

So sánh kết quả nuôi cấy phôi sau thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF) và tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) ở bệnh nhân mắc Hội chứng buồng trứng đa nang

Đặng Thị Hồng Nhan^{1*}, Lê Minh Tâm^{1,2}

¹ Trung tâm Nội tiết sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

² Bộ môn Phụ sản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

doi: 10.46755/vjog.2024.1.1681

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Đặng Thị Hồng Nhan; email: dthnhan@hueuni.edu.vn

Nhận bài (received): 20/3/2024 - Chấp nhận đăng (accepted): 10/5/2024

Tóm tắt

Mục tiêu: So sánh chất lượng phôi của các chu kỳ thực hiện kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF) và tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) trên noãn chị em ở bệnh nhân mắc Hội chứng buồng trứng đa nang và có tình trạng bình thường.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Thiết kế nghiên cứu mô tả cắt ngang thực hiện IVF/ICSI trên noãn chị em trên 50 cặp vợ chồng với người vợ mắc Hội chứng buồng trứng đa nang và người chồng có tình trạng bình thường thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm bằng IVF và ICSI. Tế bào noãn chị em được chọn ngẫu nhiên để tiến hành thụ tinh bằng IVF hoặc ICSI thông thường. Nghiên cứu tiến hành đánh giá tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi phân cắt và chất lượng phôi nang ở cả 2 nhóm.

Kết quả: Nhóm thực hiện IVF có tỷ lệ phôi nang và tỷ lệ tạo phôi nang tốt vào ngày 5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thực hiện ICSI ($p = 0,018$ và $p = 0,028$). Số hợp tử, số phôi ngày 2, số phôi tốt ngày 2, số phôi nang ngày 5, số phôi nang tốt ngày 5, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi phân cắt và tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2 giữa 2 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết luận: Tỷ lệ tạo phôi nang chất lượng cao hơn ở nhóm IVF so với nhóm thực hiện ICSI. ICSI không giúp cải thiện kết quả thụ tinh trong ống nghiệm so với IVF ở những bệnh nhân mắc hội chứng buồng trứng đa nang và không do yếu tố nam giới.

Từ khóa: IVF, ICSI, hội chứng buồng trứng đa nang, phôi nang, thụ tinh trong ống nghiệm, vô sinh.

Comparison of embryology outcomes of conventional *in vitro* fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with polycystic ovary syndrome

Dang Thi Hong Nhan^{1*}, Le Minh Tam^{1,2}

¹ Hue Center for Reproductive Endocrinology & Infertility, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

² Department of Obstetrics and Gynecology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Objectives: To compare the outcome of blastocyst development of sibling oocytes randomly inseminated by conventional *in vitro* fertilization (IVF) vs. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with polycystic ovarian syndrome (PCOS) and normozoospermic semen.

Materials and Methods: A distinctive IVF/ICSI sibling oocyte split design study included 50 couples with Polycystic ovary syndrome and normozoospermia undergoing their IVF/ICSI cycle were conducted. Sibling oocytes were randomized to be inseminated either by conventional IVF or ICSI. Fertilization rate, cleavage rate, and embryo quality were examined.

Results: In IVF group, blastocyst rate and good quality blastocyst rate were significantly higher than ICSI group ($p = 0.018$ and $p = 0.028$). There was no significant difference between the IVF group and the ICSI group in the mature oocyte rate, number of zygote, day 2 embryos, high-quality day 2 embryos, day 5 embryos, high-quality day 5 embryos, fertilization rate, cleavage rate and good cleavage rate.

Conclusions: Higher-quality blastulation rate was observed in the IVF group compared to the ICSI group. ICSI did not improve embryo outcomes more than IVF in patients with Polycystic ovary syndrome and non-male factors.

Keywords: IVF, ICSI, Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), blastocyst, *in vitro* fertilization, infertility.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thụ tinh trong ống nghiệm (*In vitro* fertilization - IVF) cổ điển hay truyền thống là kỹ thuật đồng nuôi cấy noãn có lớp cumulus bên ngoài (trưởng thành *in vitro* hoặc *in vivo*) cùng với một lượng tinh trùng di động (phân lập từ tinh dịch) trong khoảng thời gian nhất định. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intracytoplasmic Sperm Injection - ICSI) là kỹ thuật đưa một tinh trùng vào một noãn, bỏ qua tất cả các bước đặc trưng của quá trình thụ tinh tự nhiên. Trong hỗ trợ sinh sản, IVF và ICSI được biết đến là hai kỹ thuật phổ biến để thụ tinh.

Mặc dù IVF có vẻ đơn giản về mặt kỹ thuật nhưng thực ra sự thành công của nó liên quan nhiều đến đặc điểm noãn và tinh trùng. IVF thường kém hiệu quả hơn nhiều khi các giá trị về nồng độ, hình thái, tỷ lệ tinh trùng di động thấp hơn nhiều so với giá trị tiêu chuẩn hay trong các trường hợp mà tỷ lệ thụ tinh trong các chu kỳ trước đó thấp [1],[2]. Nguy cơ thất bại thụ tinh hoàn toàn sau IVF thông thường được ước tính khoảng 12,5% ở các trường hợp vô sinh do yếu tố người vợ, 16,7% các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân và lên đến 50% ở các trường hợp vô sinh do yếu tố liên quan đến tinh trùng của người chồng [3],[4].

