đã có hai đứa trẻ ra đời từ tinh trùng bảo quản lạnh sâu sau 21 năm và 28 năm của cùng mẫu tinh dịch [161]. Trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi, Thời gian trữ trung bình của nhóm nghiên cứu là $5,79 \pm 6,1$ tháng. Như vậy đa phần các mẫu tinh trùng của chúng tôi được bảo quản trong thời gian ngắn, theo Pal S. (2004), bảo quản lạnh sâu trong nitơ lỏng ở -196°C nhiễm sắc thể của tinh trùng ít bất thường hơn [162]. Một số tác giả cho rằng thời gian lưu trữ tinh trùng ngắn, chất lượng tinh trùng bảo quản không giảm.

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

Trong 197 bệnh nhân có mẫu tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh, sau rã đông chỉ có 166 bệnh nhân đủ tinh trùng để thực hiện ICSI, 31 bệnh nhân phải chọc hút mào tinh lại do mẫu sau rã không đủ làm ICSI hoặc chết toàn bộ. Chúng tôi chỉ tiến hành nghiên cứu và bàn luận về đặc điểm của 166 người vợ có chồng tinh trùng sau rã đông đủ làm ICSI. Những bệnh nhân này sẽ được KTBT để điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh. Do vậy đặc điểm của các bệnh nhân này, đặc biệt là đặc điểm dự trữ buồng trứng sẽ liên quan trực tiếp đến kết quả kích thích buồng trứng và tỷ lệ có thai.

Biểu đồ 3.2 cho thấy tắc vòi tử cung một hoặc hai bên chiếm tỷ lệ 12%, hội chứng buồng trứng đa nang chiếm tỷ lệ 9%. Nguyên nhân tắc vòi tử cung rất ít ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai khi làm thụ tinh trong ống nghiệm. Theo tác giả Nguyễn Xuân Huy (2004) và Hédon tỷ lệ có thai lâm sàng ở nhóm tắc vòi tử cung cũng xấp xỉ cùng tỷ lệ với nhóm vô sinh do các nguyên nhân khác [155]. Còn các nguyên nhân gây giảm dự trữ buồng trứng như vợ lớn tuổi, lạc nội mạc tử cung ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ có thai. Nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) cho thấy trong 170 người vợ được làm PESA/ICSI thì có 12 trường hợp bị tắc vòi tử cung chiếm tỷ lệ 7,1%, 2 trường hợp có lạc nội mạc tử cung chiếm 1,2% và 91,7% các trường hợp bình thường không có nguyên nhân cũng tương tự như nghiên cứu của chúng tôi đa phần các trường hợp vô sinh chỉ do chồng không có tinh trùng [139].

Từ biểu đồ 3.3 chúng tôi thấy có 146 người vợ làm thụ tinh trong ống nghiệm lần 1 chiếm tỷ lệ 88,0%, 11 người vợ làm lần 2 chiếm tỷ lệ 6,6%, có 9 trường hợp làm trên 2 lần chiếm tỷ lệ 5,4%. Do mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh có số lượng và chất lượng rất kém nên đòi hỏi phải có kỹ thuật đông lạnh tinh tế mới bảo quản được tinh trùng, đảm bảo sử dụng được sau rã, chính vì vậy kỹ thuật này mới được áp dụng tại bệnh viện phụ sản trung ương từ năm 2013. Một số trường hợp thực hiện kỹ thuật PESA/ICSI trước đó không được đông lạnh mẫu tinh trùng hoặc một số trường hợp làm thụ tinh trong ống nghiệm ở các trung tâm khác cũng không được áp dụng kỹ thuật này.

Tuổi là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng sinh sản tự nhiên và trong các chu kỳ hỗ trợ sinh sản của người phụ nữ. Tuổi cũng là một trong những yếu tố tiên lượng dự trữ buồng trứng, là tiêu chuẩn đầu tiên để có thể thu được noãn đảm bảo số lượng và chất lượng. Theo bảng 3.3. tuổi trung bình của người vợ là $28,08 \pm 4,73$ năm. Ở độ tuổi này dự trữ buồng trứng còn tốt, sẽ thuận lợi khi kích thích buồng trứng trong thụ tinh trong ống nghiệm. Tương tự nghiên

cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là $28,44 \pm 4,5$ năm, Ng.T. Liên Hương (2014) là $28,23 \pm 4,03$ năm, Mai Kim Châu (2011) tại bệnh viện Hùng Vương là $29,175 \pm 2,69$ năm [128],[129],[139]. So với độ tuổi của các bệnh nhân được điều trị trong nghiên cứu của Tr. T. Thanh Bình (2011) là $31,33 \pm 4,74$ năm và nghiên cứu của Ng.T. Thái Thanh (2015) là $33,12 \pm 5,32$ năm thì độ tuổi trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn [127],[138], sự khác biệt này là do bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được khám, chẩn đoán và điều trị sớm.

Xét nghiệm nội tiết ngày 3 của chu kỳ kinh nguyệt là một thăm dò quan trọng để xác định nội tiết cơ bản của người phụ nữ, đánh giá dự trữ của buồng trứng bao gồm nồng độ FSH, LH, Estradiol và số lượng nang thứ cấp đầu chu kỳ (là các nang có đường kính từ 2 - 9mm ở cả hai buồng trứng). Xét nghiệm nội tiết là tiêu chuẩn quan trọng để lựa chọn phác đồ và liều FSH ban đầu cho bệnh nhân làm TTTON. Trong nghiên cứu này nồng độ FSH, LH, Estradiol xét nghiệm vào ngày thứ 3 của chu kỳ kinh lần lượt là $6,22 \pm 1,93$ IU/L; $5,04 \pm 2,51$ IU/L; $36,08 \pm 23,14$ pmol/L. 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 (phác đồ ngắn, phác đồ dài và phác đồ đối vận) 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. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) trên nhóm bệnh nhân PESA/ICSI thấy có sự khác biệt về nồng độ LH giữa nhóm dùng phác đồ ngắn và phác đồ dài và phác đồ đối vận, tuy nhiên chỉ số này đều nằm trong giới hạn bình thường nên cũng không ảnh hưởng đến kết quả kích thích buồng trứng. Nồng độ LH ít có giá trị tiên lượng dự trữ buồng trứng, tuy nhiên nếu $LH < 1,5$ IU/L có thể tiên lượng sẽ đáp ứng kém với

KTBT, nồng độ LH cao ở người có hội chứng buồng trứng đa nang, tiên lượng sẽ đáp ứng quá mức với KTBT, suy buồng trứng thì giá trị LH cũng tăng cao.

Số lượng nang thứ cấp ngày 2 chu kỳ kinh có giá trị tiên lượng tốt về đáp ứng của buồng trứng với KTBT. Các nang thứ cấp đầu chu kỳ kinh sẽ phát triển thành các nang trưởng thành nếu đủ nồng độ FSH, đây là đặc điểm của KTBT trong thụ tinh trong ống nghiệm là sử dụng liều FSH cao hơn bình thường để thu được nhiều nang noãn. Và cũng chính vì vậy số lượng nang thứ cấp sẽ rất có giá trị để tiên lượng đáp ứng buồng trứng. Trong nghiên cứu của chúng tôi (theo bảng 3.6) trung bình nang thứ cấp (AFC) của nhóm phác đồ ngắn thấp hơn nhóm phác đồ dài thấp hơn nhóm phác đồ đối vận có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Ng. Hữu Nghị (2013), AFC trung bình phác đồ ngắn là $7,66 \pm 3,8$ nang, phác đồ dài là $10,92 \pm 4,1$ nang, phác đồ đối vận là $12,36 \pm 5,4$ nang [163]. Nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) cho thấy số nang trung bình trong nhóm sử dụng phác đồ ngắn ít hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng phác đồ dài và phác đồ đối vận. Đồng thời cũng theo bảng 3.3 tuổi trung bình của người vợ trong nhóm phác đồ ngắn trong nghiên cứu của chúng tôi lớn hơn so với tuổi trung bình ở nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Điều này chứng tỏ dự trữ buồng trứng của nhóm bệnh nhân trong phác đồ ngắn kém hơn so với bệnh nhân ở hai nhóm còn lại. Trên thực tế phác đồ ngắn chủ yếu chỉ định cho các bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng kém, nhờ vào tác dụng hiệp đồng của FSH nội sinh sau khi dùng chất đồng vận. Phác đồ dài và đối vận thường sử dụng cho bệnh nhân có đáp ứng buồng trứng tốt.

Trong những năm gần đây, định lượng AMH để tiên lượng dự trữ buồng trứng mới được đưa vào phác đồ TTTON với độ tin cậy cao tương đương với đếm nang thứ cấp, cao hơn so với xét nghiệm FSH, LH. AMH, được tiết trực tiếp bởi tế bào hạt của nang noãn buồng trứng và có liên quan trực tiếp với số

lượng nang noãn nguyên thủy trong buồng trứng. Nồng độ AMH sẽ hằng định, không thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt nên có thể thực hiện vào bất kỳ ngày nào của chu kỳ kinh. Đặc điểm này của AMH giúp việc xét nghiệm nội tiết đánh giá buồng trứng trở nên thuận tiện rất nhiều cho bệnh nhân. Giá trị xét nghiệm AMH $< 1\text{ ng/ml}$ dự đoán đáp ứng kém với KTBT, nồng độ AMH cao gặp trong người bệnh có hội chứng buồng trứng đa nang. Trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ AMH trung bình là $4,83 \pm 3,12\text{ ng/ml}$ nằm trong giới hạn bình thường, chứng tỏ dự trữ buồng trứng của nhóm nghiên cứu chúng tôi còn tốt dự đoán cho khả năng đáp ứng KTBT tốt. Khi so sánh nồng độ AMH giữa các nhóm phác đồ khác nhau cho thấy phác đồ ngắn có nồng độ AMH thấp nhất, phác đồ dài vận có nồng độ AMH cao nhất, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Kết quả của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Ng.Việt Quang (2015) và Ng.T.Thanh Nhân (2016) [164],[165].

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 chu kỳ ICSI, tỷ lệ sống và độ di động của tinh trùng là một chỉ số rất quan trọng cho khả năng thụ tinh và có thai. 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]. Kết quả của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) sau rã đông 26 mẫu tinh trùng trữ lạnh có 5 mẫu thoái hóa hoàn toàn chiếm 19,2% và 2 mẫu rã đông không đủ tinh trùng để làm ICSI cần chọc hút thêm chiếm 7,7% số mẫu trữ lạnh, còn lại 19 mẫu rã đông đủ tinh trùng để làm ICSI không cần chọc hút thêm chiếm 73,1%. Dalit Ben-Yosef (1999), nghiên cứu trên 42 chu kỳ đông tinh từ kỹ thuật TESE, sau rã có 30 chu kỳ đủ tinh trùng di động để thực hiện kỹ thuật ICSI chiếm tỷ lệ 71,4%, 6 chu kỳ sau rã không đủ tinh trùng di động cho ICSI chiếm tỷ lệ 14,3%, còn 6 chu kỳ tinh trùng chết hết sau rã chiếm tỷ lệ 14,3% [71]. G. Verheyen (2004) nghiên cứu trên 97 chu kỳ ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh từ tinh hoàn, sau rã đông có 77 trường hợp đủ tinh trùng di động làm ICSI chiếm tỷ lệ 79,4%, 20 trường hợp không có tinh trùng di động chiếm tỷ lệ 20,6%, trong đó 14 trường hợp chọc hút lại có tinh trùng di động đủ làm ICSI, 5 trường hợp phải xin tinh trùng do chọc hút lại không lấy được tinh trùng, 1 trường hợp phải hủy chu kỳ TTTON [67]. Hutchon, Thornton (1998) thấy rằng trong 20 chu kỳ tinh trùng đông lạnh từ mào tinh, sau rã có 15 chu kỳ đủ tinh trùng di động thực hiện kỹ thuật ICSI chiếm tỷ lệ 75%, 5 chu kỳ không tìm thấy tinh trùng di động phải chọc hút lại chiếm tỷ lệ 25% [84]. Sự khác biệt này là do đối tượng lựa chọn bệnh nhân của tác giả là các trường hợp vô sinh không do tắc nghẽn, và kỹ thuật sử dụng là chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn, đồng thời với sự hoàn thiện của kỹ thuật chọc hút mào tinh của các nhà lâm sàng cũng như kỹ thuật xử lý mẫu tinh trùng của các nhà mô phôi cũng làm tăng khả năng tìm thấy tinh trùng di động sau rã đông của mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh. Chính vì vậy chất lượng tinh trùng chọc hút từ mào tinh ở những bệnh nhân vô sinh do bế tắc ngày nay có thể tốt hơn những bệnh nhân vô sinh không do tắc nghẽn và kỹ thuật chọc hút tinh trùng từ tinh hoàn.

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

Lưu trữ tinh trùng trong nitơ lỏng là phương pháp đang được dùng phổ biến hiện nay. Theo nhiều tác giả bảo quản tinh trùng ở nhiệt độ -196°C chất lượng tinh trùng ít bị ảnh hưởng vì nhiệt độ rất thấp như vậy môi trường nước trong và ngoài tế bào biến thành thể rắn, tế bào ở trạng thái ngừng hoạt động tạm thời. Năm 1980, Harrison và Sheppard nghiên cứu thấy rằng lượng tinh trùng sống sót sau rã đông sẽ thấp nếu độ di động trước bảo quản thấp và sự cần thiết để thu được đủ tỷ lệ tinh trùng sống sót sau rã đông thì cần có được mật độ tinh trùng trước bảo quản >40 triệu/ml và độ di động trước bảo quản là 60% [166]. Tuy nhiên, Lee và cộng sự (2012) đề xuất rằng tỷ lệ phục hồi di động tiến tới sau bảo quản lạnh không có mối tương quan với các chỉ số tinh dịch ban đầu, như là mật độ tinh trùng, độ di động tiến tới và hình thái theo WHO [167]. Năm 2012, X. Zhang và cộng sự khi nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố trước bảo quản lạnh đến tỷ lệ phục hồi di động tiến tới của tinh trùng sau rã đông lại cho thấy rằng mật độ tinh trùng có mối liên quan rõ rệt đến tỷ lệ phục hồi di động tiến tới của tinh trùng sau bảo quản lạnh. Khi so sánh với các nhóm khác thì tỷ lệ phục hồi thấp nhất ở nhóm mật độ < 60 triệu/ml ($p < 0,05$) và cao nhất ở nhóm mật độ > 120 triệu/ml ($p > 0,05$) [168].

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 dừng 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.*

Quá trình bảo quản lạnh có thể gây tổn thương cho các tế bào do sự hình thành tinh thể đá trong quá trình đông rã, các hiệu ứng thẩm thấu cũng như nồng độ chất bảo quản cao dẫn đến làm mất toàn vẹn màng tinh trùng, mất chức năng cực đầu, phân đoạn DNA, khả năng di động và thụ tinh kém. Mức độ ảnh hưởng của quá trình đông lạnh thay đổi đáng kể giữa các cá thể khác nhau và các mẫu tinh dịch khác nhau của cùng một cá thể. Đặc biệt, các mẫu thiếu tinh dễ bị tổn thương hơn so với mẫu bình thường.

Trong nghiên cứu của chúng tôi theo 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% [169]. Phạm Thị Thu Thủy (2011) cũng thấy ở cả 3 khoảng thời gian bảo quản 1 ngày, 10 ngày và 30 ngày tỷ lệ di động và tỷ lệ di động tiến tới của tinh trùng đều thấp hơn rõ rệt so với trước bảo quản [63].

4.3.1.4. *Mối liên quan giữa thời gian trữ tinh trùng và khả năng sử dụng sau rã.*

Tinh trùng được bảo quản trong ni tơ lỏng trong thời gian dài liệu có bị ảnh hưởng đến chất lượng không? Theo Yogev L và cs (2010) khi nghiên cứu trên 2525 mẫu tinh dịch được bảo quản lạnh trong thời gian từ 6 tháng đến 15

năm đã cho kết quả: thời gian bảo quản lạnh kéo dài trong ni tơ lỏng không ảnh hưởng đáng kể lên mật độ tinh trùng di động tiến tới ($10,8 \pm 3,3$ triệu TT/ml so với $12,3 \pm 2,9$ triệu TT/ml) và do vậy không làm thay đổi khả năng thụ tinh của các tinh trùng này [62].

Nghiên cứu của chúng tôi có 130 trường hợp đông tinh dưới 6 tháng, sau rã có 111 trường hợp đủ làm ICSI chiếm tỷ lệ 85,4%, 19 trường hợp phải chọc lại chiếm tỷ lệ 14,6%. Chỉ có 11 trường hợp thời gian trữ kéo dài trên 12 tháng thì sau rã 8 trường hợp chiếm 72,7% đủ dùng còn 3 trường hợp phải chọc hút lại. Sự khác biệt về thời gian trữ và khả năng sử dụng sau rã không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.3.1.5. 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.

Kỹ thuật bảo quản lạnh tinh trùng người được sử dụng để bảo tồn khả năng sinh sản của các cá thể trước một số tình huống: các phẫu thuật có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh sản, thất ống dẫn tinh, hóa trị liệu, liệu pháp xạ trị các bệnh ung thư... đặc biệt được sử dụng để lưu trữ tinh trùng chọc hút từ mào tinh hay tinh hoàn để dùng trong hỗ trợ sinh sản. 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 độ và gọi là hiện tượng shock lạnh. Nghiên cứu tổn thương do lạnh lên chức năng ty thể, độ di động, hình thái và khả năng sống của tinh trùng, Esteves (2007) đưa ra kết quả: sau khi rã đông, tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường giảm 37% ($p=0,001$), tất cả các thông số di động của tinh trùng giảm tương tự, sự hấp thu Rhodamine 123 (chất để đánh giá hoạt động của ty thể) trong ty thể tinh trùng giảm 36% và khả năng sống của tinh trùng giảm 31% [58]. Tác giả Ph.T.Thu Thủy (2011) đánh giá chất lượng của tinh trùng sau bảo quản lạnh sâu ở những mẫu nhược tinh đã được lọc rửa cũng nhận thấy tỷ lệ di động, tỷ

lệ sống và hình dạng tinh trùng bình thường đều giảm so với trước khi bảo quản với $p < 0,05$. Có thể hạn chế các tổn thương tinh trùng do lạnh bằng các phương pháp như cải thiện chất lượng tinh dịch trước bảo quản lạnh, lựa chọn tinh trùng để bảo quản, sử dụng các chất bảo quản tốt nhất và áp dụng các kỹ thuật làm lạnh – rã đông thích hợp [63].

