

Đánh giá ảnh hưởng của laser trên một số chỉ tiêu hình thái phôi 3 ngày tuổi để chẩn đoán di truyền tiền làm tổ

Nguyễn Đình Tảo*, Nguyễn Ngọc Diệp, Nguyễn Thanh Tùng, Quàn Hoàng Lâm

Trung tâm Công nghệ phôi, Học viện Quân y

Ngày nhận bài 27.4.2015, ngày chuyển phản biện 4.5.2015, ngày nhận phản biện 3.6.2015, ngày chấp nhận đăng 8.6.2015

Hiện nay, có nhiều phương pháp điều trị cho các bệnh nhân (BN) hiếm muộn, trong đó phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) đóng vai trò quan trọng và ngày càng được phát triển rộng khắp trên thế giới, song tỷ lệ thành công mới chỉ đạt khoảng 30-40%. Việc lựa chọn phôi hầu như chỉ dựa trên những tiêu chuẩn về hình thái, do vậy chưa phản ánh đầy đủ chất lượng thực của phôi, dẫn đến kết quả điều trị TTTON bị hạn chế. Để nâng cao chất lượng điều trị, đồng thời sàng lọc một số bệnh di truyền, việc chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi (Preimplantation Genetic Diagnosis - PGD) là một trong những yêu cầu quan trọng và cấp thiết, nhưng để thực hiện được kỹ thuật này cần phải sinh thiết phôi. Trên cơ sở đó, các tác giả đã triển khai đề tài “Nghiên cứu hình thái phôi sau sinh thiết để chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi” nhằm đánh giá sự thay đổi hình thái phôi sau sinh thiết ngày 3 (phôi được nuôi cấy đến ngày thứ 3 trước khi sinh thiết) và tìm hiểu một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng phôi sống sót và tạo phôi túi sau sinh thiết. Đối tượng nghiên cứu là 102 phôi còn dư khi TTTON, sinh thiết ngày 3. Chất lượng phôi được đánh giá dựa theo tác giả Andres Salumets (2001) [1] với 3 tiêu chuẩn chính là: số lượng của các phôi bào trong một phôi; sự đồng đều giữa các phôi bào; tỷ lệ (%) giữa mảnh vỡ bào tương và thể tích của phôi. Kết quả cho thấy, sau sinh thiết 24 giờ, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển chung của cả 3 nhóm là 93/102 phôi, đạt 91,17% và sau 48 giờ tỷ lệ hình thành phôi túi là 83 phôi, đạt 81,37%, trong đó số phôi túi tiếp tục sống sót và phát triển (loại AA và AB) là 67 phôi, chiếm 65,68%. Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương, độ dày màng trong suốt, đường kính phôi giữa các nhóm thay đổi không có ý nghĩa thống kê. Từ kết quả nghiên cứu có thể kết luận: sinh thiết bằng tia laser không làm thay đổi hình thái phôi, khả năng sống sót và tạo thành phôi túi. Tuổi mẹ, thời gian vô sinh, nồng độ FSH (hormone kích thích nang trứng) càng cao thì tỷ lệ phôi sống sót và tạo thành phôi túi càng giảm. Phương pháp TTTON thông thường (IVF) hoặc phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) không ảnh hưởng tới tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển và tạo thành phôi túi sau sinh thiết.

Từ khóa: BN hiếm muộn, chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi, hình thái phôi, sinh thiết bằng laser.