Cho đến nay, chưa có một tiêu chuẩn cụ thể nào trong việc lựa chọn bệnh nhân để thực hiện ICSI. Ưu điểm của ICSI là cho dù chất lượng tinh trùng có bất thường ở mức độ nào, chỉ cần có ít nhất một tinh trùng sống thì sự thụ tinh có thể xảy ra, phôi có thể được tạo thành và có thể có thai thành công. Do đó, ICSI được đồng thuận dùng cho các mẫu tinh trùng chất lượng kém. Tuy nhiên, sự phát triển vượt bậc của kỹ thuật ICSI đã dẫn đến việc chỉ định rộng rãi ICSI trong các chu kỳ điều trị [5],[6]. Đã có nhiều nghiên cứu so sánh kết quả của IVF cổ điển và ICSI và hầu hết đều kết luận rằng ICSI vượt trội hơn khi có yếu tố vô sinh nam [7], [8]. Ngoài ra, ICSI cũng cho kết quả tốt hơn trong các trường hợp chỉ định khác như lạc nội mạc tử cung hay vô sinh không rõ nguyên nhân với thông số tinh trùng bình thường. Tuy nhiên, một số báo cáo khác lại chỉ ra rằng ICSI không cải thiện kết quả điều trị so với IVF ở các trường hợp không do vô sinh nam [7],[9],[10]. Các lập luận ủng hộ IVF bao gồm: IVF là quá trình "tự nhiên" hơn, ít xâm lấn, ít phức tạp hơn và ít tốn kém, tổn thương cơ học đối với noãn sau ICSI có thể gây ra tác động bất lợi và làm giảm tỷ lệ thụ tinh [3], [11]. Các ý kiến ủng hộ ICSI bao gồm: ICSI cung cấp thông tin về độ trưởng thành và chất lượng/hình thái của noãn, thực hiện thụ tinh tiêu chuẩn/an toàn (do thất bại thụ tinh IVF một phần hoặc toàn bộ có thể xảy ra với thông số tinh trùng bất thường mà còn đôi khi ở trường hợp tinh trùng "bình thường"). Mặc dù, ICSI không có mối tương quan với tỷ lệ có thai hơn IVF nhưng nó có thể cho kết quả thụ tinh ổn định hơn, tránh thất bại thụ tinh hoàn toàn.

Hội chứng buồng trứng đa nang (HCBTĐN) là tình trạng rối loạn thần kinh - nội tiết - chuyển hóa mang tính

hệ thống, gây ảnh hưởng đáng kể đến 8 - 13% phụ nữ trong độ tuổi sinh sản trên toàn thế giới [12]. Phụ nữ mắc HCBTĐN có nguy cơ cao gặp các vấn đề về sinh sản, vô sinh và các biến chứng khi mang thai cùng một số vấn đề liên quan đến rối loạn chuyển hóa như tình trạng đề kháng insulin, tăng nguy cơ mắc ĐTĐ típ 2, rối loạn lipid máu, tăng huyết áp và bệnh lý tim mạch. Bên cạnh đó, các nghiên cứu cũng cho thấy phụ nữ mắc HCBTĐN có thể gặp các vấn đề về sức khỏe toàn thân như béo phì trung tâm, rụng tóc và các dạng rối loạn tâm lý như trầm cảm, stress và lo âu [13]. Trong các chu kỳ điều trị IVF, mặc dù số lượng noãn thu được lớn hơn nhưng tỷ lệ thụ tinh ở nhóm bệnh nhân mắc HCBTĐN thấp hơn đáng kể so với bệnh nhân mắc các nguyên nhân vô sinh khác [1],[14],[15]. Tỷ lệ thụ tinh thấp hơn có thể là do chất lượng tế bào noãn kém do tình trạng rối loạn nội tiết kéo dài [1],[16]. Để cải thiện tỷ lệ thụ tinh, một số nghiên cứu cho rằng ICSI có thể được áp dụng cho những bệnh nhân vô sinh không do yếu tố nam nhưng thụ tinh trước đó thất bại hoặc tỷ lệ thụ tinh thấp trong các chu kỳ IVF trước đó [17], [18]. Câu hỏi được đặt ra là liệu trong các trường hợp bệnh nhân điều trị vô sinh với người vợ mắc HCBTĐN và không do yếu tố nam giới thì ICSI có thật sự cải thiện tỷ lệ thụ tinh so với IVF cổ điển? Và quy trình IVF với quá trình "tự nhiên" hơn, ít xâm lấn hơn hay quy trình ICSI với việc lựa chọn một tinh trùng duy nhất đưa vào một noãn sẽ cho kết quả thụ tinh, kết quả nuôi cấy phôi tốt hơn?

