

# NHÂN MỘT TRƯỜNG HỢP CÓ THAI SAU KHI THỰC HIỆN THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM DO XUẤT TINH NGƯỢC DÒNG

Phan Cảnh Quang Thông, Lê Việt Hùng, Nguyễn Phước Bảo Minh, Lê Việt Nguyễn Sa, Nguyễn Thị Thu Thúy

Bệnh viện Trung Ương Huế

## 1. Giới thiệu

Trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản, kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI) đang dần trở thành một phương pháp điều trị phổ biến và có hiệu quả cao trong phác đồ điều trị cho các cặp vợ chồng hiếm muộn có nguyên nhân từ người chồng. Kỹ thuật này tạo ra sự thụ tinh bằng cách đưa trực tiếp một tinh trùng vào bào tương trứng, bỏ qua các rào cản tự nhiên [9]. Kỹ thuật này được thực hiện với tinh trùng từ mọi nguồn tinh trùng khác nhau: từ tinh dịch người chồng, từ một số phương pháp xâm lấn khác như vi phẫu từ mào tinh hoặc từ ống dẫn tinh, hoặc từ tinh trùng trữ lạnh. Trong một số ít trường hợp xuất tinh ngược dòng, bàng quang trở thành nguồn để thu nhận tinh trùng [2].

Xuất tinh ngược dòng là một quá trình xuất tinh, nhưng tinh dịch không đi qua niệu đạo ra ngoài mà đi ngược vào bàng quang nhưng vẫn có kèm theo tinh trạng khoái cảm của quá trình xuất tinh [8].

Trong lĩnh vực vô sinh, xuất tinh ngược dòng không phải là một nguyên nhân phổ biến, chỉ chiếm <1% các cặp vợ chồng vô sinh được khảo sát, nhưng là nguyên nhân chủ yếu của không có tinh trùng khi xuất tinh [1].

Xuất tinh ngược dòng cần được nghĩ đến ở những trường hợp không có tinh trùng khi xuất tinh, và được chẩn đoán nếu tìm thấy tinh trùng ở mẫu nước tiểu sau khi xuất tinh. Mọi tinh trùng được tìm thấy ở cặn nước tiểu sau ly tâm đều bất động hoặc chết do sự kết hợp bất lợi của tinh thảm, pH thấp và nhiễm độc urê [8].

Nước tiểu được xem là môi trường có hại đối với chất lượng tinh trùng. Tinh trùng trong nước tiểu sẽ bị nhiễm độc urê, bị tác hại do áp lực thấp và pH acid. Khả năng di động của tinh trùng giảm nếu hòa tinh dịch với nước tiểu trong vòng 5 phút. Một số nghiên cứu hướng đến mục tiêu thu thập tinh trùng từ mẫu nước tiểu bằng cách kiểm hóa nước tiểu bằng  $\text{NaHCO}_3$  (liều dùng từ 1,2-16g) trong khoảng thời gian từ vài giờ đến vài ngày trước khi khảo sát tinh trùng, nhằm điều chỉnh pH tối ưu (7-8) với tinh trùng trước khi xuất tinh. Tuy nhiên, một tác dụng bất lợi khác của pH nước tiểu, một số nghiên cứu khác đưa ra nhiều bằng chứng cho thấy tinh thảm mới là điều đáng lo ngại đối với khả năng di động của tinh trùng [7].

Vi các phương pháp nội khoa và ngoại khoa đều không thể thu thập thành công tinh trùng còn sống và có khả năng di động, do đó kỹ thuật thường được áp dụng phổ biến và có hiệu quả thành công khá cao là thu mẫu tinh trùng từ bàng quang hoặc từ nước tiểu sau khi xuất tinh và phân lập tinh trùng ra khỏi nước tiểu càng sớm càng tốt [8]. Nếu số lượng và chất lượng tinh trùng trong mẫu nước tiểu đáp ứng đủ đồng thời mẫu nước tiểu được đánh giá và xử lý ngay lập tức bằng phương pháp thích hợp thì khả năng mang thai hoàn toàn khả thi [4], [8] kể cả với tinh trùng trữ lạnh.[6]

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá kết quả của ICSI đối với trường hợp sử dụng phương pháp kiểm hóa nước tiểu ở những bệnh nhân vô sinh do xuất tinh ngược dòng.

