

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU PHƯƠNG PHÁP TIÊM TINH TRÙNG TRỮ LẠNH TỪ MÀO TINH VÀO BÀO TƯƠNG NOÃN TRONG ĐIỀU TRỊ VÔ SINH NAM

Vũ Thị Bích Loan¹, Nguyễn Việt Tiến², Vũ Văn Tâm¹

¹Bệnh viện Phụ sản Hải Phòng; ²Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tỷ lệ sống của tinh trùng sau rã đông chọc hút từ mào tinh và hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh thu nhận từ mào tinh vào bào tương noãn. Nghiên cứu tiến cứu can thiệp được thực hiện trên 89 cặp vợ chồng vô sinh được trữ - rã đông tinh trùng chọc hút từ mào tinh trong đó 79 trường hợp có đủ tinh trùng sống thực hiện ICSI chiếm 88,8%, 10 trường hợp tinh trùng chết 100% chiếm 11,2%. 72 trường hợp được chuyển phôi trong đó có 43 trường hợp có thai lâm sàng đạt 59,7%, 7 trường hợp đông phôi toàn bộ do quá kích buồng trứng, tỷ lệ làm tổ đạt 19,2%. Như vậy, bước đầu áp dụng kỹ thuật tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn có hiệu quả và không có khác biệt so với sử dụng tinh trùng tươi chọc hút từ mào tinh cho những bệnh nhân vô sinh do bế tắc.

Từ khóa: tinh trùng đông lạnh từ mào tinh, tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô tinh là tình trạng không có tinh trùng trong tinh dịch khi xuất tinh. Đây được xem là dạng bất thường nặng nhất trong các bất thường của nam giới. Nghiên cứu cho thấy có khoảng 1% dân số và khoảng 10 - 20% bệnh nhân vô sinh nam được chẩn đoán là vô tinh. Nguyên nhân có thể là sự tắc nghẽn đường di chuyển của tinh trùng (vô tinh bế tắc) hoặc sự giảm sinh tinh (vô tinh không bế tắc) [1; 2]. Các nguyên nhân của vô tinh bế tắc thường bao gồm: tiền sử thắt ống dẫn tinh, bất sản ống dẫn tinh, viêm mào tinh hoàn hay một số nguyên nhân hiếm gặp khác như hội chứng Young, tổn thương tinh hoàn

Việc thu tinh trong ống nghiệm sử dụng tinh trùng từ phẫu thuật đã được biết đến trên

thế giới từ năm 1985 khi Temple - Smith [3] và công sự báo cáo trường hợp thu tinh trong ống nghiệm (IVF) thành công đầu tiên với tinh trùng thu nhận từ mào tinh. Tuy nhiên, phương pháp này cho tỷ lệ thành công thấp do chất lượng tinh trùng hút từ mào tinh kém nên thường xảy ra thất bại thu tinh [4, 5]. Với sự ra đời của kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI), tỷ lệ thu tinh và tỷ lệ thai lâm sàng khi sử dụng tinh trùng từ mào tinh đã được cải thiện đáng kể

Với thành công này, một số trung tâm đã sử dụng tinh trùng từ mào tinh trữ lạnh - rã đông. Việc làm này giúp giảm số lần thực hiện phẫu thuật cho nam giới cũng như các biến chứng do phẫu thuật: tổn thương mào tinh, gây mê, áp lực tâm lý cho bệnh nhân và chi phí

Tại Việt Nam, lĩnh vực hỗ trợ sinh sản đang còn non trẻ, các nghiên cứu về tiêm tinh trùng đông lạnh lấy từ mào tinh vào bào tương

Địa chỉ liên hệ: Vũ Thị Bích Loan, Bệnh viện Phụ sản Hải Phòng

Email: vtblcan@yahoo.com

Ngày nhận: 03/12/2014

Ngày được chấp thuận: 18/5/2015

noãn còn mới, số liệu còn ít. Đề tài được tiến hành với mục tiêu:

1. Đánh giá tỷ lệ sống của tinh trùng sau rã đông chọc hút từ mào tinh

2. Đánh giá hiệu quả của phương pháp tiêm tinh trùng đông lạnh thu nhận từ mào tinh vào bào tương noãn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu gồm những bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm tại bệnh viện Phụ sản Trung ương được thực hiện với phương pháp chọc mào tinh và có tinh trùng đông lạnh.