Mục đích của nghiên cứu này là so sánh kết quả nuôi cấy phôi sau thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF) và Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) trên noãn chị em ở bệnh nhân mắc hội chứng buồng trứng đa nang và có tinh trùng bình thường tại Trung tâm Nội tiết sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên bệnh nhân đến điều trị vô sinh tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế từ tháng 06 năm 2022 đến tháng 09 năm 2023.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Các trường hợp thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm lần đầu

- Người vợ được chẩn đoán mắc HCBTĐN theo tiêu chuẩn Rotterdam 2003

- Người chồng với kết quả tinh dịch đồ có mật độ > 15 triệu tinh trùng/ml, tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới $\geq 32\%$, tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường $\geq 4\%$, việc đánh giá chất lượng tinh trùng được thực hiện dựa trên tiêu chuẩn đánh giá của Tổ chức Y tế Thế giới WHO 2021.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Các trường hợp xin trứng bị loại khỏi nghiên cứu Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y - Dược, Đại học

Huế đã thông qua đề cương nghiên cứu theo giấy chấp thuận số H2020/442 ngày 15 tháng 8 năm 2020.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu thực hiện theo phương pháp mô tả cắt ngang thực hiện IVF/ICSI trên noãn chị em. Cỡ mẫu: thuận tiện n = 50.

2.3. Cách thức tiến hành

Các thông tin hành chính như tuổi, nguyên nhân và thời gian vô sinh. Thực hiện kích thích buồng trứng và thu nhận noãn, xử lý tinh trùng, thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF), tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) và nuôi cấy phôi được thu thập đầy đủ.

Đánh giá các thông số tinh dịch đồ và Đánh giá mức độ đứt gãy DNA tinh trùng

- Thông số tinh dịch đồ: pH, thể tích, mật độ, độ di động, tỷ lệ sống, hình thái được đánh giá theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới WHO (2021) [19].

- Đánh giá mức độ phân mảnh DNA tinh trùng: mẫu tinh dịch được phân tích DNA dựa trên kỹ thuật SCD, được cung cấp bởi Halotech, quy trình thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đánh giá phân mảnh DNA dựa vào quãng halo. Tiêu chí phân loại: (1): tinh trùng có quãng halo lớn: Kích thước quãng halo \geq đường kính ngang của nhân; (2): tinh trùng có quãng halo trung bình: $1/3$ đường kính ngang của nhân $<$ kích thước quãng halo $<$ đường kính ngang của nhân; (3): tinh trùng có quãng halo nhỏ: Kích thước quãng halo $\leq 1/3$ đường kính ngang của nhân; (4): tinh trùng không có quãng halo; (5): tinh trùng thoái hóa: tinh trùng có nhân bắt màu kém, không đều. Tổng số tinh trùng đếm trong mẫu là 500, tiêu bản được quan sát ở kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000 lần. Chỉ số DFI được tính theo công thức:

$$DFI (\%) = \frac{\text{(Tinh trùng có quãng halo nhỏ)} + \text{tinh trùng không có quãng halo} + \text{tinh trùng thoái hóa}}{500} \times 100$$

Kích thích buồng trứng và thu nhận noãn

Người phụ nữ được thích thích buồng trứng với phác đồ antagonist sử dụng hormone kích thích nang noãn tái tổ hợp (recombinant follicle-stimulating hormone - rFSH). Noãn được chọc hút và thu nhận dưới hướng dẫn của siêu âm đường âm đạo sau khi tiêm hCG (human chorionic gonadotropin - hCG) từ 35 - 36 giờ. Ống nghiệm chứa dịch nang noãn ngay lập tức được chuyển sang labo IVF để thực hiện tìm và xử lý noãn.

Xử lý tinh trùng

Tinh trùng được xử lý trước khi IVF/ICSI bằng phương pháp ly tâm thang nồng độ, sử dụng Sil-select Plus™ (với lớp 45% và 90%, Fertipro®, Beernem, Bỉ). Tinh trùng sau khi lọc được rửa lại 2 lần bằng SpermRinse (Vitrolife®, Västra Frölunda, Thụy Điển), cuối cùng, loại bỏ phần phía trên chỉ chứa lại khoảng 0,3 - 0,5 ml cận lắng.

Thực hiện Thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF) và Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI)

Nghiên cứu được thực hiện trên noãn chị em, nghĩa là noãn của cùng một người phụ nữ và được thu hồi trong cùng một chu kỳ chọc hút. Sau quá trình chọc hút, chuyên viên phôi học sẽ lựa chọn ngẫu nhiên các tế bào noãn và chia làm 2 nhóm (1 nhóm thực hiện IVF và một nhóm thực hiện ICSI) với số lượng noãn tương đương nhau trước khi đánh giá hình thái noãn.

Quy trình Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI):

Phức hợp noãn - cumulus (OCC) được thu nhận sau chọc hút được nuôi ủ ở tủ nuôi cấy CO₂. Sau 2 giờ ủ (khoảng từ 37 đến 40 giờ sau khi sử dụng liều tiêm hCG và ngay trước khi cấy thụ tinh), quy trình tách noãn sẽ được thực hiện. Quy trình tách noãn gồm hai bước: bước noãn tiếp xúc với enzyme và sau đó là bước tách cơ học, gây ra sự phá vỡ các liên kết dựa trên hyaluronan xung quanh COC và tách tế bào cumulus khỏi noãn bào bằng pipette có đường kính bên trong nhỏ. Một số lượng COC giới hạn thường được đưa vào giọt đầu tiên có chứa enzyme để phân tán tế bào cumulus. Để tăng cường loại bỏ tế bào cumulus và corona bằng enzyme, việc tách bỏ của tế bào cumulus được thực hiện bằng cách hút nhiều lần các noãn bào qua một pipette thủy tinh trong thời gian tối đa là 30 - 40 giây. Khi tế bào ban đầu được phân rã, noãn bào sẽ được chuyển đến giếng thứ hai chứa môi trường thao tác bằng pipette thủy tinh có đường kính trong khoảng 250 μ m, hạn chế tối đa lượng enzyme được chuyển qua cùng. Sau đó, quá trình tách tiếp tục được thực hiện để loại bỏ các tế bào corona bằng pipette thủy tinh với đường kính bên trong giảm dần (khoảng 145 μ m). Sau tách, cần rửa lại các noãn bào sạch hoàn toàn enzyme, kiểm tra lại noãn bào dưới một kính hiển vi đảo ngược hoặc soi nổi để đánh giá tính toàn vẹn và giai đoạn trưởng thành, noãn MII được đánh giá dựa trên sự biến mất túi mầm và sự hiện diện của thể cực. ICSI chỉ được thực hiện với các noãn MII này.