Quá trình KTBT cần sử dụng nhiều Gonadotropin, thời gian dùng thuốc kéo dài đồng nghĩa với việc chi phí cao gây gánh nặng tâm lý cho bệnh nhân. Nếu rã đông mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh mà chết toàn bộ, người chồng phải chọc hút lại mào tinh việc này gây tâm lý lo lắng, tăng chi phí cho bệnh nhân và bị động cho nhân viên y tế. Chính vì vậy việc dự đoán được khả năng tinh trùng có bị chết toàn bộ sau rã đông hay không rất quan trọng để quyết định có đông mẫu tinh trùng cho bệnh nhân hay không, tư vấn và có kế hoạch điều trị cho bệnh nhân hiệu quả nhất [167],[168].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích đường cong ROC để tìm ngưỡng mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động trước đông nhằm tiên đoán khả năng mẫu tinh trùng chết toàn bộ sau rã. 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%. Tương tự tác giả Samir Elhanbly (2015) nghiên cứu trên 85 bệnh nhân bất sản ống dẫn tinh nhận thấy tinh trùng ở điểm cutoff 0,55 triệu/ml tiên đoán khả năng thai lâm sàng với độ nhạy 82,9%

và độ đặc hiệu là 62%, tiên đoán khả năng bé em bé về nhà với độ nhạy 93,1% và độ đặc hiệu 62,5% [100].

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

4.3.2.1. Phác đồ kích thích buồng trứng

Theo biểu đồ 3.4 trong số 166 chu kỳ kích thích buồng trứng thì có 30 chu kỳ kích thích bằng phác đồ ngắn chiếm tỷ lệ ít nhất 18,1%, 58 chu kỳ sử dụng phác đồ dài chiếm tỷ lệ 34,9%, 78 chu kỳ sử dụng phác đồ đối vận chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 47% tổng số chu kỳ. Chúng tôi nhận thấy phác đồ ngắn chủ yếu chỉ định cho các bệnh nhân đáp ứng kém, nhờ tác dụng hiệp đồng của FSH nội sinh sau khi dùng chất đồng vận. Nang noãn trong phác đồ ngắn thường phát triển không đều, chất lượng noãn cũng không tốt bằng phác đồ dài và phác đồ đối vận nên tỷ lệ thụ tinh cũng kém hơn. Phác đồ dài là phác đồ cổ điển được áp dụng rất lâu trong TTTON, các nang noãn phát triển đồng đều, chất lượng noãn thu được tốt, tỷ lệ thụ tinh tốt, tuy nhiên thời gian điều trị kéo dài, chi phí điều trị cao.

Phác đồ đối vận ngày càng được ưa chuộng do sử dụng chất đối vận (antagonist) nhằm ngăn ngừa đỉnh LH sớm, tránh hiện tượng hoàng thể hóa sớm, rút ngắn thời gian sử dụng thuốc thuận tiện cho bệnh nhân và đặc biệt việc ngăn ngừa hội chứng quá kích buồng trứng khi sử dụng phác đồ đối vận và gây trưởng thành nang noãn bằng GnRH đồng vận đã được nhiều nghiên cứu chứng minh.

Theo bảng 3.10, số ngày KTBT trung bình ở nhóm dùng phác đồ ngắn là $9,3 \pm 1,1$. Sự khác biệt về thời gian KTBT giữa các nhóm phác đồ có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Số ngày KTBT ở phác đồ ngắn ít hơn so với hai phác đồ dài và phác đồ đối vận nhưng tổng liều FSH sử dụng lại cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ là do nhóm bệnh nhân sử dụng phác đồ ngắn có

dự trữ buồng trứng giảm nên liều khởi đầu của nhóm bệnh nhân này cao nhưng số noãn trung bình thu được lại ít hơn so với hai phác đồ còn lại.

4.3.2.2. Số noãn trung bình

Bảng 3.10 cho thấy số noãn trung bình trong nghiên cứu này là $11,9 \pm 6,3$ noãn, tương tự như số noãn trung bình trong nghiên cứu của Buffat (2006) là $10,4 \pm 6,0$ [172], Vũ Đình Tuấn thu được số noãn trung bình là 11,3 noãn, cao hơn số noãn trung bình trong nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là $8,62 \pm 4,3$ noãn [128],[139].

Cũng trong 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 $p > 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) và Hamed (2008) [173]. Lý giải sự khác biệt này là do phác đồ ngắn thường được chỉ định cho nhóm bệnh nhân có độ tuổi cao, dự trữ buồng trứng kém hơn so với bệnh nhân trong hai nhóm phác đồ còn lại.

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

4.3.3.1. Tỷ lệ thụ tinh, số phôi trung bình.

Tỷ lệ thụ tinh là số phôi tạo thành/số noãn cho thụ tinh với tinh trùng. Theo kết quả bảng 3.11 có tất cả 1274 phôi được tạo thành với tỷ lệ thụ tinh trung bình là $82,3 \pm 18,1\%$. So với nghiên cứu của Jason R.Kovac (2014) cũng thực hiện ICSI bằng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh là 76,5% [126], theo Ou L (2010) tỷ lệ thụ tinh là 75,67% [174], với nghiên cứu của Tr.T.Thanh Bình (2012) là 72%, Hồ Sỹ Hùng nhận thấy tỷ lệ thụ tinh ở nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh là $72,45 \pm 23,4\%$, tại Bệnh

viện Hùng Vương theo nghiên cứu của Vũ Đình Tuấn (2011) là 62,8%, thì nghiên cứu của chúng tôi cao hơn.

Phân tích tỷ lệ thụ tinh theo từng phác đồ KTBT chúng tôi thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh giữa ba nhóm phác đồ với $p > 0,05$. Kết quả của chúng tôi tương tự như nghiên cứu của Ph. Như Thảo (2010) trên tất cả các đối tượng TTTON thì tỷ lệ thụ tinh là $82,2 \pm 23,9\%$ ở nhóm sử dụng phác đồ dài và $83,5\%$ ở phác đồ ngắn [175]. Trong khi Hồ Sỹ Hùng (2014) nghiên cứu trên đối tượng sử dụng tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh để làm TTTON thấy tỷ lệ thụ tinh ở nhóm phác đồ ngắn thấp hơn nhóm phác đồ dài và phác đồ đối vận có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sự khác biệt này là do tỷ lệ thụ tinh phụ thuộc vào nhiều yếu tố như phác đồ KTBT, chất lượng nang noãn, chất lượng tinh trùng, phương pháp thụ tinh và nuôi cấy phôi. Trong nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng chủ yếu sử dụng phác đồ dài để KTBT, trong khi chúng tôi sử dụng phác đồ đối vận nhiều hơn.

Cũng theo bảng 3.12, số phôi trung bình tạo thành sau làm ICSI là $7,67 \pm 4,89$ phôi, tương đương với số phôi trung bình trong nghiên cứu của Ng.T. Thanh Dung (2012) là $6,5 \pm 3,9$ phôi, Hồ Sỹ Hùng (2014) là $6,63 \pm 3,2$ phôi ở nhóm sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh, Vũ Đình Tuấn (2011) là 6,1. Số phôi trung bình trong nhóm phác đồ ngắn là $6,2 \pm 3,57$ phôi, nhóm phác đồ dài là $7,53 \pm 3,91$ phôi và nhóm phác đồ đối vận là $8,33 \pm 5,76$ phôi. Sự khác biệt về số phôi trung bình giữa nhóm phác đồ ngắn và phác đồ đối vận có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sự khác biệt này là do có sự khác nhau về số noãn trung bình chọc hút được giữa các nhóm phác đồ.

4.3.3.2. Kết quả chuyển phôi, tỷ lệ làm tổ.

Tỷ lệ làm tổ được tính bằng tổng số túi thai quan sát được trên siêu âm/tổng số phôi chuyển. Theo bảng 3.12 tỷ lệ làm tổ là 31,1% tương đương với tỷ lệ làm tổ khi sử dụng tinh trùng từ kỹ thuật TESE là 37,1% trong nghiên cứu của Ng.T. Kim Phương năm 2014. So với nghiên cứu của Ng T. L. Hương

2014 tỷ lệ làm tổ với nhóm PESA tinh trùng đông lạnh là 18%, Hồ Sỹ Hùng (2014) là 13,16% thì tỷ lệ làm tổ trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn. Phân tích tỷ lệ làm tổ trong từng nhóm phác đồ thì chúng tôi thấy ở nhóm bệnh nhân dùng phác đồ dài có tỷ lệ làm tổ cao nhất và thấp nhất là ở nhóm phác đồ đôi vận. Nghiên cứu của chúng tôi tương tự như nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2104) khi sử dụng tinh trùng tươi từ PESA cũng nhận thấy tỷ lệ làm tổ ở nhóm sử dụng phác đồ dài là cao nhất. Nguyên nhân tỷ lệ làm tổ ở hai nhóm phác đồ ngắn và phác đồ đôi vận thấp rất có thể liên quan đến hiện tượng hoàng thể hóa sớm xảy ra trên những bệnh nhân KTBT bằng phác đồ này. Tỷ lệ làm tổ ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như chất lượng phôi, chất lượng niêm mạc tử cung, tuổi của người mẹ, kỹ thuật chuyển phôi, số lượng phôi chuyển đặc biệt là số phôi tốt. Kỹ thuật chuyển phôi tại trung tâm HTSS Quốc gia đã đạt đến mức hoàn thiện cao, góp phần quan trọng vào sự thành công của phương pháp TTTON.

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

Tỷ lệ thai lâm sàng là số trường hợp có thai lâm sàng trên số chu kỳ kích thích buồng trứng, chu kỳ chọc hút noãn hoặc chu kỳ chuyển phôi.

Trong quá trình KTBT có thể một số trường hợp buồng trứng không đáp ứng nên phải hủy chu kỳ điều trị, dẫn đến số bệnh nhân chọc hút noãn ít hơn số bệnh nhân KTBT. Tỷ lệ hủy chu kỳ thay đổi theo từng nghiên cứu khác nhau nhưng có nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ này lên tới 25%. Trong nghiên cứu này chúng tôi không có trường hợp nào phải hủy chu kỳ điều trị vì buồng trứng đáp ứng kém, do các bệnh nhân chủ yếu là vô sinh do chồng, đáp ứng buồng trứng của người vợ bình thường.

Sau khi chọc hút noãn một số bệnh nhân không được chuyển phôi vì quá kích buồng trứng nặng, vì buồng tử cung có dịch, vì không có phôi chuyển nên số bệnh nhân (hoặc số chu kỳ) chuyển phôi sẽ ít hơn số chu kỳ KTBT và số

chu kỳ chọc hút noãn. Tất cả các lý do trên nên khi nói đến tỷ lệ thành công cần phải nói cụ thể tỷ lệ có thai trên số chu kỳ KTBT, hay trên số chu kỳ chọc hút noãn hay trên số chu kỳ chuyển phôi.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 166 trường hợp đã đồng đủ tình trạng 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).

Bảng 4.2. So sánh tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ có thai lâm sàng giữa các nghiên cứu

Tác giả	Tỷ lệ thụ tinh	Tỷ lệ làm tổ	Tỷ lệ thai LS
Wood và cs (2002)	70%		30%
Yu-Hung Lin và cs (2004)	71,6%	14%	40,6%
Jin và cs (2006)	84,05%		53,33%
Ou L (2010)	75,67%		55,27%
Tr.T.Thanh Bình (2012)	72%		48,6%
Ng. T. Liên Hương (2014)	81,5%	34,3%	48,6%
Vũ Thị Bích Loan (2018)	82,3%	31,1%	61,4%

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

Khái niệm tỷ lệ thai cộng dồn (cumulative pregnancy rate) đã được một số tác giả đề cập đến. Khi trình bày tỷ lệ thai cộng dồn sẽ có hai tình huống được phân tích trong hỗ trợ sinh sản. Thứ nhất, tỷ lệ có thai cộng dồn sau một số chu kỳ điều trị (chu kỳ KTBT/chuyển phôi). Tỷ lệ này được tính toán để

dự đoán sau một số chu kỳ điều trị sẽ có bao nhiêu % bệnh nhân có thai, nhằm cung cấp thông tin cho các cặp vợ chồng biết cơ hội có thai của họ là bao nhiêu khi tham gia điều trị. Thứ hai, tỷ lệ có thai thực tế sau một chu kỳ KTBT, bao gồm tỷ lệ có thai sau chuyển phôi tươi và sau chuyển phôi trữ lạnh của chu kỳ KTBT đó. Vì mỗi chu kỳ KTBT gây gánh nặng cho bệnh nhân rất nhiều về tâm lý và chi phí so với chu kỳ chuyển phôi trữ lạnh.

Theo bảng 3.13 có 166 chu kỳ được kích thích buồng trứng và sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh làm ICSI, 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 rửa đông một lần để làm ICSI, bệnh nhân được theo dõi tiếp một chu kỳ chuyển phôi đông lạnh để đánh giá kết quả. Như vậy 166 bệnh nhân sau 1 chu kỳ được KTBT và được chuyển phôi tươi hay đông lạnh thì tỷ lệ có thai lâm sàng cộng dồn đạt kết quả rất khả quan là 72,9%. Khác với Hồ Sỹ Hùng (2013) lại đánh giá kết quả có thai cộng dồn trên số bệnh nhân điều trị sau 3 chu kỳ KTBT khi sử dụng tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh là 48,24%. Tỷ lệ có thai cộng dồn sau chuyển phôi tươi và phôi trữ lạnh của tác giả là 38,05% trên số chu kỳ KTBT, sự khác biệt này là do tác giả theo dõi trên 3 chu kỳ KTBT, những bệnh nhân thất bại ở chu kỳ 1 sẽ được kích thích lại ở chu kỳ sau, chính vì vậy tỷ lệ thành công sẽ giảm dần ở những chu kỳ sau vì các trường hợp dễ có thai sẽ thành công ngay từ các chu kỳ đầu, còn các trường hợp khó sẽ dồn lại các chu kỳ sau. Hơn nữa tất cả các bệnh nhân chuyển phôi đông lạnh của chúng tôi đều được hỗ trợ phôi thoát màng, chính vì vậy tỷ lệ thai lâm sàng sau chu kỳ chuyển phôi trữ cũng được cải thiện.

4.3.3.5. 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 so sánh tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ thai lâm sàng giữa hai nhóm tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh lấy từ mào tinh. Kết quả bảng này 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 $p > 0,05$.

Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai lâm sàng các trường hợp ICSI bằng tinh trùng trữ lạnh và tinh trùng tươi từ mào tinh giữa các tác giả.

Nghiên cứu	Tỷ lệ thụ tinh (%)		Tỷ lệ thai lâm sàng (%)	
	<i>TT trữ lạnh</i>	<i>TT tươi</i>	<i>TT trữ lạnh</i>	<i>TT tươi</i>
J.D.M.Nicopoulos(2004)	49%	48%	26,8%	23,3%
Jin (2006)	84,05%	73,29%	53,33%	31,6%
Ou L (2010)	75,67%	76,49%	55,21%	57,22%
Jas Kalsi (2010)	77,8 %	82,5%	35,7%	46,2%
Hồ Sỹ Hùng (2013)	67,4%	68,8%	36,8%	36,2%
Jason R. Kovac (2014)	73,6%	77,7%	54,5%	48,6%
Vũ Thị Bích Loan (2018)	82,3%	80,24%	61,4%	59,3%

Bảng 4.3. cho thấy kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của các tác giả khác trong nước và trên Thế giới.

Tinh trùng trữ có thuận lợi là thu thập một lần nhưng có thể sử dụng cho nhiều lần ICSI tiếp theo. Việc dự trữ giảm được chi phí, giảm áp lực tâm lý, tránh sự đau đớn cho bệnh nhân đặc biệt tránh được tình trạng không có tinh trùng để thực hiện ICSI vào ngày chọc hút noãn. Tuy nhiên, lưu trữ tinh trùng cũng cho thấy những tác động bất lợi lên độ di động, tổn thương nhiễm sắc thể, hình thái học, phản ứng cực đầu của tinh trùng. Nghiên cứu của Prabakaran và cs (2006) cho thấy có hiện tượng giảm 25% độ di động ở tinh trùng sau rã đông [158]. Hình dạng, chức năng ti thể, khả năng sống cũng giảm sau khi trữ - rã đông tinh trùng ở tinh hoàn (O'Connell và cs, 2002) [176]. Bất chấp những bất lợi đó, nghiên cứu của Nicolette Janzen và cs thực hiện trên 141 chu kỳ ICSI cho thấy tỷ lệ có thai lâm sàng giữa hai nhóm tươi và trữ đông là tương đương nhau (66,7% so với 60,6%) [177]. Nhiều tác giả khác cũng cho kết quả tương tự nhau về tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ có thai lâm sàng như Garg và cs, Kalsi và cs (2011) [136].

Theo bảng 3.15 có 197 mẫu tinh trùng rã đông sau chọc hút từ mào tinh thì 166 mẫu đủ tinh trùng để làm ICSI, 140 chu kỳ chuyển phôi tươi có 86 trường hợp có thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi tươi chiếm tỷ lệ 61,4% (86/140), 26 chu kỳ đông phôi toàn bộ khi rã có 19 chu kỳ có thai lâm sàng chiếm 73,1% (19/26). Có 31 trường hợp phải chọc hút lại từ mào tinh vào ngày chọc hút noãn, thì có 23 trường hợp rã đông không đủ trong đó có 12 trường hợp có thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi tươi chiếm tỷ lệ 60% (12/20), 3 trường hợp ĐPTB sau rã đông 100% có thai lâm sàng. 8 trường hợp sau rã tinh trùng chết toàn bộ khi làm ICSI với tinh trùng tươi chọc hút lại từ mào tinh thì có 4 trường hợp có thai trên số chu kỳ chuyển phôi tươi chiếm tỷ lệ 57,1% (4/7), 1 trường hợp ĐPTB sau rã đông 100% có thai lâm sàng. Tương tự nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013), có 26 mẫu trữ lạnh tinh trùng, sau rã chỉ có 19 mẫu đủ tinh trùng làm ICSI, tỷ lệ thai lâm sàng là 36,8% (7/19), 2 trường hợp rã đông không đủ thì tỷ lệ có thai lâm sàng là 50% (1/2), 5 trường hợp rã đông

thoái hóa, tỷ lệ có thai 60% (3/5). Nghiên cứu của Nicopoullos (2004), Jin (2006), Ou L (2010), Jas Kalsi (2010), và Jason R. Kovac (2014) cho thấy tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai lâm sàng khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm tinh trùng trữ lạnh và tinh trùng tươi lấy từ mào tinh, thậm chí trong nghiên cứu của Jin và của Nicopoullos thì tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ thai lâm sàng còn cao hơn ở nhóm tinh trùng trữ lạnh [91],[126],[136],[174,].