Chỉ số phân loại 3.2

Đặt vấn đề

Vô sinh là vấn đề đang được quan tâm ngày càng nhiều trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Theo Tổ chức y tế thế giới, tỷ lệ vô sinh chiếm khoảng 10% trong các cặp vợ chồng. Tại Việt Nam, theo Nguyễn Viết Tiến và cộng sự (2013) [2], tỷ lệ vô sinh trong cộng đồng chiếm 7,5%. Ngày nay có nhiều phương pháp điều trị cho các BN hiếm muộn, trong đó phương pháp TTTON đóng vai trò quan trọng trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản và ngày càng được phát triển rộng khắp trên thế giới. Tuy nhiên, tỷ lệ thành công trong hỗ trợ sinh sản mới chỉ đạt khoảng 30-40%, và trong lĩnh vực này

còn nhiều vấn đề cần được tiếp tục nghiên cứu. Hiện nay, hầu như việc lựa chọn phôi đều dựa trên những tiêu chuẩn về hình thái của phôi. Tuy nhiên, việc đánh giá về hình thái chưa phản ánh đầy đủ chất lượng thực của phôi, nếu chỉ dựa vào các thông số về hình thái thì kết quả điều trị TTTON bị hạn chế. Để nâng cao chất lượng trong điều trị cũng như đảm bảo các trẻ TTTON khỏe mạnh về thể lực, sáng suốt về tinh thần, đồng thời sàng lọc một số bệnh di truyền, việc chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi (Preimplantation Genetic Diagnosis - PGD) là một trong những yêu cầu quan trọng, cấp thiết và thực tiễn. Nguyên tắc kỹ thuật của PGD dựa trên

*Tác giả chính: Email: dinhtao1955@gmail.com

STUDY ON EMBRYO MORPHOLOGICAL CHANGES AFTER EMBRYO BIOPSY FOR GENETIC DIAGNOSIS PRIOR TO EMBRYO TRANSFER

Summary

There are many methods for treating infertility patients, of which IVF plays an important role in the field of assisted reproduction and development and has increasingly widespread in the world. However, the success rate in assisted reproduction has only reached 30-40%. Currently, most are choosing embryos based on morphological criteria of the embryo. However, the morphological assessment does not fully reflect the true quality of the embryos if only based on morphological parameters, so the results of in vitro fertilization treatment is still limited. To improve the quality of the treatment and refinement of some genetic diseases, Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) is one of the critical, urgent and practical requirements. On that basis, the authors have conducted a project "Study on embryo morphological changes after embryo biopsy for genetic diagnosis prior to embryo transfer" to evaluate embryo morphological changes and assess some factors affecting the ability of embryo survival and creating blastocyst after biopsy. Subjects and Methods: 102 surplus embryos have been biopsied on day 3. The quality is evaluated based on the author Andres Salumets (2001) [1] on three main criteria: number of blastomeres in an embryo, uniform between embryos, and percentage rate between cytoplasm fragments and the embryo volume. The results have shown that: after 24 hours of biopsy, survival rate of embryos and further development of the 3 groups is 93 embryos in total 102 embryos, reaching 91.17%; and after 48 hours, blastocyst formation is 83, reaching 81.37%. The number of embryos that survive and continue their development (AA and AB) accounts for 65.68% (67 embryos). Cytoplasm fragment ratio, ZP thickness, embryo diameter among the groups have not changed significantly. In conclusion, laser biopsy does not alter embryo morphology, viability and blastocyst forming. The higher maternal age, duration of infertility, FSH concentration, the less survival rate of embryos and blastocyst forming. IVF or ICSI does not affect the survival rate of embryos, further development of blastocyst after embryo biopsy.

Keywords: *embryo morphology, infertility patients, laser biopsy, Preimplantation Genetic Diagnosis.*

Classification number 3.2

việc thực hiện TTON để tạo phôi, sau đó sinh thiết phôi và phân tích nhiễm sắc thể (NST) hoặc ADN bằng kỹ thuật FISH (fluorescence in situ hybridization), CGH (comparative genomic hybridization) hoặc PCR (polymerase chain reaction) [3].

