

HIỆU QUẢ HỖ TRỢ PHÔI THOÁT MÀNG TRONG THỤ TINH ỐNG NGHIỆM

Nguyễn Thị Tâm An, Lê Minh Tâm, Cao Ngọc Thành
Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng cho phôi bằng tia laser ở bệnh nhân chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh trong các chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đây là một nghiên cứu hồi cứu mô tả cắt ngang được tiến hành tại bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế-Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh trong thời gian từ tháng 12 năm 2013 đến tháng 6 năm 2015. Hai trăm bệnh nhân Thụ tinh ống nghiệm có chỉ định thực hiện hỗ trợ phôi thoát màng được phân bố ngẫu nhiên vào nhóm sử dụng phương pháp làm mỏng màng bằng tia laser (nhóm làm mỏng) hoặc không thực hiện làm mỏng màng trước khi chuyển phôi (nhóm chứng).

Kết quả: Tổng cộng 220 chu kỳ với 986 phôi có tỷ lệ sống 91,2% (899 phôi) trong đó phôi loại G1 chiếm 54,7%, G2 chiếm 23,3% và tiến hành LAH trước khi chuyển phôi. Tỷ lệ có thai hóa sinh và có thai lâm sàng có hiệu quả cao hơn ở nhóm làm mỏng so với nhóm chứng trên cả hai chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi trữ. Tỷ lệ có thai lâm sàng trên chu kỳ chuyển phôi tươi là 40,9% so với 30,9%, có thai diễn tiến là 37,2% so với 27,2% ở nhóm làm mỏng so với nhóm chứng. Ở chu kỳ chuyển phôi rã đông có tỷ lệ thai lâm sàng và thai diễn tiến cao hơn tương ứng ở hai nhóm làm mỏng và nhóm chứng là 34,5% và 18,1%; 30,9% và 16,3%.

Kết luận: Kỹ thuật hỗ trợ thoát màng cho phôi bằng tia laser có hiệu quả trên các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh.

1. Đặt vấn đề

Phôi người sau khi hình thành từ quá trình thụ tinh sẽ được bao quanh bởi một lớp màng cấu tạo từ các phức hợp glycoproteins, màng zona pellucida (ZP). Chức năng chính của màng ZP là ngăn ngừa hiện tượng đa thụ tinh, bảo vệ phôi trong những giai đoạn đầu phát triển và giúp các phôi bào không rời ra và áp sát nhau trong quá trình phôi nang. Tuy nhiên để có

Abstract

Objective: To assess the effectiveness of laser assisted hatching technique (LAH) in fresh and frozen embryo transfer cycles of in-vitro fertilization.

Subject and methods: This is a cross-sectional descriptive retrospective study was conducted in Hue University Hospital of Medicine and Pharmacy at centre for Reproductive Endocrinology and Infertility in the period from December 2013 to June 2015. Two hundred patients who had indicated in-vitro fertilization were divided random into two groups using the method of thinning laser hatching (thinning group) or had no laser hatching (control group).

Results: A total of 220 transfer cycles with 986 embryos in which having 899 survival embryos occupying 91,2%. the rate of embryos G1 were 54,7%, embryos G2 was 23,3% and that were enrolled LAH before transferring embryos. The biochemical and clinical pregnancy rate were higher has statistically different when compare between fresh and frozen embryos transfer cycles. The clinical pregnancy rate of fresh embryo transfer cycles was 40,9% in thinning group compared 30,9% with control group, the ongoing pregnancies rate was 37,2% in thinning group compared 27,2% with control group. The patients who transferred the frozen embryo had the clinical pregnancy rate and ongoing pregnancy rate were higher than that when compare with control group respectively 34,5% vs 18,1%; 30,9% vs 16,3%.