2. Phương pháp: nghiên cứu tiến cứu can thiệp.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

Các cặp vợ chồng vô sinh vì chồng không có tinh trùng do tắc nghẽn, được chọc hút tinh trùng từ mào tinh, nếu có > 1 tinh trùng sống trong vi trường vật kính 10 của kính hiển vi đảo ngược sẽ được tư vấn trữ lạnh và được điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI sử dụng tinh trùng đông lạnh từ mào tinh. Chúng tôi thu được 89 cặp vợ chồng được trữ và rã tinh trùng từ mào tinh, trong đó có 79 cặp được thực hiện kỹ thuật ICSI

Phương pháp

Sau khi mẫu được lấy ra từ mào tinh và đánh giá chất lượng trước đông

Mẫu có tinh trùng sống không lẫn các tế bào khác và các tạp khuẩn thì cân bằng mẫu với môi trường trữ lạnh và đông tinh.

Mẫu có tinh trùng sống nếu lẫn các tế bào khác và tạp khuẩn thì sẽ lọc rửa trước sau đó cân bằng mẫu rồi đông tinh.

Trữ lạnh tinh trùng từ mào tinh: bổ sung chất bảo quản đông lạnh (Sperm Freeze), cho

vào ống trữ lạnh (cryovial) và để ở nhiệt độ phòng 10 phút. Quy trình đông lạnh được thực hiện theo phương pháp đông lạnh thủ công

Rã đông tinh trùng: để mẫu tan tự nhiên ở nhiệt độ phòng 10 - 15 phút. Sau khi mẫu đã rã đông hoàn toàn sẽ được rửa lại với môi trường IVF. Mẫu tinh trùng sau khi chuẩn bị sẽ được nuôi cấy 2 - 6 giờ trước khi sử dụng.

Kích thích buồng trứng được thực hiện với phác đồ GnRH đối vận hay đồng vận, liều đầu FSH được xác định dựa trên tuổi của bệnh nhân, AMH, AFC.. khi có ít nhất 2 nang $\geq 17\text{mm}$, hCG được sử dụng để gây trưởng thành nang noãn. Chọc hút nang được tiến hành 36h sau khi tiêm hCG

Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn noãn sau khi chọc hút được tách bỏ các lớp tế bào hạt xung quanh trước khi được tiêm tinh trùng vào bào tương. Sau khi ICSI, noãn được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy.

Chuyển phôi: phôi được chuyển sau 3 ngày chọc hút noãn. Các phôi tốt còn lại sẽ được đông lạnh để chuyển lần sau.

3. Đạo đức nghiên cứu

Các đối tượng tham gia nghiên cứu đều tự nguyện, đồng ý tham gia nghiên cứu. Danh sách và thông tin bệnh nhân được bảo mật. Được Giám đốc trung tâm Hỗ trợ sinh sản cho phép thực hiện, nghiên cứu theo đề cương đã được phê duyệt

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm của các cặp vợ chồng vô sinh

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện 79 trường hợp tiêm tinh trùng đông lạnh từ mào tinh vào bào tương noãn. Tuổi vợ trung bình là $27,72 \pm 4,58$ và tuổi chồng trung bình là $31,59 \pm 6,92$, thời gian vô sinh trung bình là $4,23 \pm 3,61$ (bảng 1)

Bảng 1. Đặc điểm của các cặp vợ chồng vô sinh

Dặc điểm	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max
Tuổi vợ	27,72 \pm 4,58	20	42
Tuổi chồng	31,59 \pm 6,92	21	70
Thời gian vô sinh	4,23 \pm 3,61	1	18

2. Đặc điểm nội tiết của các cặp vợ chồng vô sinh

Bảng 2. Đặc điểm nội tiết của các cặp vợ chồng vô sinh

Chỉ số	$\bar{X} \pm SD$	
Nồng độ hormon cơ bản vợ	FSH	6 \pm 1,78
	LH	5,31 \pm 3,37
	E ₂	33,89 \pm 1,35
	Prolactin	421,1 \pm 22
Nồng độ hormon cơ bản chồng	FSH	4,6 \pm 2,8
	LH	3,85 \pm 2,24
	Testosteron	18,26 \pm 5,53

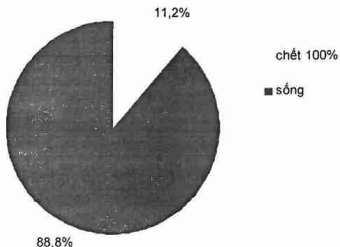
Nồng độ hormon cơ bản của cặp vợ chồng trong ngưỡng giới hạn bình thường

