

## HÌNH THÁI HỢP TỬ GIAI ĐOẠN TIỀN NHÂN DỰ ĐOÁN CHẤT LƯỢNG PHÔI VÀ KẾT QUẢ LÂM SÀNG TRÊN BỆNH NHÂN LÀM THỤ TINH TRONG ống NGHIỆM

*Nguyễn Thanh Tùng\*; Nguyễn Đình Tào\*; Quan Hoàng Lâm\*;  
Duong Dinh Hieu\*; Nguyễn Thị Thục Anh\**

### TÓM TẮT

Sử dụng hệ thống phân loại hình thái hợp tử giai đoạn tiền nhân kết hợp với hình thái phôi giai đoạn phân chia để lựa chọn các phôi có tiềm năng phát triển, tăng tỉ lệ có thai sau cấy chuyển phôi đã được nhiều trung tâm thụ tinh trong ống nghiệm áp dụng.

Phân tích 377 hợp tử của 52 bệnh nhân (BN) dựa trên hệ thống phân loại hình thái hợp tử của Lynette Scott và Smith (1998), chia ra 4 loại: Z1, Z2, Z3, Z4. Tỉ lệ Z1 chiếm 25,19%, Z2 50,13%, Z3 18,56% và Z4 6,12%.

Phôi giai đoạn phân chia ngày thứ 2 có nguồn gốc từ Z1 và Z2 thường có hình thái phôi tốt, chiếm nhiều hơn và tỉ lệ thai lâm sàng đạt 33,33%, phôi có nguồn gốc từ Z3 và Z4 có hình thái phôi tốt ít hơn và tỉ lệ thai lâm sàng đạt 7,69%, mặc dù vậy, tỉ lệ có thai giữa nhóm Z1, Z2 và Z3, Z4 vẫn chưa có sự khác biệt, với  $p > 0,05$ .

\* Từ khoá: Hình thái hợp tử;

## MORPHOLOGY OF PRONUCLEAR STAGE ZYGOTES PREDICTS EMBRYO QUALITY AND CLINICAL RESULT ON IVF PATIENTS

*Nguyen Thanh Tung; Nguyen Dinh Tao; Quan Hoang Lam;  
Duong Dinh Hieu; Nguyen Thi Thuc Anh*

### SUMMARY

*Using classification system of pronuclear stage zygotes combined with morphology of cleavage stage embryo to select potential development embryo in order to increase pregnancy rate after transferring embryo was applied in IVF centres.*

*A total of 377 zygotes of 52 patients was analysed according to classification system of Lynette Scott and Smith (1998). Of the zygotes 25.19% ( $n = 95$ ) belonged to Z1, 50.13% ( $n = 189$ ) to Z2, 18.56% ( $n = 70$ ) to Z3 and 6.12% ( $n = 23$ ) to Z4.*

*Cleavage stage embryos on day 2 derived from Z1 and Z2 had significantly better morphology, clinical pregnancy rate (33.33%) compared to embryos derived from Z3 and Z4, clinical pregnancy rate (7.69%). However, there was no difference in the pregnancy rate between Z1, Z2 and Z3, Z4 ( $p > 0.05$ ).*

*\* Key word: Morphological zygote; In vitro fertilization; Pronuclear stage.*

---

\* Học viện Quân y

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

## **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Kết quả thụ tinh ống nghiệm (VIF) phụ thuộc vào nhiều yếu tố, một yếu tố hết sức quan trọng là chất lượng phôi được chuyển vào tử cung. Phôi giai đoạn phân chia vào ngày thứ 2 khi có số lượng phôi bào từ 4 đến 5, đồng đều, tỉ lệ mảnh vỡ bào tương ở trong phôi ít là những phôi được ưu tiên cho chuyển phôi. Mặc dù các phôi này có một tỉ lệ bất thường, không thể phát triển đến giai đoạn phôi nang cũng như không thể làm tổ trong buồng tử cung theo nghiên cứu của Scott và CS 1998 [4], Terarik và CS 1999 [5]. Do vậy, các nhà phôi học đưa ra một số các tiêu chuẩn phân loại về mặt hình thái phôi giai đoạn tiền nhân để có thể chọn những phôi có tiềm năng phát triển tốt cũng như có thể dự đoán kết quả lâm sàng trên BN làm thụ tinh trong ống nghiệm. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành khảo sát hình thái phôi giai đoạn tiền nhân, mối liên quan với phôi giai đoạn phân chia và kết quả lâm sàng.

