

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI PHÔI NGÀY 2 VÀ TỶ LỆ CÓ THAI LÂM SÀNG TRÊN BỆNH NHÂN THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM

*Nguyễn Thanh Tùng**; *Nguyễn Đình Tảo**
*Quản Hoàng Lâm**; *Nguyễn Thị Thục Anh**

TÓM TẮT

Nghiên cứu 556 phôi nuôi cấy ngày 2 của 99 bệnh nhân (BN) thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) tại Trung tâm công nghệ Phôi, Học viện Quân y để xác định các đặc điểm hình thái phôi và tỷ lệ thai lâm sàng. Kết quả: các phôi nuôi cấy ngày thứ 2 có số lượng phôi bào từ 2 - 6 tế bào, đường kính phôi $163,26 \pm 4,55 \mu\text{m}$, chiều dày màng trong suốt $16,63 \pm 1,11 \mu\text{m}$. Tỷ lệ thai lâm sàng 29/99 (29,29%), trong đó 25/50 BN có phôi tốt để chuyển đạt tỷ lệ có thai 50%, 4/49 BN (8,16%) không có phôi tốt để chuyển. Nhóm có thai có số lượng phôi tốt để chuyển $1,5 \pm 1,2$, cao hơn nhóm không có thai $0,5 \pm 0,7$ ($p < 0,05$).

* Từ khóa: Hình thái phôi; Thụ tinh trong ống nghiệm (IVF); Tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI); Màng trong suốt.

STUDY ON EMBRYO MORPHOLOGY FEATURE ON 2 DAY AND CLINICAL PREGNANCY RATE ON IVF PATIENTS

Nguyen Thanh Tung
Nguyen Dinh Tao
Quan Hoang Lam
Nguyen Thi Thuc Anh

SUMMARY

556 embryos on 2 day of 96 patients were studied in the Centre of Advanced Technological Embryology. The research aimed to identify some morphology characters of embryo and clinical pregnancy rate. The results: the day-2 embryos have from 2 to 6 blastomeres, embryo's diameter is $163.26 \pm 4.55 \mu\text{m}$, zona pelucida's thick is $16.63 \pm 1.11 \mu\text{m}$. Clinical pregnancy rate is 29.29%, in the patient group have transferred quality embryo achieved high pregnancy rate 25/50 (50%), the patient group without transferred quality embryo achieved low pregnancy rate 4/49 (8.16%). The pregnant patient group have transferred quality embryo 1.5 ± 1.2 more than the no pregnant patient group 0.5 ± 0.7 ($p < 0.05$).

* Key words: Embryo morphology; IVF (in vitro fertilization); ICSI (intracytoplasmic sperm injection); ZP (zona pelucida).

* Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Hoàng Văn Lương

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thành công của kỹ thuật TTTON năm 1978 là cuộc cách mạng trong điều trị vô sinh. Từ đó đến nay đã có hàng chục triệu trẻ em ra đời bằng phương pháp này, đem lại hạnh phúc cho các cặp vợ chồng hiếm muộn. Nhưng kỹ thuật này cũng có thể gây nguy cơ đa thai. Để tránh đa thai chỉ có cách giảm số lượng phôi chuyển vào buồng tử cung, nhưng vẫn phải đảm bảo tỷ lệ thành công. Do đó, lựa chọn phôi có tiềm năng phát triển dựa vào đặc điểm hình thái phôi ở giai đoạn phân chia là yếu tố hết sức quan trọng. Alikani M. (2000) [2], Andres Salumets (2001) [3] cho rằng phôi nuôi cấy ngày 2 có từ 4 - 5 phôi bào, các phôi bào không có đa nhân, mảnh vỡ bào tương < 20% được cho là những phôi có tiềm năng cao. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Đánh giá hình thái phôi sau hai ngày thụ tinh và so sánh kết quả thai lâm sàng.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

Phân tích hình thái 556 phôi sau hai ngày thụ tinh bình thường và tỷ lệ có thai lâm sàng của 99 BN làm TTTON lần đầu, tuổi < 40, tại Trung tâm Công nghệ Phôi, từ tháng 12 - 2007 đến 9 - 2008.

2. Phương pháp nghiên cứu.

Nghiên cứu tiến cứu mô tả.

