

## Kết quả đông lạnh noãn ở bệnh nhân điều trị thụ tinh trong ống nghiệm

Lê Thụy Hồng Khả, Trần Tú Cẩm, Phạm Dương Toàn  
Đơn vị Hỗ trợ sinh sản, Bệnh viện đa khoa Mỹ Đức

doi:10.46755/vjog.2020.1.778

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Lê Thụy Hồng Khả, email: kha.lth@myduchospital.vn  
Nhận bài (received) 05/12/2019 - Chấp nhận đăng (accepted) 20/04/2020

### Tóm tắt

**Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của đông lạnh noãn chủ động bằng phương pháp thụ tinh hóa ở bệnh nhân điều trị thụ tinh trong ống nghiệm.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đây là một nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu được thực hiện đa trung tâm thuộc hệ thống IVFMD từ tháng 6/2017 đến 12/2018 ở bệnh nhân có đông lạnh noãn chủ động. Noãn sau khi rã đông sẽ được nuôi cấy và tiến hành thực hiện tiêm tinh trùng vào bào tương noãn như thường quy. Tỷ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ của phôi là các yếu tố đánh giá hiệu quả trong nghiên cứu.

**Kết quả:** Từ tháng 6/2017 đến tháng 12/2018, chúng tôi đã tiến hành đông lạnh 910 chu kỳ (với 2174 noãn đã được đông lạnh), rã đông 196 trường hợp (với số noãn rã đông là 1305 noãn), trong đó có 91 trường hợp thỏa tiêu chuẩn nhận. Kết quả cho thấy tỉ lệ sống của noãn sau rã đông đạt  $95,59 \pm 13,60\%$ , tỉ lệ thụ tinh  $78,96 \pm 24,88\%$ . Tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ lần lượt là 30,8% và 21,61%.

**Kết luận:** Kết quả nghiên cứu này cho thấy việc đông lạnh noãn có thể trở thành một hướng điều trị, áp dụng cho bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm.

**Từ khóa:** Đông lạnh noãn, thụ tinh hóa.

## The results of in-vitro fertilization with frozen - thaw oocytes

Le Thuy Hong Kha, Tran Tu Cam, Pham Duong Toan  
IVFMD, My Duc General Hospital

### Abstract

**Objectives:** To evaluate the effectiveness of active oocyte cryopreservation at IVFMD.

**Methods:** A retrospective cohort study was done at IVFMD, My Duc Hospital from June 2017 to December 2018. Patients who had active oocyte cryopreservation were recruited into the study. After thawing, oocytes were cultured and performed intracytoplasmic sperm injected subsequently. The primary outcomes were clinical pregnancy rate and implantation rate.

**Results:** A total of 910 cycles with 2174 oocytes were included in the study. Amongst them, 1305 oocytes from 196 cycles have been thawed and 91 patients got the transfer. Survival rate and fertilization rate were  $95.59 \pm 13.60\%$ ,  $78.96 \pm 24.88\%$ , respectively. The clinical pregnancy rate and implantation rate were 30.8% and 21.61%, respectively.

**Conclusions:** The result of this study showed that acceptable pregnancy rate can be achieved in patients using vitrified-thawed oocytes.

**Key words:** oocyte cryopreservation, vitrification

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kể từ khi em bé đầu tiên ra đời từ phương pháp đông lạnh noãn năm 1986 cho đến nay, đông lạnh noãn đã trở thành mối quan tâm hàng đầu của các trung tâm thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON). Theo số liệu báo cáo của HFEA (Human Fertilisation and Embryology Authority)

cho đến năm 2012, khoảng 18.000 noãn đã được lưu trữ riêng cho bệnh nhân, trong đó có 160 chu kỳ đã được rã đông để sử dụng, kết quả có 20 trẻ ra đời. Trong năm 2013, sau kết quả của 4 thử nghiệm ngẫu nhiên có nhóm chứng [1-4], ASRM đã công nhận đông lạnh noãn là một kỹ thuật điều trị (không còn là thử nghiệm) với khả năng