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu.**

Phân tích hình thái 377 trứng có thụ tinh bình thường của 52 BN làm thụ tinh trong ống nghiệm ở giai đoạn phôi tiền nhân và tương ứng với phôi nuôi cấy ngày thứ 2 tại Trung tâm Công nghệ Phôi từ tháng 12 - 2007 đến tháng 3 - 2008.

### **2. Phương pháp nghiên cứu.**

Thụ tinh trong ống nghiệm:

Trứng sau khi chọc hút, tùy theo chỉ định BN sẽ được hỗ trợ thụ tinh bằng kỹ thuật IVF hoặc tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI). Sau đó, nuôi cấy trứng trong

môi trường IVF- V5 của hãng Vitrolife, đặt trong tủ ấm Forma (USA) 37°C, CO<sub>2</sub> 6%.

Đánh giá trứng thụ tinh sau 16 - 18 giờ đối với kỹ thuật ICSI và 18 - 20 giờ đối với kỹ thuật IVF. Đặt mỗi một trứng thụ tinh bình thường ở giai đoạn tiền nhân vào trong một giọt môi trường 10 µl G1-V5 có phủ dầu ovoil trong đĩa Petri của hãng Falcon. Đánh giá hình thái phôi tiền nhân trên kính hiển vi soi ngược Olympus IX 70 có gắn kính tương phản Hoffman, độ phóng đại 200 lần. Phân loại hình thái phôi giai đoạn tiền nhân theo Lynette Scott (1998) [4] dựa trên kích thước, số lượng, sự phân bố các hạt nhân trong mỗi một tiền nhân và kích thước hai tiền nhân theo 4 loại:

- Z1: kích thước hai tiền nhân bằng nhau. Mỗi tiền nhân có số lượng hạt nhân và kích thước cân bằng từ 3 - 7 và sắp xếp có tính phân cực.

- Z2: kích thước hai tiền nhân bằng nhau. Mỗi tiền nhân có số lượng hạt nhân và kích thước cân bằng, nhưng các hạt nhân sắp xếp không có tính phân cực.

- Z3: kích thước hai tiền nhân không đều. Số lượng, kích thước các hạt nhân không đồng đều hoặc sắp xếp không có tính phân cực.

- Z4: kích thước hai tiền nhân không đồng đều, nhỏ và đặt không đúng vị trí. Các hạt nhân nhỏ, không có tính phân cực.

Đánh giá hình thái phôi nuôi cấy đến ngày thứ 2 theo Andres Salumets (2001) [1] dựa theo số phôi bào, độ đồng đều các phôi bào, bào tương phôi bào, tỉ lệ mảnh vỡ bào tương trong phôi, chia thành 4 độ:

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

## SỐ CHUYÊN ĐỀ HÌNH THÁI HỌC CHÀO MỪNG 60 NĂM NGÀY TRUYỀN THỐNG HỌC VIỆN QUÂN Y

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

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

- Phôi độ I: phôi có tỉ lệ mảnh vỡ bào tương chiếm > 50% thể tích của phôi theo Andres Salumets (2001).

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

Sau 14 ngày chuyển phôi, lấy máu BN để định lượng  $\beta$ HCG, nếu > 50 iu/ml, xác định có thai sinh hóa và khi siêu âm có tim thai, xác định có thai lâm sàng.

### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Qua phân tích hình thái 377 phôi giai đoạn tiền nhân của 52 BN làm IVF chúng tôi thấy có 4 loại hình thái giai đoạn tiền nhân như Lynette Scott. Trong đó loại Z2 có tỉ lệ cao nhất (50,19%), loại Z4 chiếm tỉ lệ thấp nhất (6,12%) (bảng 1). Kết quả nghiên cứu tương tự như Lynette Scott (1998), Jan Tesarik (1999), Andres Salumes (2001) [1, 4, 5].

\* Phân loại hình thái hợp tử: Z1: 95 phôi (25,19%); Z2: 189 phôi (50,13%); Z3: 70 phôi (18,56%); Z4: 23 phôi (6,12%).