Kỹ thuật sinh thiết phôi là kỹ thuật xâm lấn, đòi hỏi nhiều thao tác tỉ mỉ, chính xác. Vì vậy, trong quá trình thực hiện có thể ảnh hưởng đến chất lượng của phôi. Song song với công việc hoàn thiện quy trình sinh thiết phôi, chúng tôi tiến hành đánh giá hình thái phôi và khảo sát một số yếu tố có thể ảnh hưởng tới sự phát triển của phôi sau sinh thiết. Trên cơ sở đó, chúng tôi thực hiện đề tài "Nghiên cứu ảnh hưởng của laser trên một số chỉ tiêu hình thái phôi 3 ngày tuổi để chẩn đoán di truyền tiền làm tổ" nhằm đánh giá sự thay đổi hình thái phôi sau sinh thiết ngày 3 bằng tia laser và tìm hiểu một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng phôi sống sót và tạo phôi túi sau sinh thiết.

Tổng quan tài liệu

PGD đã được áp dụng tại nhiều nước tiên tiến trên thế giới từ những thập kỷ trước. Nguyên tắc kỹ thuật của PGD dựa trên việc thực hiện TTON để tạo phôi, sau đó sinh thiết phôi và phân tích NST hoặc ADN bằng kỹ thuật FISH, CGH hoặc PCR. Nhìn chung, kỹ thuật PGD gồm 2 bước chính: sinh thiết phôi và chẩn đoán di truyền. Kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả [3] cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ thành công cũng như khả năng phát triển tinh thần và tâm sinh lý khi so sánh trẻ sau PGD với trẻ sau khi ICSI và nhóm trẻ sinh ra từ thụ thai tự nhiên.

Sinh thiết phôi được tiến hành qua 3 bước: chuẩn bị, mở cửa sổ màng trong suốt và lấy tế bào. Có 3 phương pháp chính được dùng để mở cửa sổ màng trong suốt: cơ học, hóa học hay dùng tia laser. Hiện nay, dùng tia laser để mở cửa sổ màng zona được xem là phương pháp đơn giản, an toàn và dễ áp dụng nhất. Sự phát triển của phôi sau sinh thiết phụ

thuộc vào rất nhiều yếu tố, sau đây là một số yếu tố liên quan có thể ảnh hưởng tới hình thái phôi sau sinh thiết.

Năm 1995, sử dụng phương pháp lai huỳnh quang tại chỗ, Munne nhận thấy rằng tỷ lệ phôi bị lệch bội và số lượng mảnh vỡ tăng dần theo tuổi của người mẹ: 16% trên phụ nữ 20 đến 34 tuổi; 37% trên phụ nữ từ 35 đến 39 tuổi và cao nhất 53% ở phụ nữ trên 40 tuổi. Tác giả này năm 2002 nghiên cứu dựa trên 1 tế bào (94 phôi) và trên 2 tế bào (304 phôi) thấy rằng tỷ lệ đột biến NST (thể dị bội), mảnh vỡ tăng theo tuổi mẹ, từ 12,2% ở lứa tuổi dưới 35, đến 31% ở lứa tuổi trên 40 [4].

Nghiên cứu so sánh giữa phương pháp IVF và ICSI thấy rằng, hình thái phôi tạo ra từ 2 phương pháp trên là như nhau. Tuy nhiên, Walker M.C, Murphy K.E, Pan S (2004) cho thấy tỷ lệ NST bất thường cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm BN dùng phương pháp ICSI, khi những BN này là người mang rối loạn về NST, có tinh trùng ít, yếu và dị dạng [5]. Trong những trường hợp này, chẩn đoán trước khi làm tổ (nên được tiến hành khi xét nghiệm máu và tinh dịch đồ) thấy rằng những BN này có xu hướng truyền các bệnh về rối loạn NST.