Conclusion: The results of this study demonstrated that assisted hatching by zona thinning increase the effectiveness of pregnancy rate in-vitro fertilization.

thể làm tổ, phôi phải thoát khỏi lớp màng bảo vệ này và bám vào niêm mạc tử cung. Hiện tượng này được gọi là thoát màng (hatching) thường xảy ra vào ngày 6-7 sau thụ tinh. Người ta cho rằng đây là kết quả của sự kết hợp giữa sự gia tăng áp suất bên trong của phôi ở giai đoạn phôi nang làm cho màng zona mỏng đi và tác động của các loại enzyme (chủ yếu là lysine) có trong môi trường tử cung và bản thân phôi tiết ra, vì

thể, kỹ thuật hỗ trợ thoát màng sẽ có ích trong việc tăng khả năng làm tổ vào niêm mạc tử cung (Cohen và cs, 1990, 1992; Wellington và cs, 2011), Có ba cơ chế có thể giải thích hiệu quả của hỗ trợ phôi thoát màng: (1) Trong điều kiện nuôi cấy nhân tạo kéo dài hoặc đông lạnh, màng trong suốt bị cứng chắc bất thường hoặc không mỏng đi trong quá trình phôi phát triển, làm cho phôi không thể thoát ra ngoài và bám vào niêm mạc tử cung để làm tổ (Link và cs, 2012). (2) Hỗ trợ phôi thoát màng giúp phôi thoát màng sớm hơn, phù hợp với cửa sổ làm tổ của niêm mạc tử cung sớm hơn 1-2 ngày của chu kỳ kích thích buồng trứng so với chu kỳ tự nhiên (Hanna Balakier và cs, 2012; Ghannadi và cs 2011). (3) Mở màng trong suốt nhân tạo có thể tạo một kênh trao đổi các chất chuyển hóa, các yếu tố tăng trưởng và các tín hiệu dẫn truyền giữa phôi và niêm mạc tử cung (Friedman và cs 2010). Có nhiều phương pháp hỗ trợ phôi thoát màng, có thể làm mỏng hay làm thủng màng trong suốt của phôi bằng cơ học, hóa chất hoặc bằng tia laser. Tuy nhiên, kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser hiện được nhiều trung tâm ưa chuộng vì tính tiện dụng và an toàn của nó. Mặc dù hỗ trợ phôi thoát màng có thể sử dụng rộng rãi cho nhiều trường hợp, nhưng nói chung, kỹ thuật này thường được dùng cho một số chỉ định của bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm [Lanos và cs 2011; Hanna và cs, 2012]. Ngoài ra, còn có một số kỹ thuật hỗ trợ thoát màng khác nhau được áp dụng như thoát màng bằng dung dịch acid tyrode, tách một phần màng ZP và sử dụng laser (Pelinkuntlu, Ozhanatvar, 2010). Mục đích chính của các phương pháp này đều dựa trên nguyên tắc là tạo một lỗ hay là làm mỏng để tạo điều kiện thuận lợi cho sự thoát màng của phôi. Một số nghiên cứu cho thấy sử dụng tia laser dường như là ít xâm lấn và an toàn hơn so với sử dụng dung dịch acid Tyrode (Balaban, 2002; Hsieh Y, 2002). Mặc dù cơ chế sinh hóa chính xác còn chưa được hiểu rõ. Kỹ thuật hỗ trợ thoát màng cho phôi trong thụ tinh ống nghiệm dựa trên giả thuyết việc tạo ra một lỗ nhân tạo trên màng thấu quang (ZP) có thể giúp cho tiến trình thoát màng của phôi dễ dàng hơn. Kỹ thuật này giúp tăng tỷ lệ làm tổ và có thai ở phụ nữ lớn tuổi, ở người thất bại làm tổ liên tiếp và trong các chu kỳ chuyển phôi trữ, các nghiên cứu đã chứng minh rằng hỗ trợ thoát màng nói chung giúp làm tăng tỉ lệ phôi làm tổ và tỉ lệ có thai của TTON (Lanos và cs, 2011). Bên cạnh đó cũng có không ít nghiên cứu cho thấy kỹ thuật này không đem lại hiệu quả (Razi, M. H và cs, 2013; Kutlu và cs, 2010). Nhìn chung, vẫn tồn tại một số vấn đề mà các nghiên cứu trước đây còn chưa đề cập đến hoặc