Noãn sau khi tách sẽ được ủ trong môi trường G-IVF PLUS trong 1 giờ trước khi ICSI ở điều kiện 6,0% CO₂ và 5,0% O₂. Vào thời điểm ICSI, các chuyên viên phôi học sẽ tiến hành lựa chọn và đưa một tinh trùng vào một noãn bằng hệ thống vi thao tác - vi tiêm.

Quy trình Thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF):

Sau khi thu nhận, khối phức hợp tế bào hạt - noãn (COC) được nuôi cấy ở giếng trong của đĩa đồng tâm (đĩa I). Số khối COC được cấy khoảng 4 - 5 COC/đĩa trong 2 giờ. Tinh trùng đã qua xử lý được thêm vào môi trường chứa noãn, có nồng độ tinh trùng di động cuối cùng khoảng 200.000/ml.

Sau 2 giờ ủ, tiến hành load tinh trùng vào giếng chứa COC dưới kính hiển vi soi nổi. Tiến hành đồng nuôi cấy COC và tinh trùng trong 4 - 6 tiếng trong tủ nuôi cấy 6,0% CO₂ và 5,0% O₂.

Sử dụng pipette load có đường kính trong khoảng 250 μ m để chuyển khối COC qua đĩa tách noãn, sau đó tách noãn ra khỏi COC bằng pipette tách. Kỹ thuật tách noãn tương tự như tách noãn cho kỹ thuật ICSI, nhưng

không thực hiện với giọt chứa Hyase, bởi chính enzyme giải phóng trong quá trình xâm nhập của tinh trùng sẽ làm phân rã các lớp tế bào cumulus.

Noãn sau tách được kiểm tra trên kính hiển vi đảo ngược để đánh giá hình thái cũng như ghi nhận sự tổng xuất thể cực thứ hai (nếu có) và tiến hành nuôi cấy.

Nuôi cấy phôi

Các noãn trưởng thành đã ICSI hoặc IVF được nuôi cấy giọt đơn trong môi trường G-TL™ (Vitrolife®, Västra Frölunda, Thụy Điển) có phủ dầu Ovoil (Vitrolife, Västra Frölunda, Thụy Điển) ở 37°C trong tủ nuôi cấy có 6,0% CO₂ và 5,0% O₂. Các phôi được nuôi trong tủ nuôi cấy Benchtop (IVFtech, Birkerød®, Đan Mạch). Phôi được đánh giá hình thái vào các mốc thời gian 16 – 18 giờ, 42 – 44 giờ và 116 – 118 giờ sau thụ tinh theo hướng dẫn phân loại của ALPHA về tiêu chuẩn đánh giá phôi [20]. Các tỷ lệ của quá trình thụ tinh và nuôi cấy phôi được định nghĩa theo các thông số sau: Tỷ lệ thụ tinh là số hợp tử được hình thành (2 tiền nhân hoặc 2 thể cực) chia cho số noãn thực hiện IVF hoặc ICSI. Thụ tinh bất thường được ghi nhận với sự xuất hiện của một hay nhiều tiền nhân. Tỷ lệ thụ tinh bất thường được tính bằng số hợp tử thụ tinh bất thường trên số noãn được ICSI hay IVF.

Phôi ngày 2 là tổng số phôi được nuôi cấy và khảo sát vào thời điểm 42 – 44 giờ sau cấy thụ tinh, tỷ lệ phôi ngày 2 được tính bằng tổng số phôi ngày 2 trên số hợp tử thụ tinh bình thường. Phôi ngày 2 tốt là phôi có 4 tế bào và tỷ lệ mảnh vỡ dưới 10%, tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2 được tính bằng số phôi tốt ngày 2 trên số hợp tử thụ tinh

bình thường. Phôi nang ngày 5 là phôi được nuôi cấy và đánh giá vào thời điểm 120 giờ (5 ngày) sau cấy thụ tinh. Phôi ngày 5 tốt là phôi có kích thước khoang phôi đạt độ 3, khối tế bào nụ phôi và tế bào nuôi phôi đạt theo tiêu chuẩn của David Gardner [21].

Kết cục chính của nghiên cứu là kết quả nuôi cấy phôi nang ngày 5. Kết cục phụ bao gồm tỷ lệ thụ tinh bình thường, tỷ lệ thụ tinh bất thường và kết quả nuôi cấy phôi ngày 2.