Munne và cs [6] đã công bố kết quả so sánh mối liên quan giữa hình thái phôi và nồng độ FSH để từ đó đánh giá mối liên quan giữa nồng độ FSH cơ bản với những biến đổi hình thái phôi và sai lệch về gen trong quá trình phân bào giảm nhiễm và giai đoạn phôi phân chia. Đối với phụ nữ dưới 40 tuổi, nồng độ FSH cao, có tỷ lệ rối loạn NST, phôi độ III, độ IV tăng đáng kể ($p < 0,02$), nhưng không phụ thuộc vào nồng độ FSH. Tỷ lệ bất thường NST, phôi độ 3, độ 4 ở phụ nữ dưới 40 tuổi có nồng độ FSH trên 10 mIU/ml tương đương với tỷ lệ rối loạn NST ở phụ nữ trên 40 tuổi có cùng nồng độ FSH. Như vậy, tăng tỷ lệ rối loạn NST, hình thái phôi ở phụ nữ trên 40 tuổi không phụ thuộc vào nồng độ FSH.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Gồm 102 phôi người còn dư khi TTTON. Các đối tượng nghiên cứu được chia thành 3 nhóm:

- Nhóm I: 33 phôi của BN ≤ 30 tuổi
- Nhóm II: 39 phôi của BN từ 30 đến 35 tuổi
- Nhóm III: 30 phôi của BN > 35 tuổi

* Tiêu chuẩn lựa chọn phôi để sinh thiết: phôi được

nuôi cấy đến ngày thứ 3 trong môi trường nuôi cấy của TTTON. Các phôi có tế bào đồng đều, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương (fragment) dưới 20% (phôi độ III, độ IV).

* Tiêu chuẩn loại trừ: các phôi giai đoạn sớm độ I, độ II: các tế bào không đồng đều, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương từ 20% trở lên.

Phương pháp

Đánh giá thụ tinh và quá trình nuôi cấy phôi: khoảng 16-18 giờ sau khi tiêm tinh trùng vào trứng, trứng được đánh giá xem có thụ tinh hay không. Nếu đã thụ tinh tạo thành phôi sẽ xuất hiện 2 tiền nhân và 2 thể cực. Sau đó, phôi được đánh giá ghi điểm ở từng thời điểm 40, 68 và 112 giờ sau khi thụ tinh và đánh giá hình thái phôi sau sinh thiết 24 và 48 giờ. Số lượng, hình thể phôi bào và thể loại mảnh vỡ, độ dày màng trong suốt, đường kính phôi được thu thập để đánh giá chất lượng của phôi [7].

Các tiêu chuẩn đánh giá chất lượng phôi: đánh giá chất lượng phôi nuôi cấy ngày thứ 3 theo T. Ebner (2003) đang được áp dụng tại Trung tâm Công nghệ phôi. Theo cách cho điểm này, việc đánh giá chất lượng phôi nuôi cấy ngày thứ 3 dựa vào 3 tiêu chuẩn chính là: số lượng của các phôi bào trong một phôi; sự đồng đều giữa các phôi bào; tỷ lệ (%) giữa mảnh vỡ bào tương và thể tích của phôi [8].

- Số phôi bào (được ký hiệu là một con số).

- So sánh sự đồng đều giữa các phôi bào (được ký hiệu là một chữ cái viết hoa): A - các phôi bào đồng đều, B- các phôi bào không đồng đều.

- Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương (được ký hiệu là một con số, chính là tỷ lệ % mảnh vỡ bào tương so với thể tích của phôi): 1 - không có mảnh vỡ bào tương, 2 - tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $< 20\%$, 3 - tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $20-50\%$, 4 - tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $> 50\%$.

- Phân độ phôi theo 4 cấp độ được áp dụng để đánh giá chất lượng phôi tại Trung tâm Công nghệ phôi, Học viện Quân y theo tác giả Andres Salumets (2001) [1]: độ I - các phôi có tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $\geq 50\%$ thể tích của phôi; độ II - các phôi có tỷ lệ mảnh vỡ bào tương từ 20 đến $< 50\%$ thể tích của phôi; độ III - các phôi có số phôi bào không đồng đều và/hoặc có tỷ lệ mảnh vỡ bào tương $< 20\%$ thể tích của phôi; độ IV - các phôi có số phôi bào đồng đều, và không có hoặc có rất ít (không đáng kể) các mảnh vỡ bào tương.