còn chưa thống nhất. Nghiên cứu này mô tả kết quả chuyển phôi tươi và chuyển phôi rã đông với sự hỗ trợ của kỹ thuật hỗ trợ thoát màng bằng tia laser (LAH), một trong những phương pháp được xem là có tính an toàn cao nhất hiện nay, tất cả các phôi tươi hoặc phôi rã đông ngày 3 được tiến hành chuyển phôi cho bệnh nhân đã được chuẩn bị nội mạc thích hợp. Các nghiên cứu của chúng tôi nhằm mục đích hồi cứu kết quả các chu kỳ chuyển phôi có áp dụng kỹ thuật hỗ trợ thoát màng và so sánh với kết quả của các nghiên cứu khác.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng: Những trường hợp có chỉ định chuyển phôi tươi hoặc chuyển phôi rã đông sau khi thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô Sinh, Bệnh viện Đại học Y Dược Huế trong thời gian từ tháng 12/2013 đến tháng 06/2015. Nghiên cứu theo phương pháp phân tích hồi cứu mô tả cắt ngang tổng cộng có 220 chu kỳ với 532 phôi được chuyển vào buồng tử cung.

Vật liệu nghiên cứu và các bước tiến hành: Thời điểm chuyển phôi: chuyển phôi dưới hướng dẫn của siêu âm đường bụng được tiến hành vào ngày 2, ngày 3 sau khi hút noãn. Chuẩn bị nội mạc tử cung: vào ngày 2 của chu kỳ chuyển phôi người vợ được siêu âm kiểm tra tử cung, buồng trứng và chỉ định phác đồ chuẩn bị nội mạc với estradiol (E2) dạng viên (Cyclo-Progynova, Schering AG, Istanbul, Turkey) liều 2mg x 4 viên/ngày. Theo dõi siêu âm đến khi nội mạc đạt ít nhất 8mm và hình thái 3 đường dạng hạt cà phê thì cho chuyển dạng nội mạc với progesterone (Crinone 8% (progesterone gel) bơm âm đạo 2 ống/ngày). Thời điểm chuyển phôi được tính từ ngày bắt đầu cho progesterone cộng thêm 4 ngày. Sau khi chuyển phôi sử dụng tiếp tục progynova 2mg x 2 viên/ngày và Crinone 8% x 2 ống / ngày trong 2 tuần trước khi kiểm tra beta-hCG. Các phôi được rã vào ngày 3 và được nuôi cấy qua đêm. Đánh giá phôi ngày 3 theo tiêu chuẩn Scott, 2003 gồm phôi độ 1 (G1): phôi 8 tế bào, <10% mảnh vỡ; phôi độ 2 (G2): phôi 8 tế bào, 10-20% mảnh vỡ; phôi độ 3 (G3): phôi 6-7 tế bào, >20% mảnh vỡ, các phôi bào không đều nhau, phôi độ 4 (G4): 4-6 tế bào với trên 20% mảnh vỡ, phôi bào không đều nhau. Phôi trước khi chuyển được đánh giá lại và đạt đến giai đoạn phôi dầu (ngày 4).