Như vậy, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng từ mẫu tinh trùng rã đông cũng tương tự mẫu tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh. Đây là một kết quả hết sức khả quan để áp dụng kỹ thuật này một cách thường quy tại trung tâm.

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 Nicopoullos (2004) là 18,4%, Pasquale Patrizio (2000) là 40% [91],[135]. 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, hầu hết các nghiên cứu đều không theo dõi cho đến bệnh nhân cuối cùng kết thúc thai nghén như nghiên cứu của chúng tôi. 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 tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh nói riêng.

Phương pháp sinh phụ thuộc vào tuổi, tình trạng sức khỏe người mang thai, tình trạng bệnh lý khi mang thai, ngôi thai, cân nặng của thai, số thai, tình trạng thai khi chuyển dạ... Trong 71 trường hợp sinh sống cho thấy đa số sinh mổ chỉ còn 14,1% là sinh thường, các trường hợp này đều là sinh sớm hoặc sinh quá nhanh không kịp can thiệp. Tỷ lệ này cũng tương tự như các nghiên cứu khác trên thế giới có tỷ lệ mổ đẻ dao động từ 50-85%. Nguyễn Xuân Huy (2004) là 86%, thấp hơn nghiên cứu của Vũ Minh Ngọc (2012) là 97,6% trên đối tượng là bệnh nhân xin noãn, có lẽ vì tuổi của người nhận noãn thường cao mà thai vô sinh là thai nghén nguy cơ cao do vậy tỷ lệ mổ chiếm đa số các trường hợp TTTON xin noãn là điều có thể giải thích được [155],[156].

Sinh sớm cũng là một biến chứng đáng lo ngại khi mang thai, làm ảnh hưởng đến tỷ lệ trẻ sinh sống, làm tăng tỷ lệ trẻ nhẹ cân khi sinh và tăng tỷ lệ trẻ chết chu sinh.... Sinh sớm được xác định khi tuổi thai < 37 tuần, tuổi thai trung bình khi sinh của nghiên cứu là $36,8 \pm 2,41$ tuần (28 - 40), sinh sớm < 37 tuần chiếm tỷ lệ 33,8%. Kết quả sinh sớm của chúng tôi cao hơn so với các nghiên cứu trước đó chỉ có tỷ lệ sinh sớm từ 15 – 25%, lại thấp hơn tỷ lệ sinh sớm của nghiên cứu V. M. Ngọc (2012) là 47,1% và Ng. X. Huy (2004) là 51,4%. Sở dĩ có sự khác nhau là do tỷ lệ song thai trong nghiên cứu của chúng tôi cao (43,7%), đây là nguyên nhân gây sinh sớm, còn tỷ lệ song thai trong nghiên cứu của V. M. Ngọc là 48,2% cao hơn so với nghiên cứu chúng tôi, lại trên đối tượng bệnh nhân xin noãn nên tuổi trung bình của người mẹ cũng cao thì khả năng sinh sớm càng cao [155],[156].

Cân nặng khi sinh là chỉ số đánh giá tình trạng sức khỏe của em bé. Cân nặng khi sinh bình thường từ 2500 – 4000 gram. Nhẹ cân được xác định khi trẻ < 2500 gram. Trong 102 bé của nghiên cứu, cân nặng trung bình là $2660,3 \pm 698,1$ (800-3900) gram, trong đó tỷ lệ trẻ sinh nhẹ cân chiếm 40,2%. Kết quả này tương tự nghiên cứu của U-B.Wennerholm (2000) là 39,7% ở nhóm sử dụng

tinh trùng từ mào tinh, và cũng tương tự ở nhóm làm ICSI chung là 41,2% [179]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Xuân Huy (2003) trên nhóm TTTON chung thì tỷ lệ trẻ đẻ nhẹ cân là 38,2% cũng tương tự kết quả của chúng tôi.

Bảng 3.16. cho thấy tỷ lệ sinh một thai là 56,3%, sinh song thai là 43,7% và không có trường hợp nào sinh ba. Sở dĩ không có trường hợp nào sinh ba là do nghiên cứu đã áp dụng kỹ thuật giảm thiểu thai cho các trường hợp có > 2 thai. Kết quả của chúng tôi cao hơn so với nhóm TTTON chung trong nghiên cứu của Ng.X. Huy có tỷ lệ song thai là 31,5% và U-B.Wennerholm (2000) là 30,2%, tuy nhiên lại thấp hơn nghiên cứu của Guo Yi-hong (2013) tỷ lệ song thai là 52,7% ở nhóm tinh trùng từ mào tinh[180]. Mặc dù tỷ lệ song thai cao hơn so với các nghiên cứu nhưng tuổi thai trung bình và tỷ lệ đẻ con nhẹ cân lại tương đương, điều này chứng tỏ khả năng theo dõi và chăm sóc cho thai phụ ngày càng tốt có thể kéo dài được thời gian thai nghén đến gần đủ tháng.

Trong 102 trẻ sinh ra có ngẫu nhiên 55 bé trai và 47 bé gái với tỷ lệ trai/gái là 1,17. Nghiên cứu của Guo Yi-hong (2013) thì tỷ lệ trai/gái là 0,89, còn V. M. Ngọc (2012) thì tỷ lệ này là 1 trên đối tượng xin noãn[156,180]. Một số nghiên cứu cho rằng tỷ lệ bé trai nhiều hơn sau điều trị bằng kỹ thuật IVF, một số nghiên cứu lại thấy tỷ lệ bé gái nhiều hơn ở nhóm ICSI với tinh trùng từ tinh dịch hay mào tinh. Bondeulle và cs thấy tỷ lệ bé trai nhiều hơn bé gái sau kỹ thuật ICSI với tinh trùng từ mào tinh. Tuy nhiên, các kết quả khác biệt không có ý nghĩa thống kê và cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ. Vì vậy, sự khác biệt về giới tính trẻ sinh ra có liên quan đến kỹ thuật TTTON hay không còn chưa được khẳng định.

Kết quả của nghiên cứu không có trường hợp nào bị dị tật bẩm sinh trong 102 trẻ sinh sống (0%), tương tự như nghiên cứu của V. M. Ngọc và Yaron Y (1998), thấp hơn nghiên cứu của Guo Yi-hong (2013) tỷ lệ trẻ bị dị

tật trên nhóm sử dụng tinh trùng từ mào tinh là 1,6%, U-B.Wennerholm (2000) là 7,2% [179].

Chết chu sinh là trẻ bị chết trong vòng 28 ngày sau đẻ. Các yếu tố: bệnh lý khi mang thai, đa thai, suy dinh dưỡng bào thai, sinh sớm, nhẹ cân, dị tật... đều làm tăng nguy cơ trẻ bị chết chu sinh. Trong 102 trẻ sinh sống của nghiên cứu có 1 trẻ bị chết sau sinh 1 tuần (1 bé gái sau sinh mổ song thai 35 tuần cân nặng 2000gram) chiếm tỷ lệ 0,98%. Nghiên cứu của U-B.Wennerholm (2000) không có trường hợp nào chết chu sinh ở nhóm sử dụng tinh trùng từ mào tinh, còn Guo Yi-hong (2013) thấy tỷ lệ chết chu sinh ở nhóm sử dụng tinh trùng từ mào tinh là 1,58%, còn ở nhóm TTTON chung là 1,79% tác giả nhận thấy rằng trẻ sinh ra từ kỹ thuật ICSI sử dụng tinh trùng từ mào tinh tươi hay đông lạnh không có sự khác biệt về tỷ lệ sinh sống, tỷ lệ chết chu sinh, tỷ lệ dị tật, tuổi thai hay cân nặng so với nhóm chứng là nhóm ICSI sử dụng tinh trùng từ tinh dịch.

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.

Trong nghiên cứu này để bàn luận các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai chúng tôi lấy tỷ lệ có thai là tỷ lệ thai lâm sàng trên số chu kỳ chuyển phôi. Lý do chọn tỷ lệ thai lâm sàng vì nhiều tác giả chỉ đồng ý thai lâm sàng mới tiếp tục phát triển, phản ánh chính xác sự thành công của phương pháp điều trị. Chúng tôi cũng chọn mẫu số là số chu kỳ chuyển phôi mà không chọn số chu kỳ KTBT vì còn một số yếu tố phân tích chỉ liên quan đến quá trình chuyển phôi mà không liên quan đến quá trình KTBT như đặc điểm niêm mạc tử cung, số lượng và chất lượng phôi chuyển hay kỹ thuật chuyển phôi. Như vậy có 86 trường hợp có thai lâm sàng trên tổng số 140 chu kỳ chuyển phôi.

4.4.1. Mối liên quan giữa yếu tố người chồng đến kết quả TTON

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 hormon hoặc thậm chí chất lượng mẫu tinh trùng. Nếu trong IVF cổ điển thì tỷ lệ thụ tinh, chất lượng phôi và tỷ lệ có thai liên quan đến chất lượng mẫu tinh trùng thì trong ICSI ít liên quan vì chỉ cần rất ít tinh trùng cũng có thể cho thụ tinh với noãn. Ngoại trừ một số trường hợp mẫu tinh trùng bất thường nhiều sẽ ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh còn đa số các nghiên cứu đều cho tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ có thai tương đương giữa nhóm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh với tinh trùng từ mẫu xuất tinh.

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 $p > 0,05$. Nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013), M. Q. Trung (2010), Friedler (2002) cũng cho thấy không có sự khác biệt về tuổi chồng và nồng độ FSH giữa hai nhóm có thai và không có thai. Samir Elhanbly (2015) lại thấy tuổi của người chồng càng cao có ảnh hưởng bất lợi đến số lượng, độ di động, hình thái của tinh trùng khi chọc hút từ mào tinh và ảnh hưởng đến tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ sinh sống. Tuy nhiên tác giả chỉ nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân bẩm sinh không có ống dẫn tinh 2 bên với cỡ mẫu nhỏ, chính vì vậy không thể phản ánh toàn diện cho tất cả các đối tượng vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn [100].

Kết quả của nghiên cứu chúng tôi hoàn toàn hợp lý vì khi đã chọc hút được tinh trùng thì đều có thể cho thụ tinh với noãn bằng phương pháp ICSI bất kể là mật độ tinh trùng trong mẫu đó ít hay nhiều. Chúng tôi thấy tỷ lệ thụ tinh ở nhóm có thai là 83,7% tương đương với nhóm không có thai là 81,9%.

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.

Phương pháp thụ tinh chính trong TTTON hiện tại đang được áp dụng tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương là ICSI (tiêm 1 tinh trùng vào bào tương của noãn) với mong muốn giảm tỷ lệ hủy chu kỳ do noãn không thụ tinh hoặc không có phôi chuyển. Phương pháp ICSI chỉ cần có tinh trùng di động là có thể thực hiện được. Đặc biệt đối với các trường hợp tinh trùng rã đông từ mẫu chọc hút mào tinh do chồng không có tinh trùng thì mẫu tinh trùng rất ít và yếu nên ICSI thực sự trở thành một chìa khóa giúp các cặp vợ chồng có cơ hội làm cha làm mẹ. Số noãn thụ tinh và tỷ lệ noãn thụ tinh là kết quả tổng hợp của chất lượng noãn, chất lượng tinh trùng và phương pháp thụ tinh. Tỷ lệ thụ tinh là một trong những tiêu chuẩn để đánh giá sự thành công của kỹ thuật chọc hút và trữ đông tinh trùng từ mào tinh. Tỷ lệ thụ tinh ở mẫu tinh trùng đông lạnh từ mào tinh giao động từ 60% - 80% theo từng nghiên cứu, Ng. T. Thái Thanh (2016) thấy tỷ lệ thụ tinh là $67,16\% \pm 21,27\%$, Vũ Đình Tuấn (2011) tỷ lệ thụ tinh là 62,8%, Tr. T.Thanh Bình (2012) là 72%, Hồ Sỹ Hùng (2014) là $72,45\% \pm 23,4\%$, Ng.T.Liên Hương (2014) là 81,3%. Trong nghiên cứu này chúng tôi chọn mức tỷ lệ thụ tinh là 70% để đánh giá ảnh hưởng của số lượng, chất lượng và thời gian trữ lạnh của tinh trùng chọc hút từ mào tinh.

Bảng 3.18 cho thấy 166 mẫu tinh trùng đông lạnh sau rã đủ tinh trùng tiêm ICSI thì có 130 mẫu đạt tỷ lệ thụ tinh trên 70% chiếm tỷ lệ 78,3%. Nhóm có mật độ tinh trùng trước đông trên 5 triệu đạt tỷ lệ thụ tinh trên 70% là cao nhất (82,1%). Tuy nhiên sự khác biệt giữa mật độ tinh trùng trước đông và tỷ lệ thụ tinh không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trong vô sinh không có tinh trùng do tắc nghẽn, tinh trùng phải chọc hút từ mào tinh, một

số nhà nghiên cứu cho rằng tinh trùng sẽ không có khả năng thụ tinh với noãn nếu không được trưởng thành khi qua các ống dẫn tinh, đến túi tinh. Tuy nhiên rất nhiều nghiên cứu đủ bằng chứng cho thấy khả năng thụ tinh bình thường của tinh trùng chọc hút từ mào tinh với noãn [176] được khẳng định trong nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ thụ tinh với noãn trên 70% là rất cao (78,3%).

Trong chu kỳ ICSI tinh trùng di động là yếu tố rất quan trọng cho quá trình thụ tinh và có thai, cho biết được khả năng sống của tinh trùng mặc dù có những tinh trùng bất động nhưng cũng chưa thể khẳng định được sự sống của nó. Một số phương pháp giúp nhận biết được tinh trùng sống để thực hiện kỹ thuật ICSI như HOST test (Hypoosmotic swelling test), hiện tượng xoắn của đuôi tinh trùng dưới tác dụng của laser, hiện tượng uốn mềm dẻo của đuôi tinh trùng khi có tác dụng cơ học. Gần đây, thiết bị vi lỏng phát triển để tách ra những tinh trùng di động từ mẫu tinh trùng nhược tinh nặng mà không cần dùng phương pháp ly tâm, thậm chí ở những mẫu có tỷ lệ tinh trùng bất động rất cao kèm thêm nhiều tế bào khác đã cho kết quả rất khả quan. Trong tương lai khi có nhiều nghiên cứu đưa ra kết quả chính xác thì đây có thể là kỹ thuật sẽ được áp dụng tìm tinh trùng di động cho các trường hợp chọc hút tinh trùng từ mào tinh và tinh hoàn.

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%. Tuy nhiên sự khác biệt về tỷ lệ tinh trùng di động trước đông và tỷ lệ thụ tinh không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Vì vậy di động là yếu tố quan trọng để lựa chọn tinh trùng cho kỹ thuật ICSI, khi có đủ tinh trùng di động thì vẫn đảm bảo được tỷ lệ thụ tinh và tạo cơ hội có thai cho bệnh nhân.

Lưu trữ tinh trùng trong nitơ lỏng là phương pháp đang được dùng phổ biến hiện nay. Theo nhiều tác giả: bảo quản tinh trùng ở nhiệt độ -196°C chất lượng tinh trùng ít bị ảnh hưởng vì ở nhiệt độ rất thấp như vậy môi trường nước trong và ngoài tế bào biến thành thể rắn, tế bào ở trạng thái ngừng hoạt động tạm thời. Theo Yogev L và cs (2010) khi nghiên cứu trên 2525 mẫu tinh dịch được bảo quản lạnh trong thời gian từ 6 tháng đến 15 năm đã cho kết quả: thời gian bảo quản lạnh kéo dài trong nitơ lỏng không ảnh hưởng đáng kể lên mật độ di động tiến tới ($10,8 \pm 3,3$ triệu TT/ml so với $12,3 \pm 2,9$ triệu TT/ml) và do vậy không làm thay đổi khả năng thụ tinh của các tinh trùng này [62]. Bảng 3.20 cho thấy có 8 trường hợp có thời gian lưu trữ tinh trùng trên 12 tháng thì tỷ lệ thụ tinh $> 70\%$ đạt thấp nhất 62,5%. Như vậy thời gian lưu trữ tinh trùng càng lâu thì tỷ lệ thụ tinh $> 70\%$ có xu hướng giảm tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tương tự kết quả nghiên cứu của Amr Abdel Raheem (2013) trên 87 chu kỳ TESE – ICSI cho thấy tỷ lệ có thai lâm sàng, tỷ lệ sinh sống, tỷ lệ sảy thai khác nhau không có ý nghĩa khi sử dụng tinh trùng đông lạnh bảo quản dưới 6 tháng, từ 6 – 12 tháng, từ 1 – 2 năm và trên 2 năm [181].

Tác giả Ng. Ph. Thảo Tiên (2007) cho biết tỷ lệ tinh trùng di động sau thời điểm 1 ngày và 2 ngày là không khác biệt, chỉ sau khoảng thời gian bảo quản 30 ngày thì tỷ lệ di động của tinh trùng mới giảm có ý nghĩa thống kê. Ph.T. Thu Thủy (2011) cũng nhận thấy thời gian bảo quản càng dài thì chất lượng tinh trùng càng giảm có ý nghĩa. Các tác giả này nghiên cứu trên các mẫu tinh trùng nhược tinh hoặc bình thường từ tinh dịch, không đánh giá đến hiệu quả thụ tinh với noãn. Trong nghiên cứu này chúng tôi không đánh giá chất lượng tinh trùng sau bảo quản lạnh do chỉ chọc hút tối thiểu khi có đủ tinh trùng di động để đông là dùng nên mẫu tinh trùng đông rất ít và quý,

chúng tôi chỉ đánh giá được mẫu có đủ tinh trùng để tiêm với noãn cho bệnh nhân hay phải chọc lại. Đánh giá tỷ lệ thụ tinh đó là minh chứng cho sự thành công của kỹ thuật chọc hút và đông lạnh tinh trùng từ mào tinh [59],[63].