## 2. Phương pháp và đối tượng nghiên cứu

**Phương pháp nghiên cứu:** báo cáo trường hợp

**Đối tượng nghiên cứu:** một cặp vợ chồng hiếm muộn do chồng xuất tinh ngược dòng tại Đơn vị Vô sinh- Hiếm muộn, Khoa Phụ sản, Bệnh viện Trung Ương Huế.

**Cách thức tiến hành:**

Tháng 11/2014, một cặp vợ chồng đến thăm khám tại Đơn vị Vô sinh-Hiếm muộn, Khoa Phụ sản, Bệnh viện Trung Ương Huế. Người vợ 27 tuổi, chưa từng mang thai. Các chức năng về khả năng sinh sản như buồng trứng, vòi trứng, nội mạc tử cung và các kết quả về các chỉ số nội tiết trong giới hạn bình thường (FSH: 5.25 mIU/mL, E2: 50 pg/mL, LH: 3.94 mIU/mL). Người chồng 27 tuổi, có thể lực tốt. Các kết quả kiểm tra cho thấy người chồng không bị các bệnh về niệu khoa, tiểu đường, cũng như các dạng bệnh tự miễn khác. Các thông số về nội tiết nằm trong giới hạn bình thường (FSH: 6.39 mIU/mL, Testosterone: 4.39ng/mL, LH: 4.53 mIU/mL). Tuy nhiên, người chồng có biểu hiện giảm dần thể tích xuất tinh một vài tháng trước khi đến thăm khám, và hoàn toàn không có tinh dịch khi xuất tinh tại thời điểm được tư vấn. Kết quả siêu âm về tinh hoàn và tuyến tiền liệt bình thường. Sự tiểu tiện bình thường. Các xét nghiệm về nam khoa cho thấy có sự hiện diện của một số tinh trùng di động yếu trong cặn nước tiểu sau ly tâm. Người

chồng được chẩn đoán xuất tinh ngược dòng. Cặp vợ chồng này được chỉ định thực hiện kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm để cải thiện khả năng mang thai.

### **Chuẩn bị tinh trùng người chồng**

Tinh trùng của bệnh nhân được chuẩn bị theo cẩm nang hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới 2010 về chuẩn bị tinh trùng cho các trường hợp xuất tinh ngược dòng [12]. Trước khi thu nhận mẫu, bệnh nhân được cho uống 6 viên Efferalgan Sủi hòa tan trong 2 lít nước uống trước ngày lấy mẫu và 1g vào sáng trước khi lấy mẫu để kiểm hóa nước tiểu.

Tại phòng xét nghiệm tinh trùng vào ngày chọc hút trứng, bệnh nhân được yêu cầu:

- Đi tiểu nhưng không tiểu hết.

- Yêu cầu xuất tinh vào lọ vô trùng bằng cách thủ dâm.

- Đi tiểu lần thứ 2 vào lọ vô trùng có chứa môi trường cấy (để kiểm hóa nước tiểu).

Khảo sát tìm tinh trùng trong nước tiểu và trong mẫu xuất tinh (nếu có). Tổng thể tích nước tiểu thu được 120 ml, được chia thành 10 ml vào các ống ly tâm đầu nhọn, ly tâm nước tiểu ở 500g trong 8 phút để cô đặc trước khi khảo sát. Sau đó, tinh trùng được chuẩn bị bằng phương pháp theo thang nồng độ không liên tục.