cho tỷ lệ thụ tinh và mang thai tương đương với nhóm trứng tươi [5]. Kết quả này cộng với với các yếu tố về đạo lý và pháp luật ở một số nước đã thúc đẩy chương trình đông lạnh noãn ở các trung tâm IVF trên thế giới, và cũng đã được áp dụng rộng rãi với các chỉ định gồm [5]: Mất chức năng sinh sản ở phụ nữ trẻ do hóa trị/xạ trị hoặc các phẫu thuật ung thư. Các quá trình phẫu thuật làm mất chức năng buồng trứng, điều trị cho bệnh nhân có hội chứng buồng trứng đa nang. Giải quyết các vấn đề về đạo đức và pháp lý liên quan đến đông lạnh phôi ở một số nước. Các trường hợp mãn kinh sớm và mất chức năng buồng trứng. Ngăn ngừa hội chứng quá kích buồng trứng. Bệnh nhân đáp ứng kém với kích thích buồng trứng. Trong trường hợp bệnh nhân khó lấy tinh trùng, mẫu không đủ hoặc tinh trùng chết hoàn toàn vào ngày chọc hút. Ngân hàng noãn cho chương trình cho noãn hoặc cho mục đích nghiên cứu. Đặc biệt đang nổi trội ở xã hội hiện nay là vấn đề đông noãn vì yếu tố xã hội, ngân hàng noãn dành cho phụ nữ trẻ tuổi muốn trì hoãn sinh sản vì nhiều lý do khác nhau.

Hiện nay, phụ nữ có nhiều lý do dẫn đến trì hoãn lập gia đình và sinh con [5]. Điều này có thể dẫn đến thời điểm mang thai quá độ tuổi sinh sản tốt nhất, thậm chí là lớn tuổi, dẫn đến dễ thất bại trong các chu kỳ điều trị. Do đó, chương trình trữ noãn sẽ giúp cho người phụ nữ có nhiều sự lựa chọn hơn trong việc mang thai. Tại Việt Nam, đông lạnh noãn chủ động được thực hiện từ năm 2016, tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có báo cáo nào có số liệu lớn để khẳng định hiệu quả của đông lạnh noãn chủ động. Do đó chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu quả của đông noãn chủ động tại hệ thống IVFMD thông qua tỉ lệ thai lâm sàng và tỉ lệ làm tổ của phôi ở bệnh nhân có thực hiện đông lạnh - rã đông noãn có chuyển phôi tươi.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu được thực hiện đa trung tâm thuộc hệ thống IVFMD từ tháng 6/2017 đến 12/2018 ở bệnh nhân điều trị TTTON có chỉ định rã đông noãn với tiêu chuẩn nhận gồm: Có noãn đông lạnh chủ động, rã đông, thực hiện ICSI. Có chuyển phôi tươi từ noãn đông lạnh và loại các trường hợp trên có bất thường tử cung. Chuyển chung phôi có nguồn gốc từ noãn đông lạnh - rã đông và noãn tươi.

**Quy trình đông lạnh noãn:** Bệnh nhân có chỉ định đông lạnh noãn (do không lấy được tinh trùng vào ngày chọc hút, đông lạnh noãn cộng đồn...) được tiến hành chọc hút 36 giờ sau khi tiêm hCG, nuôi cấy 2 giờ sau đó sẽ được tiến hành tách noãn và đông lạnh bằng phương pháp thủy tinh hóa theo quy trình của Cryotec (Japan).

**Quy trình rã đông:** Noãn được tiến hành rã đông theo quy trình của Cryotec, đánh giá tỉ lệ thoái hóa sau rã đông, tiến hành nuôi cấy trong môi trường GIVF - plus (Vitrolife, Denmark). Sau 2 giờ nuôi cấy, noãn được thực

hiện tiêm tinh trùng vào bào tương noãn và được nuôi cấy trong môi trường G1 - plus, kiểm tra thụ tinh, đánh giá chất lượng phôi ngày 3 như thường quy.

Vào ngày 3, sau khi đánh giá chất lượng phôi, bệnh nhân được tiến hành chuyển phôi. Kết quả được đánh giá thông qua tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ của phôi.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 6/2017 đến tháng 12/2018, chúng tôi đã tiến hành đông lạnh 910 chu kỳ (với 2174 noãn đã được đông lạnh), rã đông 196 trường hợp (với số noãn rã đông là 1305 noãn), trong đó có 91 trường hợp thỏa tiêu chuẩn nhận.