Quy trình trữ lạnh và rã đông phôi: Phôi được trữ là phôi ngày 3, có chất lượng tốt (G1 và G2), được trữ lạnh bằng phương pháp thủy tinh hóa. Chúng tôi sử dụng bộ môi trường đông lạnh và rã đông Kitazato, Nhật kết hợp với dụng cụ chứa cryotop

(Kitazato, Nhật). Phôi trữ được cho tiếp xúc với môi trường cân bằng và môi trường thủy tinh hóa trước khi đặt lên cryotop và nhanh chóng nhúng trực tiếp cryotop chứa phôi vào Nitơ lỏng. Thaw-kit (Kitazato, Nhật) được sử dụng cho quy trình rã đông phôi. Tất cả dụng cụ và hóa chất trước khi tiến hành rã đông đều đặt ở nhiệt độ phòng, thực hiện theo hướng dẫn của Kitazato. Những phôi sống được tiến hành AH trước

khi chuyển vào tử cung. Phôi trữ rã được xem như là còn sống với tỷ lệ 50% các phôi bào còn nguyên vẹn, hoặc có ít nhất 3 phôi bào còn sống hay 1 phôi bào đang phân chia sau khi rã (Rienzi, 2002).

Môi trường nuôi cấy phôi sau rã đông: môi trường G-2TM Plus (Vitrolife, Gotheburg, Sweden) được sử dụng cho nuôi cấy phôi rã đông. Phôi ngày 3 được tiến hành nuôi cấy qua đêm.

Hỗ trợ thoát màng cho phôi bằng phương pháp làm mỏng: phôi được chọn đặt trong các giọt môi trường G2 (Vitrolife, Sweden). Sử dụng tia laser từ hệ thống Saturn 5 Active, làm mỏng màng ZP với độ dài 30-40µm và rộng khoảng 50% chiều dày của màng. Sau đó phôi được ngâm trong môi trường Embryo Glue (Vitrolife, Sweden) từ 15-30 phút trước khi chuyển vào buồng tử cung.

Các biến nghiên cứu được khảo sát bao gồm đặc điểm bệnh nhân, đặc điểm phôi tươi và phôi sau rã đông, màng ZP và kết quả chu kỳ chuyển phôi tươi và phôi rã đông.

Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm SPSS 19.0 với độ tin cậy 95% (p > 0,05)

3. Kết quả nghiên cứu

Tổng số 220 trường hợp tham gia vào nghiên cứu với tổng số 986 phôi được chuyển. Các dữ liệu của bệnh nhân và của đặc điểm của phôi khảo sát được tóm tắt ở Bảng 1 và 2.

4. Thảo luận

Kết quả trên 220 chu kỳ chuyển phôi tươi được thực hiện có tỷ lệ phôi làm tổ trên tổng số chu kỳ chuyển phôi là 41,8% và 23,6% lần lượt ở nhóm làm mỏng và nhóm chứng. Tỷ lệ có thai hóa sinh và thai lâm sàng lần lượt là 38,1% và 34,5% ở nhóm làm mỏng cao hơn so với ở nhóm chứng là 20% và 18,1%. Tỷ lệ sẩy thai sớm ở hai nhóm làm mỏng và nhóm chứng là 10,5% và 10%. Tỷ lệ thai diễn tiến ở nhóm làm mỏng cao hơn so với nhóm chứng (30,9% so với 16,3%). Tỷ lệ trẻ sinh đôi ở hai nhóm là 47% và 44,4%. Kết quả chuyển phôi rã đông cũng cho thấy tỷ lệ có làm tổ, có thai hóa sinh và thai lâm sàng cao hơn ở nhóm làm mỏng so với nhóm chứng. Tỷ lệ làm tổ ở nhóm làm mỏng là 22,4% cao hơn so với 16,2% ở nhóm chứng, 43,6% so với 35,4% ở tỷ lệ có thai hóa sinh, 40,9% so với 30,9% ở tỷ lệ có thai lâm sàng và tỷ lệ thai diễn tiến 37,2% so với 27,2% so với nhóm chứng, các số liệu có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