Phân tích thống kê

Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm thống kê (SPSS) (IBM Corp., Armonk, NY, USA) phiên bản 23.0. Các biến phân loại được thể hiện bằng số trường hợp và tỷ lệ phần trăm, biến liên tục phân phối chuẩn được thể hiện bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các thuật toán có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

Từ tháng 6/2022 đến tháng 9/2023, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu trên noãn chị em ở 50 chu kỳ điều trị thụ tinh trong ống nghiệm bằng cả 2 kỹ thuật (Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) và Thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển (IVF)). Đặc điểm chung của quần thể nghiên cứu được chỉ ra ở Bảng 1. Trong đó, độ tuổi trung bình của người vợ là $33,16 \pm 4,59$ và tuổi trung bình của người chồng là $36,00 \pm 4,93$. Vô sinh nguyên phát chiếm 60%. Thời gian vô sinh trung bình là $4,22 \pm 1,92$ năm. Nồng độ AMH, LH, FSH, E2, chỉ số khối cơ thể cũng được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm chung của bệnh nhân (n= 50)

Đặc điểm	Trung bình ± độ lệch chuẩn
Tuổi vợ	$33,16 \pm 4,59$
≥ 35 tuổi [n (%)]	13 (26%)
< 35 tuổi [n (%)]	37 (74%)
Tuổi chồng	$36,00 \pm 4,93$
≥ 40 tuổi [n (%)]	9 (18%)
< 40 tuổi [n (%)]	41 (82%)
Loại vô sinh	
Nguyên phát [n (%)]	30 (60%)
Thứ phát [n (%)]	20 (40%)
Thời gian vô sinh (năm)	$4,22 \pm 1,92$
> 3 năm [n (%)]	39 (78%)
≤ 3 năm [n (%)]	11 (22%)
BMI vợ (kg/m ²)	$16,59 \pm 1,92$
AMH (ng/ml)	$6,71 \pm 4,42$
LH (mIU/ml)	$8,59 \pm 4,18$
FSH (mIU/ml)	$5,85 \pm 1,39$
E2 (pg/ml)	$42,89 \pm 19,28$

BMI: body mass index; AMHs: anti-Mullerian hormone; FSH: Follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; E2: estradiol.

Bảng 2. Đặc điểm các thông số tinh trùng (n = 50)

Đặc điểm	Trung bình ± độ lệch chuẩn	Min – Max
pH	7,73 ± 0,37	6,80 - 8,50
Thời gian kiêng quan hệ (ngày)	3,70 ± 0,89	2,00 - 6,00
Thể tích (ml)	3,16 ± 1,37	1,00 - 6,30
Mật độ (x10 ⁶ /ml)	41,92 ± 19,38	16 - 85
Di động tiến tới (PR, %)	33,32 ± 2,66	32 - 46
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	83,90 ± 8,13	43 - 93
Hình thái bình thường (%)	4,40 ± 0,70	4 - 7
DFI (%)	13,45 ± 3,53	4,40 - 19,80
Mật độ tinh trùng sau lọc rửa (x10 ⁶ /ml)	24,04 ± 8,22	12 - 48
Di động tiến tới tinh trùng sau lọc rửa (%)	88,44 ± 3,75	80 - 96

Bảng 2 cho thấy đặc điểm tinh trùng người chồng trong nghiên cứu. Mật độ, tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới, tỷ lệ tinh trùng sống, hình thái bình thường có giá trị trung bình vượt giá trị bình thường theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới WHO (2021). Giá trị trung bình của DFI cũng nằm trong khoảng đánh giá tinh trùng có DNA không đứt gãy.

Bảng 3. Kết quả nuôi cấy phôi khi thực hiện Thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển và Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Đặc điểm	Tổng	IVF	ICSI	Giá trị p
Tổng số noãn MII	1113	547	566	
Số hợp tử	8,39 ± 4,79	8,10 ± 4,49	8,68 ± 5,09	0,547
Số phôi ngày 2	8,18 ± 4,66	7,90 ± 4,36	8,46 ± 4,98	0,551
Số phôi tốt ngày 2	5,20 ± 3,47	5,00 ± 3,36	5,40 ± 3,59	0,567
Số phôi nang ngày 5	5,91 ± 3,77	6,02 ± 3,98	5,80 ± 3,61	0,773
Số phôi nang tốt ngày 5	4,34 ± 3,09	4,50 ± 2,99	4,18 ± 3,21	0,607
Tỷ lệ thụ tinh bình thường	748/1113 (67,21%)	405/547 (74,04%)	434/566 (76,68)	0,818
Tỷ lệ thụ tinh bất thường	34/1113 (3,05%)	28/547 (5,12%)	6/566 (1,06%)	< 0,001
Tỷ lệ tạo phôi ngày 2	818/839 (97,50%)	395/405 (97,53%)	423/434 (97,47%)	0,876
Tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2	520/839 (61,98%)	250/405 (61,73%)	270/434 (62,21%)	0,664
Tỷ lệ phôi nang ngày 5	591/839 (70,44%)	301/405 (74,32%)	290/434 (66,82%)	0,018
Tỷ lệ phôi nang tốt ngày 5	434/839 (51,73%)	225/405 (55,56%)	209/434 (48,16%)	0,028

So sánh kết quả nuôi cấy phôi giữa nhóm thực hiện IVF và nhóm thực hiện ICSI được thể hiện ở Bảng 3. Kết quả cho thấy tỷ lệ tạo phôi nang và tỷ lệ tạo phôi nang tốt vào ngày 5 ở nhóm thực hiện IVF cao hơn đáng kể so với nhóm thực hiện ICSI (p = 0,018 và p=0,028), nhóm thực hiện IVF cũng cho thấy tỷ lệ thụ tinh bất thường cao hơn so với nhóm thực hiện ICSI (p = 0,001). Trong khi đó, các chỉ số như số noãn trưởng thành, số hợp tử, số phôi ngày 2, số phôi nang ngày 5, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 2 cũng như tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm.