* *Phương pháp TTTON:*

- Phác đồ kích thích nang noãn và lấy trứng: sử dụng 2 phác đồ chính trong kích thích nang noãn:

+ Phác đồ dài: sử dụng thuốc GnRH đồng vận (gonadotropin releasing hormone

agonist) trong khoảng 14 ngày, từ ngày 21 chu kỳ kinh. Sau đó sử dụng thuốc kích thích nang noãn (FSH) kết hợp với GnRH đồng vận từ 8 - 12 ngày.

+ Phác đồ ngắn: chỉ sử dụng thuốc GnRH đồng vận kết hợp với thuốc kích thích nang noãn từ ngày 2 của chu kỳ kinh, thời gian dùng thuốc từ 8 - 12 ngày.

Khi có tối thiểu 2 nang noãn kích thước > 17 mm thì sử dụng HCG 5.000 UI pregnyl gây kích thích rụng trứng. Sau 34 - 35 giờ dùng HCG, chọc hút trứng qua ngã âm đạo dưới hướng dẫn của siêu âm.

- Kỹ thuật hỗ trợ thụ tinh: trứng sau khi chọc hút được ủ trong môi trường G IVF plus của hãng Vitrolife đặt trong tủ ấm Forma (USA) 37°C, CO₂ 6% từ 3 - 4 giờ. Tùy theo chỉ định, các trứng chọc hút sẽ được hỗ trợ thụ tinh bằng kỹ thuật TTTON hoặc ICSI.

+ Kỹ thuật TTTON: lọc rửa tinh trùng và pha loãng trong môi trường G IVF với mật độ 100.000 tinh trùng/ml. Mỗi giếng của hộp cấy đặt 2 - 3 trứng.

+ Kỹ thuật ICSI (tiêm tinh trùng vào bào tương trứng): loại bỏ các tế bào nang bằng men hyaluronidase và đầu pipette kéo, sau đó tiêm theo quy trình của Palermo P. và CS (1992) [6] với kính hiển vi đảo ngược Olympus IX 70, độ phóng đại 200 lần có gắn bộ vi thao tác.

Đánh giá trứng thụ tinh sau 16 - 18 giờ đối với kỹ thuật ICSI và 18 - 20 giờ đối với kỹ thuật TTTON. Mỗi trứng thụ tinh bình thường ở giai đoạn tiền được xác định đường kính phôi, độ dày màng trong suốt.

* *Phương pháp đánh giá hình thái phôi ngày 2:*

Phôi nuôi cấy trong môi trường G1 plus, 37°C, CO₂ 6%, đến ngày 2 đánh giá hình thái phôi theo Andres Salumets (2001) [3]

dựa theo số phôi bào, độ đồng đều các phôi bào, bào tương phôi bào, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương trong phôi được chia thành độ:

- Phôi độ IV: có 4 tế bào đồng đều, không có mảnh vỡ bào tương.

- Phôi độ III: có 2 - 4 tế bào, mảnh vỡ bào tương < 20% thể tích phôi.

- Phôi độ II: mảnh vỡ bào tương chiếm 20 - 50% thể tích phôi.

- Phôi độ I: mảnh vỡ bào tương > 50% thể tích phôi.

Xác định độ dày màng trong suốt, đường kính phôi, số lượng phôi bào của phôi nuôi cấy ngày 2.

Phôi được lựa chọn để chuyển vào tử cung là các phôi độ IV và độ III, khi BN không còn phôi độ IV và III thì mới dùng phôi độ II và I.

Sau 14 ngày chuyển phôi, BN được lấy máu để định lượng β HCG, nếu > 30 mIU/ml thì xác định có thai sinh hóa, sau 4 tuần siêu âm có tim thai thì xác định có thai lâm sàng.

3. Xử lý và phân tích số liệu.

Bảng phần mềm SPSS 15.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

* Phân loại phôi ngày 2 theo tiêu chuẩn Andres Salumets (2001):

Phôi độ IV: 107 (19,2%); phôi độ III: 284 (51,1%); phôi độ II: 127 (22,8%); phôi độ I: 38 (6,8%).

Trong 556 phôi nuôi cấy ngày 2, phôi độ IV và III là chủ yếu (70,3%), đó là các phôi sạch có ít mảnh vỡ bào tương (< 20%), những phôi này có tiềm năng cấy chuyển cao giúp cho kết quả TTTON cải thiện đáng kể.

