

SO SÁNH TỈ LỆ TRẺ SINH SỐNG GIỮA CHUYỂN PHÔI PHÂN CHIA VỚI PHÔI NÉN TẠI THỜI ĐIỂM 66 ± 2 GIỜ SAU ICSI SỬ DỤNG HỆ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY ĐƠN BƯỚC Ở BỆNH NHÂN TTTON

Luu Thị Minh Tâm, Trần Thị Thuý An, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Trần Tú Cẩm, Phạm Dương Toàn, Huỳnh Gia Bảo, Hồ Mạnh Tường
Hope Research Center, Bệnh viện Mỹ Đức

DOI 10.46755/vjog.2019.1.600

Tóm tắt

Mục tiêu: So sánh các kết quả lâm sàng của việc chuyển phôi ngày 3 hoặc ở giai đoạn phân chia hoặc có dấu hiệu nén sớm khi được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy đơn bước (SSM).

Phương pháp: Đoàn hệ tiến cứu được thực hiện tại IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức. Tiêu chuẩn nhận: phụ nữ trải qua chu kỳ điều trị IVF/ICSI thoả (i) ≤ 2 chu kỳ điều trị, (ii) kích thích buồng trứng bằng GnRH antagonist (iii) phôi được nuôi cấy trong môi trường đơn bước (Life Global®) và (iv) đồng ý chuyển 2 phôi hoặc ở giai đoạn nén sớm hoặc giai đoạn phân cắt, có 7-9 tế bào, phân mảnh $\leq 20\%$. Kết cục chính là tỷ lệ trẻ sinh sống. Kết cục phụ là các tỷ lệ: thai lâm sàng, làm tổ, thai diễn tiến, thai ngoài tử cung và sẩy thai.

Kết quả: Từ tháng 12/2016 đến tháng 4/2018, có 430 bệnh nhân được nhận, tương ứng 215 bệnh nhân mỗi nhóm. Độ tuổi trung bình ở nhóm được chuyển phôi nén sớm nhỏ hơn đáng kể so với nhóm được chuyển phôi phân chia ($32,7 \pm 4,5$ so với $33,7 \pm 4,7$ tuổi; $P = 0,03$). Hiệu chỉnh (OR) tỷ lệ trẻ sinh sống khi chuyển phôi nén sớm so với phôi phân chia vào ngày 3 sau chu kỳ chuyển phôi đầu tiên là 1,02 (95% [CI] 0,69-1,51) và 0,9 (95% CI 0,57-1,41). Tỷ lệ trẻ sinh sống lần lượt là 32,6% và 33,0%. Các kết cục phụ khác không có khác biệt thống kê giữa hai nhóm.

Kết luận: Chuyển hai phôi ngày 3 hoặc giai đoạn phân chia hoặc có dấu hiệu nén sớm cho kết cục thai kì giống nhau khi được nuôi cấy trong SSM.

Abstract

Background and aim: In sequential medium culture system, transfer of early compacting embryo has been shown to increase pregnancy rate. However, data on transfer of early compacting day 3 embryos resulted from single step medium (SSM) is limited. The aim of this study is to compare the clinical outcomes of transfer of early compacting or cleavage day-3 embryos cultured in SSM.

Methods: A prospective cohort study was conducted at IVFMD, My Duc Hospital, Viet Nam. Women underwent IVF/ICSI were eligible if

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
Luu Thị Minh Tâm,
email: thaoguyen@hosrem.vn
Ngày nhận bài (received): 22/05/2019
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
20/07/2019
Ngày bài báo được chấp nhận đăng
(accepted): 01/09/2019

they had (i) ≤ 2 IVF cycles, (ii) controlled ovarian hyperstimulation by GnRH antagonist protocol (iii) embryos cultured in single-step media (Life Global®) and (iv) 2 embryos transferred, either in early compacting or cleavage stage and having 7-9 cells, fragmentation $\leq 20\%$. Primary outcome was on-going pregnancy rate. Secondary outcomes were the rates of clinical pregnancy, implantation, ectopic pregnancy, miscarriage and live birth.