Kết quả này cho thấy sử dụng phương pháp làm mỏng cho phôi bằng tia laser có khả năng cải thiện

hiệu quả có thai trên các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi rã đông. So sánh một số kết quả nghiên cứu của các tác giả khác cho thấy kết quả khi sử dụng kỹ thuật hỗ trợ bằng tia laser cũng có hiệu quả cải thiện đến tỷ lệ có thai. Các nghiên cứu năm 2008,

của Debrock và cộng sự ở những trường hợp phôi trữ không hỗ trợ thoát màng, tỷ lệ làm tổ 15,9% và tỷ lệ có thai 21,1% với p<0,02 hay nghiên cứu của Balaban và cs năm 2006 ghi nhận tỷ lệ làm tổ chỉ 9,9% và tỷ lệ có thai 27,3% với p<0,01. Tương tự kỹ thuật đục lỗ cũng cho tỷ lệ có thai và làm tổ cao hơn nhóm chứng không thực hiện hỗ trợ (Fang Cong và cs, 2010 với tỷ lệ làm tổ 7,4%, tỷ lệ có thai 20,3% với p<0,05). Mặc dù kết quả của chu kỳ điều trị chuyển phôi thụ tinh ống nghiệm do nhiều yếu tố chi phối, thực hiện hỗ trợ thoát màng là một khâu cần thiết để đảm bảo ổn định hiệu quả.

Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng hệ thống Saturn 5 Active, làm mỏng màng ZP bằng tia laser với độ dài 30-40µm và rộng khoảng 50% chiều dày của màng. Sau đó phôi được ngâm trong môi trường Embryo Glue (Vitrolife, Sweden) từ 15-30 phút trước khi chuyển vào buồng tử cung. Ưu điểm của tia laser được tập trung thông qua các mục tiêu xác định và hệ thống tự vận hành theo phần mềm định sẵn một cách dễ dàng, chính xác, hạn chế thời gian phôi ở môi trường ngoài tử cung. Mặc dù một số nghiên cứu cho rằng hỗ trợ thoát màng bằng cách làm mỏng tốt hơn so với đục lỗ (Link, 2012; Kutlu, 2010), tổng quan y văn của Cochrane 2009 kết luận phương pháp làm mỏng hay đục lỗ đem lại hiệu quả tương đương nhau.

Việc hỗ trợ thoát màng là cần thiết trong việc tăng khả năng làm tổ vào niêm mạc tử cung (Cohen, 1990, 1992), đặc biệt là phương pháp sử dụng tia laser (Ozhanatvar, 2010). Trong 220 chu kỳ chuyển phôi với tổng số 986 phôi, tỷ lệ phôi sống chiếm 91,2% (899/ 986). Nghiên cứu chúng tôi ghi nhận kích thước màng ZP trung bình là 16,1 ±0,7µm và chưa thấy khác biệt theo tuổi mẹ. Một số nghiên cứu khác cũng không nhận thấy sự liên quan giữa độ dày màng trong suốt của phôi với tuổi mẹ, nồng độ FSH cơ bản ngày thứ 3 của chu kỳ hay nồng độ E2 ngày tiêm hCG (Balaban, 2002. Hanna Balakier, 2012). Nghiên cứu của Ng. Ernest và cộng sự (2005) có độ dày màng trong suốt trung bình là 18µm, hay của Mauri và cộng sự, 2001 là 17,8±3,1µm, của Pertersen và cộng sự, 2006 là 17,2±2,7µm. Từ nghiên cứu này, chúng tôi có thể ghi nhận độ dày màng ZP mang tính cá thể hơn là yếu tố tuổi mẹ.

Điều kiện cần thiết để phôi làm tổ vào niêm mạc buồng tử cung là hiện tượng thoát ra khỏi màng ZP.