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. Có rất nhiều xét nghiệm sàng lọc để đánh giá dự trữ buồng trứng như tuổi bệnh nhân, FSH ngày 2, AMH, AFC nhưng chưa có một xét nghiệm nào đáng tin cậy hoàn toàn. Sự phát triển nang noãn là một quá trình phức tạp và kéo dài, ở giai đoạn đầu sự phát triển nang noãn không phụ thuộc vào hormon hướng sinh dục, sau giai đoạn nang thứ cấp sự phát triển hay thoái hóa nang noãn mới phụ thuộc vào nồng độ hormon hướng sinh dục. Nếu hormon hướng sinh dục được cung cấp đầy đủ sẽ kích thích được nhiều nang noãn thứ cấp phát triển và trưởng thành. Mặt khác quá trình KTBT sẽ tác động trực tiếp đến quá trình chiêu mộ, phát triển của các nang noãn thông qua sự bổ sung FSH ngoại sinh.

Một số nghiên cứu thường tính mối liên quan giữa nồng độ E2 và số nang $\geq 14\text{mm}$ ngày khởi động trưởng thành noãn với số noãn thu được sau chọc hút để thể hiện tác động của KTBT. Tuy nhiên thực tế lâm sàng cho thấy, để đạt được mục tiêu cá thể hóa điều trị cũng như tư vấn các tác động của KTBT trên từng bệnh nhân trước khi KTBT để có phương hướng điều trị phù hợp nhằm dự phòng các tác động tiêu cực, đòi hỏi các bác sỹ phải dự đoán sớm khả năng đáp ứng của từng bệnh nhân từ khi chỉ có các thông số cơ bản về đặc điểm lâm sàng, nội tiết ngày 2, AMH và AFC. Trên cơ sở đó nghiên cứu đã tìm ra mối tương quan giữa nồng độ FSH, AFC, AMH, E2

ngày tiêm HCG với số noãn thu được sau chọc hút nhằm đưa ra được các dự đoán sớm và đáng tin cậy.

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. Hệ số tương quan Spearman của E2 là lớn nhất với r là 0,584 theo phương trình dự đoán là

$$Y = 0,01 * X + 5,749 \text{ với } p = 0,000.$$

Điều này cho thấy nồng độ E2 có mối tương quan chặt nhất với số noãn thu được, tiếp đến là AMH với $r = 0,372$ và FSH (r là -0,318) với $p < 0,05$. Nghiên cứu này tương tự nghiên cứu của V. M. Ngọc (2012) cũng cho thấy có mối liên quan giữa nồng độ E2 ngày tiêm hCG và số noãn thu được $r = 0,619$ có phương trình dự đoán là $y = 0,002 * X + 3,97$. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Ansieh và cs (2016) cũng như nghiên cứu của Lazaros và cs (2013) với hệ số Spearman của AMH $r = 0,86$. Tuy nhiên một nghiên cứu của Takahashi và cs (2008) lại cho thấy điều ngược lại là không có sự tương quan đáng kể giữa AMH và số noãn. Một số nghiên cứu cũng đã được thực hiện nhằm so sánh độ nhạy và độ đặc hiệu của AMH với tuổi vợ và các xét nghiệm nội tiết như FSH, inhibin, estradiol trong dự đoán đáp ứng buồng trứng kém hay nhiều. Kết quả từ các báo cáo cho thấy AMH là yếu tố dự đoán đáp ứng buồng trứng tốt hơn tuổi, FSH, inhibin và estradiol định lượng vào ngày 3 của chu kỳ. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu này có cỡ mẫu nhỏ, hệ thống định lượng AMH khác nhau. Tại thời điểm chúng tôi tiến hành nghiên cứu, bệnh viện phụ sản Trung ương mới bắt đầu đưa xét nghiệm AMH vào để đánh giá dự trữ buồng trứng cho bệnh nhân TTTON, đây chính là kết quả bước đầu đánh giá hiệu quả của xét nghiệm AMH cho thấy có mối tương quan đến số noãn thu

được nhưng mức độ không chặt chẽ như các nghiên cứu của các tác giả trong nước ở những nghiên cứu sau. Vương Thị Ngọc Lan (2012) cho thấy AMH có mối liên quan cao giữa nồng độ AMH và số noãn thu được $r = 0,74$.

AFC có mối tương quan thấp với số noãn thu được sau chọc hút r là 0,242. Trên thực tế đánh giá chỉ số AFC phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện khách quan do bị ảnh hưởng bởi người thực hiện siêu âm và khuynh hướng sai số nhiều hơn khi AFC cao, như vậy kết hợp FSH và AMH có thể cung cấp thêm dữ liệu về dự trữ buồng trứng của đối tượng và tiên lượng số noãn thu được sau chọc hút.

Một trong những đặc điểm của vô sinh nam nói chung và vô sinh do không có tinh trùng là mặc dù nguyên nhân do chồng nhưng tất cả các can thiệp điều trị lại thực hiện trên cơ thể người vợ, do vậy kết quả thành công phụ thuộc rất nhiều vào các yếu tố người vợ như tuổi, dự trữ buồng trứng...

4.4.2.2. Tuổi và thời gian vô sinh của người vợ liên quan đến kết quả có thai lâm sàng

Theo bảng 3.22 sự khác biệt tuổi vợ giữa hai nhóm có thai và không có thai khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Đó là do phần lớn các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đều còn trẻ, thời gian vô sinh ngắn, nguyên nhân vô sinh chủ yếu do chồng, do vậy sự khác biệt về độ tuổi giữa hai nhóm có thai và không có thai không nhiều. Kết quả này tương tự nghiên cứu của M. Q. Trung là tỷ lệ có thai giảm khi tuổi vợ tăng lên nhưng không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2013), Konstantinos Dafopoulos (2005) cũng thấy độ tuổi trung bình ở nhóm có thai và không có thai khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nghiên cứu của Friedler (2002) và Zorn (2009) cho kết quả khác với chúng tôi là tuổi có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai, có thể các bệnh nhân trong nghiên cứu của tác giả lớn tuổi hơn so với nghiên cứu của chúng tôi nên sự khác biệt sẽ rõ rệt hơn [86],[182],[183].

Phân tích tỷ lệ có thai theo từng nhóm tuổi chúng tôi thấy tỷ lệ có thai giảm dần theo độ tuổi. Tỷ lệ có thai ở nhóm dưới 35 tuổi cao hơn hẳn nhóm trên 35 tuổi tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,647$ kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng năm 2014.

Yếu tố thời gian vô sinh cũng gần tương tự yếu tố tuổi vợ. Thời gian vô sinh càng lâu thì tuổi vợ càng lớn và khả năng có thai cũng sẽ giảm đi. Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy thời gian vô sinh trung bình của nhóm có thai là $3,95 \pm 3,8$ năm và của nhóm không có thai là $4,78 \pm 4,71$ năm, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,213$. Tuổi của người vợ và thời gian vô sinh tỷ lệ thuận với nhau nên khi tuổi không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai thì thời gian vô sinh cũng không ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai. Phân tích tỷ lệ có thai theo nhóm thời gian vô sinh chúng tôi thấy có 10 trường hợp vô sinh trên 10 năm thì tỷ lệ có thai chiếm 30% thấp hơn nhiều so với nhóm vô sinh dưới 10 năm. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,078$.

Kết quả nghiên cứu của Marcos và cs (2012) cũng cho thấy thời gian vô sinh trong nhóm có thai là 2,5 năm không khác biệt với nhóm không có thai là 3 năm với $p > 0,05$ [184]. Hồ Sỹ Hùng cũng thấy thời gian vô sinh càng cao thì tỷ lệ có thai càng giảm nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Như vậy cùng với thời gian, tỷ lệ có thai giảm dần theo độ tuổi của người vợ mặc dù sự giảm này không khác biệt nhiều. Tuy nhiên các cặp vợ chồng khi chậm có thai cần phải đi khám sớm, điều trị kịp thời thì tỷ lệ thành công mới cao, đặc biệt là các trường hợp đã xác định được nguyên nhân rõ ràng như chồng không có tinh trùng...

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

Kết quả cuối cùng của quá trình chuẩn bị noãn là số noãn chọc hút được, và hiệu quả của quá trình tiêm tinh trùng vào bào tương noãn chính là số phôi thu được. Tỷ lệ thành công của kỹ thuật ICSI phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố: phác đồ KTBV, kỹ thuật chọc hút mào tinh để thu được tinh trùng tốt nhất, kỹ thuật đông lạnh – rã đông tinh trùng để thu được đủ lượng tinh trùng tiêm vào bào tương noãn... Tuy nhiên vấn đề quan trọng nhất là kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) và kỹ thuật nuôi cấy phôi. 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 $p < 0,05$. Tương tự nghiên cứu của Ng.T.Mỹ Dung (2011) cho thấy số noãn chọc hút được và số phôi ở nhóm có thai lâm sàng lần lượt là $7,46 \pm 3,69$ và $5,23 \pm 3,5$ cao hơn nhóm không có thai là $6,39 \pm 3,21$ và $3,90 \pm 2,38$ với $p < 0,01$ [178]. 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 chọc hút từ mào tinh.

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

Trong pha nang noãn NMTC phát triển dày lên, các ống tuyến dài ra và chế tiết niêm dịch là do tác dụng của estradiol được bài tiết bởi tế bào hạt. Sau khi phóng noãn, phần tế bào hạt còn lại sẽ tạo thành hoàng thể, tiếp tục bài tiết estrogen và progesterone. Trong các chu kỳ TTTON sau chọc hút noãn bệnh nhân cũng được dùng progesterone hỗ trợ hoàng thể. Dưới tác dụng của progestogene nội và ngoại sinh này, NMTC có phản ứng màng rụng, có tác dụng “hoài thai” sẵn sàng tiếp nhận phôi đến làm tổ. Nhiều nghiên cứu đã được

tiến hành để đánh giá NMTC bằng phương pháp siêu âm để phân biệt giữa NMTC thuận lợi hay không thuận lợi cho sự phát triển và làm tổ của phôi. Giá trị tiên lượng độ dày NMTC có thể đo được trên siêu âm ở bất kỳ thời điểm nào trong chu kỳ điều trị, tuy nhiên ngày tiêm hCG để tạo sự trưởng thành của nang noãn, xác định thời điểm tiến hành chọc hút noãn có ý nghĩa lâm sàng quan trọng. Một vài nghiên cứu đã xác nhận có mối liên quan giữa đặc điểm NMTC và tỷ lệ có thai lâm sàng trong TTON. Tuy nhiên, một số tác giả không nhất trí rằng siêu âm NMTC vào ngày tiêm HCG có thể tiên lượng được kết quả có thai trong các chu kỳ IVF/ICSI.

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 $p > 0,05$ [156]. Luis T (2008) đã nghiên cứu 80 chu kỳ đầu tiên từ 80 bệnh nhân làm IVF/ICSI thấy không có sự khác biệt về NMTC giữa nhóm có thai và không có thai với $p = 0,810$ [185]. Batool Hosseini Rashidi (2005) nghiên cứu trên 150 bệnh nhân IVF/ICSI thấy NMTC trung bình ở nhóm có thai là $10,1 \pm 1$ mm khác biệt không có ý nghĩa với nhóm không có thai là $10,2 \pm 2$ mm với $p = 0,79$. Tác giả Ulrike Zenke (2004) cũng cho kết luận tương tự [186].

Phần lớn các nghiên cứu cho rằng không có thai khi độ dày NMTC dưới 7mm. Tuy nhiên cũng có nghiên cứu tìm thấy ngưỡng tối thiểu của NMTC để có thai là 6mm, thậm chí có nghiên cứu thấy có thai trên bệnh nhân có độ dày NMTC là 4mm. Trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 1 trường hợp NMTC dưới 8mm thì không có thai (NMTC = 6mm). Ngày nay kỹ thuật đông phôi ngày càng hoàn thiện và phát triển, để đảm bảo cơ hội tốt nhất cho

bệnh nhân nên những trường hợp NMTC dưới 8mm được chỉ định đông phôi toàn bộ, rã đông và chuyển phôi khi chuẩn bị NMTC thuận lợi ở chu kỳ sau.

Phân tích tỷ lệ có thai theo từng nhóm NMTC chúng tôi sự khác biệt về tỷ lệ có thai giữa các nhóm NMTC không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tương tự nghiên cứu của Ulrike Zenke (2004) thực hiện trên 134 chu kỳ cho nhận noãn nhận thấy NMTC trung bình ở nhóm có thai là 10,8mm khác biệt không có ý nghĩa so với nhóm không có thai là 9,8mm[186]. Tác giả cũng thấy không có trường hợp nào có thai khi NMTC < 8 mm. Khác với một số nghiên cứu cho rằng NMTC dày trên 14mm sẽ làm giảm tỷ lệ có thai như Hồ Sỹ Hùng thấy tỷ lệ có thai cao nhất ở nhóm NMTC từ 12,1 – 14mm là 52,7%, khi NMTC > 14 mm tỷ lệ có thai giảm còn 36,8%. Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ có thai cao nhất ở nhóm niêm mạc > 14 mm (66,7%), tương tự nghiên cứu của Jing Zhao (2012) là 63,5% và Shi – Ling Chen (2010) là 55,2% [187],[188].

Tính chất NMTC cũng có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai. Chúng tôi phân loại tính chất NMTC làm hai nhóm là nhóm NMTC có hình ảnh ba lá, đây là niêm mạc phát triển và chế tiết tốt, rất thuận lợi cho phôi làm tổ. Nhóm thứ hai là hình ảnh NMTC không ba lá đây là dạng niêm mạc có thể đã chịu tác động của progesterone do hiện tượng hoàng thể hóa sớm nên có hình ảnh đậm âm là hình ảnh niêm mạc đã chế tiết không thuận lợi cho phôi làm tổ bằng NMTC ba lá. Trong một nghiên cứu tiền cứu của Serafini và cs, tác giả đã báo cáo dạng NMTC 3 lá có giá trị tiên đoán sự làm tổ của phôi hơn bất kỳ phương pháp đo đạc nào khác. Một số nghiên cứu tìm kiếm mối liên quan giữa dạng NMTC và tiên đoán thai kỳ nhấn mạnh rằng NMTC xấu không phải yếu tố loại trừ khả năng có thai. Thai kỳ vẫn có thể xảy ra ở chu kỳ có dạng NMTC xấu dù tỉ lệ thấp. Tuy nhiên, khi NMTC < 7 mm và dạng NMTC xấu (non-multilayered) là dấu hiệu dự báo khả năng không làm tổ của phôi.

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 tình trạng đông lạnh từ mào tinh.

4.4.2.5. 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 $p < 0,05$ (Xem bảng 3.22). Số lượng phôi chuyển là một trong những yếu tố làm tăng tỷ lệ có thai. Theo Hassan N Sallam (2004), sự thành công của một chu kỳ điều trị tỷ lệ thuận với số lượng phôi chuyển, tuy nhiên chuyển bao nhiêu phôi trong một chu kỳ là hợp lý, thực ra đó là một vấn đề chưa có sự thống nhất giữa các trung tâm TTTON, bởi vì nó phụ thuộc vào vào nhiều yếu tố như: tuổi của bệnh nhân, nội mạc tử cung, số lượng và chất lượng phôi, trình độ kỹ thuật, tôn giáo, pháp luật cho phép ở từng quốc gia. Số phôi chuyển tối ưu là làm tăng tỷ lệ có thai và giảm tỷ lệ đa thai trong TTTON, đa thai sẽ gây ra những biến chứng như tăng khả năng sảy thai, đẻ non, tiền sản giật...Ở Việt Nam chưa có quy định về hạn chế số lượng phôi chuyển trong mỗi chu kỳ. Tại trung tâm Hỗ trợ Sinh sản Quốc Gia, số lượng phôi chuyển trong một chu kỳ điều trị thường là 3 phôi. Những bệnh nhân lớn tuổi, đã từng thất bại với những lần làm TTTON trước đó thường được chuyển nhiều phôi hơn.

Chất lượng phôi chuyển cũng là một trong những yếu tố rất quan trọng ảnh hưởng đến kết quả có thai trong TTTON. Trong nghiên cứu này chúng tôi

phân loại chất lượng phôi theo 4 độ, trong đó phôi độ 4 là phôi có chất lượng tốt nhất, phôi độ 3 là phôi tốt, độ 2 là phôi chất lượng trung bình và phôi độ 1 là phôi chất lượng kém. Kết quả nghiên cứu cho thấy chất lượng phôi chuyển và kết quả có thai lâm sàng khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, chất lượng phôi 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, chúng tôi thấy tỷ lệ có thai ở nhóm chuyển 1 phôi tốt cao gấp 1,81 lần khi chuyển không có phôi tốt nào sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê 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 $OR = 4,4$; $CI (1,8 - 10,6)$. Như vậy nếu chuyển ít nhất 2 phôi tốt thì tỷ lệ có thai tăng gấp 4,4 lần so với chuyển 1 phôi tốt. Đặc biệt khi chuyển ít nhất 2 phôi tốt thì tỷ lệ có thai cao gấp 8 lần khi không có phôi tốt nào với $OR = 8,0$; $CI (3,0 - 21,1)$. Phôi tốt trong nghiên cứu này chúng tôi quy định là các phôi độ 3 và phôi độ 4.

Hồ Sỹ Hùng (2014) cũng nhận thấy chuyển 1 phôi tốt tăng tỷ lệ có thai gấp 18,57 lần so với không có phôi tốt nào, khi chuyển ít nhất 3 phôi tốt thì tỷ lệ có thai tăng gấp 2,4 lần so với chuyển 2 phôi tốt. Sự khác biệt về chất lượng phôi chuyển và tỷ lệ có thai có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [139].

Nguyễn Thị Mỹ Dung (2011) nghiên cứu trên 368 trường hợp làm thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng kỹ thuật PESA/ICSI thấy chất lượng phôi chuyển càng tốt thì tỷ lệ thai lâm sàng càng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [178].

Nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nhiều nghiên cứu khác trong nước cũng như trên thế giới đều khẳng định rằng vai trò của chất lượng phôi chuyển là rất quan trọng và mang ý nghĩa quyết định đến sự thành công của TTTON [189].