Results: Between December 2016 and April 2018, there were 430 patients recruit-ed, 215 patients in each group. The mean age in women from early compacting group was significantly lower than that from cleavage group (32.7 ± 4.5 vs. 33.7 ± 4.7 , $p=0.03$, respectively). Ongoing pregnancy rate was 36.3% in patients transferred with early compacting embryos and 35.8% in patients transferred with cleavage embryos. Crude and adjusted odd ratio (OR) of early compacting compared with cleavage day-3 embryos for ongoing pregnancy rate after first ET cycle were 1.02 (95% confidence interval [CI] 0.69-1.51) and 0.9 (95% CI 0.57-1.41), respectively. Other secondary outcomes were not statistically significant difference between the two groups.

Conclusion: In the SSM, transfer of two early compacting or two cleavage day-3 embryo resulted in the same pregnancy outcomes.

1. Tổng quan tài liệu

Đánh giá quá trình phát triển của phôi thông qua hình thái và động học phân chia vẫn đang được sử dụng phổ biến như là một tiêu chuẩn để lựa chọn được phôi có tiềm năng nhất để chuyển. Ở giai đoạn phân chia, tốc độ phát triển quá nhanh hoặc quá chậm sẽ ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi. Những phôi có số lượng tế bào khác với các thông số đã được đưa ra thường cho số lượng bất thường nhiễm sắc thể nhiều hơn (Alpha Istanbul consensus, 2011). Việc ứng dụng hệ thống quan sát hình ảnh liên tục - timelapse trong IVF đã cho phép quan sát chi tiết hơn về động học phát triển của phôi. Nghiên cứu của Densai (2014) trên những phôi được chọn từ timelapse được ghi nhận làm tổ thành công (KID+) sẽ có các mốc thời gian biến mất của tiền nhân (tPNf) sớm hơn và các thời điểm phân chia t2, t3, t5 và t8 nhanh hơn những phôi không làm tổ (KID-). Một nghiên cứu khác trên nhóm phôi phân mảnh tại trung tâm CARE Fertility cho thấy quá trình nén của phôi nếu xảy ra dưới 22 giờ cho mối tương quan đáng kể với tỷ lệ thể nguyên bội.

Sự phiên mã của bộ gen phôi mặc dù bắt đầu vào ngày 3, nhưng thực sự hoạt động vào ngày 4.

Những phôi trải qua giai đoạn này có tiềm năng phát triển cao và có thể tham gia vào quá trình nén và tạo khoang. Trong suốt giai đoạn đầu của pha nén, các phôi bào bắt đầu kết dính với nhau và khó phân biệt từng tế bào riêng rẽ cũng như ranh giới giữa các tế bào dần biến mất cho đến khi phôi hoàn toàn nén chặt. Cuối cùng vào cuối giai đoạn nén, ranh giới giữa các tế bào xuất hiện trở lại, số lượng phôi bào tăng lên và quá trình tạo khoang bắt đầu (Tao J, 2002), kết quả hình thành phôi nang ở ngày thứ 5. Ngoài ra, chỉ có khoảng một nửa số phôi có chất lượng tốt vào ngày 3 trải qua quá trình này vào ngày 4. Một số tác giả cho rằng sự nén của phôi vào ngày 4 là một tiêu chí tốt cho việc lựa chọn phôi và đề nghị chuyển phôi ở giai đoạn phôi dâu khi phôi đã nén chặt. Mặc dù sự nén thường xảy ra vào ngày 4, nhưng nó có thể xảy ra sớm hơn vào ngày 3 trước giai đoạn 8 tế bào.

Trong khi đó những tài liệu y văn về hiện tượng nén sớm do tốc độ phân chia nhanh vào ngày 3 vẫn còn hạn chế. Sự gia tăng mRNA trong quá trình phiên mã trước ngày 3 đại diện cho một số

lượng nhỏ hoạt động phiên mã của phôi ưu tiên ổn định khi số lượng mRNA thuộc dòng mẹ đang giảm nhanh chóng và làn sóng phiên mã bộ gen là độc lập với số lượng tế bào, xảy ra sớm hơn ngày 3, ngay cả những phôi có ít hơn 8 tế bào (Dobson, 2004). Trong nghiên cứu của IwataK và cs., 2014 cho thấy mặc dù thời gian của quá trình nén dao động từ giai đoạn 4-16 tế bào nhưng gần 90% số phôi được phân tích bắt đầu nén từ giai đoạn 8 tế bào trở đi và vẫn có đến 13,9% số phôi khởi sự nén trước giai đoạn 8 tế bào. Javier và cs., (2013) đưa ra sự đa dạng thời gian nén của phôi trong suốt giai đoạn phát triển vào ngày 3, vẫn có một tỷ lệ nhỏ nén trong giai đoạn 55-70 giờ sau ICSI.