Kết quả nghiên cứu

Một số đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 102 BN, mỗi BN 1 phôi được đưa vào đối tượng nghiên cứu. Trong tổng số 102 BN, chúng tôi chia làm 3 nhóm: nhóm I gồm 33 BN có độ tuổi dưới 30, chiếm 32,35%; nhóm II gồm 39 BN có độ tuổi từ 30-35, chiếm 38,24% và nhóm III gồm 30 BN có độ tuổi trên 35, chiếm 29,41%, với số lượng trên đảm bảo cho các chỉ tiêu nghiên cứu. Tuổi trung bình của tất cả các BN nghiên cứu là $29,3 \pm 3,6$ (từ 20 đến 42 tuổi), Tuổi trung bình của BN thuộc nhóm I là $21,5 \pm 3,2$ (tuổi thấp nhất là 20, tuổi cao nhất là 29). BN thuộc nhóm II có tuổi trung bình là $32,5 \pm 2,2$ (tuổi thấp nhất là 30, tuổi cao nhất là 35). BN thuộc nhóm III có tuổi trung bình là $38,4 \pm 3,0$ (tuổi thấp nhất là 36, tuổi cao nhất là 42).

Thời gian vô sinh trung bình của các BN thuộc nhóm I là $3,3 \pm 2,3$ năm, thời gian ngắn nhất là 1 năm và nhiều nhất là 5 năm. Các BN thuộc nhóm II có thời gian vô sinh trung bình là $4,1 \pm 2,6$ năm, thời gian ngắn nhất là 1 năm và dài nhất là 7 năm. Các BN thuộc nhóm III có thời gian vô sinh trung bình là $4,8 \pm 3,4$ năm, thời gian ngắn nhất là 1 năm và dài nhất là 12 năm. Qua số liệu ta thấy, thời gian vô sinh của nhóm I là ngắn nhất và thời gian vô sinh của nhóm III là dài nhất.

Sự thay đổi hình thái của phôi sau sinh thiết

Hình thái phôi ở thời điểm 3 ngày tuổi trước sinh thiết: trước khi tiến hành sinh thiết, chúng tôi tiến hành đo các chỉ tiêu để làm cơ sở so sánh, đánh giá sự thay đổi đặc điểm hình thái của các phôi trước và sau sinh thiết. Các chỉ tiêu đánh giá lần lượt là: số lượng phôi bào, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương, chiều dày màng trong suốt và đường kính phôi. Số lượng phôi bào trung bình của nhóm tuổi I, II, III lần lượt là $7,8 \pm 1,21$; $7,9 \pm 3,13$; $8,2 \pm 2,25$, độ dày màng trong suốt lớn nhất là $24,4 \mu\text{m}$ thuộc nhóm III, mỏng nhất là $7,2 \mu\text{m}$ thuộc nhóm II. Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương trung bình tương ứng của 3 nhóm là $6,21 \pm 1,23$; $5,63 \pm 1,31$; $6,82 \pm 1,27$. Chiều dày màng trong suốt được đo ngẫu nhiên ở 3 vị trí khác nhau, độ dày màng trong suốt trung bình của 3 nhóm I, II, III lần lượt là $15,70 \pm 3,14$; $16,20 \pm 2,22$; $16,60 \pm 2,42$. Đường kính phôi trung bình tương ứng 3 nhóm là $151,50 \pm 6,32$; $151,30 \pm 4,92$; $152,50 \pm 5,32 \mu\text{m}$. Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương cao nhất là 15%, phân bố nhiều nhất ở nhóm tuổi trên 35 và ít nhất ở nhóm tuổi dưới 30. Tuy vậy, sự khác biệt về số lượng phôi bào, tỷ lệ mảnh vỡ bào tương, độ dày màng trong suốt, đường

kính phôi giữa 3 nhóm tuổi không có ý nghĩa thống kê.