3. Đặc điểm chu kỳ kích thích buồng trứng

Bảng 3. Đặc điểm chu kỳ kích thích buồng trứng

Chỉ số	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max
Tổng liều FSH	1793,4 \pm 694,2	750	3600
Số ngày dùng FSH	9,67 \pm 0,91	8	12
Tổng số noãn	11,34 \pm 5,46	1	29
Tỷ lệ thu tinh	83,59% \pm 16,3%	25%	100%
Tỷ lệ phối tốt	61,19% \pm 33,6%	0	16
Niêm mạc tử cung	11,56 \pm 4,2	6	16
Số phối chuyển	2,91 \pm 0,86	1	4
Số phối đông lạnh	3,58 \pm 3,96	0	16
Tỷ lệ làm tổ	19,2%		

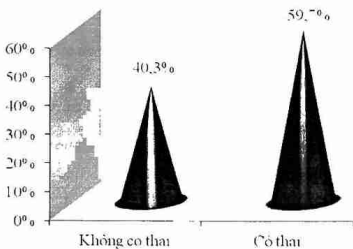
4. Tỷ lệ sống sau rã đông



Biểu đồ 1. Tỷ lệ sống sau rã đông

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 89 trường hợp rã đông tinh trùng chọc hút từ mào tinh, có 10 trường hợp tinh trùng chết 100% chiếm tỷ lệ 11,2%, 79 trường hợp có đủ tinh trùng sống để thực hiện ICSI chiếm 88,8%.

5. Tỷ lệ có thai lâm sàng



Biểu đồ 2. Tỷ lệ có thai lâm sàng

Tổng cộng có 79 trường hợp thực hiện ICSI với tinh trùng trữ lạnh từ mào tinh, có 43 trường hợp có thai lâm sàng chiếm tỷ lệ 59,7%, 29 trường hợp không có thai chiếm tỷ lệ 40,3%, 7 trường hợp đông phôi toàn bộ do quá kích buồng trứng.

IV. BÀN LUẬN

Sự ra đời của phương pháp ICSI đã đem đến cơ hội điều trị vô sinh cho các bệnh nhân vô sinh không có tinh trùng do bế tắc. Đối với các trường hợp này, PESA là phương pháp điều trị được chọn lựa nhiều nhất do đơn giản, dễ thực hiện và khá nhanh chóng. Việc sử dụng tinh trùng thu nhận từ mào tinh đông lạnh - rã đông 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.

Trong nghiên cứu này, tuổi trung bình của người vợ là $27,72 \pm 4,59$, người ít tuổi nhất là 20 tuổi, cao tuổi nhất là 42 tuổi. Ở độ tuổi này dự trữ buồng trứng còn tốt, sẽ thuận lợi khi kiểm tra tế bào trong IVF. Tuổi trung bình của chồng là $31,59 \pm 6,92$ tương tự độ tuổi của cặp vợ chồng được điều trị bằng phương pháp PESA/ICSI tinh trùng tươi trong nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là $28,44 \pm 4$ và $32,37 \pm 5,6$ [6]. Thấp hơn so với độ tuổi của các bệnh nhân trong nghiên cứu của Mai Quang Trung (2010) [7] là $33,1 \pm 4,95$ và $36,8 \pm 4,85$, sự khác biệt này là do bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được khám, chẩn đoán và điều trị sớm hơn. Trên lâm sàng các chỉ số để đánh giá dự trữ buồng trứng bao gồm FSH, LH, E₂, trong nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là $6 \pm 1,78$, $5,31 \pm 3,37$, $33,89 \pm 1,35$, đều trong giới hạn bình thường chứng tỏ đáp ứng buồng trứng tốt. Xét nghiệm nội tiết của người chồng rất quan trọng để tiên đoán kết quả chọc hút được tinh trùng từ mào tinh, chỉ số FSH, LH, Testosterone lần lượt là $4,6 \pm 2,8$, $3,85 \pm 2,24$, $18,26 \pm 5,53$. Kết quả này tương tự nhóm chọc hút được tinh trùng từ mào tinh trong nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là $4,76 \pm 2,7$, $4,69 \pm 2,7$, $19,59 \pm 6,2$ [6].