Bảng 1: Đặc điểm hình thái phôi nuôi cấy ngày 2.

CHỈ TIÊU	PHÔI NGÀY 1	PHÔI NGÀY 2	p
Đường kính phôi (μ m)	158,88 \pm 4,25	163,26 \pm 4,55	< 0,001
Chiều dày màng trong suốt (μ m)	19,16 \pm 1,45	16,63 \pm 1,11	< 0,001
Số lượng phôi bào	1	3,41 \pm 1,04	

Trong 570 phôi ngày 1, 14 phôi không phát triển nên số phôi ngày 2 được nghiên cứu là 556.

Đo độ dày màng trong suốt cả phôi ngày 1 và 2 thấy kích thước trung bình phôi ngày 1 (giai đoạn phôi tiền nhân) là 158 \pm 4,25 μ m, phôi ngày 2 là 163,26 \pm 4,55 μ m, rõ ràng kích thước phôi ngày 2 lớn hơn phôi ngày 1, khác biệt với p < 0,001.

Độ dày màng trong suốt trung bình phôi ngày 1 là 19,16 \pm 1,45 μ m, phôi ngày 2 là 16,63 \pm 1,11 μ m. Theo Sagoskin A.W. và CS (2007) [7], độ dày màng trong suốt bình thường dao động từ 10 - 30 μ m. Như vậy, độ dày màng trong suốt của phôi ngày 2 mỏng hơn phôi ngày 1, khác biệt với p < 0,001. Phôi ngày 2 đang ở giai đoạn phân chia cho ra nhiều phôi bào, kích thước phôi tăng lên sẽ làm cho màng trong suốt giãn ra giúp phôi có thể thoát màng ở giai đoạn phôi nang.

Số lượng phôi bào trung bình của phôi ngày 2 là 3,41 \pm 1,04, lớn nhất 6 và nhỏ nhất 2. Số lượng phôi bào là yếu tố có giá trị giúp đánh giá tốc độ phân chia của phôi và chất lượng phôi. Những phôi có số phôi

bào cao, ít mảnh vỡ bào tương có sức sống tốt và tỷ lệ tạo thành phôi nang cao.

Bảng 2: Kết quả thai lâm sàng chuyển phôi ngày 2 liên quan đến chất lượng phôi chuyển.

PHÂN NHÓM BN	SỐ PHÔI CHUYỂN	SỐ PHÔI TỐT CHUYỂN	THAI LÂM SÀNG	1 THAI	2 THAI	3 THAI
Có phôi tốt để chuyển	3,7 ± 1,5 (n = 50)	1,7 ± 1,2	25 BN (50%)	15	7	3
Không có phôi tốt để chuyển	3,2 ± 1,2 (n = 49)	0	4 BN (8,16%)	4	0	0

29/99 BN (29,29%) làm TTON có thai lâm sàng. Nhóm có phôi tốt chuyển có thai là 50%, trong đó 15 trường hợp 1 thai, 7 trường hợp song thai và 3 trường hợp 3 thai, cao hơn nhiều so với nhóm không có phôi tốt (tỷ lệ có thai chỉ đạt 8,16%, cả 4 trường hợp chỉ có 1 thai).

Phôi tốt là phôi đạt độ IV và III, có ít nhất từ 2 phôi bào, mảnh vỡ bào tương < 20%. Có mối tương quan khá rõ giữa đặc điểm hình thái phôi và khả năng có thai lâm sàng. Các trường hợp mà trong số phôi chuyển có ít nhất 1 phôi có hình thái tốt cho tỷ lệ thai lâm sàng gấp nhiều lần so với số phôi chuyển không có phôi tốt. Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Hồ Mạnh Tường (2006) [1], Claman P. (1987) [4], các tác giả đều cho rằng tỷ lệ có thai tăng có ý nghĩa thống kê khi có ít nhất 1 phôi với 4 phôi bào được chuyển vào buồng tử cung. Giorgetti C. (1995) [5] khi so sánh tỷ lệ làm tổ của phôi 4 phôi bào và phôi ít hơn 4 phôi