4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện nhằm đánh giá kết quả nuôi cấy phôi sau thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển và tiêm tinh trùng vào bào tương noãn ở nhóm phụ nữ mắc HCBTĐN và không do yếu tố tinh trùng. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm thực hiện IVF có tỷ lệ phôi nang và tỷ lệ tạo phôi nang tốt vào ngày 5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thực hiện ICSI. Trong khi đó, số hợp tử, số phôi ngày 2, số phôi tốt ngày 2, số phôi nang ngày 5, số phôi nang tốt ngày 5, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi phân cắt và tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2 giữa 2 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Trong hỗ trợ sinh sản, ICSI được xem là kỹ thuật tiên tiến trong điều trị vô sinh nam, tuy nhiên, xu hướng sử dụng kỹ thuật này cho hầu hết các trường hợp kể cả vô sinh không do yếu tố nam giới cũng tăng lên trong những năm gần đây. Một số nghiên cứu báo cáo rằng tỷ lệ thụ tinh khi thực hiện IVF ở nhóm bệnh nhân mắc HCBTĐN thấp hơn so với nhóm bệnh nhân mắc các nguyên nhân vô sinh khác [1],[14],[15]. Để cải thiện tỷ lệ thụ tinh ở các trường hợp thụ tinh trước đó thất bại hoặc tỷ lệ thụ tinh thấp trong các chu kỳ IVF trước đó, một số nghiên cứu cho rằng có thể áp dụng kỹ thuật ICSI để tăng tỷ lệ thụ tinh [17],[18]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ thụ tinh bình thường giữa hai nhóm IVF và ICSI khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nói cách khác, ICSI không cải thiện tỷ lệ thụ tinh trong các trường hợp mắc HCBTĐN và không do yếu tố nam giới. Tỷ lệ thụ tinh thấp ở nhóm phụ nữ mắc HCBTĐN có thể do tình trạng rối loạn nội tiết kéo dài như tăng nồng độ AMH, LH; đề kháng insulin... ảnh hưởng đến chất lượng và hình thái noãn theo hướng tiêu cực, từ đó ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh [22],[23]. Ngay cả ở những bệnh nhân không mắc PCOS, nồng độ LH tăng cao đã được báo cáo là làm giảm đáng kể tỷ lệ thụ tinh và phôi phân cắt [1].

Tuy nhiên, tỷ lệ thụ tinh bất thường ở nhóm IVF cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thực hiện ICSI ($p < 0,001$). Tỷ lệ này cũng tương đương với nghiên cứu của Papale và cộng sự [24]. Thụ tinh bất thường có thể là hợp tử đơn nhân hay hợp tử có nhiều hơn 2 tiền nhân. Đối với nhóm thực hiện IVF, thụ tinh bất thường chủ yếu là do sự xâm nhập bởi nhiều tinh trùng vào cùng một noãn, tần suất xuất hiện hợp tử 3 tiền nhân sẽ tăng lên khi cấy noãn trong đĩa cấy có mật độ tinh trùng di động nhiều hơn 500.000 tinh trùng/ khối COC/ ml. Trong khi đó, kỹ thuật ICSI thực hiện lựa chọn một tinh trùng để đưa vào thụ tinh với một noãn, do đó, thụ tinh bất thường chủ yếu do sự rối loạn trong quá trình giảm phân của noãn và tinh trùng. Nguyên nhân hợp tử có 3 tiền nhân cũng có thể do sự kết hợp của một nhân tinh trùng với hai nhân của noãn, những noãn này thường bị rối loạn trong quá trình trưởng thành noãn. Noãn tổng xuất thể cực không kèm với sự phân chia bộ nhiễm sắc thể. Do đó, cần tiến hành đánh giá thụ tinh vào đúng thời điểm và quan sát cẩn thận để đánh giá chính xác số tiền nhân hình thành. Thêm vào đó, các trường hợp chưa thể khẳng định chắc chắn chọn kỹ thuật nào để thực hiện thì việc thực hiện đồng thời cả IVF và ICSI cũng sẽ giúp hạn chế chu kỳ không có phôi từ hợp tử bình thường. Plachot và cộng sự cũng kết luận rằng việc thực hiện ICSI trên noãn chị em sẽ hạn chế việc huỷ chuyển phôi nếu xảy ra trường hợp thất bại thụ tinh hoàn toàn khi chỉ thực hiện IVF [25].