Trữ lạnh phôi là một kỹ thuật không thể thiếu trong hỗ trợ sinh sản. Tuy nhiên tiến trình trữ rã phôi có thể dẫn đến sự cứng lại của màng zona trong các chu kỳ chuyển phôi trữ (Carroll và cs., 1990; Tucker và cs., 1991). Một số nghiên cứu cho rằng mặc dù hầu hết các phân tử có thể vượt qua màng trong suốt, tốc độ vận chuyển có thể liên quan đến cấu trúc màng. Sự vận chuyển hai chiều của các chất chuyển hóa và các yếu tố tăng trưởng trên màng trong suốt có thể thay đổi do kích thước làm mỏng (Hanna Balakier và cs, 2012). Sự thay đổi đó có thể cho phép phôi tiếp xúc với các yếu tố tăng trưởng sớm hơn. Do vậy, AH đã mở ra tuyến đường quan trọng để truyền tải chất dinh dưỡng từ môi trường nuôi cấy đến phôi làm cho phôi tăng cường phát triển (Mandelbaum, 1996). Cấu trúc và độ dày màng ZP là yếu tố bị tác động bởi nhiều yếu tố. Tỷ lệ có thai ở nhóm phụ nữ có ZP trứng mỏng có thể cao hơn ở nhóm phụ nữ có ZP trứng dày (Cohen J, 1991, Garside WT, 1997).

Đặc điểm đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có độ tuổi mẹ trung bình khá cao so với một số nghiên cứu khác (33,7±3,5 tuổi) với thời gian vô sinh trung bình 5,4±0,5 năm và nồng độ FSH cơ bản trung bình 7,1±0,4. Nguyên nhân vô sinh chiếm tỷ lệ cao nhất là do yếu tố chống (45,1%). Dù mong muốn ban đầu là phân tích sự ảnh hưởng của các đặc điểm này đến kết quả điều trị, tuy nhiên do cỡ mẫu nhỏ, việc phân tích thống kê không đánh giá được sự khác biệt có ý nghĩa. Trong tương lai, với cỡ mẫu lớn hơn, chúng tôi mong muốn tìm hiểu thêm về những khác biệt này, đặc biệt là ảnh hưởng đến đặc tính của màng ZP.

5. Kết luận

Qua nghiên cứu 220 chu kỳ với 986 phôi chuyển với tỷ lệ sống 91,2% (899), phôi loại G1 chiếm 54,7%, G2 chiếm 23,3% và tiến hành hỗ trợ thoát màng bằng tia laser (LAH) trước khi chuyển phôi. Tỷ lệ có thai hóa sinh và có thai lâm sàng có hiệu quả cao hơn ở nhóm làm mỏng so với nhóm chứng trên cả hai chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi trữ. Tỷ lệ có thai lâm sàng trên chu kỳ chuyển phôi tươi là 40,9% so với 30,9% , có thai diễn tiến là 37,2% so với 27,2% ở nhóm làm mỏng so với nhóm chứng. Ở chu kỳ chuyển phôi rã đông có tỷ lệ thai lâm sàng và diễn tiến cao hơn tương ứng ở hai nhóm làm mỏng và nhóm chứng là 34,5% và 18,1%; 30,9% và 16,3%. Do các kết quả này tương đương hoặc tốt hơn khi so sánh với các nghiên cứu khác chuyển phôi có hoặc không hỗ trợ thoát màng, chúng tôi đi đến kết luận, LAH tăng hiệu quả có thai trên các chu kỳ chuyển phôi tươi và chuyển phôi đông lạnh trong thụ tinh ống nghiệm.

Bảng 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Kết quả
Tuổi mẹ	33,7±3,5
Thời gian vô sinh trung bình (năm)	5,4±0,5
Nồng độ FSH cơ bản trung bình (mIU/ml)	7,1±0,4
Nguyên nhân vô sinh	
Do chống	99 (45,1%)
Bất thường tử cung - vòi tử cung	57 (26%)
Nguyên nhân phối hợp	55 (25,0%)
Không rõ nguyên nhân	9 (3,9%)