Bảng 1. Đặc điểm nền của các chu kỳ điều trị thu nhận noãn

Thông số	Giá trị
Tuổi vợ (năm)	36,19 ± 4,77
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,17 ± 2,17
AMH (ng/mL)	1,84 ± 5,47
AFC (nang)	8,48 ± 6,54
Thời gian vô sinh (năm)	4,62 ± 3,30
Loại vô sinh, n (%):	
Nguyên phát	145 (74,0)
Thứ phát	51 (26,0)
Số chu kỳ chọc hút (n)	3,09 ± 1,11
Số chu kỳ chọc hút, n (%):	
1	23 (11,7)
2	42 (21,4)
3	25 (12,8)
≥ 4	106 (54,1)

Đặc điểm nền của bệnh nhân trong nghiên cứu không thuộc nhóm có tiên lượng tốt với tuổi bệnh nhân trung bình trong nghiên cứu 36,19 ± 4,77, thời gian vô sinh 4,62 ± 3,30 và số chu kỳ chọc hút 3,09 ± 1,11.

Bảng 2. Kết quả phôi học và thai của chu kỳ điều trị

Thông số	Giá trị
Số noãn rã (noãn)	5,11 ± 2,83
Noãn sống sau rã (noãn)	4,86 ± 2,70
Tỉ lệ noãn sống sau rã (%)	95,59 ± 13,60
Số noãn thụ tinh (noãn)	4,81 ± 4,18
Tỉ lệ thụ tinh (%)	78,96 ± 24,88
Số phôi chuyển (phôi)	1,73 ± 0,60
Niêm mạc tử cung (mm)	9,20 ± 3,08
Tỉ lệ thai lâm sàng (%)	30,8
Tỉ lệ làm tổ của phôi (%)	21,6

Số noãn trung bình chọc hút được trong nghiên cứu là  $5,11 \pm 2,83$ . Như vậy, có thể cho thấy bệnh nhân trong nghiên cứu có bệnh sử giảm dự trữ buồng trứng, đáp ứng kém với kích thích buồng trứng.

#### 4. BÀN LUẬN

Noãn là một tế bào rất nhạy cảm với quá trình thay đổi nhiệt độ. Do đó, việc đông lạnh - rã đông noãn sao cho hiệu quả là vấn đề được quan tâm, từ những ảnh hưởng đến cấu trúc noãn như khung xương, thoi vô sắc từ quá trình đông lạnh - rã đông đến các vấn đề khác như thời gian lưu trữ lâu, đông lạnh - rã đông noãn sau đó chuyển phôi từ noãn đông lạnh có ảnh hưởng đến chất lượng noãn hay kết quả không? Các nghiên cứu trên thế giới cho rằng thời gian lưu trữ lâu, đông lạnh - rã đông noãn sau đó chuyển phôi từ noãn đông lạnh không làm ảnh hưởng đến kết quả điều trị cũng như không làm tăng tỉ lệ phôi lệch bội [6-8]. Ngoài ra, cũng có các nghiên cứu cho thấy đông lạnh noãn đã trở thành một phần quan trọng trong điều trị thụ tinh trong ống nghiệm hiện nay bởi hiệu quả tương đương với noãn tươi cũng như không tăng các nguy cơ về lệch bội [6-9], không có sự khác biệt kết quả sản khoa như tiểu đường, tăng huyết áp thai kỳ, sanh non, cân nặng của trẻ... ở noãn đông lạnh so với noãn tươi [10-12].

Từ các nghiên cứu trên thế giới về hiệu quả của đông lạnh noãn cho thấy kỹ thuật này có thể được áp dụng rộng rãi ở các trung tâm TTTON tại Việt Nam. Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nghiên cứu với số liệu lớn nhằm khẳng định hiệu quả của kỹ thuật này đối với bệnh nhân điều trị TTTON tại Việt Nam. Qua kết quả nghiên cứu của chúng tôi, đối với đặc điểm nền của bệnh nhân, tuổi trung bình bệnh nhân là  $36,19 \pm 4,77$ , số trường hợp phải đông lạnh noãn tích lũy nhiều lần ( $\geq 4$ ) chiếm hơn 50% tổng số trường hợp đông lạnh noãn. Điều này có thể giải thích rằng đa số bệnh nhân giảm dự trữ buồng trứng, đáp ứng kém với kích thích buồng trứng được thực hiện