Các số liệu về số phôi ngày 2, số phôi tốt ngày 2 cũng như tỷ lệ tạo phôi tốt ngày 2 giữa hai nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả nuôi cấy phôi nang ngày 5 ở nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả nuôi cấy phôi ở một số

trường hợp không giới hạn đối tượng nhóm phụ nữ mắc HCBTĐN [26]. Trong một nghiên cứu khác của chúng tôi, khi tiến hành so sánh chất lượng phôi của nhóm bệnh nhân mắc hội chứng buồng trứng đa nang và nhóm chúng cho thấy tỷ lệ noãn trưởng thành, giai đoạn sớm của phôi biểu hiện về động học và chất lượng phôi phân cắt ở nhóm mắc HCBTĐN không khác biệt có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên, tỷ lệ thụ tinh và khả năng hình thành phôi nang ở nhóm HCBTĐN thấp hơn so với nhóm chúng [27]. Khi so sánh riêng về kết quả giữa nhóm thực hiện IVF và nhóm thực hiện ICSI cho thấy tỷ lệ phôi nang và tỷ lệ tạo thành phôi nang tốt ngày 5 ở nhóm thực hiện IVF cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thực hiện ICSI ($p = 0,018$ và $p = 0,028$).

Những điều này cho thấy kết quả sau cùng của quá trình nuôi cấy phôi ở nhóm IVF tốt hơn so với nhóm thực hiện ICSI. Hay có thể thấy ICSI không cải thiện tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ hình thành phôi cũng như tỷ lệ hình thành phôi nang tốt ở những trường hợp bệnh nhân mắc HCBTĐN và vô sinh không do yếu tố nam giới. Một số nghiên cứu cũng đồng quan điểm trong việc không ủng hộ thực hiện ICSI như một kỹ thuật thường quy kể cả các trường hợp vô sinh không do yếu tố nam. Nghiên cứu của Maryam Eftekhar và cộng sự cho thấy việc sử dụng ICSI thường quy không cải thiện tỷ lệ thụ tinh, làm tổ và mang thai cũng như không được khuyến cáo ở những bệnh nhân vô sinh không do yếu tố nam, bệnh nhân có kết quả xét nghiệm tinh dịch đồ bình thường [25]. Barbara Speyer và cộng sự cũng cho thấy phôi có nguồn gốc từ IVF phát triển đến giai đoạn phôi nang với tốc độ nhanh hơn đáng kể so với phôi có nguồn gốc từ ICSI. Không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ sinh sống giữa 2 kỹ thuật [28].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết kế thực hiện đồng thời IVF và ICSI đối với tế bào noãn chị em để so sánh sự phát triển phôi. Chuyên viên phôi học sẽ lựa chọn ngẫu nhiên các tế bào noãn và chia làm 2 nhóm trước khi đánh giá hình thái noãn, làm giảm sự khác biệt trong việc phân bố noãn. Bên cạnh đó, các cặp vợ chồng được đưa vào nghiên cứu đều có chất lượng tinh trùng tốt và DNA tinh trùng không đứt gãy hoặc đứt gãy nhẹ. Điều này sẽ giúp giảm đáng kể các yếu tố gây nhiễu trong đặc điểm của bệnh nhân có thể ảnh hưởng đến sự phát triển phôi. Đây là một điểm mạnh của nghiên cứu.

Ngoài ra, thời gian đồng nuôi cấy của tinh trùng – noãn có thể thay đổi khác nhau ở mỗi labo. Một số nơi, thời gian đồng nuôi cấy có thể kéo dài 15 – 17 giờ. Việc đồng nuôi cấy kéo dài với mật độ dày đặc của tinh trùng cũng như tinh trùng chết sẽ tạo ra một lượng ROS tác động đến chất lượng phôi sau này. Ngoài ra, một số noãn chưa trưởng thành tại thời điểm cấy ủ nhưng đến thời điểm đánh giá (15 – 17 giờ sau) lại có biểu hiện trưởng thành, điều này sẽ gây sai lệch trong việc đánh giá tỷ lệ thụ tinh. Tại trung tâm Nội tiết sinh sản và Vô sinh, chúng tôi chọn phương án cấy ủ trong thời gian

ngắn (4 – 6 giờ), điều này sẽ giúp giảm khả năng tạo ROS trong môi trường nuôi cấy, thời điểm kiểm tra có thể đánh giá chính xác được noãn đã trưởng thành cũng như noãn chưa trưởng thành để có những phương pháp “giải cứu” phù hợp, hạn chế tối đa sai lệch về kết quả thụ tinh.