Chúng tôi tiến hành rã đông 89 trường hợp chọc hút từ mào tinh, trong đó 10 trường hợp tinh trùng chết 100% chiếm tỷ lệ 11,2%, 79 trường hợp đủ tinh trùng sống chiếm tỷ lệ 88,8% để thực hiện kỹ thuật ICSI. Thấp hơn so với nghiên cứu của Friedlet (2002) [8] tỷ lệ tinh trùng sống sau khi rã đông là 98,8% cao hơn so với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là 73,1%. Bước đầu kết quả của chúng tôi cho thấy mẫu tinh trùng chọc hút từ mào tinh có thể trữ lạnh và tỷ lệ sống cao sau khi rã đông đủ để thực hiện ICSI. Hiệu quả của kỹ thuật ICSI thể hiện ở tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi, số phôi tốt, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ làm tổ. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 79 trường hợp đủ tinh trùng thực hiện ICSI, tỷ lệ thụ tinh đạt 83,59% tương tự trong nghiên cứu của Jin (2006) [9], cao hơn so với nghiên cứu của Hồ Sỹ Hùng (2014) là 72,47% và Vũ Nhật Khang (2014) là 71,8% [10]. Tỷ lệ có thai lâm sàng trong nghiên cứu này đạt 59,7%, tỷ lệ làm tổ là 19,2%, tỷ lệ này tương tự như nghiên cứu của Van Steirteghem (1998) [11] và Kovac (2013) là 54,7% và 18,7%, 54,5% [12]. 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 có nguồn gốc 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 thời điểm sau khi lấy mẫu 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. Ngoài ra, khi thực hiện lại PESA để điều trị, bệnh nhân có thể còn ít mô hơn và số lượng tinh trùng giảm đi do ảnh hưởng của lần sinh thiết trước. Do đó, cần xem xét hạn chế việc chẩn đoán sinh tinh bằng giải phẫu bệnh lý, nếu không có nhu cầu thật sự. Trữ lạnh mô tinh hoàn giúp tiết kiệm chi phí, tiết kiệm nguồn mô quý của bệnh nhân, giảm nguy cơ cho bệnh nhân khi phải thực hiện thủ thuật nhiều lần.

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 89 trường hợp rã đông tinh trùng được chọc hút từ mào tinh và 79 cặp vợ chồng được thực hiện ICSI với tinh trùng rã đông, một số kết luận sau được rút ra:

Tỷ lệ tinh trùng sống sau rã đông đạt 88,8%.

- Tỷ lệ có thai lâm sàng là 59,7%, tỷ lệ làm tổ là 19,2%.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn sự đồng ý tham gia nghiên cứu của bệnh nhân, cũng như sự giúp đỡ nhiệt tình của cán bộ, nhân viên trung tâm hỗ trợ sinh sản bệnh viện Phụ sản Trung ương

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Phương Mai, Nguyễn Thị Ngọc Phượng (2002). Hiếm muộn – vô sinh và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. *Nhà xuất bản Y học*, 258 - 269.
2. Jarow JR, Espeland MA, Lipshultz LI (1989). Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol*, 142, 62 - 65.
3. Temple – Smith PD, Southwick GJ, Yates CA et al (1985) Human pregnancy by IVF using sperm aspirated from the epididymis *In vitro Fertil. Embryo transfer*, 2, 119 - 122.
4. Bladou F, Grillo JM, Rossi D et al (1991). Epididymal sperm aspiration in conjunction with in vitro fertilization and embryo transfer in cases with obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 6, 1284 - 1287.
5. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J et al (1994). Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration *Hum Reprod*, 9, 1701 - 1709
6. S.Friedler, A.Raziel, D.Strassburger et al (2002). Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non - obstructive azoospermia a comparative study *Human Reproduction*, 17(12), 3114 - 3121.
7. 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 - 445, 449
8. Vũ Nhật Khang, Lê Văn Khánh, 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 III*, 89 - 95.
9. Van Sterteghem AC, Liu J, Joris H et al (1998). 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 - 1060.
10. Kovac JR, Lehmann K, Fischer MA (2013). A singer-center study examining the outcomes of percutaneous epididymal sperm aspiration in the treatment of obstructive azoospermia *Urol Ann*, 6(1), 41 - 45

Summary

**INITIAL RESULTS OF THE METHOD OF INJECTING FROZEN-
THAWED EPIDIDYMIS SPERM INTO INTRA - CYTOPLASMIN FOR
TREATMENT OF MALE INFERTILITY**

The purpose of this study was to assess the rate of survival of frozen epididymis sperms after being thawed and to evaluate the effectiveness of the method of injecting frozen - thawed epididymis sperm into intra - cytoplasmic Clinical interventional trial. of 89 couples whose epididymis sperm was frozen - thawed, 79 cases had enough survival sperm for ICSI representing approximately 88.8%; there are 10 cases of 100% sperm dead representing approximately 11.2%; in 72 cases whose embryos were transferred, there were 43 clinical pregnancy cases representing approximately 59.7%, 7 cases whose embryos were totally frozen because of ovarian hyper - stimulation syndrome The preliminary results on applying technique of injecting frozen - thawed epididymis sperm into intra - cytoplasm have shown that this method was effective and there were no difference comparing to the method of using fresh epididymis sperm

Keyword: frozen-thawed epididymis sperm, obstructive azoospermia