### **Phương pháp thang nồng độ không liên tục**

Thang nồng độ không liên tục được chúng tôi sử dụng với 2 lớp, 45% ở trên và lớp 90% ở dưới.[12]

### **Kích thích buồng trứng ở người vợ**

Người vợ được kích thích buồng trứng bằng phác đồ ngắn với FSH và GnRH-antagonist. Liều khởi đầu là 225IU (Follitrope 225IU, LG Life Sciences) sau tăng lên 300IU/ngày từ ngày 4 kích thích buồng trứng (Follitrope 300IU, Hướng Việt Pharma). GnRH-antagonist 0,25mg được tiêm dưới da hàng ngày từ ngày 6 kích thích buồng trứng (Cetrotide 0,25mg, Merck Serono). hCG 5000IU (Choragon 5000IU, Ferring) được cho vào ngày 10 kích thích buồng trứng. Chọc hút trứng được thực hiện 36 giờ sau khi tiêm hCG.

### **Chuẩn bị trứng**

Trứng được chọc hút dưới hướng dẫn của siêu âm đầu dò âm đạo. Sau 2 giờ tế bào hạt (cumulus) và tế bào vành tia (corona) được tách khỏi trứng bằng pipette Pasteur đường kính 130-140  $\mu$ m trong môi trường Hyaluronidase có dầu phủ trong thời gian dưới 1 phút 30 giây. Trứng được đánh giá dưới kính hiển vi đảo ngược (Nikon Eclipse TE 2000-S) kết hợp với thấu kính phản pha Hoffman HMC 0.4 ở độ phóng đại x200. Trứng MII được xác định bằng sự hiện diện của thể cực thứ nhất (polar body 1- PB1). Trứng MII được tiêm tinh trùng vào bào tương trứng sau 2 giờ

nuôi cấy. Trứng MI (không có PB1) và GV (không có PB1 và có khoang túi mầm) bị loại bỏ.

### **Đánh giá sự thụ tinh và chất lượng phôi sau ICSI**

Sau khi tiêm tinh trùng vào bào tương, trứng được nuôi cấy trong môi trường ISM 1 (Medicult, Đan Mạch) có phủ dầu. Sự thụ tinh được đánh giá sau 16-18 giờ với sự hiện diện của các thể cực và 2 tiền nhân (Pronucleus). Đánh giá sự phân cắt được thực hiện sau 24 giờ và phôi được đánh giá bằng tiêu chuẩn hình thái 42 giờ sau ICSI. Phôi độ I gồm các phôi bào có kích thước đều nhau, không có mảnh vỡ (fragment); phôi độ II gồm các phôi bào có kích thước không đều nhau, thể tích mảnh vỡ dưới 20%; phôi độ III là các phôi có thể tích mảnh vỡ trên 20%. Phôi được chuyển vào buồng tử cung khoảng 48 giờ sau khi chọc hút trứng.

Kết quả thai sinh hóa được xác định bằng xét nghiệm  $\beta$ hCG 14 ngày sau khi chuyển phôi. Kết quả thai lâm sàng được ghi nhận khi xác định được hình ảnh túi thai dưới siêu âm và đo được tim thai vào khoảng tuần thứ 7 của thai kỳ.

## **3. Kết quả**

### **Kết quả chuẩn bị tinh trùng sau khi phân lập so với tinh trùng từ nước tiểu**

**Bảng 1.** Kết quả chuẩn bị tinh trùng sau khi phân lập tinh trùng từ nước tiểu

Tiêu chí	Trong nước tiểu	Sau khi phân lập
Thể tích (ml)	120	4
Độ pH	6	7.2
Độ di động	% Tiến tới (PR)	0
	% Không tiến tới (NP)	5
	% Không di động (IM)	95