đông lạnh noãn nhiều chu kỳ nhằm tích lũy số noãn đủ cho bệnh nhân sử dụng. Trước đây tại trung tâm chúng tôi, bệnh nhân giảm dự trữ buồng trứng, đáp ứng kém với kích thích buồng trứng sẽ được chọc hút, tạo phôi từng chu kỳ, tích lũy phôi để chuyển phôi trữ cho bệnh nhân. Kết quả của hướng điều trị này cũng đã được Đỗ Thị Linh và cộng sự báo cáo 2017 với tỉ lệ thai lâm sàng cộng dồn là 21,2%, tỉ lệ trẻ sinh sống cộng dồn là 16,5% [13]. Tuy nhiên, với phương pháp này bệnh nhân sẽ tăng chi phí điều trị hơn so với đông lạnh noãn tích lũy. Ngoài ra, theo nghiên cứu của Cobo và cộng sự năm 2012 thực hiện đông lạnh noãn tích lũy ở bệnh nhân đáp ứng kém với kích thích buồng trứng, kết quả cho thấy tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ trả sinh sống ở nhóm bệnh nhân tích lũy noãn cao hơn so với nhóm sử dụng noãn tươi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [14]. Do đó, đông lạnh noãn chủ động hiện nay cũng là một phương pháp hiệu quả đối với các trường hợp bệnh nhân giảm dự trữ buồng trứng hoặc đáp ứng kém với kích thích buồng trứng mà không muốn xin noãn.

Kỹ thuật đông lạnh noãn hiện nay rất phổ biến ở các trung tâm TTTON trên thế giới. Vấn đề quan tâm ở kỹ thuật này là tỉ lệ noãn sống sau rã đông, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ có thai cũng như các bất thường xảy ra trong quá trình đông lạnh - rã đông. Có nhiều nghiên cứu được thực hiện trên thế giới nhằm so sánh kết quả về trẻ sinh sống, thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ... kết quả cho thấy các kết cục TTTON giữa hai nhóm noãn tươi và noãn đông lạnh tương đương nhau [15-17]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ noãn sống sau rã đông đạt 95,5%, tỉ lệ thụ tinh đạt 78,96%, tương đương với kết quả các nghiên cứu trên thế giới. Kết quả này cho thấy rằng quy trình đông lạnh - rã đông noãn ở trung tâm chúng tôi phù hợp, ổn định. Ngoài ra, tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ của phôi là hai yếu tố đánh giá hiệu quả của kỹ thuật đông lạnh noãn chủ động trong nghiên cứu của chúng tôi. Tỉ lệ thai lâm sàng đạt 30,8% và tỉ lệ làm tổ đạt 21,6%. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu khác trên thế giới (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả các nghiên cứu (tỉ lệ sống sau rã đông, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ thai lâm sàng, tỉ lệ làm tổ của phôi)

Nghiên cứu	Tỉ lệ sống (%)	Tỉ lệ thụ tinh (%)	Tỉ lệ thai lâm sàng (%)	Tỉ lệ làm tổ (%)
Yoon và cộng sự, 2003	68,6	71,7	21,4	6,4
Antironi và cộng sự, 2007	99,4	92,9	32,5	13,2
Yoon và cộng sự, 2007	85,1	77,4		
Antironi và cộng sự, 2008	99	91,5		
Cao và cộng sự, 2009	91,8	67,9		
Smith và cộng sự, 2010	74,5	67,0		
Cobo và cộng sự, 2010	92,5	74,2		
Cobo và cộng sự, 2008			63,2	38,5
Cobo và cộng sự, 2010			55,4	39,9
Rienzi và cộng sự, 2010			38,5	20,4
Permagiani và cộng sự, 2011			35,5	17,1

Cobo và cộng sự, 2015			39,4	35,9
Nghiên cứu chúng tôi, 2019	95,5	78,96	30,8	21,6