Bảng 2. Đặc điểm kích thước của màng zona pellucida ở các độ tuổi mẹ

Đặc điểm	Kết quả
Số trứng trung bình chọc hút	12,3±0,3
Kích thước màng ZP trung bình (µm)	17,1 ±0,6
Tuổi mẹ dưới 30	16,2 ±2,1
Tuổi mẹ 30 - 40	16,7±2,8
Tuổi mẹ trên 40	15,5±2,9
Số phôi chuyển trung bình	2,2 ±0,5

Bảng 3. Kết quả của chu kỳ chuyển phôi tươi

Đặc điểm	Nhóm làm mỏng (%)	Nhóm chứng (%)	p
Số chu kỳ rã - chuyển phôi	110	110	NS
Tổng số phôi chuyển	231	247	NS
Trung bình số phôi chuyển	2,6±1,6	2,4±1,2	NS
Tỷ lệ phôi làm tổ / số phôi chuyển (%)	46/231 (19,9%)	26/247 (10,5%)	<0,05
Tỷ lệ phôi làm tổ / chu kỳ (%)	46/110 (41,8%)	26/110 (23,6%)	<0,05
Tỷ lệ có thai hóa sinh / chu kỳ (%)	42/110 (38,1%)	22/110 (20%)	<0,05
Tỷ lệ có thai lâm sàng / chu kỳ (%)	38/110 (34,5%)	20/110 (18,1%)	<0,05
Tỷ lệ sẩy thai sớm (%)	4/38 (10,5%)	2/10 (10%)	<0,05
Tỷ lệ thai diễn tiến (%)	34/110 (30,9%)	18/110 (16,3%)	<0,05
Tỷ lệ trẻ sinh đơn (%)	13/34 (38,2%)	10/18 (55,5%)	<0,05
Tỷ lệ trẻ sinh đôi (%)	21/34 (47,0%)	8/18 (44,4%)	<0,05

Bảng 4. Kết quả của chu kỳ chuyển phôi rã đông

Đặc điểm	Nhóm làm mỏng (%)	Nhóm chứng (%)	p
Số chu kỳ rã - chuyển phôi	110	110	NS
Tổng số phôi chuyển	250	258	NS
Trung bình số phôi chuyển	2,2±0,1	2,1±0,3	NS
Tỷ lệ phôi làm tổ / số phôi chuyển (%)	56/250 (22,4%)	42/258 (16,2%)	<0,05
Tỷ lệ phôi làm tổ / chu kỳ (%)	56/110 (50,9%)	42/110 (38,1%)	<0,05
Tỷ lệ có thai hóa sinh / chu kỳ (%)	48/110 (43,6%)	39/110 (35,4%)	<0,05
Tỷ lệ có thai lâm sàng / chu kỳ (%)	45/110 (40,9%)	34/110 (30,9%)	<0,05
Tỷ lệ sẩy thai sớm (%)	4/45 (8,89%)	3/34 (8,82%)	NS
Tỷ lệ thai diễn tiến (%)	41/110 (37,2%)	31/110 (27,2%)	<0,05
Tỷ lệ trẻ sinh đơn (%)	17/41 (41,4%)	3/110 (5,2%)	NS
Tỷ lệ trẻ sinh đôi (%)	24/41 (58,5%)	13/31 (41,9%)	NS