Hai nghiên cứu hồi cứu của Skiadass CC, 2006 và Le Cruguel S, 2013 đưa ra gợi ý rằng hiện tượng này lại là một tiên lượng tốt cho tiềm năng phát triển của phôi, là một tiêu chí bổ sung cho việc lựa chọn phôi. Cụ thể, tỷ lệ làm tổ tương quan chặt chẽ với mức độ nén của phôi và xu hướng tỷ lệ thai khi chuyển phôi nén được cải thiện cao hơn có ý nghĩa thống kê khoảng 3 lần so với phôi chưa nén. Hơn nữa, dấu hiệu nén sớm có liên quan mật thiết đến cơ hội làm tổ mà không phụ thuộc vào những yếu tố khác như tuổi mẹ hay chất lượng phôi (Le Cruguel S, 2013).

Gần đây, nghiên cứu của nhóm tác giả Kim J (2017) sử dụng hệ thống timelapse quan sát trên phôi chuột tại các mốc thời gian phân cắt và nén. Kết quả cho thấy tỷ lệ làm tổ tăng lên đáng kể khi lần phân cắt thứ 3 (từ giai đoạn 2 đến giai đoạn 4 tế bào) diễn ra sớm ≤ 9 giờ và kèm theo đó là hiện tượng nén sớm (từ 2 tế bào lên phôi đầu) ≤ 40 giờ ($P < 0,05$). Ngoài ra, một trong những yếu tố tác động đến quá trình phát triển của phôi chính là môi trường nuôi cấy. Trong nghiên cứu của Goedele, 2010 khi so sánh với phôi được nuôi cấy trong môi trường chuyển tiếp thì phôi được nuôi cấy trong môi trường đơn bước có số phôi bào nhiều hơn vào ngày 2 và ngày 3 và cho thấy phôi phát triển nhanh hơn trong môi trường đơn bước.

Như vậy, đã có ghi nhận về hiện tượng phôi nén sớm hoặc phôi phát triển nhanh trong môi trường nuôi cấy đơn bước ở cả động vật và người. Vậy liệu những phôi nén sớm cũng có tiềm năng như những phôi vẫn còn phân cắt thường quy đã được ghi nhận? Nghiên cứu này sẽ góp phần trả lời câu hỏi trên.

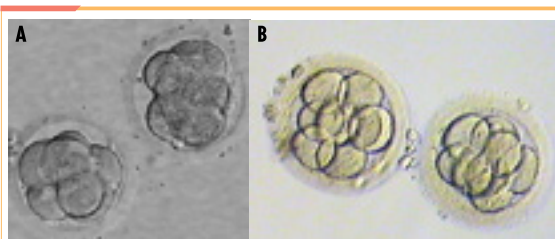
2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu được tiến hành tại đơn vị hỗ trợ sinh sản IVFMD trực thuộc bệnh viện Đa Khoa Mỹ Đức, từ tháng 12 năm 2016 đến tháng 4 năm 2018. Đối tượng thực hiện nghiên cứu là những phụ nữ điều trị TTON tại trung tâm thoả các tiêu chuẩn nhận sau: (i) trong độ tuổi 18-42, sử dụng noãn tự thân (ii) số chu kỳ điều trị IVF ≤ 2 , (iii) NMTC được xác định phù hợp chuyển phôi tươi ngày 3 và (iv) có ít nhất 2 phôi ngày 3 (7-9 tế bào, phân mảnh $\leq 20\%$) hoặc đang ở giai đoạn phân chia hoặc có hiện tượng nén sớm khi được đánh giá chất lượng dựa trên các tiêu chí từ đồng thuận Istanbul ở mốc thời gian trung bình là 66 ± 2 giờ sau ICSI. Tất cả bệnh nhân sẽ được cung cấp văn bản thông tin và bản đồng thuận tham gia nghiên cứu.

Ở nhóm phôi phân chia, tối đa 02 phôi thoả các tiêu chí trên và chưa có hiện tượng nén sẽ được chuyển vào buồng tử cung người phụ nữ.