## 5. KẾT LUẬN

Qua kết quả đạt được ở nghiên cứu của chúng tôi cho thấy đông lạnh noãn chủ động có hiệu quả đối với bệnh nhân điều trị TTTON. Từ đó có thể được áp dụng rộng rãi ở các trung tâm TTTON tại Việt Nam, mở ra nhiều hướng mới trong điều trị vô sinh và bảo tồn khả năng sinh sản cho người phụ nữ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008 ; 89: 1657–64.
- Cobo A, Meseguer M, Remohí J, Pellicer A. Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Hum Reprod* 2010; 25: 2239–46.
- Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, Colamaria S, Sapienza F, Ubaldi F. Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Hum Reprod* 2010; 25: 66–73.
- Parmegiani L., Cognigni G.E., Bernardi S., Cuomo S., Ciampaglia W., Infante F.E., Tabarellide Fatis C., Arone A., Maccarini A.M., Filicori M. Efficiency of aseptic open vitrification an hermetical cryostorage of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2011; 23: 505–512.
- Kuwayama M. Vitrification of oocytes: General considerations and the use of the Cryotec method, Vitrification in Assisted reproduction, second edition, 2016, p77 – 86.
- Smith LK, Roots EH, Dorsett MJ. Live birth of a normal healthy baby after a frozen embryo transfer with blastocysts that were frozen and thawed twice, *Fertil Steril* 2005, 83: 198 – 200
- Cobo A, Castello D, Vallejo B, Albert C, Maria de los Santos J, Remohi J. Outcome of cryotransfer of embryos developed from vitrified oocytes: double vitrification has no impact on delivery rates, *Fertil Steril* Vol 99, No 6 2013: 1623 –30
- Forman EJ, Li X, Ferry KM, Scott K, Treff NR, Scott Jr RT. Oocyte vitrification does not increase the risk of embryonic aneuploidy or diminish the implantation potential of blastocysts created after intracytoplasmic sperm injection: a novel, paired randomized controlled trial using DNA fingerprinting, *Fertil Steril* Vol 98 No 3 2012: 644 –9.
- Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies, *Reprod Biomed Online*, Vol 18 No 6 2009: 769 –76.
- Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohi J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertil Steril* Vol 102 No 4 2014: 1006 –15.
- Goldman KN, Noyes NL, Knopman JM, McCaffrey C, Grifo J. Oocyte efficiency: dose live birth rate differ when analyzing cryopreserved and fresh oocytes on a per – oocyte basis? *Fertil Steril* Vol 100 No 3, 2013: 712 – 7.
- Borini A, Bonu MA, Coticchio G, Bianchi V, Cattoli M, Flamigni C. Pregnancies and births after oocyte cryopreservation, *Fertil Steril* Vol 82 No 3 2004: 601-5
- Đỗ Thị Linh, Bùi Thị Thu Hiền, Phạm Thiệu Quân, Lê Thụy Hồng Khả, Hiệu quả điều trị trên nhóm bệnh nhân giảm dự trữ buồng trứng trên cơ sở chu kì tự nhiên biến đổi sử dụng Clomiphene citrate, Báo cáo poster tại Hội nghị IVFEM 2017, Aspire 2018.
- Cobo A, Garrido N, Crespo J et al. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reprod Biomed Online* 2012, 24: 424 – 32
- Cobo A, Coello A, Jose Remohí, Jose Serrano, Jose Maria de los Santos and Marcos Meseguer, Effect of oocyte vitrification on embryo quality: time-lapse analysis and morphokinetic evaluation, *Fertil Steril* Vol. 108, No. 3 2017: 491-7
- Trokoudes KM, Pavlides C, and Xiao Zhang, Comparison outcome of fresh and vitrified donor oocytes in an egg-sharing donation program. *Fertil Steril* Vol. 95, No. 6, 2011 : 1996 - 2000
- Solé M, Santalo J, Boada M, Clua E, Rodriguez I, Martinez F, Coroleu B, Barri PN, Veiga A. How dose vitrification affect oocyte viability in oocyte donation cycles? A prospective study to compare outcomes achieved with fresh versus vitrified sibling oocytes, *Human Preprod* Vol 28 No 8 2011: 2087 –92.
- Yoon TK, Kim TJ, Park SE, Hong SW, Ko JJ, Chung HM, Cha KY. Live births after vitrification of oocytes in a stimulated in vitro fertilization – embryo transfer program, *Fertil Steril* Vol 79 No 6 2003: 1323 –26
- Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reprod BioMed Online* 2007, 14: 72 – 9
- Yoon TK, Lee DR, Cha SR, Chung HM, Lee WS, Cha KY. Survival rate of human oocytes and pregnancy outcome after vitrification using slush nitrogen in assisted reproductive technologies, *Fertil Steril* 2007, 88: 9520 – 56.