Phôi sau khi sinh thiết tiếp tục được nuôi trong tủ nuôi cấy Cook, sau sinh thiết lần lượt 24, 36 và 48 giờ chúng tôi lại tiến hành đo các chỉ tiêu: đường kính phôi, độ dày màng trong suốt, tỷ lệ phôi kết dính và tỷ lệ hình thành blastocyst ở mỗi nhóm tuổi để đánh giá sự phát triển của phôi sau sinh thiết.

Tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển và tỷ lệ phôi tạo blastocyst sau sinh thiết: sau sinh thiết 24 giờ, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển chung của cả 3 nhóm là 93 trong tổng số 102 phôi, đạt 91,17% và của từng nhóm I, II và III là 93,93%; 92,31%; 86,66%. Đến ngày thứ 5, tỷ lệ hình thành blastocyst chung của cả 3 nhóm là 83 phôi trong tổng số 102 phôi, đạt 81,37% và của từng nhóm là 84,84%; 82,05%; 76,66%. Sự khác biệt giữa các nhóm I và II không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm I so với III và II so với III có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst

Tuổi của BN ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst: sau sinh thiết 24 giờ, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển của từng nhóm BN là: 93,93% (nhóm I); 92,31% (nhóm II); 86,66% (nhóm III) và đến ngày thứ 5 tỷ lệ hình thành blastocyst là 84,84%; 82,05%; 76,66%. Sự khác biệt giữa các nhóm I và II không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm I so với III và II so với III có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Thời gian vô sinh của BN ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst: trong tổng số 102 phôi được nghiên cứu có 58 BN vô sinh từ 1-5 năm (nhóm I), 29 BN vô sinh từ 5-10 năm (nhóm II) và 15 BN vô sinh trên 10 năm (nhóm III). Trong đó, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển tương ứng là 91,13%; 93,10%; 86,66% và tỷ lệ phôi tạo blastocyst tương ứng là 84,48%; 82,76%; 66,66%. Sự khác biệt giữa các nhóm I và II không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm I so với III và II so với III có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Nội tiết FSH (đơn vị đo IU/l) ngày 2 chu kỳ kinh của BN ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst: trong tổng số 102 phôi được nghiên cứu có 23 BN có chỉ số nội tiết FSH ngày 2 chu kỳ kinh $< 5 \text{ IU/l}$ (nhóm I), 72 BN FSH từ 5-10 IU/l (nhóm II) và 7 BN FSH trên 10 IU/l (nhóm III). Trong đó, tỷ lệ

phôi sống sót, tiếp tục phát triển tương ứng là 91,30; 91,67; 85,71% và tỷ lệ phôi tạo blastocyst tương ứng là 84,53; 83,33; 71,42%. Sự khác biệt giữa các nhóm I và II không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm I so với III và II so với III có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Phương pháp sử dụng thuốc hormon kích thích ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst: trong tổng số 102 phôi được nghiên cứu có 53 BN sử dụng phác đồ ngắn (nhóm I), 21 BN sử dụng phác đồ dài (nhóm II) và 28 BN sử dụng phác đồ antagonist (nhóm III). Trong đó, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển tương ứng là 92,45; 95,23; 85,71% và tỷ lệ phôi tạo blastocyst tương ứng là 84,90; 80,95; 75,00%. Sự khác biệt giữa các nhóm I và II không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm I so với III và II so với III có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Phương pháp thụ tinh (IVF hoặc ICSI) ảnh hưởng tới khả năng sống sót của phôi và tạo blastocyst: trong tổng số 102 phôi được nghiên cứu có 26 bệnh nhân áp dụng phương pháp IVF, 76 bệnh nhân ICSI. Trong đó, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển tương ứng là 88,46; 92,11 và tỷ lệ phôi tạo blastocyst tương ứng là 80,76; 81,57. Sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê.