### **Kết quả kích thích buồng trứng ở người vợ**

**Bảng 2.** Kết quả kích thích buồng trứng ở người vợ

Thông số	Kết quả
Tổng số nang >14mm ngày cho hCG	6
Nồng độ Estradiol đỉnh ngày cho hCG	2510 pg/ml
Nồng độ Progesterone ngày cho hCG	0,6 ng/ml
Số trứng chọc hút được	6
Số MII	5
Độ dày nội mạc ngày cho hCG	8mm

### **Kết quả thụ tinh và nuôi cấy phôi của cặp vợ chồng**

Trong tổng số 6 trứng thu được sau chọc hút, 1 trứng MI bị loại bỏ, 5 trứng còn lại được ICSI, kiểm tra thụ tinh sau khi tiêm tinh trùng vào bào tương trứng sau 17 giờ cho thấy 3 trứng có xuất hiện 2 tiền nhân (PN). Kiểm tra phôi 42 giờ sau khi tiêm cho thấy có 2 phôi tốt, 1 phôi trung bình.

Chuyển phôi ngày 2 được thực hiện với tổng số 3 phôi chuyển.

Kết quả xét nghiệm thai sinh hóa dương tính 14 ngày sau chuyển phôi ( $\beta$ hCG: 287,4 IU/ml). Hình ảnh

siêu âm khoảng tuần thứ 7 của thai kỳ cho thấy có 1 tim thai đang hoạt động trong túi thai.

## 4. Bàn luận

Xuất tinh ngược dòng được ước tính chiếm khoảng 0,3-2,0% các cặp vợ chồng vô sinh, nhưng lên đến 18% các trường hợp người chồng không có tinh trùng [10]. Nguyên nhân của xuất tinh ngược dòng có thể là bất thường bẩm sinh, do chấn thương tủy sống, phẫu thuật cổ bàng quang, mổ bứtu bạch huyết sau màng bụng [5].

Nước tiểu là một môi trường hoàn toàn bất lợi đối với tinh trùng, do đó rất nhiều phương pháp được đề xuất để thu hồi tinh trùng ra khỏi nước tiểu sau khi xuất tinh càng sớm càng tốt. Môi trường thích hợp có thể được tạo ra bằng cách đặt ống dẫn vào bàng quang trước khi xuất tinh, tuy nhiên đây là một phương pháp mang tính xâm lấn cao, hầu như không được phần lớn bệnh nhân chấp nhận [8].

Jimenez và cs (1997) báo cáo trường hợp có thai bằng phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương trứng bằng tinh trùng trữ lạnh sau khi phân lập khỏi nước tiểu. Nhóm tác giả đề nghị rằng, đối với trường hợp người chồng vô sinh do xuất tinh ngược dòng, tinh trùng thu được từ nước tiểu sau khi xuất tinh vẫn có thể được trữ lạnh để bào đảm nguồn tinh trùng cho ICSI [6].

Nếu điều trị xuất tinh ngược dòng phục vụ cho điều trị vô sinh, có rất nhiều phác đồ nội khoa như imipramine (25mg), brompheniramine maleate (8mg), ephedrine hydrochloride và clomipramine hydrochloride. Tuy nhiên, kết quả thu được rất khó dự đoán. Phác đồ điều trị vô sinh phụ thuộc phần lớn vào mẫu tinh trùng thu trực tiếp từ bàng quang hoặc từ nước tiểu [3][4].

Tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ phân cắt trong nghiên cứu (60%)

này thấp hơn trong nghiên cứu của Gerris và cs (92%). Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể do nghiên cứu của Gerri và cs sử dụng theophylline để phục hồi khả năng di động của tinh trùng. Đây là một dẫn xuất của caffeine, được sử dụng điều trị trong các trường hợp tinh trùng bất động hoàn toàn, có tác dụng ức chế hoạt động của enzyme phosphodiesterase được tích lũy trong các dạng tinh trùng bất động (asthenozoospermia), giải phóng ATP nhằm cải thiện một phần khả năng di động của tinh trùng [4]. Tỷ lệ thụ tinh trong nghiên cứu chúng tôi tương đương với kết quả của Nikolettos. Nghiên cứu của Nikolettos và cs (1999) cho thấy nguyên nhân của xuất tinh ngược dòng không có bất kỳ tác động nào đến kết quả của tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phân cắt cũng như tỷ lệ có thai khi sử dụng kỹ thuật ICSI trong thụ tinh trong ống nghiệm. Nghiên cứu cũng ghi nhận sự giảm sút rõ rệt của chất lượng và độ di động cũng như mật độ tinh trùng trong mẫu xuất tinh ngược dòng [8].