Ở nhóm phôi nén, việc đánh giá phôi có dấu hiệu nén sớm khi bắt đầu xuất hiện sự liên kết giữa các tế bào, có thể nhìn thấy nhưng vẫn có thể đếm được số lượng tế bào của phôi thoả các tiêu chí của phôi ngày 3 theo đồng thuận. Tối đa 2 phôi có tỷ lệ phân mảnh dưới 20% và có dấu hiệu nén sớm này sẽ được chuyển vào buồng tử cung người phụ nữ.



Hình 1: Phôi ngày 3 được chuyển có dấu hiệu nén sớm (A) và phôi ngày 3 phân chia (B)

Sau 14 ngày chuyển phôi, bệnh nhân được hẹn thử thai (beta-hCG). Yếu tố đánh giá kết quả chính là tỷ lệ thai diễn tiến. Ngoài ra các yếu tố phụ khác bao gồm: tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ thai ngoài tử cung, tỷ lệ sẩy thai và tỷ lệ trẻ sinh sống.

Các số liệu sẽ được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn hay dưới dạng phần trăm. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm định bằng Stu-dent's t-test. Các giá trị phần trăm được kiểm định sự khác biệt bằng Chi-square test. Ngưỡng khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi $P < 0,05$.

3. Kết quả

Từ tháng 12 năm 2016 đến hết tháng 4 năm 2018, tổng cộng 430 phụ nữ thực hiện TTON tại trung tâm đồng ý tham gia nghiên cứu với 215 bệnh nhân ở mỗi nhóm.

Các đặc điểm của bệnh nhân, kết quả phôi học và kết cục lâm sàng sau chuyển phôi trong nghiên cứu được đưa ra trong Bảng 1, 2, 3.

Bảng 1. Đặc điểm nền bệnh nhân thuộc nghiên cứu

Đặc điểm khảo sát	Nhóm phôi nén sớm	Nhóm phôi phân cắt	Giá trị p
Tuổi người vợ (năm)	32,7±4,5	33,7±4,7	0,03
AMH (ng/ml)	4,0±2,5	3,7±2,7	0,34
BMI (kg/m ²)	21,3±2,6	21,2±2,5	0,56
Thời gian vô sinh (năm)	4,3±3,2	4,0±3,4	0,32
Số chu kỳ TTON (%)			
• 1	182 (84,7)	176 (81,9)	0,52
• 2	33 (15,3)	39 (18,1)	
Chỉ định TTON (%)			
• Bất thường tinh trùng	62 (28,8)	58 (27,0)	0,1
• Giám dự trữ buồng trứng	47 (21,9)	61 (28,4)	
• Tai vôi	37 (17,2)	38 (17,7)	
• Chưa rõ nguyên nhân	43 (20,0)	24 (11,2)	
• Khác	26 (12,1)	34 (15,7)	

Bảng 2. Kết quả phôi học

Đặc điểm khảo sát	Nhóm phôi nén sớm (n=215)	Nhóm phôi phân cắt (n=215)	Giá trị p
Số noãn chọc hút được (mean (sd))	12,63±4,99	11,76±5,17	0,75
Số noãn trưởng thành (mean (sd))	10,25±4,18	9,74±4,48	0,23
Tỷ lệ thụ tinh (%) (mean (sd))	81,44±15,86	80,95±15,52	0,82
Thời điểm kiểm tra phôi ngày 3 (giờ) (mean (sd))	66,00±1,14	66,54±1,07	0,89
Tỷ lệ phôi hữu dụng ngày 3 (%) (mean (sd))	63,81±2,95	67,34±3,98	0,76
Độ dày NMTC (mm) ngày chuyển phôi	12,0±7,2	11,5±1,5	0,36