Bàn luận

Hình thái phôi trước và sau sinh thiết

Đối với phôi sinh thiết ngày 3: trong nghiên cứu, các phôi trước và sau sinh thiết đều được chia thành 4 độ dựa vào hình thái cấu trúc của phôi theo tiêu chuẩn đánh giá phôi của Salumets A (2001) [1]. Mặc dù bằng những nhận xét chủ quan nhưng lượng giá được số lượng tế bào của phôi, cấu trúc và tỷ lệ sống sót của phôi, đặc biệt là quan sát những mảnh vỡ bào tương, chúng tôi có thể đánh giá được độ phôi trước và sau sinh thiết, nhưng sự lượng giá cụ thể là cần thiết để phân độ phôi. Cho đến nay, đánh giá chất lượng phôi chủ yếu dựa vào các chỉ tiêu sau: số lượng tế bào, tỷ lệ các mảnh vỡ bào tương và sự đồng đều giữa các phôi bào. Nhiều nghiên cứu trên thế giới chỉ ra rằng, những phôi có chất lượng tốt, có số phôi bào đồng đều, có ít mảnh vỡ bào tương thì ít hoặc không bị thay đổi hình thái sau khi sinh thiết, những phôi có tỷ lệ các mảnh vỡ bào tương càng cao thì tỷ lệ sống sau sinh thiết càng giảm [9]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, những phôi độ IV sau

sinh thiết còn nguyên vẹn 100%, phôi độ III sau sinh thiết chỉ còn nguyên vẹn là 72,2%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Hershberger P.E và cs (2012) cho thấy tỷ lệ phôi phát triển không tăng khi tỷ lệ các mảnh vỡ bào tương trên 20% [9].

Một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng phôi sống sót và tạo blastocyst

Các tác giả thấy rằng, tuổi mẹ càng cao thì tỷ lệ thành công trong IVF càng thấp. Mặc dù khi chất lượng phôi đã đạt được độ III và độ IV, nhưng khi nghiên cứu trên khả năng phôi tiếp tục phát triển, tạo blastocyst của các phôi sau sinh thiết thì thấy giữa các nhóm vẫn có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đối với thời gian vô sinh, phôi có tiếp tục phát triển hay không phần lớn phụ thuộc vào chất lượng của phôi ban đầu. Hình thái của phôi sau sinh thiết không phụ thuộc vào nguồn gốc của phôi từ người mẹ có thời gian vô sinh bao nhiêu năm mà phụ thuộc vào chất lượng của phôi trước sinh thiết, tuy nhiên trong nghiên cứu này thời gian vô sinh cũng ảnh hưởng tới khả năng sống sót và tạo blastocyst của phôi, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Munne S [10].

FSH cơ bản không ảnh hưởng nhiều tới hình thái phôi sau sinh thiết, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Munne và cs đã so sánh mối liên quan giữa hình thái phôi và nồng độ FSH để từ đó đánh giá mối liên quan giữa nồng độ FSH cơ bản với những biến đổi hình thái phôi trong quá trình phát triển của phôi sau sinh thiết. Tuy nhiên, đối với phụ nữ trên 35 tuổi nồng độ FSH cao, mặc dù hình thái phôi ít phụ thuộc vào nồng độ FSH, nhưng tăng nồng độ FSH liên quan đến giảm khả năng dự trữ buồng trứng và phù hợp với tỷ lệ có thai thấp ở nhóm BN này [11]. Kết quả giữa các phác đồ dùng thuốc cho thấy, sau khi sinh thiết các phôi tiếp tục phát triển và tạo blastocyst không phụ thuộc nhiều vào phôi có nguồn gốc từ BN dùng thuốc theo phác đồ nào, tuy nhiên đối với những BN tuổi cao, thời gian vô sinh kéo dài cũng ảnh hưởng tới khả năng tạo blastocyst, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Munne và cs [10].