Việc áp dụng thành công và có hiệu quả của kỹ thuật ICSI vào lĩnh vực vô sinh đã loại bỏ hầu hết những rào cản của những trường hợp vô sinh do nguyên nhân từ nam giới, do đó việc sử dụng kỹ thuật này ngày càng phổ biến. Hơn nữa, số lượng và độ di động của tinh trùng thu được từ nước tiểu rất khó dự đoán, và trong một số trường hợp, tỷ lệ tinh trùng sống thu được rất thấp, do đó không thể áp dụng cho các phương pháp hỗ trợ sinh sản khác như bơm tinh trùng vào buồng tử cung hoặc cấy IVF cổ điển. Vì vậy chúng tôi lựa chọn kỹ thuật ICSI cho bệnh nhân trong trường hợp này.

Mặc dù không thể đưa ra một kết luận tổng quát từ một trường hợp cá biệt, báo cáo này đưa ra một phương pháp điều trị khả thi cho các cặp vợ chồng vô sinh do nguyên nhân xuất tinh ngược dòng của người chồng.

## Tài liệu tham khảo

1. Aust T. R., Brooker S., Troup S. A. et al, 2008. Development and in vitro testing of a new method of urine preparation for retrograde ejaculation; the Liverpool solution. *Fertility and Sterility* Vol. 89, No. 4, April 2008.
2. Ebner T., Shebl O., et al, 2014, Fertility and sterility, Original Articles: Andrology, Vol. 101, No. 2 Healthy live birth using theophylline in a case of retrograde ejaculation and absolute asthenozoospermia.
3. Eppel, S. M. And Berzin, M. (1984). Pregnancy following treatment of Retrograde ejaculation with clomipramine hydrochloride. A report of 3 cases. *S. Afr. Med. J.*, 66, 889-891
4. Geris, J., Van Royen. E., Mangel-Schots, K., et al, (1994) Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of metaphase II oocytes with spermatozoa from a man with complete retrograde ejaculation. *Human Reproduction* vol.9 no.7 pp.1293-1296, 1994.
5. Jefferys A, Siassakos D, Wardle P. The management of retrograde ejaculation: a systematic review and update. *Fertil Steril* 2012;97:306-12.
6. Jimenez C., Grizard G., Pouly J. L., Boucher D. (1997) Birth after combination of cryopreservation of sperm recovered from urine and

- intracytoplasmic sperm injection in a case of complete retrograde ejaculation. *Fertility and Sterility*, Vol. 63, No. 3, September 1997.
7. Kamischke A, Nieschlag E. Treatment of retrograde ejaculation and anejaculation. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 448-474
8. Nikolettos A., Al-Hasani S., Baukloh V et al, 1999, The outcome of intracytoplasmic sperm injection in pateints with retrograde ejaculation, *Human Reproduction* vol. 14 no.9, pp 2293-2296, 1999.
9. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intra-cytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340:17-8.
10. Sandler, B. (1979). Idiopathic retrograde ejaculation. *Fertil. Steril.*, 32, 474-475
11. Tomasi P.A., Fanciulli G., Delitala G., (2005), Successful treatment of retrograde ejaculation with the  $\alpha$ 1-adrenergic agonist methoxamine: case study, *International Journal of Impotence Research* (2005) 17, 297-299.
12. World Health Organization (2010). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, fifth edition.