4.4.2.6. Liên quan giữa cách thức chuyển phôi và tỷ lệ thai lâm sàng.

Chuyển phôi là khâu then chốt cuối cùng quyết định thành công của cả một quy trình TTON. Kỹ thuật chuyển phôi là một trong những yếu tố lâm sàng ảnh hưởng đến tỷ lệ làm tổ và có thai của các chu kỳ chuyển phôi. Chuyển phôi phải đảm bảo không gây tổn thương NMTC, không tạo ra con co tử cung, không để phôi lâu ở môi trường ngoài, điều này đòi hỏi người chuyển phôi phải có tay nghề cao và chuẩn bị bệnh nhân trước chuyển phôi phải tốt. Sau chuyển phôi catheter sạch hoàn toàn hoặc dính máu hay dính chất nhầy cổ tử cung. Nếu dính máu có thể do tổn thương NMTC sẽ ảnh hưởng đến việc phôi làm tổ. Tương tự nếu catheter dính chất nhầy có thể làm dính xung quanh phôi, dễ bị sót phôi khi chuyển hoặc chất nhầy bám quanh phôi làm cản trở phôi làm tổ. Kết luận này tương tự nghiên cứu của Goudas và cộng sự (1998) khi thấy rằng sau chuyển phôi nếu có máu dính vào mặt ngoài catheter cũng làm giảm tỷ lệ có thai.

Bảng 3.29. kết quả chúng tôi thu được khi chuyển phôi dễ, nhẹ nhàng, kết quả có thai đạt được rất cao là 61,9%. Chỉ có 1 trường hợp chuyển phôi khó phải kẹp cổ tử cung thì không có thai. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 99,3% là chuyển phôi dễ, số trường hợp chuyển phôi khó chiếm tỷ lệ rất thấp nên không phản ánh được mối liên hệ giữa cách thức chuyển phôi với tỷ lệ thai lâm sàng. Kết quả trên cũng cho thấy các bác sỹ lâm sàng trong trung tâm rất khéo léo và thành thạo với đại đa số các trường hợp chuyển phôi đều nhẹ nhàng, dễ dàng không gây tổn thương cho NMTC.

4.4.2.7. Liên quan giữa điểm chuyển phôi và kết quả có thai lâm sàng.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 140 chu kỳ chuyển phôi dùng 3 yếu tố gồm độ dày NMTC, chất lượng phôi chuyển và cách thức chuyển phôi như những chỉ số nhằm tiên lượng kết quả có thai và thấy rằng: tỷ lệ có thai cao ở

hai nhóm tiên lượng rất tốt và tốt với số điểm tiên lượng là 6 điểm và 5 điểm (79,7% và 48,6%). Tỷ lệ có thai giảm ở nhóm có điểm tiên lượng trung bình là 4 điểm (45,2%). Đặc biệt trong 5 trường hợp có điểm tiên lượng rất xấu ≤ 3 điểm thì không có trường hợp nào có thai. Sự khác biệt về tỷ lệ có thai lâm sàng giữa các điểm tiên lượng khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

Nếu chuyển phôi khó sẽ làm tổn thương NMTC, dễ gây cơn co tử cung nên cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai. Bảng 3.32 cho thấy ở nhóm có thai điểm chuyển phôi trung bình là $5,48 \pm 0,76$ điểm, cao hơn $4,72 \pm 1,02$ điểm ở nhóm không có thai, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tương tự nghiên cứu của L.T.P. Lan (2007), V.T.B. Loan (2008) đều kết luận tỷ lệ có thai cao ở nhóm có điểm chuyển phôi đạt 5 hoặc 6 điểm, tỷ lệ có thai giảm đáng kể khi điểm chuyển phôi ≤ 3 điểm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [112],[190].

Khác với chất lượng phôi và độ dày NMTC là phụ thuộc vào bản thân của mỗi bệnh nhân, kỹ thuật chuyển phôi chủ yếu phụ thuộc vào tay nghề của người thầy thuốc. Như vậy việc đào tạo cũng như rèn luyện để nâng cao tay nghề đóng góp vào sự thành công của điều trị.

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

Các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản mở ra khả năng điều trị cho nhiều cặp vô sinh, đặc biệt những cặp vô sinh do không có tinh trùng. Mặc dù sự phát triển của các kỹ thuật này có những bước tiến bộ nhanh chóng nhưng tỷ lệ có thai chung trên thế giới chỉ đạt 30 - 40%. Trong đó có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng và tỷ lệ sinh sống của một chu kỳ TTTON. Kết quả có thai sinh sống là kết quả cuối cùng của kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh. Để đến được kết quả này, người vợ từ có thai lâm sàng trải qua quá trình mang thai có thể bị sảy thai, thai

lưu, đẻ non.... Quá trình này phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó yếu tố tuổi của người mẹ, tuổi người bố, chất lượng phôi, chất lượng niêm mạc tử cung, phác đồ kích thích buồng trứng đã được đưa vào để phân tích giá trị tiên lượng kết quả có thai sinh sống trong thụ tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh.

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 Cassie Laasch (2004) khi đánh giá hồi qui đa biến so sánh giữa tuổi của người mẹ, độ dày NMTC và chất lượng phôi chuyển cũng nhận thấy chỉ có chất lượng phôi chuyển ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến tỷ lệ có thai [191]. Kevin S. Richter (2007) tiến hành trên 1294 chu kỳ chuyển phôi nang ngày 5 khi nghiên cứu hồi qui đa biến nhận thấy tuổi người mẹ, chất lượng phôi và độ dày NMTC có ảnh hưởng đến tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ sinh sống, trong khi các yếu tố khác như phác đồ kích thích, nồng độ FSH, thời gian kích thích, nồng độ E2 không ảnh hưởng [192]. Ahlam Al-Ghamdi và cs (2008) nghiên cứu trên

2464 chu kỳ IVF/ICSI hồi quy đa biến cho thấy tỷ lệ có thai bị ảnh hưởng bởi tuổi người mẹ ($p = 0,01$), phác đồ điều trị ($p = 0,0001$), độ dày niêm mạc tử cung ngày tiêm hCG ($p = 0,001$), số noãn chọc hút ($p = 0,0001$), số phôi ($p = 0,001$), số phôi chuyển ($p = 0,0001$) [193]. 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 [194].

Như vậy đối với các cặp vô sinh không có tình trùng do tắc nghẽn, đa phần người phụ nữ còn trẻ, khả năng sinh sản bình thường nên các yếu tố về tuổi, nồng độ FSH, phác đồ điều trị, ảnh hưởng không đáng kể đến tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ sinh sống. Các yếu tố người chồng như độ tuổi, nồng độ hocmon, số lượng tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động hay thời gian lưu trữ tinh trùng không ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh hay tỷ lệ có thai lâm sàng, chỉ cần đủ tinh trùng di động sau rã đông để tiêm với noãn, bệnh nhân đã có cơ hội có phôi chuyển, mặc dù tinh trùng thu hoạch từ mào tinh có thể chưa trưởng thành đầy đủ nhưng với sự hỗ trợ thụ tinh bằng phương pháp ICSI tỷ lệ thụ tinh cao, sự hình thành các tiền nhân bình thường tương tự như các trường hợp IVF thông thường. Chính vì vậy việc xử lý tinh trùng sau PESA và kỹ thuật đông rã tinh trùng là rất quan trọng. Xử lý tinh trùng sau PESA chúng tôi áp dụng phương pháp thang nồng độ với thể tích nhỏ 0,5ml mỗi cột (vì lượng dịch chọc hút từ mào tinh rất ít) để thu hoạch tinh trùng, loại bỏ các tế bào, mảnh vỡ tổ chức khác. Đặc biệt khi rã đông với các mẫu rất ít tinh trùng, chúng tôi chỉ rửa bằng quay ly tâm với môi trường nuôi cấy, lấy cạn, nếu không có tinh trùng sống sẽ được làm swimout, Host test để tìm được tinh trùng sống tiêm vào bào tương noãn. Các kỹ thuật này đòi hỏi các nhà lâm sàng phải có kinh nghiệm khi chọc hút tinh trùng từ mào tinh giúp thu được mẫu tốt nhất, các nhà phôi học có kỹ năng khi xử lý đông và rã tinh trùng, bắt tinh trùng ở những mẫu rất kém để tiêm vào bào tương noãn, nuôi cấy phôi thật tốt. Từ đó tạo được nhiều phôi có chất

lượng tốt giúp tăng tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ sinh sống cho bệnh nhân. Với sự phát triển của kỹ thuật đông phôi ngày càng hoàn thiện, những trường hợp có NMTC vào ngày tiêm hCG dưới 8mm đã được chỉ định ĐPTB để chuyển vào chu kỳ sau khi có niêm mạc thuận lợi, trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 1 bệnh nhân có niêm mạc dưới 8mm khi chuyển phôi không có thai, chính vì vậy chúng tôi thấy độ dày niêm mạc không ảnh hưởng đến kết quả có thai lâm sàng. Hình ảnh NMTC có dạng ba lá ảnh hưởng rất mạnh mẽ đến kết quả có thai và sinh sống, kết quả này gợi ý cho các nhà lâm sàng nên cân nhắc có ĐPTB cho các trường hợp NMTC dù đạt độ dày nhưng hình ảnh niêm mạc không ba lá để chuyển cho những chu kỳ sau hay không. Việc đánh giá độ dày và hình ảnh niêm mạc tử cung do nhiều bác sỹ khác nhau nên không tránh khỏi sự sai khác, đây cũng là một điểm hạn chế của nghiên cứu. Tuy nhiên, với việc được đào tạo bài bản, thống nhất cũng như kinh nghiệm của các bác sỹ làm việc tại Trung tâm hỗ trợ sinh sản Quốc gia, thì các thông số đánh giá chất lượng NMTC là đáng tin cậy để phân tích trong mối liên quan tới tỷ lệ thành công của chuyển phôi có sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh tại đây.

Sự ra đời của phương pháp ICSI đã đem đến cơ hội điều trị vô sinh cho các bệnh nhân không tinh trùng. Việc lựa chọn phương pháp điều trị cho các đối tượng bệnh nhân này đã gây ra nhiều tranh cãi. Thông thường, phương pháp PESA/MESA (thu nhận tinh trùng từ mào tinh) kết hợp với ICSI thường được thực hiện trên các bệnh nhân vô tinh bế tắc (OA – Obstructive Azoospermia). Đối với các trường hợp vô tinh không bế tắc (NOA – Non obstructive Azoospermia), việc điều trị được thực hiện bằng phương pháp TESE / TESA – ICSI (thu nhận tinh trùng từ mô tinh hoàn kết hợp với ICSI). Tương tự với tinh trùng từ tinh dịch, tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật có thể được sử dụng tươi hoặc đông lạnh – rã đông. Mỗi phương pháp có những thuận lợi và khó khăn riêng.

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. Đầu tiên, Hutchon và cs. (1998) đã tiến hành so sánh kết quả của 17 chu kỳ điều trị sử dụng tinh trùng mào tinh tươi với 15 chu kỳ điều trị sử dụng tinh trùng mào tinh đông lạnh của cùng bệnh nhân [84]. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ thụ tinh bình thường giữa 2 nhóm; tuy nhiên, tỉ lệ phôi tốt ở nhóm mẫu trữ thấp hơn so với nhóm mẫu tươi. Tương tự, theo nghiên cứu của Friedler và cs. (1998), tỉ lệ thụ tinh không có sự khác biệt giữa 2 nhóm (mẫu tươi $n=24$, mẫu trữ $n=21$) [93]. Sau đó, Tournaye và cs. (1999) đã thực hiện nghiên cứu trên 67 chu kỳ điều trị, trong đó, mỗi chu kỳ điều trị đều sử dụng cả mẫu tươi và mẫu trữ và đánh giá kết quả nhận được từ mỗi loại mẫu tinh trùng này. Kết quả cũng cho thấy không có sự khác biệt giữa sử dụng tinh trùng mào tinh tươi và đông lạnh – rã đông [6]. Trong một nghiên cứu khác của Selahittin và cs. (2001), việc so sánh giữa kết quả sử dụng tinh trùng mào tinh tươi và đông lạnh – rã đông được thực hiện trên 19 bệnh nhân, trong đó, mỗi bệnh nhân đều trải qua 2 chu kỳ điều trị kế tiếp nhau: một chu kỳ sử dụng mẫu tươi và một chu kỳ sử dụng mẫu trữ. Kết quả cũng cho thấy tỉ lệ thụ tinh không khác biệt giữa 2 nhóm. Tác giả cũng ghi nhận không có sự khác biệt về tỉ lệ phôi tốt [94]. Tại Việt Nam một số trung tâm hỗ trợ sinh sản lớn đã sử dụng tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh để thực hiện ICSI và mang lại kết quả rất khả quan. Theo nghiên cứu của Tr.T.Thanh Bình (2012) trên 206 ca sử dụng tinh trùng tươi và 43 ca tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh thì tỷ lệ thụ tinh và thai lâm sàng không khác biệt giữa hai nhóm (70,9%, 40.9% và 72%, 48%) [127]. Hồ Sỹ Hùng (2014) cũng nhận thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ thai lâm sàng giữa hai nhóm sử dụng tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh chọc hút từ mào tinh. Kết quả

nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.21 cho thấy tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ khi sử dụng tinh trùng tươi và tinh trùng đông lạnh lần lượt là 80,24%, 59,3%, 24,7%, và 82,3%, 61,4%, 31,1% sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [139].

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 qui trình đông lạnh tinh trùng từ mào tinh của chúng tôi xây dựng trong điều kiện Việt Nam có thể tương đương với các qui 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 chọc hút 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

Nghiên cứu hiệu quả điều trị vô sinh nam ở 197 cặp vợ chồng bằng phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh sau thủ thuật PESA vào bào tương noãn tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương chúng tôi rút ra kết luận sau:

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.

+ *Hình thái niêm mạc tử cung không ba lá làm tỷ lệ có thai lâm sàng thấp hơn 0,113 lần, tỷ lệ trẻ sinh sống chỉ bằng 0,122 so với niêm mạc tử cung ba lá.*

+ *Nếu chuyển từ 2 phôi tốt trở lên thì làm tăng tỷ lệ có thai lâm sàng lên 3,582 lần tỷ lệ trẻ sinh sống cao gấp 2,731 lần khi chuyển ít hơn 2 phôi tốt.*

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.

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.

**PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU BỆNH NHÂN PESA/ICSI
TẠI BVPSTW**

Phiếu thu thập số liệu số:..... Số hồ sơ bệnh nhân.....

Họ và tên vợ:..... Tuổi:..... số ĐT:.....

Ngày trữ tinh:..... ngày chọc hút:.....

Địa chỉ:..... 1=Hà Nội 2= tỉnh khác.

Tuổi vợ: ≤ 25 tuổi=1 25 - ≤ 35 tuổi =2 > 35 tuổi =3

Nghề nghiệp: cán bộ =1 nông dân=2 nội trợ=3 khác=4.

Vô sinh: nguyên phát =1 thứ phát = 2.

Số lần làm TTTON: 1 lần = 1 2 lần =2 > 2 lần = 3

Thời gian VS: ≤ 5 năm=1 $< 5 - \leq 10$ năm =2 > 10 năm = 3

Nguyên nhân Vs kèm: không có=1 tắc ODT=2 u Bt=3 PCOS=4

Họ và tên chồng: tuổi:..... Số ĐT.....

Tuổi chồng ≤ 25 t =1 26 - ≤ 30 t =2 31 - ≤ 35 t =3 36 - ≤ 40 t =4
 > 40 t =5

Nghề nghiệp: cán bộ=1 tiếp xúc nóng =2 nông dân=3 tiếp xúc hóa chất=3
khác=4

Tiền sử: 1 = phẫu thuật vùng bẹn 2= bệnh STD 3= không có

Bệnh nội khoa: có =1, không =2 Bệnh ngoại khoa: có=1 không = 2

Kích thước tinh hoàn: ≤ 10 ml =1 11 - ≤ 15 ml =2 16 - ≤ 20 ml=3 > 20 ml
= 4

Siêu âm bẹn bìu: giãn TMTT có =1 không=2

Xét nghiệm nội tiết:

FSH	LH	TES	PRL
-----	----	-----	-----

Chọc hút: mào tinh trái = 1 mào tinh phải = 2 Test trước đó: tại viện = 1 viện khác = 2

Tinh trùng trước đông: Mật độ: 1+ = 1 2+ = 2 3+ = 3

<500ngàn/ml = 1 500ngàn – 1tr/1ml = 2 1tr - <2tr = 3 2tr - <5tr = 4 ≥5tr = 5

Tinh trùng sống: < 10% = 1 10% - 30% = 2 30% - 50% = 3 >50% = 4

Lọc trước đông: có = 1 không = 2 chỉ rửa = 3

Tinh trùng sau rã: đủ làm ICSI = 1 thoái hóa = 2 không đủ = 3

Thời gian trữ:..... ≤ 6^m=1y 6^m- ≤1y = 2 1y - ≤1,5y = 3 1,5y - ≤2y = 4 >2y = 5

KẾT QUẢ TTTON

Xét nghiệm NT vợ: Phác đồ điều	FSH	LH	E2	PRL
	AFC		AMH	

trị: dài = 1 ngắn = 2 đối vận = 3

Liều FSH:	Tổng liều:	Ngày ĐT:	Ngày anta:
E2 ngày OR:		Proges:	
Số noãn:	Noãn MII:	Chất lượng noãn: T...TB...X...MI... GV. TH...	
Số noãn TT:	Số phôi:	Số phôi chuyển:	Số phôi đông:

Tỷ lệ thụ tinh: ≤50% = 1 51 - ≤70% = 2 71 - ≤80% = 3 81 - ≤90% = 4 91 - 100% = 5

Chất lượng phôi: độ 1:.. độ 2: .. độ 3... độ 4:... CL phôi chuyển: 0 điểm=1 1 điểm = 2 2 điểm = 3

Độ dày NMTC:.... 0 điểm = 1 1 điểm = 2 2 điểm = 3

Hình ảnh NMTC: ba lá = 1 không ba lá = 2

Kỹ thuật chuyển phôi: 0 điểm = 1 1 điểm = 2 2 điểm = 3 dễ = 1 khó = 2

Điểm chuyển phôi: 1 đ = 1 2 đ = 2 3đ = 3 4đ = 4 5đ = 5 6đ = 6

Thai: có thai sinh hóa = 1 thai lâm sàng = 2 không thai = 3

Số túi thai: 1 thai=1 2thai=2 3thai=3 4thai=4 giảm thai: có =1 không=2

Thai lưu=1 CNTC=2 sảy thai=3 đẻ non=4 đẻ đủ tháng=5

Đẻ thường = 1 mổ đẻ =2 trai=1 gái = 2 số con: 1con=1 2 con=2 3 con=3.

