

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Minh Đức

NGHIÊN CỨU HÌNH THÁI NOÃN VÀ PHÔI NGƯỜI
TRONG THỤ TINH ỒNG NGHIỆM

Chuyên ngành: Sinh lý học người và động vật

Mã số: 9420101.04

(DỰ THẢO) TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội, 2023

Công trình được hoàn thành tại:
Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên - ĐHQGHN

Người hướng dẫn khoa học: **GS. TS. Nguyễn Đình Tảo**
PGS. TS. Trịnh Hồng Thái

Phản biện:

Phản biện:

Phản biện:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng cấp Đại học Quốc gia chấm luận án tiến sĩ họp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN vào ngày ... tháng ... năm ...

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

- Trung tâm Thư viện và Tri thức số, Đại học Quốc gia Hà Nội.

MỞ ĐẦU

Theo tổ chức Y tế Thế giới, tỷ lệ hiếm muộn trên thế giới khoảng 15% và có hàng triệu người bị ảnh hưởng bởi căn bệnh này. Tại Việt Nam, GS. Nguyễn Viết Tiến (2011) thực hiện một điều tra về hiếm muộn và cho thấy tỷ lệ này là khoảng 7,7%. Với 100 triệu dân, số lượng bệnh nhân hiếm muộn có thể lên đến hàng triệu.

Trong các biện pháp thực hiện điều trị, một trong những biện pháp cuối cùng đó là Thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON). Mục tiêu của một chu kỳ TTTON luôn là bệnh nhân an toàn có em bé khỏe mạnh chào đời. Nhưng chặng đường đi này cần có một loạt công đoạn bao gồm thăm khám, sử dụng thuốc, thu nhận giao tử, nuôi cấy phôi, chuyển phôi, trữ rã giao tử và phôi (nếu có), và các bước chăm sóc sản khoa cho đến khi chào đời. Như vậy, những công đoạn sử dụng thuốc và thu nhận giao tử có thể xem là những bước quan trọng đầu tiên thực hiện trên bệnh nhân. Và tất cả các bước sau đó sẽ sử dụng kết quả trên làm tiền đề. Một trong những tiền đề quan trọng đó chính là tiềm năng của noãn hay chất lượng tổng thể của noãn (oocyte competence).

Trên thế giới, nghiên cứu về chất lượng noãn có thể chia làm ba nhánh: hình thái noãn, hình ảnh trên kính phân cực (thoi vô sắc và các hình ảnh lưỡng cực – birefringence), đặc điểm di truyền của noãn (thông qua phân tích thể cực). Phân tích di truyền của noãn gián tiếp thông qua thể cực là một biện pháp xâm lấn thì hình ảnh trên kính phân cực đã xác định rất rõ các tiêu chí đánh giá và đồng thuận cao. Tuy nhiên, cho đến nay, những đánh giá này vẫn chưa thể phổ biến rộng do số lượng noãn nhiều, giá

thành và mức độ phổ biến trong triển khai. Biện pháp phổ biến và áp dụng được thường quy với chi phí phù hợp là hình thái noãn.

Nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam về hình thái noãn đến nay còn nhiều hạn chế và mâu thuẫn trong kết quả. Trên thế giới, hạn chế của nghiên cứu hình thái noãn gồm ba phần. Phần hạn chế thứ nhất trước khi thụ tinh là sử dụng nhiều phác đồ khác nhau dẫn đến thông số hình thái cũng khác nhau, tuổi mẹ không đề cập đến, và không loại bỏ yếu tố tinh trùng. Hạn chế thứ hai là số lượng noãn nghiên cứu không đủ lớn để kết luận và hạn chế cuối cùng đó là chỉ nghiên cứu một hình thái noãn trong khi một noãn có rất nhiều hình thái noãn có thể kết hợp. Những hạn chế này làm giảm tính giá trị của nghiên cứu hình thái noãn. Tại Việt Nam, không nằm ngoài vòng nghiên cứu của thế giới, nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Hà (2017) và Nguyễn Duy Ánh (2018), mặc dù đã loại bỏ yếu tố tinh trùng nhưng hình thái noãn kết hợp không được nghiên cứu trong cả hai nghiên cứu trên, đồng thời không tìm thấy mối liên quan giữa hình thái noãn và hình thái phôi.

Đề tài **“Nghiên cứu hình thái noãn và phôi người trong thụ tinh ống nghiệm”** được thực hiện với các mục tiêu:

1. Xác định được tỷ lệ từng hình thái noãn và một số yếu tố ảnh hưởng đến hình thái noãn.

2. Đánh giá tỷ lệ thụ tinh hình thành hợp tử hai tiền nhân, phôi tốt hai ngày tuổi của từng hình thái noãn, tìm hiểu về mối liên quan của hình thái noãn với kết cục của thụ tinh trong ống nghiệm.

1. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU CỦA LUẬN ÁN

Để thực hiện được mục tiêu của đề tài, nội dung triển khai nghiên cứu bao gồm:

1.1. Xác định tỷ lệ từng hình thái noãn và một số yếu tố ảnh hưởng

- Thu thập noãn và phân chia theo số lượng hình thái, đánh giá noãn theo đồng thuận Alpha. Xác định tỷ lệ các dạng hình thái.
- Thu thập thông số về tuổi mẹ, số lượng noãn, tỷ lệ trưởng thành, tổng liều FSH (Follicle stimulating hormon). Xác định ảnh hưởng của các yếu tố đó đến các dạng hình thái noãn.

1.2. Xác định tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của từng hình thái noãn

- Nuôi cấy riêng mỗi noãn cho đến phôi hai ngày tuổi. Đánh giá tỷ lệ thụ tinh, phôi tốt hai ngày tuổi của từng hình thái.
- Xác định ảnh hưởng của các hình thái noãn đến khả năng thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi.

1.3. Phân tích mối liên quan của hình thái noãn với kết cục của TTTON

- Theo dõi quá trình chuyển phôi của nhóm bệnh nhân, xác định yếu tố hình thái noãn ảnh hưởng đến tỷ lệ có em bé sinh sống.
- Nuôi cấy từng noãn đến giai đoạn phôi nang, thực hiện sinh thiết phôi để sàng lọc di truyền tiền làm tổ (Preimplantation genetic testing - PGT). Xác định mối liên quan của hình thái noãn với chất lượng phôi nang.

2. TÍNH MỚI, Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

2.1. Tính mới của đề tài luận án

- Đề tài luận án là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam cung cấp dữ liệu về tỷ lệ hình thái noãn theo số lượng bất thường trong một noãn theo đánh giá của đồng thuận Alpha.

- Đề tài luận án là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam xác định được mối liên quan giữa hình thái noãn và chất lượng phôi hai ngày tuổi.

- Đề tài luận án là nghiên cứu đầu tiên công bố tại Việt Nam về mối liên quan giữa hình thái noãn và tỷ lệ em bé sinh sống, thực hiện khảo sát với cả chất lượng phôi nang bao gồm cả kết quả PGT.

2.2. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án

- Kết quả của đề tài sẽ được sử dụng như một định hướng về nghiên cứu hình thái noãn sau này, bao gồm việc xác định số lượng bất thường và thông số ảnh hưởng đến kết cục của hình thái noãn đến phôi.

- Hình thái phôi hai ngày tuổi được xác định có ảnh hưởng từ hình thái noãn, việc lựa chọn hình thái noãn cho việc lưu trữ phôi phân cắt có thể xem xét đến cả hình thái noãn nếu chất lượng phôi khi đó tương đương.

- Kết quả luận án cho phép tiên lượng cho việc lựa chọn phôi nang sinh thiết cho chẩn đoán tiền làm tổ. Đồng thời mở ra một hướng nghiên cứu sát hơn về mối liên quan giữa hình thái noãn, hình thái phôi nang, tỷ lệ lưỡng bội và tỷ lệ làm tổ của phôi.

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Thụ tinh trong ống nghiệm

Thụ tinh trong ống nghiệm bao gồm một loạt các quy trình cho phép sự thụ tinh của giao tử xảy ra ở bên ngoài cơ thể. TTTON bắt đầu xuất hiện tại Việt Nam từ những năm 1997.

1.2. Sơ lược quá trình phát triển noãn và phác đồ kích thích buồng trứng

1.2.1. Sơ lược quá trình phát triển noãn: noãn có số lượng hạn chế, cần có sự phát triển của nang noãn đi kèm với yếu tố nội tiết. Noãn trưởng thành hoàn toàn khi trưởng thành cả về nhân và tế bào chất.

1.2.2. Sơ lược phác đồ kích thích buồng trứng – Phác đồ Antagonist: dựa vào hiểu biết về yếu tố nội tiết, quá trình kích thích buồng trứng giúp tăng số lượng noãn thu được.