Walker M.C, Murphy K.E, Pan S (2004) nghiên cứu so sánh giữa phương pháp IVF và phương pháp ICSI thấy rằng, hình thái phôi tạo ra từ 2 phương pháp trên là như nhau [5]. Tuy nhiên, tỷ lệ NST bất thường cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm BN dùng phương pháp ICSI vì những BN này là người mang rối loạn về NST, có tinh trùng ít, yếu và dị dạng. Song khi phôi đã

đạt ở tiêu chuẩn phôi độ III và phôi độ IV thì không ảnh hưởng tới hình thái phôi trong quá trình phát triển sau sinh thiết [12].

Kết luận

Qua nghiên cứu hình thái 102 phôi sau sinh thiết để chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

Sinh thiết bằng tia laser không làm thay đổi hình thái phôi, khả năng sống sót và tạo thành phôi túi

Sau sinh thiết 24 giờ, tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển chung của cả 3 nhóm là 93/102 phôi, đạt 91,17% và đến ngày thứ 5 tỷ lệ hình thành phôi túi là 83 phôi, đạt 81,37%.

Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương, độ dày màng trong suốt, đường kính phôi giữa các nhóm thay đổi không có ý nghĩa thống kê.

Một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng phôi sống sót và tạo phôi túi sau sinh thiết

Tuổi mẹ, thời gian vô sinh, nồng độ FSH càng cao thì tỷ lệ phôi sống sót càng giảm.

Phác đồ sử dụng thuốc không ảnh hưởng tới tỷ lệ phôi sống sót.

Phương pháp thụ tinh IVF hoặc ICSI không ảnh hưởng tới tỷ lệ phôi sống sót, tiếp tục phát triển và tạo thành phôi túi sau sinh thiết.

Tài liệu tham khảo

[1] Salumets A, Hydén-Granskog C, Suikkari A.M, Tiitinen A (2001), “The predictive value of pronuclear morphology of zygotes in the assessment of human embryo quality”, *Hum Reprod.*, **16(10)**, pp.2177-81.

[2] Nguyễn Viết Tiến (2012), *Dịch tễ học vô sinh và các phương pháp điều trị*, Nhà xuất bản Y học.

[3] Trương Đình Kiệt, Hồ Mạnh Tường (2011), *Thiết lập quy trình kỹ thuật trong chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD) các phôi TTON*, Báo cáo đề tài cấp thành phố, 4.2011.

[4] S Munne, et al (2002), “Chromosome mosaicism in cleavage-stage human embryos: evidence of a maternal age effect”, *Reproductive BioMedicine Online*, **4(3)**, pp.123-130.

[5] Walker M.C, Murphy K.E, Pan S, Yang Q and Wen S.W (2004), “Adverse maternal outcomes in multifetal pregnancies”, *BJOG*, **111**, pp.1294-1296.

[6] Munne S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J (1995), “Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities”, *Fertil Steril*, **64**, pp.382-391.

[7] Alikani M, Cohen J, et al (1999), “Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation”, *Fertil. Steril.*, **71**, pp.836-842.

[8] Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al (2003), “Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development”, *Hum Reprod Update*, **9**, pp.251-262.

[9] Hershterger P.E, Gallo A.M, Kavanaugh K (2012), “The decision-making process of genetically at-risk couples considering preimplantation genetic diagnosis: initial findings from a grounded theory study”, *Soc Sci Med.*, **74(10)**, pp.1536-43.

[10] Munne S, Chen S, Colls P, Garrisi J, Zheng X, Cekleniak N (2007), “Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos”, *Reproductive Biomedicine Online*, **14**, pp.628-634.

[11] Nguyễn Thị Ngọc Phượng (2013), *Nội tiết sinh sản*, Nhà xuất bản Y học.

[12] Ederisinghe W.R, Murch A.R, Yovich J.L (1992), “Cytogenetic analysis of human oocytes and embryos in an in vitro fertilization program”, *Human Reproduction*, **7**, pp.230-236.