Bảng 3. Kết quả lâm sàng sau chuyển phôi giữa 2 nhóm



4. Bàn luận

Kết quả tỉ lệ thai giữa 2 nhóm chuyển phôi nén sớm và chuyển phôi phân cắt lần lượt là 53% và 46% (p = 0,177), tỉ lệ này không khác nhau rõ rệt nhưng có xu hướng cao hơn ở nhóm chuyển phôi nén sớm. Tỉ lệ thai trung bình tất cả các trường hợp điều trị TTON tại IVFMD là 36% khi chuyển phôi thường quy (hoặc phân cắt, hoặc nén sớm hoặc hỗn hợp), và theo tác giả Le Cruguel (2013) khi chuyển phôi có ít nhất 1 phôi nén chặt (1 phôi hoặc cả 2 phôi) thì tỉ lệ thai sẽ tăng lên khoảng 14% và kết quả tỉ lệ thai ở 2 nhóm trong nghiên cứu giữa 2 nhóm chuyển phôi nén sớm và chuyển phôi phân cắt có sự tăng lên rõ rệt, cụ thể, nếu chuyển 2 phôi nén sớm thì beta-hCG đạt được là 53% (tăng 17%) so với chỉ chuyển phôi phân cắt là 46% (tăng 10%). Không có sự khác biệt thống kê các yếu tố phụ còn lại. Xu hướng sảy thai trước 12 tuần cao hơn ở nhóm chuyển phôi nén sớm nhưng chưa rõ rệt, cụ thể là 6,5% so với 2,8% (p = 0,109). Tỷ lệ thai diễn tiến đạt được giữa 2 nhóm là 35,9% và 36,3% (p = 0,99). Đây là nghiên cứu đầu tiên ghi nhận tỉ lệ trẻ sinh ra có sức sống ra đời khoẻ mạnh khi chuyển phôi nén sớm, tỉ lệ giữa 2 nhóm nén sớm so với phân cắt lần lượt là 32,6% và 33,0% (p = 0,99).

Từ các tỉ lệ trên có thể thấy dấu hiệu nén sớm là một dự đoán cho khả năng phát triển của phôi với các kết quả lâm sàng sau chuyển phôi hoàn toàn tương đương nhóm phôi phân cắt được chuyển thường quy đã được nghiên cứu rất nhiều trên thế giới, đối lập lại với một số nghiên cứu cho rằng tốc độ phát triển của phôi quá nhanh hoặc quá chậm có liên quan đến sự lệch bội của phôi. Như vậy có thể phôi phát triển đúng tốc độ nhưng có dấu hiệu gia tăng các liên kết các tế bào và dấu hiệu này không ảnh hưởng đến tốc độ phân chia sau đó của phôi.

5. Kết luận

Đây là nghiên cứu đầu tiên về kết quả lâm sàng thực hiện so sánh giữa nhóm chuyển phôi nén sớm với nhóm chuyển phôi phân cắt thường quy đã có chuẩn đánh giá cụ thể khi được nuôi

cấy trong hệ môi trường đơn bước. Theo kết quả thu nhận được, dấu hiệu nén sớm ở phôi khi được nuôi cấy trong hệ môi trường đơn bước bước đầu ghi nhận không có ảnh hưởng đến

tiềm năng phát triển của phôi. Từ đó, tiêu chí đánh giá phôi tại IVFMD đã bổ sung tiêu chí nén sớm là một trong những tiên lượng cho tiềm năng phát triển của phôi.

Tài liệu tham khảo

1. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, Balaban B., Brison D., et al. (2011). The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction* 26(6), 1270–1283.
2. Desai N., Ploskonka S., Goodman L.R., et al. (2014). Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology* 12(1), 54.
3. Tao J., Tamis R., Fink K., et al. (2002). The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Human Reproduction* 17(6), 1513–1518.
4. Dobson A.T., Raja R., Abeyta M.J., Taylor T., Shen S., Haqq C., Reijo Pera R. A. (2004). The unique transcriptome through day 3 of human preimplantation development. *Hum. Mol. Genet.* 13, 1461–1470.
5. Iwata K., Yumoto K., Sugishima M., et al. (2014). Analysis of compaction initiation in human embryos by using time-lapse cinematography. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 31(4), 421–426.
6. Skiadas C., Jackson K., Racowsky C. (2006). Early compaction on day 3 may be associated with increased implantation potential. *Fertility and Sterility* 86(5), 1386–1391.
7. Le Cruguel S., Ferré-L'Hôtellier V., Morinière C., et al. (2013). Early compaction at day 3 may be a useful additional criterion for embryo transfer. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 30(5), 683–690.
8. Kim J., Kim S.H., Jun J.H. (2017). Prediction of blastocyst development and implantation potential in utero based on the third cleavage and compaction times in mouse pre-implantation embryos. *Journal of Reproduction and Development* 63(2), 117–125.