Hình thái phôi tiền nhân Z1 và Z2 thường phát triển thành các phôi giai đoạn phân chia có chất lượng tốt, tốc độ phân chia nhanh (độ IV, III). Ngược lại, hình thái phôi tiền nhân Z3 và Z4 có ít phôi tốt và nhiều phôi loại kém (độ II và I) (bảng 1). Kết quả nghiên cứu này tương tự của Giuseppe

De Placido và CS (2002) [3], Scotte (1998) [4].

**Bảng 1:** Phôi giai đoạn tiền nhân tương ứng với phôi 2 ngày.

PHÔI	PHÔI ĐỘ IV	PHÔI ĐỘ III	PHÔI ĐỘ II	PHÔI ĐỘ I
Z1 (95)	35 (36,84%)	55 (57,89%)	5 (5,27%)	0 (0%)
Z2 (189)	18 (9,52%)	131 (69,31%)	36 (19,04%)	4 (2,13%)
Z3 (70)	1 (1,42%)	24 (34,28%)	31 (44,28%)	14 (20,02%)
Z4 (23)	0 (0%)	3 (13,06%)	10 (43,47%)	10 (43,47%)

\* Tỉ lệ có thai (13/39 BN) đạt 33,33% ở BN có phôi giai đoạn tiền nhân Z1, Z2. Loại Z3 và Z4 cho kết quả có thai thấp (1/13 BN) (7,69%). Mặc dù vẫn chưa thấy sự khác biệt ( $p > 0,05$ ). Theo Tesarik, Scott, Swittimer, phôi Z1 và Z2 là những phôi có tiềm năng phát triển tốt, tỉ lệ có thai có thể đạt 49 - 50% [4, 5, 2]. Ngược lại, khi phôi tiền nhân đạt loại trung bình (Z3), tỉ lệ có thai chỉ đạt 9% [5].

**Bảng 2:** Kết quả lâm sàng của chuyển phôi ngày 2 tương ứng với các loại phôi giai đoạn tiền nhân.

Số BN	Phôi chuyển có nguồn gốc từ các loại hợp tử	Số phôi chuyển ( $X \pm SD$ )	Số BN có thai lâm sàng	Tỉ lệ thai lâm sàng
10	Z1	3, 9 $\pm$ 0,8	5	50%
20	Z1 + Z2	3,45 $\pm$ 1,2	6	30%
9	Z2	3,44 $\pm$ 1,3	2	22,22%
7	Z3	3, 28 $\pm$ 1,02	1	14,28%
6	Z4	2, 5 $\pm$ 0,78	0	0%

### **KẾT LUẬN**

Phôi ngày 2 xuất phát từ phôi giai đoạn tiền nhân loại Z1 và Z2 là loại phôi tốt (độ IV và III). Còn phôi ngày 2 loại Z3 và Z4 thường có ít phôi tốt, phần nhiều là các loại phôi kém (độ II và I). Với đặc điểm này chúng ta có thể dự đoán phôi giai đoạn phân chia và kết quả trên một BN, ngay tại giai đoạn phôi tiền nhân, cũng như lựa chọn phôi có tiềm năng.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. *Andres Salumets, Christel Hyden Granskog, Anne Maria Suikkaro, Aila Tiitinen and Timo Tuuro.* Human Reproduction. 2001, Vol.16, N<sup>o</sup>10, pp. 2177 - 2181.
2. *C. Swittemer, K.Bettahar Lebugle, J.Ohl, C.Rongieres, I. Nisand and P.Gerlinger.* Zygote evaluation: an efficient tool for embryo selection. Human reproduction. 2000, Vol.15, N<sup>o</sup>12, pp. 2591 - 2597.
3. *Giuseppe De Placido, Martil Wilding, Ida Strina, Erminia Alviggi, Antonio Mollo, Maria Teresa Varicchino, Achille Tolino, Cristina Schiattarella and Brian Dale.* High outcome predictability after IVF using combined score for zygote and embryo morphology and growth rate. Human reproduction. 2002, Vol.17, N<sup>o</sup>9, pp. 2402 - 2409.
4. *Lynette A. Scott and Samuel Smith.* The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. Human reproduction. 1998, Vol.13, N<sup>o</sup>4, pp. 1003 - 1013.
5. *Jan Tesarik and Ermanno Greco.* The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. Human reproduction, 1999, Vol.14, N<sup>o</sup>5, pp. 1318 - 1323.