Tài liệu tham khảo

1. Allahbadia, G., et al. (2015). "book - Vitrification in Assisted Reproduction (2015)." Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London:
2. Aston, K. I. and K. E. Weimer (2010). "Micromanipulation of Human Oocytes and Embryos: Applications of Intracytoplasmic Sperm Injection and Assisted Hatching in Infertility Treatment." *Reproductive Endocrinology and Infertility: Integrating Modern Clinical and Laboratory Practice*: 601-612.
3. Bülent Haydardedeoğlu, E. B. K., Tayfun Bağış (2010). "Pregnancy achieved by transfer of thawed day 3 embryos that had been frozen after assisted hatching: a case report." *J Turkish-German Gynecol Assoc* 11: 55-7.
4. Carney, S. K., et al. (2012). "Assisted hatching on assisted conception (in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI))." *Cochrane Database of Systematic Reviews*(12).
5. Eva Johnson et al (2002). Assisted hatching and cryopreservation: Impact on pregnancy rates in frozen embryo transfers. *Fertility and Sterility*. Volume 78, supplement 1, page S127, September 2002.
6. Friedman et al (2010). The effect of laser-assisted hatching on implantation and pregnancy rates of frozen-thawed blastocysts. *Fertility and Sterility*. Volume 94, Issue 4, page S254, September 2010.
7. Friedman, B. E., et al. (2010). "The Effect of Laser-Assisted Hatching on Implantation and Pregnancy Rates of Frozen-Thawed Blastocysts." *Fertil Steril* 94(4): S254-S254.
8. Gabrielsen A, Agerholm I, Toft B, Hald F, Petersen K, Aagaard J, Feldinger B, Lindenberg S and Fedder J (2004) Assisted hatching improves implantation rates on cryopreserved-thawed embryos. A randomized prospective study. *Hum Reprod* 19,2258-2262.
9. Ghannadi, A. and M. Kazerooni (2011). "The effects of laser assisted hatching on pregnancy rates." *Iranian Journal of Reproductive Medicine* Vol.9. No.2: pp: 95-98.
10. Ma, B., et al. (2014). "A study comparing three different laser-assisted hatching techniques." *Clin Exp Obstet Gynecol* 41(1): 37-40.
11. Hirotohi Miyata et al. (2010). Relevance of the site of assisted hatching in thawed human blastocysts: a preliminary report. *Fertility and Sterility*. Volume 94, Issue 6, supplement 1, page S127, November 2010, p.2444-2447.
12. Hanna Balakier et al (2012). Is the zonapellucida thickness of human embryos influenced by woman's age and hormonal levels? *Fertility and Sterility* Volume 98, Issue 1, Pages 77-83, July 2012.
13. Karlstrom PO, Bergh T, Forsberg AS, Sandkvist V, Wikland M (1997) Prognostic factors for the success rate of embryo freezing. *Hum Reprod* 12,1263-1266. 58. Kim, E. K., et al. (2010). "Prospective Randomized Comparison of Vitrified-Thawed Cleavage Embryos on Day Three Using Laser and Enzyme Assisted Hatching." *Fertil Steril* 94(4): S168-S168.
14. Kutlu et al (2010). Laser assisted zona thinning technique has no beneficial effect on the ART outcomes of two different maternal age groups. *J Assist Reprod Genet*. 2010 August; 27 (8): 457-461.
15. Llanos, B. A., et al. (2011). "Relationship between the thickness of the zona pellucida and the effect of Laser Assisted Hatching (LAH) on IVF/ICSI cycles in women older than 38 years." *Human Reproduction* 26: I169-I169.
16. Link et al (2012). Laser-assisted hatching (LAH) of cryopreserved embryos-the significance of hole size. *Fertility and Sterility*. Volume 98, Issue 3, supplement 1, page 79-S80, September 2012.
17. Ng E, Naveed F, Lau R, Yeung WS, Chan CC, Tang OC and Ho PC (2005). A randomized double blind controlled study of the efficacy of laser assisted hatching on implantation and pregnancy rates of frozen-thawed embryo transfer at the cleavage stage. *Hum Reprod* 20,979-985.
18. Razi, M. H., et al. (2013). "Laser assisted zona hatching does not improve live birth rate in patients undergoing their first ICSI cycles." *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 11(12): 1021-1026.
19. Ren, X., Q. Liu, et al. (2013). "Effect of the site of assisted hatching on vitrified-warmed blastocyst transfer cycles: a prospective randomized study." *Assist Reprod Genet* 30(5): 691-697.
20. Wellington P. et al (2011). Assisted hatching of human embryos: A Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trial. *Hum. Reprod.* (2011) 17 (4): 438-453.