Tuy nhiên, nghiên cứu này còn tồn tại một số hạn chế nhất định. Thứ nhất, nghiên cứu chỉ dừng lại ở kết quả nuôi cấy phôi trong labo, chưa có kết quả về tỷ lệ có thai cũng như các kết cục dài hạn hơn phía lâm sàng như tỷ lệ trẻ sinh sống, tỷ lệ trẻ sinh sống cộng dồn, kết cục thai kỳ từ phôi có nguồn gốc IVF hay ICSI. Thứ hai, cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ. Thứ ba, đây là một nghiên cứu đơn trung tâm ở miền Trung Việt Nam, chưa thể đại diện được cho quần thể bệnh nhân mắc HCBDN và có tình trạng bình thường ở Việt Nam. Trong tương lai, có thể triển khai nghiên cứu kết hợp lâm sàng và phòng thí nghiệm trên một cỡ mẫu lớn hơn, đa trung tâm để có thể có kết luận tin cậy hơn.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng đối với các trường hợp người vợ mắc hội chứng buồng trứng đa nang và người chồng có kết quả tinh dịch đồ bình thường thì việc thực hiện ICSI không giúp cải thiện tỷ lệ thụ tinh cũng như tỷ lệ tạo thành phôi nang. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, phôi từ kỹ thuật IVF cho tỷ lệ phôi nang cũng như tỷ lệ phôi nang tốt cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm thực hiện ICSI.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hwang JL, Seow KM, Lin YH, et al. IVF versus ICSI in sibling oocytes from patients with polycystic ovarian syndrome: A randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005;20(5).
2. Mansour RT, Abou-Setta AM, Kamal O. Assisted reproductive technology in Egypt, 2003-2004: Results generated from the Egyptian IVF registry. *Middle East Fertil. Soc. J.* 2011;16(1).
3. Ferraretti AP, Nygren K, Andersen AN, et al. Trends over 15 years in ART in Europe: An analysis of 6 million cycles. *Hum Reprod Open* 2017;2017(2).
4. Hershlag A, Paine T, Kvapil G, Feng H, Napolitano B. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: An insemination method to prevent fertilization failure. *Fertil Steril* 2002;77(2).
5. Boulet SL, Mehta A, Kissin DM, Warner L, Kawwass JF, Jamieson DJ. Trends in use of and reproductive outcomes associated with intracytoplasmic sperm injection. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2015;70(5).
6. Gozlan I, Dor A, Farber B, Meirou D, Feinstein S, Levron J. Comparing intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization in patients with single oocyte retrieval. *Fertil Steril* 2007;87(3).
7. Kim HH, Bundorf MK, Behr B, McCallum SW. Use and

- outcomes of intracytoplasmic sperm injection for non-male factor infertility. *Fertil Steril* 2007;88(3).
8. Bosch E, Espinós JJ, Fabregues F, et al. ALWAYS ICSI? A SWOT analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2020;37(9).
9. Li Z, Wang AY, Bowman M, et al. ICSI does not increase the cumulative live birth rate in non-male factor infertility. *Hum Reprod* 2018;33(7).
10. Sunderam S, Boulet SL, Kawwass JF, Kissin DM. Comparing fertilization rates from intracytoplasmic sperm injection to conventional in vitro fertilization among women of advanced age with non-male factor infertility: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2020;113(2).
11. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, et al. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. *N Engl J Med* 2012;366(19).
12. Teede HJ, Tay CT, Laven JJE, et al. Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2023;108(10).
13. Zhang J, Fan P, Liu H, Bai H, Wang Y, Zhang F. Apolipoprotein A-I and B levels, dyslipidemia and metabolic syndrome in south-west Chinese women with PCOS. *Hum Reprod* 2012;27(8).
14. Doldi N, Marsiglio E, Destefani A, Gessi A, Merati G, Ferrari A. Elevated serum progesterone on the day of HCG administration in IVF is associated with a higher pregnancy rate in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1999;14(3).
15. Balen AH, Morley LC, Misso M, et al. The management of anovulatory infertility in women with polycystic ovary syndrome: An analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance. *Hum Reprod Update* 2016;22(6).
16. Stadtmauer LA, Toma SK, Riehl RM, Talbert LM. Metformin treatment of patients with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilization improves outcomes and is associated with modulation of the insulin-like growth factors. *Fertil Steril* 2001;75(3).
17. Oehninger S, Gosden RG. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? No, not in light of the scientific data. *Hum. Reprod.* 2002;17(9).
18. Mahutte NG, Arici A. Failed fertilization: Is it predictable? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2003;15(3).
19. Organization WH. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [Homepage on the Internet]. 2021; Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>
20. Balaban B, Brison D, Calderón G, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: Proceedings of an expert meeting. In: *Human Reproduction*. 2011;
21. How to Prepare the Egg and Embryo to Maximize IVF Success. 2019;
22. Amiri M, Bidhendi Yarandi R, Nahidi F, Tohidi M,

Ramezani Tehrani F. The relationship between clinical and biochemical characteristics and quality of life in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2019;90(1).

23. Gholinezhad M, Gholsorkhtabaramiri M, Esmailzadeh S, Ghanbarpour A. Insulin resistance and adverse metabolic profile in overweight/obese and normal weight of young women with polycystic ovary syndrome. *Casp J Intern Med* 2018;9(3).

24. Papale L, Fiorentino A, Montag M, Tomasi G. The zygote. *Hum Reprod* 2012;27(SUPPL .1):22–49.

25. Eftekhar M, Mohammadian F, Yousefnejad F, Molaei B, Aflatoonian A. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. *Int J Reprod Biomed* 2012;10(2).

26. Nguyễn TTT, Nguyễn VT, Võ VC, Lê MT. Nghiên cứu chất lượng phôi nang thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng sau trữ lạnh bằng thủy tinh hoá. *Tạp chí Phụ sản* 2023;21(2).

27. Nguyen Van T, Nguyen Thi Thai T, Cao Ngoc T, Minh T Le. BLASTOCYST CULTURE IN IN-VITRO FERTILIZATION IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME. *J Med Pharm* 2021;

28. Speyer B, O'Neill H, Saab W, et al. In assisted reproduction by IVF or ICSI, the rate at which embryos develop to the blastocyst stage is influenced by the fertilization method used: a split IVF/ICSI study. *J Assist Reprod Genet* 2019;36(4).