Bệnh lý khi mang thai: có =1 không=2.

Cân nặng: <2,5kg=1 2,5 -3kg =2 3 – 3,5kg = 3 >3,5kg = 4. Bất thường: có=1 không=2

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Thị Ngọc Phượng và cộng sự (2002). Hiếm muộn – vô sinh và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. *NXB Y học*, 258-269.
2. Irvine DS (1998). Epidemiology and etiology of male infertility. *Hum Reprod.* 1998;13:33-34.
3. Lê Thị Hương Liên (2008). Nghiên cứu chất lượng tinh trùng của nam giới đến khám tại Bệnh viện Phụ sản trung ương và một số yếu tố liên quan, *Luận văn tốt nghiệp bác sỹ chuyên khoa cấp II*, Trường Đại học Y Hà Nội.
4. Proctor M, Johnson N, Van Peperstraten AM, et al (2009). Techniques for surgical retrieval of sperm prior to intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for azoospermia. *The Cochrane library*.
5. Willot GM (1982). Frequency of azoospermia. *Forensic Sci Int*, 20,9-10.
6. Tournaye H et al (1999). No differences in outcome after intracytoplasmic sperm injection with fresh or with frozen-thawed epididymal spermatozoa. *Human Reproduction*, 14, 90-95.
7. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M et al (1993). Pregnancy after fertilisation with human testicular spermatozoa. *Lancet*, 342, pp. 1237.
8. Hồ Mạnh Tường, Vương Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thành Như và cs (2002). Trường hợp có thai đầu tiên bằng kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng với tinh trùng sinh thiết từ mào tinh ở Việt Nam. *Y học Việt Nam*: 1 – 6.
9. Nguyễn Khắc Liêu (1999). Các thời kỳ hoạt động sinh dục ở phụ nữ, sinh lý phụ khoa. *Bài giảng phụ khoa*, Nhà xuất bản Y học, 222-234.
10. Nguyễn Khắc Liêu (2003). Đại cương về vô sinh, sinh lý kinh nguyệt, thăm dò nội tiết nữ. *Chẩn đoán và điều trị vô sinh*, Viện Bảo vệ Bà mẹ và trẻ sơ sinh, NXB Y học, 1-7, 77-80,88-99.

11. Oakley L, Doyle P and Maconochie N (2008). Lifetime prevalence of infertility and infertility treatment in the UK: results from a population-base survey of reproduction. *Human Reproduction*, 23(2), 447-450(4).
12. Safarinejad and Mohammad Reza (2008). Infertility among couple in a population-base study in Iran: prevalence and associated risk factors. *International Journal of Andrology*, 31, 3, 303- 314(12).
13. Bovin J, Bunting L, Collins JA et al (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*, 22, 506-1512.
14. Willem Ombelet, Ian Cooke, Silke Dyer, et al (2008). Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Human Reproduction Vpdcite*, 14, 6, 605-621.
15. Kechebelu JI, Adinma JI, Orie EF et al (2003). High prevalence of male infertility in south-eastern Nigeria. *J Obstet Gynaecol*, 23, 657-659.
16. Karl Nygren and Fernando Zegers-Hochschild (2008). Documentation of infertility prevalence, treatment access and treatment outcomes in developing countries. ESHRE Monogr. *Human reproduction*, 1, 5-7.
17. Vahidi S, Ardalan A and Mohammad K (2009). Prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran in 2004-2005. *Asia Pac J Public Health*. 21, 287-93.
18. Wilkes S, Chinn DJ, Murdoch A et al (2009). Epidemiology and management of infertility: a population-based study in UK primary care. *Fam Pract*. 26(4):269-74.
19. Nguyễn Viết Tiến, Ngô Văn Toàn và Ngô Thị Ngọc Phụng (2012). Dịch tễ học vô sinh và các phương pháp điều trị. *Nhà xuất bản Y học*.
20. Nguyễn Khắc Liêu, Nguyễn Thành Khiêm và Phạm Mỹ Hoài (2003). Nghiên cứu tìm hiểu nguyên nhân vô sinh điều trị tại Viện Bảo vệ Bà mẹ và trẻ sơ sinh. *Hội nghị khoa học*, Trường Đại học Y Hà Nội tháng 3/1998.

21. Nguyễn Thành Như, Nguyễn Ngọc Tiến, Phạm Hữu Dương và cộng sự (2001). Tình hình chẩn đoán và điều trị hiếm muộn nam tại Bệnh viện Bình dân từ tháng 9/1999 đến tháng 12/2000. *Các vấn đề mới trong lĩnh vực sản phụ khoa, hội thảo Việt Pháp 2001*. Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh.
22. Văn Thị Kim Huệ (2002). Tìm hiểu một số nguyên nhân và yếu tố ảnh hưởng đến vô sinh tại bệnh viện đa khoa trung ương Huế, *Nội san Sản Phụ khoa năm 2002*, 103-104.
23. Bondil P, Costa P, Daures JP, et al (1992). Clinical study of the longitudinal deformation of the flaccid penis and of its variations with aging. *Eur Urol*; 21(4), 284-286.
24. Phạm Phan Định, Trịnh Bình và Đỗ Kính (1998). Hệ sinh dục nam. *Mô học*, Nhà xuất bản Y học, 376-398.
25. Kandeel F, Swerdloff R and Pryor J (2007). Anatomy of the Male reproductive Tract. Male Reproductive Dysfunction, Pathology and Treatment. *Informa Healthcare*, 9-20.
26. Clavert A, Cranz CI, Tardieu J et al (1995). Epididymis and Genital Infection. *Ares Sero Symposia Publications*.
27. Hồ Mạnh Tường (2006). Vô sinh nam. *Lý thuyết Nam khoa cơ bản*, Thành phố Hồ Chí Minh, Nhà xuất bản Y học, 73 – 81.
28. Mortimer D (1994). Practical Laboratory Andrology. *Sperm physiology*, 13-40.
29. Rajasingam S and Jeyendran (2003). Spermatogenesis. *Sperm Collection and Processing Methods*, Cambridge University Press, 4-5.
30. Rijnders PM (1996). The spermatozoon. *IVF lab – Laboratory aspects of in vitro fertilization*, The Netherlands, Organon, 23-40.
31. Phạm Thị Minh Đức (2001). Sinh lý sinh sản nam, Sinh lý học, Nhà xuất bản Y học, 119-134.

32. Dohle G.R (2006). Azoospermia, Andrology for the Clinician. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 81-84.
33. Đặng Quang Vinh (2002). Không tinh trùng: phân loại và điều trị. *Tạp chí Thông tin Y Dược* 9:13-17.
34. Soko RZ (2009). Endocrinology of male infertility: Evaluation and treatment. *Semin Reprod Med*,27,149-158.
35. Luciano AA (1999). Clinical presentation of hyperprolactinemia. *J Reprod Med*,44,1085-1090.
36. De Rosa M, Zarrilli S, Di Sanrno A, et al (2003). Hyperprolactinemia in men. Clinical and biochemical features and respose to treatment. *Endocrine*,20,75-82.
37. Jarow JP (2007). Diagnostic approach to the infertile male patient. *Endocrinol Metab Clin North Am*,36,297-311.
38. Pettersson A, Richiardi L, Nordenskjold A, et al (2007). Age at surgery for undescended testis and risk of testicular cancer. *N Engl J Med*,3,356(18),1835-1841.
39. Pryor JP (1992). Indications for vasovesiculography and testicular biopsy. *Diagnosing Male Infertility: New Possibilities and Limits*, 130-135.
40. Averback P and Wight D.G (1979). Seminiferous tubule hypercurvature. Anewly recognised common syndrome of human male infertility. *Lanceti*,181-183.
41. Hendry W.F, Parslow J.M and Stedronska J.(1983). Exploratory scrototomy in 168 azoospermic males. *British Journal of Urology*,55, 785- 791.
42. Jequier AM (1985). Obstructive azoospermia: a study of 102 patients. *Clin ReprodFertil*,3,27-36.
43. Pierik FH, Vreeburg JT, Stijnen T, et al (1998). Serum inhibin B as a marlcer of spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*, 83,3110-3114.

44. Schoysman R (1990). Vaso-epididymostomy - a survey of techniques and result with considerations of delay of appearance of spermatozoa after surgery. *Acta Eur Fertill*, 121,239-245.
45. Silber SJ (1981). Evolution of microsurgery of the epididymis. *Biology and Pathology*, 8,1 14-122.
46. Thomas AJ Jr (1987). Vasoepididymostomy. *Urol Clin North* 14m,14,527- 538.
47. Schroeder-Printzen I, Luchvig M, Kohn F and Weidner W (2000). Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of a standardized surgical approach. *Hum Reprod*,15,1364-1368.
48. Craft I, Shrivastav P (1994).Treatment of male infertility. *Lancet*, 344, 191-192.
49. Herman Tournaye and Patricio Donoso (2009). Sperm recovery techniques: clinical aspects. Textbook of Assisted Reproductive Technologies. Laboratory and Clinical Perspectives. Third Edition. *Informa healthcare*,657-672.
50. LewinA, Weiss DB, Friedler S, et al (1996). Delivery following intracytoplasmic injection of mature sperm cells recovered by testicular fine needle aspiration in a case of hypergonadotropic azoospermia due to maturation arrest. *Hum Reprod*. 11, 769-771.
51. Cavalcante M. P, Rocha Mde P, Dias M. L, et al. (2008). Interference of age on semen quality. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 30 (11), 561-5.
52. Patrik Stanic, Marijan Tandara, Zdenko Sonicki, et al. (2000). Comparison of protective media and freezing techniques for cryopreservation of human semen. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 91 (1), 65-70.
53. Said T. M, Gaglani A and Agarwal A. (2010). Implication of apoptosis in sperm cryoinjury. *Reprod Biomed Online*, 21 (4), 456-62.

54. Mazur P, Rall WF and Rigopoulos N (1981). Relative contributions of the fraction of unfrozen water and of salt concentration to the survival of slowly frozen human erythrocytes. *Biophysical Journal*, 36 (3), 653-675
55. Roy H Hammerstedt and James K Graham (1992). Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol. *Cryobiology*, 29 (1), 26-38.
56. Chen Y and Liu. R. Z. (2007). Cryopreservation of spermatozoa. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 13 (8), 734-8.
57. Ai Wei Wang, Hua Zhang, Isao Ikemoto, et al. (1997). Reactive oxygen species generation by seminal cells during cryopreservation. *Urology*, 49 (6), 921-925.
58. Esteves S. C, Spaine D. M. and Cedenho A. P. (2007). Effects of pentoxifylline treatment before freezing on motility, viability and acrosome status of poor quality human spermatozoa cryopreserved by the liquid nitrogen vapor method. *Braz J Med Biol Res*, 40 (7), 985-92.
59. Nguyễn Phương Thảo Tiên (2007). Đánh giá chất lượng tinh trùng sau bảo quản lạnh sâu ở những mẫu tinh trùng người đã được lọc rửa, *Luận văn Thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
60. Teraï K, Yoshida K, Yoshiike M, et al. (2010). Association of seminal plasma motility inhibitors/semenogelins with sperm in asthenozoospermia infertile men. *Urologia internationalis*, 85(2), 209-215.
61. Zhiling Li, Qionglin Lin, Rongju Liu, et al. (2010). Protective effects of ascorbate and catalase on human spermatozoa during cryopreservation. *Journal of andrology*, 31 (5), 437-444.
62. Leah Yogev, Sandra E Kleiman, Esther Shabtai, et al. (2010). Long-term cryostorage of sperm in a human sperm bank does not damage progressive motility concentration. *Human reproduction*, 41.

63. Phạm Thị Thu Thủy (2011). Đánh giá chất lượng tinh trùng sau bảo quản lạnh sâu ở những mẫu nhược tinh đã được lọc rửa. *Luận văn Thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
64. J. Auger, N. Sermondade and F. Eustache (2016). Semen quality of 4480 young cancer and systemic disease patients: baseline data and clinical considerations. *Basic Clin Androl*, 26, 3.
65. C. Di Bisceglie, A. Bertagna, E. R. Composto, et al. (2013). Effects of oncological treatments on semen quality in patients with testicular neoplasia or lymphoproliferative disorders. *Asian J Androl*, 15 (3), 425-9.
66. X. W. Nie, Y. Qian, C. Y. Liu, et al. (2010). Semen cryopreservation applied to intrauterine insemination cycles for oligospermia and asthenospermia in infertile men. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 16 (3), 232-5.
67. Verheyen.G et al (2004). Should diagnostic testicular sperm retrieval followed by cryopreservation for later ISCI be the procedure of choice for all patients with non-obstructive azoospermia. *Human Reproduction*, 19, 2822-2830.
68. Weber W Chuang, William W Lin et al (2005). Handling and cryopreservation of testicular sperm. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques*, 2, 309-314.
69. Fischer R, Baukloh.V et al (1996). Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular biopsy. *Human Reproduction*, 11, 2197-2199.
70. Romero J, Remohi J, Minguez Y, et al (1996). Fertilization after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Fertil Steril*, 65, 877-879.
71. Ben-Yosef D, Yogev L, Hauser R et al (1999). Testicular sperm retrieval and cryopreservation prior to initiating ovarian stimulation as the first line approach in patients with non-obstructive azoospermia, *Human Reproduction*, 14, 1794-1801.

72. De Croo và cs (1998). Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa. *Human Reproduction*, 13(7), 1893-1897.
73. Gianpiero D Palermo, Queenie V Neri, Takumi Takeuchi, et al (2009), Intracytoplasmic sperm injection: technical aspects. *Textbook of Assisted Reproductive Technologies. Laboratory and Clinical Perspectives. Third Edition*. In Íbrma healthcare, 171-80.
74. Cohen J, Malter H, Fehilly C, et al (1988). Implantation of embryos after partial opening of oocyte zonal pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet*, 162.
75. Cohen J, Malter H, Wright G, et al (1989). Partial zona dissection of human oocytes when failure of zona pellucida is anticipated. *Hum Reprod*, 4, 435-42.
76. Cohen J, Talanski BE, Malter HM, et al (1991). Microsurgical fertilization and teratozoospermia. *Hum Reprod*, 6, 118—23.
77. Ng SC, Bongso A, Ratnam ss, et al (1988). Pregnancy after transfer sperm under zona. *Lancet*, 2, 790.
78. Palermo G, Joris H, Devoroey p, et al (1992). Induction of acrosome reaction in human spermatozoa used subzonal insemination. *Hum Reprod*, 7, 248-54.
79. Tucker MJ, Bishop FM, Cohen J, et al (1991). Routine application of partial zona dissection for male factor infertility. *Hum Reprod*, 6, 676- 81.
80. Palermo, Joris H, Devoroey P, et al (1992). Pregancies after intracytoplasmic, injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340, 17-18.
81. Van Steirteghem AC, Liu J, Joris H, et al (1993). Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod*, 8, 1055-60.

82. Palermo G, Neri Q, Takumi Takeuchi, et al (2009). Intracytoplasmic sperm injection: Technical aspects. *Textbook of Assisted Reproductive Technologies. Laboratory and Clinical Perspectives*. Third Edition, 171-79.
83. Palermo G, Alikani M, Bertoli M, et al (1996). Oolemma characteristics in relation to survival and fertilization patterns of oocytes treated by ICSI. *Hum Reprod*, 11, 172-6.
84. Hutchon, S., Thornton, S., Hall, J. and Bishop, M. (1998) Frozen-thawed epididymal sperm is effective for intracytoplasmic sperm injection: implications for the urologist. *Br. J. Urol*, 81, 607-611.
85. Nicopoullou JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, et al. (2004). Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 82(3), 691-701.
86. Dafopoulos. K et al (2005). Factors affecting outcome after ICSI with spermatozoa retrieved from cryopreserved testicular tissue in non-obstructive azoospermia, *RBMonline*, 10, 455-460.
87. Tournaye H, Devroey P and Liu J (1994). Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility as a result of congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril*, 61, 1045-1051.
88. Dohle GR, Ramos L, et al (1998). Surgical sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection as treatment of obstructive azoospermia. *Hum Rep*, 13(3) 620-623
89. Goldstein M (2007). Sperm retrieval techniques, surgical management of male infertility and other scrotal disorder. *In Campbells Urology, 8th Ed, Philadelphia, W.B.Saunders*, 11, 2197-2199.
90. Nguyễn Thành Như và cs (2005). Nhân 300 trường hợp trích tinh trùng từ mào tinh và tinh hoàn để thực hiện vi thao tác tiêm tinh trùng vào bào tương trứng. *Y học Việt Nam*, 313, 894-903.

91. Nicopoullos JDM (2004). The results of 154 cycles using surgical retrieved sperm from azoospermic men. *Hum Rep*, 19(3), 579-585.
92. Vương Thị Ngọc Lan, Hồ Mạnh Tường, Nguyễn Thành Như, Đỗ Quang Minh, Đặng Quang Vinh, Phùng Huy Tuấn (2003). Điều trị vô sinh nam không có tinh trùng bằng kỹ thuật hút tinh trùng từ mào tinh và tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. *Y học TP.HCM*, 7, 52-59.
93. Friedler, S., Raziel, A., Soffer, Y. *et al.* (1998) The outcome of intracytoplasmic sperm injection of fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa from patients with obstructive azoospermia—a comparative study. *Hum. Reprod*, 13, 1872–1877.
94. Selahittin Cayan, Douglas Lee and Joseph Conaghan (2001). A comparison of ICSI outcomes with fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa from the same couples. *Hum. Reprod*, 16 (3): 495-499
95. Van Steirteghem, P. Nagy, H. Joris, *et al* (1998). Results of intracytoplasmic sperm injection with ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa, *Hum. Reprod*, 13(1), 134-142.
96. Mansour RT, Fahmy IM, Taha AK, *et al* (2005). Intracytoplasmic Spermatid Injection can result in the delivery of normal offspring. *Journal of Andrology*, 24(5)
97. Imad.M, Giazawi *et al* (1998). Comparison of the fertilizing capability of spermatozoa from ejaculates, epididymal aspirates and testicular biopsy using intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, 13(2), 348-352.
98. Esteves SC and Agarwal A (2013). Reproductive outcomes, including neonatal data, following sperm injection in men with obstructive and nonobstructive azoospermia, *case series and systematic review Clinics*, 68 Suppl 1, 141-50.