bào thấy tỷ lệ làm tổ cao gấp 2 lần khi chuyển phôi, đạt 4 tế bào vào ngày 2 sau thụ tinh. Tuy nhiên, đặc điểm hình thái phôi không giúp tiên lượng được hoàn toàn khả năng phát triển của phôi hay chẩn đoán được bất thường về di truyền của phôi. Chính vì vậy một số BN có phôi tốt để chuyển nhưng vẫn không có kết quả. Nhiều nghiên cứu cho thấy khoảng 29% số phôi có hình dạng bình thường có bất thường về nhiễm sắc thể. Đặc biệt, trong các phôi ngừng phát triển và có hình dạng bất thường thì 57% bất thường về nhiễm sắc thể. Điều này giúp cho việc đánh giá, tiên lượng các đặc điểm hình thái phôi đến khả năng sống, làm tổ của phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng khi chuyển phôi vào buồng tử cung.

Bảng 3: Đặc điểm phôi giữa nhóm BN có thai và không có thai.

ĐẶC ĐIỂM	NHÓM CÓ THAI (n = 29)	NHÓM KHÔNG CÓ THAI (n = 70)	p
Tuổi vợ	34,2 ± 4,8	33,4 ± 3,8	> 0,05
Thời gian vô sinh	5,7 ± 3,6	6,8 ± 4,0	> 0,05
Số phôi tạo được	6,8 ± 3,7	6,2 ± 4,3	> 0,05
Số phôi chuyển	4,1 ± 1,2	3,8 ± 1,6	> 0,05
Số phôi tốt chuyển	1,5 ± 1,2	0,5 ± 0,7	< 0,05

Giữa nhóm có thai và không có thai tương đối đồng nhất về tuổi vợ, thời gian vô sinh và số phôi trung bình chuyển vào buồng tử cung, nhưng số phôi có chất lượng tốt chuyển của nhóm có thai cao hơn nhóm không có thai có ý nghĩa thống kê (p

< 0,05). Điều này cho thấy chính chất lượng phôi là yếu tố có vai trò quan trọng nhất trong tiên lượng có thai. Việc lựa chọn phôi và quyết định số phôi chuyển vào buồng tử cung ảnh hưởng rất lớn đến thành công của TTTON. Nếu chất lượng phôi xấu, số phôi chuyển dù tăng thì tỷ lệ có thai vẫn thấp. Ngược lại, nếu phôi chất lượng tốt, số phôi chuyển vừa đủ, tỷ lệ có thai tăng mà vẫn có thể tránh được đa thai.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 556 phôi ngày 2 của 99 BN, chúng tôi thấy:

Phôi nuôi cấy ngày 2 có số lượng phôi bào từ 2 - 6 tế bào. Kích thước phôi tăng lên và độ dày màng trong suốt mỏng hơn so với phôi ngày 1.

Tỷ lệ có thai tăng cao trong trường hợp có phôi tốt (phôi độ III và IV) để chuyển. Tỷ lệ có thai giảm đáng kể khi không có phôi tốt chuyển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Hồ Mạnh Tường*. Đặc điểm hình dạng phôi và tỷ lệ có thai lâm sàng trong kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng. Y học sinh sản. 2006.

2. *Alikani M., Calderon G. et al.* Cleavage anomalies in early embryos and survival after prolonged culture in-vitro. Human reproduction. 2000, 15, pp.2634-2643.

3. *Andres Salumets, Christel Hyden - Granskog, Anne - Maria Suikkaro, Aila Tiitinen, Timo Tuuro.* The predictive value of pronuclear morphology of zygotes in the assessment of human embryo quality. Human reproduction. 2001, Vol 16 (10), pp.2177-2181.

4. *Claman P., Amant D.R., Seibel M.* The impact of embryo quality and quantity on implantation and the establishment of viable pregnancies, J. in-vitro fertil. Embryo transfer. 1987, 4, pp.218-222.

5. *Giorgetti C., Terriou P., Auquier P.* Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfer. Human repro. 1995, 10, pp.2427-2431.

6. *Palermo P., Joris H, Devroey P.* Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet. 1992, 340, pp.17-18.

7. *Sagoskin A.W., Levy M., Tucker M. et al.* Laser assisted hatching in good prognosis patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer: a randomized controlled trial. Fertil steril. 2007, 87 (2), pp.283-287.