99. Yang Yu, Qun Wang, Hongguo Zhang, et al (2017). Relationship of paternal age with outcome of percutaneous epididymal sperm aspiration and testicular sperm aspiration: intracytoplasmic sperm injection with obstructive azoospermia. *Int J Clin Exp Med*, 10(3), 5338-5343.
100. Samir Elhanbly M.D, Moustafa A, El-Sated, et al (2015). Relationship of paternal age with outcome of percutaneous epididymal sperm aspiration-intracytoplasmic sperm injection, in cases of congenital bilateral absence of the vas deferens. *Fertility and Sterility*, 104(3), 602-606.
101. Mathieu C, Ecochart R, Bied V, et al (1995). Cumulative conception rate following intrauterine artificial insemination with husband spermatozoa: influence of husband age. *Hum Reprod*, 10, 1090-1097.
102. Klonoff-Cohen HS and Natarajan L (2004). The effect of advancing paternal age on pregnancy and live birth rates in couples undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Am J Obstet Gynecol*, 191, 507-514.
103. Ford WC, North K, Taylor H, et al (2000). Increasing paternal age is associated with delcouples: evidence for declining fecundity in older men. *The ALSPAC Study Team*, 15(8), 1703-1708.
104. Hédon D, Anahory T, Arnal F (1998). Assisted procreation in infertility and contraception - a textbook for clinical practice Societies. *T.I.F.F. The Parthenon Publishing Group*.
105. French DB, Sabanbgh ES Jr, Goldfarb Jj et al (2009). Does severe teratozoospermia affect blastocyst formation, live birth rate, and other clinical outcome parameters in ICSI cycles?. *Fertil Steril*, 93, 1097-1103
106. Daya S (2002). Gonadotropin releasing hormone agonist for pituitary desensitization in In Vitro Fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *The Cochrane library*, 3.

107. Weissman A, Lurie S, Zalel Y, et al (1996). Human chorionic gonadotropin pharmacokinetics of subcutaneous administration. *Gynecol Endocrinol*, 10(4), 273-6.
108. Vương Thị Ngọc Lan và Lê Văn Điền (2003). Tương quan giữa độ dày niêm mạc tử cung với tỷ lệ có thai lâm sàng bằng thụ tinh trong ống nghiệm. *Vô sinh: một số vấn đề mới*, Nhà xuất bản Y học.
109. Yeung W.S, et al (2009). Frozen – thawed embryo transfer cycles. *Hongkong Med J*, 15(6), 420-6.
110. Efftekhar M, Rahmani E and Pourmasumi S (2014). Evaluation of clinical factors influencing pregnancy rate in frozen embryo transfer. *Iran J Reprod Med*, 12(7), 513-8.
111. Witmyer J (2004). Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med*, 25, 350(13), 1353-6.
112. Lê Thị Phương Lan (2007). Kết quả có thai của chuyển phôi ngày 3. *Hội thảo chuyên đề: kinh nghiệm trong hỗ trợ sinh sản tích lũy và chia sẻ*, 15-25.
113. Kasius A, Smit JG, Torrance HL et al (2014). Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 20(4), 520-41.
114. Vương Thị Ngọc Lan (2002). Liên quan giữa độ dày niêm mạc tử cung qua siêu âm với tỷ lệ có thai lâm sàng bằng thụ tinh trong ống nghiệm. *Tạp chí Phụ sản Việt Nam*, 1(3), 76-83.
115. Hồ Ngọc Anh Vũ, P.D.Toàn và V.T.N.Lan (2017). Ảnh hưởng của độ dày niêm mạc tử cung lên kết quả thai diễn tiến- phân tích hồi cứu trên 8120 chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm. *Hội nghị vô sinh và hỗ trợ sinh sản VI*, 67-69.

116. Fang R, Cal L, Xiong F, Chen J, Yang W, Zhao X (2016). The effect of endometrial thickness on the day of hCG administration on pregnancy outcome in the first fresh IVF/ICSI cycle. *Gynecology and Endocrinology*, 32(6), 473-6.
117. Ma N-Z, Chen L, Dai W, Bu Z-Q, et al (2017). Influence of endometrial thickness on treatment outcomes following in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biol Endocrinol*, 15(1), 5.
118. Yuang X, Saravelos SH, Wang Q, Xu Y, et al (2017). Endometrial thickness as a predictor of pregnancy outcomes in 10787 fresh IVF and ICSI cycles. *Reprod Biomed Online*; 33(2), 197-205.
119. Phạm Đức Dục, Lê Hoàng và Hoàng Minh Phương (2007). Đánh giá chuyển phôi dưới siêu âm trong IVF tại BVPSTW năm 2005. *Hội thảo chuyên đề, kinh nghiệm trong hỗ trợ sinh sản tích lũy và chia sẻ*, 9.
120. Nagy z, Silber s, Liu J, Devroey p, at al (1995). The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod*, 10, 1123-1129.
121. Colpi GM, Colpi EM, Piediferro G, et al (2009). Microsurgical TESE versus conventional TESE for ICSI in non-obstructive azoospermia : a randomized controlled study. *Reprod Biomed Online*, 8(3), 315-9
122. Gregory Garcia, Daniel Chevallier, Michèle Donzeau, et al (2002). *Progrès en Urologie*, 12, 429-436.
123. Lin YH, Huang LW, Seow KM, et al (2004). Intentional cryopreservation of epididymal spermatozoa from percutaneous aspiration for dissociated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 83(8), 745-50.
124. Naru T, Sulaiman MN, Kidwai A, et al. (2008). Intracytoplasmic sperm injection outcome using ejaculated sperm and retrieved sperm in azoospermic men. *Urol J. Spring*, 5(2), 106-10.

125. Wael Jamal, Maria P Ve ´lez, Armand Zini, et al (2012). Surgically retrieved spermatozoa versus ejaculated spermatozoa in modified natural IVF–ICSI cycles. *Reproductive BioMedicine Online*, 25, 242–247.
126. Jason R. Kovac, Kyle J. Lehmann and Marc Anthony Fischer (2014). A single-center study examining the outcomes of percutaneous epididymal sperm aspiration in the treatment of obstructive zoospermia. *Urol Ann*, 6(1), 41-45.
127. Trương Thị Thanh Bình, Lâm Anh Tuấn và Lê Thị Bích Trâm (2012). Kết quả ICSI của các chu kỳ điều trị sử dụng tinh trùng thu nhận từ phẫu thuật tươi và đông lạnh. *Tạp chí Phụ Sản*, 10(4), 71-78.
128. Mai Kim Châu và Vũ Đình Tuấn (2012). Hiệu quả ICSI với tinh trùng tươi và trữ đông được thu nhận từ mào tinh và tinh hoàn tại bệnh viện Hùng Vương. *IVF Expert meeting 8*, 139-142.
129. Nguyễn Thị Liên Hương, Lê Hoàng, Nguyễn Thị Minh, Đặng Thúy Hoàn (2014). So sánh kết quả có thai của tinh trùng tươi và rã đông thu được từ chọc hút mào tinh qua da. *Hội nghị vô sinh toàn quốc*, 105-110.
130. Vũ Nhật Khang, Lê Văn Khánh và Hồ Mạnh Tường (2014). Kết quả tiêm tinh trùng vào bào tương noãn với tinh trùng từ mào tinh trữ lạnh. *Hội nghị vô sinh nam và nam học lần 3*, 89-95.
131. Kee Sang Park, Yoon Kyu Park, Hai Bum Song, et al (2002). A New sperm preparation method for testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection (TESE-ICSI) Cycles: Simple, Effective and Rapid Method. *J Mamm Ova Res*, 19, 110–120.
132. Sukcharoen N, Sithipravei T, Promviengchai, et al (1998). Comparison of the fertilization rate after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using ejaculated sperms, epididymal sperms and testicular sperms. *Journal of the medical Association of Thailand*, 81(8), 565-571.

133. Sukcharoen N, Sithipravei T, Promviengchai, et al (2001). Comparison of the outcome of intracytoplasmic sperm injection using fresh and frozen-thawed epididymal spermatozoa obtained by percutaneous epididymal sperm aspiration. *Journal of the medical Association of Thailand*, 84(1), 331-7.
134. Shibahara H, Hamada Y, Hasegawa A, et al (1999). Correlation between the motility of frozen-thawed epididymal spermatozoa and the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *International Journal of Andrology*, 22(5), 324-328.
135. Pasquale Patrizio (2000). Cryopreservation of epididymal sperm. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 169(1), 11-14.
136. Jas Kalsi, et al (2010). Analysis of the outcome of intracytoplasmic sperm injection using fresh or frozen sperm. *Wiley online library*, 107(7), 1124-1128.
137. Jin L, Jiang LY, Zhu GJ, et al (2006). Comparison between the results of ICSI with fresh and with frozen-thawed sperm obtained by PESA to treat azoospermia. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 12(5), 443-449.
138. Nguyễn Thị Thái Thanh, Lê Minh Tâm và Cao Ngọc Thành (2015). Kết quả nuôi cấy phôi thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng trữ lạnh sau phẫu thuật trích tinh trùng. *Tạp chí Phụ Sản*, tập 14(02), 5, 76-80.
139. Hồ Sỹ Hùng (2014). 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. *Luận văn Tiến sĩ Y học*. Trường Đại học Y Hà Nội.
140. Nguyễn Biên Thùy, Tô Minh Hương (2011). Đánh giá kết quả chọc hút mào tinh hoàn trên bệnh nhân azoospermia tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội (1/2007 – 5/2011). *Những vấn đề mới và các vấn đề tranh luận 2012*, 113-117.

141. Shyh-Chyan Chen, Ju-Ton Hsi eh, Hong-Jeng Yu, et al (2010). Appropriate cut-off value for follicle-stimulating hormone in azoospermia to predict spermatogenesis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8, 108.
142. Seyed Amirmohsen Ziaee, Mohammadreza Ezzatnegad, Mohammadreza Nowroozi, et al (2006). Prediction of successful sperm retrieval in patients with nonobstructive azoospermia. *Urology Journal*, 3(2), 92-96.
143. Yan Jiang, Qinyning Cao, Xiujun Zhao, et al (2013). Percutaneous epididymal sperm aspiration and short time insemination and treatment of men with obstructive azoospermia. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(9), 1175-1179.
144. Hán Mạnh Cường (2010). Đánh giá hiệu quả của phương pháp hỗ trợ phôi thoát màng trong chuyển phôi đông lạnh tại bệnh viện Phụ sản Trung ương. *Luận văn thạc sỹ Y học*. Đại học Y Hà nội.
145. Meschede D, Behre HM, Nieschlag E (1995). Endocrine and spermatological characteristics of 135 patients with bilateral megalotestis. *Andrologia*, 27,207–212.
146. Nguyễn Thành Như (2006). Sơ lược khảo sát thể tích tinh hoàn trung bình của đàn ông Việt Nam trưởng thành. *Hình thái học*. Tập 11, số 2, 2001, 71-74.
147. Nguyễn Thị Diễm Thư, Lê Minh Tâm, Nguyễn Thị Mỹ, Cao Ngọc Thành (2015). Kết quả phẫu thuật trích tinh trùng trong các trường hợp vô tinh. *Tạp chí Phụ sản*, 14(03), 07, 152-156.
148. Goran Westlander, Lars Hamberger, Charles Hanson, et al (1999). Diagnostic epididymal and testicular sperm recovery and genetic aspects in azoospermic men. *Human Reprod*, 14(1), 118-122.

149. Cunningham, G. R. and Huckins, C (1979). Persistence of complete spermatogenesis in the presence of low intra-testicular concentration of testosterone. *Endocrinology*, 105, 177-186.
150. Trịnh Thế Sơn, Quản Hoàng Lâm, Phạm Minh Huệ và cộng sự (2013). Nghiên cứu hình thái cấu trúc tinh trùng ở mào tinh của bệnh nhân vô tinh. *Tạp chí Y dược học Quân sự*, 38, 4, 39-41.
151. Dohle G.R, Wolf-Bernhard Schill (2006). Azoospermia in Andrology for the clinician, *Andrology* I.3.6, 81-84.
152. Nguyễn Thành Như, Mai Bá Tiến Dũng và Đặng Quang Tuấn (2009). Giá trị tiên lượng của FSH đối với sự sinh tinh trong vô tinh. *Hội nghị Hiếm muộn Toàn quốc lần I*, TP.Hồ Chí Minh, 70-72.
153. Ramasamy R, Schlegel PN (2007). Microdissection testicular sperm extraction: effect of prior biopsy on success of sperm retrieval. *J Urol*, 177(4), 1447-9.
154. Liliana Ramos, AMM Wetzels and JCM Hendriks (2004). Percutaneous epididymal sperm aspiration: adiagnostic tool for the prediction of complete spermatogenesis. *Reproductive BioMedicine Online*, 8,6,657-663
155. Nguyễn Xuân Huy (2004). Nghiên cứu kết quả của thụ tinh trong ống nghiệm tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương năm 2003. *Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ chuyên khoa II*, Trường Đại học Y Hà Nội.
156. Vũ Minh Ngọc (2012). Nghiên cứu hiệu quả của phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm cho-nhận noãn tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương. *Luận văn Tiến sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
157. Turco, D. M. Spaine, R. Fraietta, R, et al (2006). Effect of cryopreservation on fertility rates following ICSI using epididymal spermatozoa. *Endocrinology*, 613, 361-4.

158. Ashok Agarwal, Sushil A, Prabakaran, et al (2006). Cryosurvival of testicular spermatozoa from obstructive azoospermic patients: The Cleveland clinic experience. *Fertility and Sterility*, 86(6),1789-1791.
159. Zsolt P.Nagy, Hubert Joris, Greta Verheyen, et al (1998). Correlation between motility of testicular spermatozoa, testicular histology and the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, 13 (4), 890–895.
160. Kelleher S., Wishart S.M., Liu P.Y. et al. (2001). Long-term outcomes of elective human sperm cryostage, *Hum Reprod*, 16(12), 2632- 9.
161. Joseph Feldschuh et al. (2005), Successful sperm storage for 28 years, *Fertility and Sterility*, 84(4), 1016-1017.
162. Pal S., Varghese A, Agarwal A, et al. (2004), The effect of temperature and the duration of cryopreservation on human sperm chromatin, 82(2).
163. Nguyễn Hữu Nghị (2013). Nghiên cứu ảnh hưởng của thời điểm lấy noãn đến chất lượng noãn và phôi trong thụ tinh trong ống nghiệm tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương. *Luận văn thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
164. Nguyễn Việt Quang (2015). So sánh kết quả thụ tinh trong ống nghiệm giữa hai thời điểm dùng GnRH antagonist trong phác đồ đổi vận. *Luận văn thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
165. Nguyễn Thị Thanh Nhân (2016). Nghiên cứu chất lượng noãn liên quan đến thời gian kích thích buồng trứng trong thụ tinh trong ống nghiệm. *Luận văn thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
166. RF Harrison and BL Sheppard. (1980). A comparative study in methods of cryoprotection for human semen. *Cryobiology*, 17(1), 25-32.
167. CY Lee, CT Lee, CH Wu, et al. (2012). Kruger strict morphology and postthaw progressive motility in cryopreserved human spermatozoa. *Andrologia*, 44 (1), 81-86.

168. X Zhang, Y Zhou, W Xia, et al. (2012). Effect of prefreezing conditions on the progressive motility recovery rate of human frozen spermatozoa. *Andrologia*, 44 (5), 343-348.
169. Lê Ngọc Dung (2017). Nghiên cứu phương pháp tối ưu chuẩn bị tinh trùng bảo quản lạnh sâu những mẫu tinh dịch thiểu tinh. *Luận văn thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
170. World health Organization (2010). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. *Human Reproduction*, 5 edition.
171. M. Counsel, R. Bellinge and P. Burton. (2004). Vitality of oligozoospermic semen samples is improved by both swim-up and density gradient centrifugation before cryopreservation. *J Assist Reprod Genet*, 21 (5), 137-42.
172. C.Buffat, C.Patrat, F.Merlet, et al (2006). ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Human Reprod*, 21(4), 1018-1024.
173. Hamed Youssef, Walaa El Deeb, Osama Shawky, et al (2008). GnRH agonist long protocol versus short protocol in women 40 years or more undergoing ICSI: a multicenter study. *Middle East Fertility Society Journal*, 13(1), 63-66.
174. Ou L, Guo YH, Sun YP and Su YC (2010). Outcomes of ICSI with microamount frozen-thawed sperm obtained by PESA or TESA in the treatment of azoospermia. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 16(4), 328-32.
175. Phạm Như Thảo (2010). Nghiên cứu hiệu quả kích thích buồng trứng của phác đồ dài và phác đồ ngắn trong điều trị vô sinh bằng thụ tinh trong ống nghiệm, *Luận án tiến sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.

176. M O'connell, N McClure and SEM Lewis. (2002). The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Human Reproduction*, 17(3), 704-709.
177. Nicolette Janzen, Marc Goldstein, Peter N, et al (2000). Use of electively cryopreserved microsurgically aspirated epididymal sperm with IVF and intracytoplasmic sperm injection for obstructive azoospermia. *Fertility and Sterility*, 74(4), 696-700.
178. Nguyễn Thị Mỹ Dung (2011). Đánh giá kết quả PESA-ICSI tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương trong 5 năm 2006-2010. *Luận văn thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.
179. U-B Wennerholm, C.Bergh, L.Hamberger, et al (2000). Obstetric outcome of pregnancies following ICSI, classified according to sperm origin and quality. *Human Reproduction*, 15(5),1189-1194.
180. GUO Yi-hong, DONG Rui-na, SU Ying-chun, et al (2013). Follow-up of children born after intracytoplasmic sperm injection with epididymal and testicular spermatozoa. *Chinese Medical Journal*,126(1),2129-2133
181. Amr Abdel Raheem, Giulio Garaffa, Nagla Rushwan , et al (2013). Testicular histopathology as a predictor of a positive sperm retrieval in men with non- obstructive azoospermia. *BJU International*, 111(3), 492-499.
182. Mai Quang Trung (2010). Đánh giá kết quả kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương từ ngày 01/01/2007 đến 31/12/2008. *Luận văn thạc sỹ Y học*. Đại học Y Hà nội.
183. Zorn B, Virant-Klun I, Drobni S et al (2009). Male and female factors that influence ICSI outcome in azoospermia or aspermia. *Reprod Biomed Online*,18(2), 168-76.

184. Marcos Ballester, Emmanuelle Mathieu Argent, Karine Morcei, et al (2012). Cumulative pregnancy rate after ICSI-IVF in patients with colorectal endometriosis: results of a multicentre study. *Human Reprod*, 27(4), 1043-1049.
185. Luis T. Merce, Mara J. Barco, Santiago Bau, et al (2008). Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome. *Fertil Steril*, 89, 111-7.
186. Ulrike Zenke and Ryard J. Chetkowski (2003). Transfer and uterine factors are the major recipient-related determinants of success with donor eggs. *Fertility and Sterility*, 82(4), 850-856.
187. Jing Zhao, Qiong Zhang and Yanping Li (2012). The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 28(10), 1186-90.
188. Shi-Ling Chen, Fang-Rong, Chen Luo, et al (2010). Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8, 30.
189. Cai Q, Wan F, Appleby D, et al (2013). Quality of embryos transferred and progesterone levels are the most important predictors of live birth after fresh embryo transfer: a retrospective cohort study. *J Assist Reprod Genet*. 16, 58-67.
190. Vũ Thị Bích Loan (2008). Đánh giá kết quả chuyển phôi ngày 3 của thụ tinh trong ống nghiệm tại Bệnh viện Phụ sản Trung Ương từ tháng 2/2008 đến tháng 8/2008. *Luận văn Thạc sỹ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội.

191. Laasch C and Puscheck E (2004). Cumulative embryo score, not endometrial thickness, is best for pregnancy prediction in IVF. *J Assist Reprod Genet*, 21, 47-50.
192. Kevin S.Richter, Kathleen R.Bugge, Jason G.Bromer, et al (2006). Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, base on 1294 cycles of in vitro fertilization transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertility and Sterility*, 87(1), 53-59.
193. Ahlam Al-Ghamdi, Serdar Coskun, Saad Al-Hassan, et al (2008). The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6,37, 1477-82.
194. Boda S.G.Kaali, P.Kovacs Sz and Matyas K (2003). The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Human Reproduction*, 18(11), 2337-2341.

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

Số TT	Họ Tên Vợ	Địa Chỉ	Số Hồ Sơ
1	Phan Thị Th	Nam Định	1304/12
2	Nguyễn Thị Minh Th	Hà Nội	1119/11
3	Trần Thị X	Bắc Cạn	2088/12
4	Nguyễn Thị Phương A	Bắc Giang	2080/12
5	Phùng Thị C	Hà Nội	692/12
6	Đỗ Thị S	Nam Định	1393/10
7	Nguyễn Thị N	Hòa Bình	240/13
8	Trịnh Thị Th	Nam Định	484/13
9	Nguyễn Thị Ph	Hà Tĩnh	533/13
10	Nguyễn Thị Phương Th	Hà Nội	169/13
11	Nguyễn Thị Ph	Hà Nội	2102/13
12	Vũ Thị Bích D	Quảng Ninh	142/13
13	Đào Thị Thanh N	Cao Bằng	578/13
14	Nguyễn Thị Ch	Hà Nội	527/13
15	Nguyễn Thị Mai Ph	Thái Nguyên	09/13
16	Lê Thị D	Hà Nội	1161/13
17	Lê Thị Tổ L	Hà Tĩnh	1107/13
18	Phạm Thị S	Hà Nội	353/13
19	Đinh Thị H	Phú Thọ	1088/13
20	Bùi Thị Mai H	Hà Nội	1743/13
21	Đặng Thị L	Nam Định	1205/13
22	Lê Thị Quý D	Hưng Yên	1228/13
23	Lê Thị Hanh L	Hải Dương	170/11
24	Lê Thị Thu H	Hà Tĩnh	1225/12
25	Vũ Thị L	Hải Phòng	710/13
26	Phạm Thị E	Thái Bình	189/13
27	Đoàn Thị Th	Nam Định	196/13
28	Nguyễn Nữ Minh Ch	Phú Thọ	1574/13

29	Lê Thị D	Hà Nội	1290/13
30	Trần Thị Ng	Vĩnh Phúc	1193/13
31	Đàm Hương Tr	Cao Bằng	1595/13
32	Nguyễn Thị H	Vĩnh Phúc	1826/13
33	Bùi Thị Mai H	Hà Nội	1743/13
34	Nguyễn Thị Th	Ninh Bình	1883/13
35	Hoàng Thị L	Bắc Ninh	1979/13
36	Đỗ Thị B	Vĩnh Phúc	2205/13
37	Nguyễn Thị Ng	Điện Biên	2175/13
38	Đồng Thị T	Hà Nội	2467/13
39	Bùi Thị H	Hải Dương	1072/13
40	Tất Thị Ch	Vĩnh Phúc	104/14
41	Dương Thị H	Bắc Ninh	1179/13
42	Hoàng Thị H	Hải Dương	941/13
43	Phạm Thị H	Ninh Bình	1953/13
44	Nguyễn Thị H	Hà Nam	1814/13
45	Trương Thị Kim T	Hà Nội	793/13
46	Dương Thị H	Bắc Giang	149/14
47	Nang T	Sơn La	244/14
48	Cung Thị Thu Ph	Hà Nội	1965/13
49	Nguyễn Thị L	Hải Dương	106/14
50	Ngô Thị Th	Bắc Ninh	2412/13
51	Nguyễn Thị Thy	Bắc Giang	1988/13
52	Trần Thị Th	Hà Nội	193/14
53	Nguyễn Thúy H	Hà Nội	373/14
54	Phan Thị Tr	Nam Định	144/14
55	Bùi Thị Th	Thái Bình	1934/11
56	Trịnh Thị Th	Hà Giang	356/14
57	Ninh Thị Hoài T	Phú Thọ	1189/14
58	Lê Thị Lan A	Hà Nội	988/14

59	Trần Thị Thu H	Phú Thọ	1386/14
60	Trần Thu Tr	Hà Nội	1514/14
61	Đinh Thị T	Hà Nội	1484/14
62	Trần Thị H	Bắc Ninh	1457/14
63	Trần Huyền Th	Hưng Yên	1648/15
64	Dương Kim S	Hà Nội	782/13
65	Bùi Thanh Th	Hải Dương	136/14
66	Hoàng Thị D	Hải Dương	1365/14
67	Nguyễn Thị H	Nam Định	137/14
68	Phạm Vũ Minh Ph	Ninh Bình	1530/14
69	Nguyễn Thị M	Hà Nội	1000/14
70	Trần Thị L	Hà Nam	1318/14
71	Phạm Thị Th	Thanh Hóa	1721/14
72	Nguyễn Trần Ch	Hà Nội	2052/14
73	Nguyễn Thị L	Hải Dương	1766/14
74	Chu Thị H	Hà Tĩnh	1501/14
75	Nguyễn Thị H	Hà Nội	131/14
76	Phạm Thị Bích H	Bắc Ninh	1462/14
77	Đào Thị Th	Hưng Yên	1954/14
78	Đoàn Thị H	Hưng Yên	2388/14
79	Nguyễn Thị Trà M	Thái Nguyên	2154/14
80	Đỗ Thị Ng	Hà Nội	2203/14
81	Trần Thị H	Hòa Bình	2632/14
82	Nguyễn Thị Ng	Hà Nội	1679/14
83	Đào Thị H	Thái Bình	2830/14
84	Trần Thị Phương A	Nam Định	3067/14
85	Chu Thị Đ	Vĩnh Phúc	3075/14
86	Trần Thị Thanh V	Hà Nội	2610/14
87	Đặng Thị Th	Thái Bình	2948/14
88	Mạc Thu Q	Lạng Sơn	128/13

89	Nguyễn Thị Th	Hưng Yên	2372/14
90	Lâm Thị B	Thái Bình	3074/14
91	Bùi Thị H	Hải Dương	1072/13
92	Nguyễn Ngọc Q	Hà Nội	319/15
93	Trần Thị H	Bắc Ninh	1457/14
94	Đỗ Thị Xuân Đ	Hà Nội	324/14
95	Đặng Thị L	Hà Nội	34/15
96	Bùi Minh H	Hà Nội	190/15
97	Lê Thị Thùy Nh	Hải Dương	2908/14
98	Lê Thị Vân A	Hà Nội	2156/13
99	Đỗ Thị Th	Nam Định	2832/14
100	Nguyễn Thị Thanh D	Lào Cai	618/15
101	Nguyễn Xuân Th	Hải Dương	714/15
102	Dương Thị L	Hưng Yên	598/15
103	Bùi Thanh Th	Hải Dương	136/14
104	Vũ Quỳnh H	Hà Nội	1126/11
105	Đỗ Thị H	Hưng Yên	749/15
106	Nguyễn Thị V	Hòa Bình	367/15
107	Nguyễn Thị H	Bắc Ninh	369/15
108	Trần Thị Th	Bắc Ninh	1093/15
109	Phan Thị Anh Ph	Vĩnh Phúc	1122/15
110	Đặng Thị Tuyết L	Hà Nội	300/15
111	Nguyễn Thị D	Bắc Ninh	1049/10
112	Võ Thị Hiến L	Nghệ An	1297/15
113	Nguyễn Thị D	Vĩnh Phúc	1418/15
114	Lê Thị L	Nam Định	1268/15
115	Phạm Thị V	Bắc Ninh	1174/15
116	Nguyễn Thị H	Hải Phòng	1307/15
117	Nguyễn Thị Minh H	Quảng Ninh	1469/15
118	Nguyễn Thị Th	Hà Giang	1714/15

119	Vũ Thị Nh	Phú Thọ	1956/15
120	Trần Thị Thủy H	Hà Nam	1164/15
121	Nguyễn Thị B	Hà Tĩnh	1986/15
122	Nguyễn Thị Thanh N	Hà Nội	1294/15
123	Đỗ Thị Th	Hải Dương	417/15
124	Phạm Phương H	Hà Nội	2385/13
125	Phạm Thị Bích Ng	Hà Nam	1491/15
126	Lê Thị D	Hưng Yên	1899/15
127	Vũ Thị U'	Hưng Yên	1879/15
128	Đào Thị H	Nghệ An	2020/15
129	Vi Thị Ái L	Phú Thọ	1334/15
130	Nguyễn Thị L	Hưng Yên	1143/15
131	Phan Thị Thu Th	Hà Tĩnh	1966/15
132	Chu Thanh H	Hà Tĩnh	954/15
133	Đàm Thị L	Nghệ An	1295/15
134	Vũ Thị Nga Q	Bắc Giang	210/15
135	Lê Thị L	Hưng Yên	2135/15
136	Nguyễn Thị H	Thái Bình	2235/15
137	Nguyễn Thị Mai Ph	Hà Nội	2232/15
138	Nguyễn Thị Thu D	Quảng Bình	1613/15
139	Đỗ Thị Ng	Hải Dương	2160/15
140	Nguyễn Thị X	Hải Dương	2290/15
141	Trần Thị Minh H	Hà Nội	2568/15
142	Nguyễn Thị H	Thái Bình	2186/15
143	Nguyễn Huyền Tr	Hà Nội	1305/15
144	Nguyễn Thị L	Bắc Giang	1965/15
145	Khổng Thị Mai Ph	Hà Nội	2789/15
146	Trần Thị Nh	Hải Phòng	1788/15
147	Lê Lan H	Hà Nội	218/15
148	Ngô Thị Hồng H	Hưng Yên	3243/15

149	Đỗ Thị H	Hưng Yên	2533/15
150	Nguyễn Thị Th	Nghệ An	2865/15
151	Đinh Thị Q	Vĩnh Phúc	3274/15
152	Trần Thị Tr	Sơn La	3292/15
153	Nguyễn Thị H	Hà Nội	2371/15
154	Phan Thị Ng	Hà Nội	3282/15
155	Nguyễn Thị M	Thanh Hóa	3153/15
156	Đoàn Thị H	Thái Bình	3098/15
157	Vũ Thị Th	Ninh Bình	3352/15
158	Nguyễn Thị Ph	Nam Định	1913/15
159	Đồng Ngọc K	Hải Dương	3049/15
160	Đinh Thị H	Hải Phòng	260/15
161	Phạm Thị Ngọc M	Hà Tĩnh	2174A/16
162	Lưu Thị Thanh T	Hà Nội	108/16
163	Nguyễn Thị Th	Bắc Giang	760/16
164	Lê Thị O	Hà Nam	695/16
165	Dương Thị H	Hải Dương	815/16
166	Đỗ Thị Th	Hưng Yên	173/12
167	Nguyễn Thị Ph	Hải Phòng	682/16
168	Nguyễn Thị Tr	Nghệ An	230/15
169	Bùi Thị L	Hưng Yên	563/16
170	Đỗ Hồng Nh	Hưng Yên	582/16
171	Phạm Thị Th	Hà Nội	1240/16
172	Nguyễn Thị D	Quảng Ninh	003/16
173	Dương Thị L	Cao Bằng	1006/16
174	Nguyễn Thị Th	Vĩnh Phúc	1146B/16
175	Vũ Thị Thanh N	Ninh Bình	1310/16
176	Phạm Thị T	Thái Bình	1144/16
177	Phùng Thị Quỳnh N	Vĩnh Phúc	1156/16
178	Cao Thị Thái H	Tuyên Quang	1760/16

179	Trần Thị L	Vĩnh Phúc	1564/16
180	Nguyễn Thị H	Hải Phòng	1322/16
181	Đinh Thị L	Hà Nam	1885/16
182	Nguyễn Thị H	Bắc Ninh	1831/16
183	Đinh Thị Ng	Son La	1929/16
184	Nguyễn Thị T	Thái Bình	1700/16
185	Trần Thị Hoa L	Hà Nội	511/16
186	Lê Thị L	Hải Phòng	2308/16
187	Bùi Thị Ph	Thái Bình	1953/16
188	Trần Thị Ngân	Thái Bình	2019/16
189	Trần Thị N	Hải Dương	2313/16
190	Phạm Thị Thùy D	Hà Nội	2194/16
191	Hà Thị H	Hà Nội	2020/16
192	Nguyễn Thị T	Hà Nội	2501/16
193	Trần Thị Thắm	Nam Định	488/16
194	Nguyễn Thị Bích H	Tuyên Quang	1947/12
195	Nguyễn Thị D	Quảng Ninh	03/16
196	Nguyễn Thị Thu H	Hà Nội	2499/16
197	Phạm Thị Diệu L	Hưng Yên	1357/16

Xác nhận của thầy hướng dẫn

BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG

T/L GIÁM ĐỐC

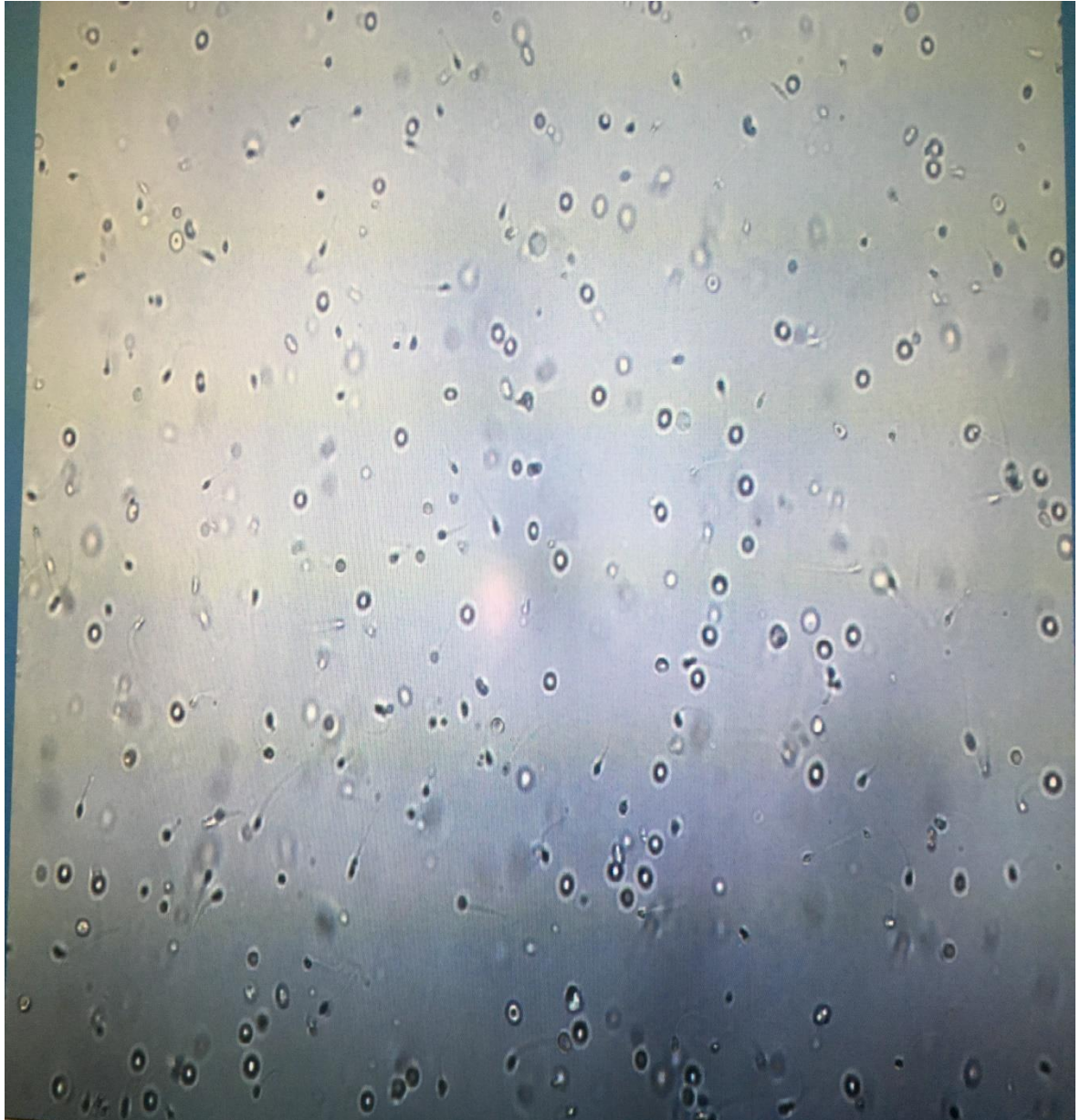
TRƯỞNG PHÒNG NCKH & PTCN

GS.TS. Nguyễn Viết Tiến

Đỗ Quan Hà

PGS.TS. Vũ Văn Tâm

Mẫu chọc hút PESA của bệnh nhân Lê Trung T 1982



Thực hiện kỹ thuật chọc hút tinh trùng từ mào tinh



**Chuyển phôi cho bệnh nhân sau PESA/ICSI sử dụng tinh trùng
đông lạnh**