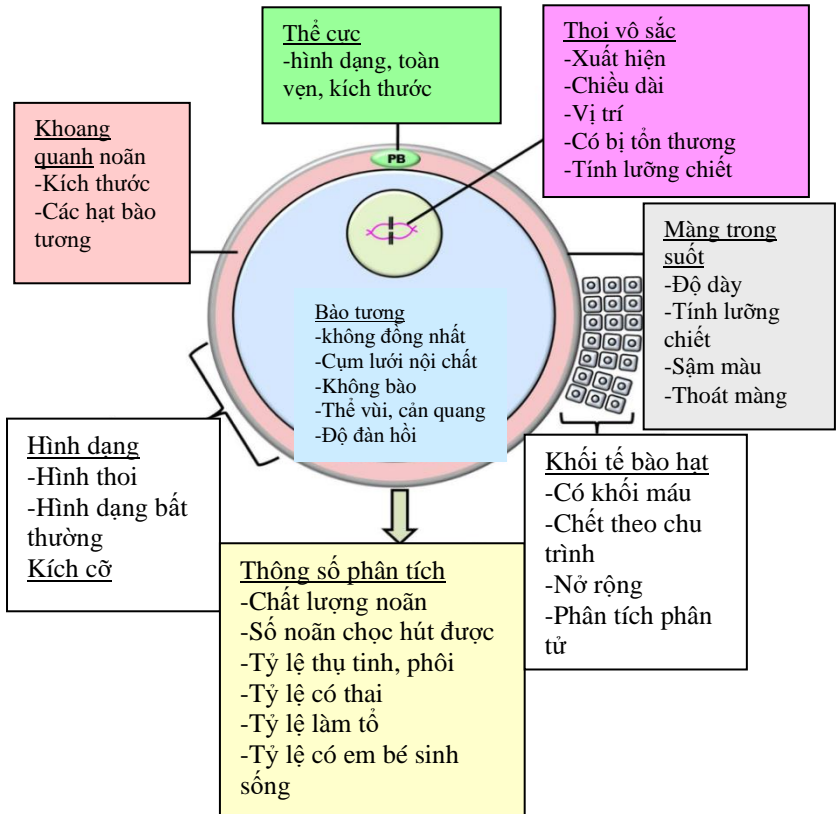
1.3. Đánh giá noãn

1.3.1. Đánh giá về tế bào hạt: đồng thuận Alpha xác định gồm hai loại tốt và không tốt.

1.3.2. Đánh giá về trưởng thành nhân và thoi vô sắc: Để nhận biết được noãn đã trưởng thành về nhân, dấu hiệu bao gồm: sự xuất hiện thể cực và thoi vô sắc. Về hình thái nhân trên kính hiển vi trường sáng thông thường, noãn trưởng thành là noãn xuất hiện 1 thể cực (Polar body – PB): MII (Metaphase II – kỳ giữa II).

1.3.3. Đánh giá về hình thái: Một noãn trưởng thành được miêu tả bao gồm hình dạng bên ngoài bào tương: màng trong suốt (Zone pellucida – ZP) bao quanh, một khoang quanh noãn (perivitelline space - PVS) có chứa PB. Bào tương noãn được miêu tả có xuất hiện các hạt trong bào tương (condensed granular – CG) phân bố khác nhau (tập trung tại trung tâm: Centrally located cytoplasmic granulation – CLCG hoặc phân tán:

Heterogenous granulation - HG), các lưới nội chất co cụm (smooth endoplasmic reticulum – SER), thể cản quang (refractile body -RF), không bào (vacuoles - VAC) (hình 1.8).



Hình 1.8. Các tiêu chí đánh giá hình thái noãn.

1.4. Đánh giá Phôi

Phôi từ giai đoạn hợp tử (hai tiền nhân – 2PN) đến giai đoạn phôi nang được đánh giá theo đồng thuận Alpha về chất lượng phôi và thời điểm đánh giá.

1.5. Hình thái noãn và ảnh hưởng đến kết cục của TTTON

Những nghiên cứu về hình thái noãn trên thế giới còn nhiều bàn luận khi các nghiên cứu không thống nhất về ảnh hưởng của hình thái noãn đến chất lượng phôi và kết cục TTTON

1.6. Nghiên cứu hình thái noãn tại Việt Nam

Nghiên cứu hình thái noãn: Nguyễn Mạnh Hà (2017) và Nguyễn Duy Ánh (2018) chưa xác định được tỷ lệ cũng như mối liên quan đến hình thái phôi. Nghiên cứu hình thái phôi: Luận án Tiến sỹ Y khoa của Nguyễn Thanh Tùng (2011) đưa ra kết quả nghiên cứu hình thái hợp tử và phôi ngày hai, cùng ảnh hưởng của hình thái nghiên cứu đến kết cục của TTTON. Luận án Tiến sỹ Y khoa của Dương Đình Hiếu (2016) đưa ra kết quả nghiên cứu hình thái phôi 3 và 5 ngày tuổi, ảnh hưởng của hình thái phôi đến các kết cục trên.

CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm: 10404 noãn trưởng thành. Hợp tử và phôi hai ngày tuổi từ 2447 noãn đã loại bỏ yếu tố tinh trùng (ít, yếu, dị dạng, thủ thuật và trữ).

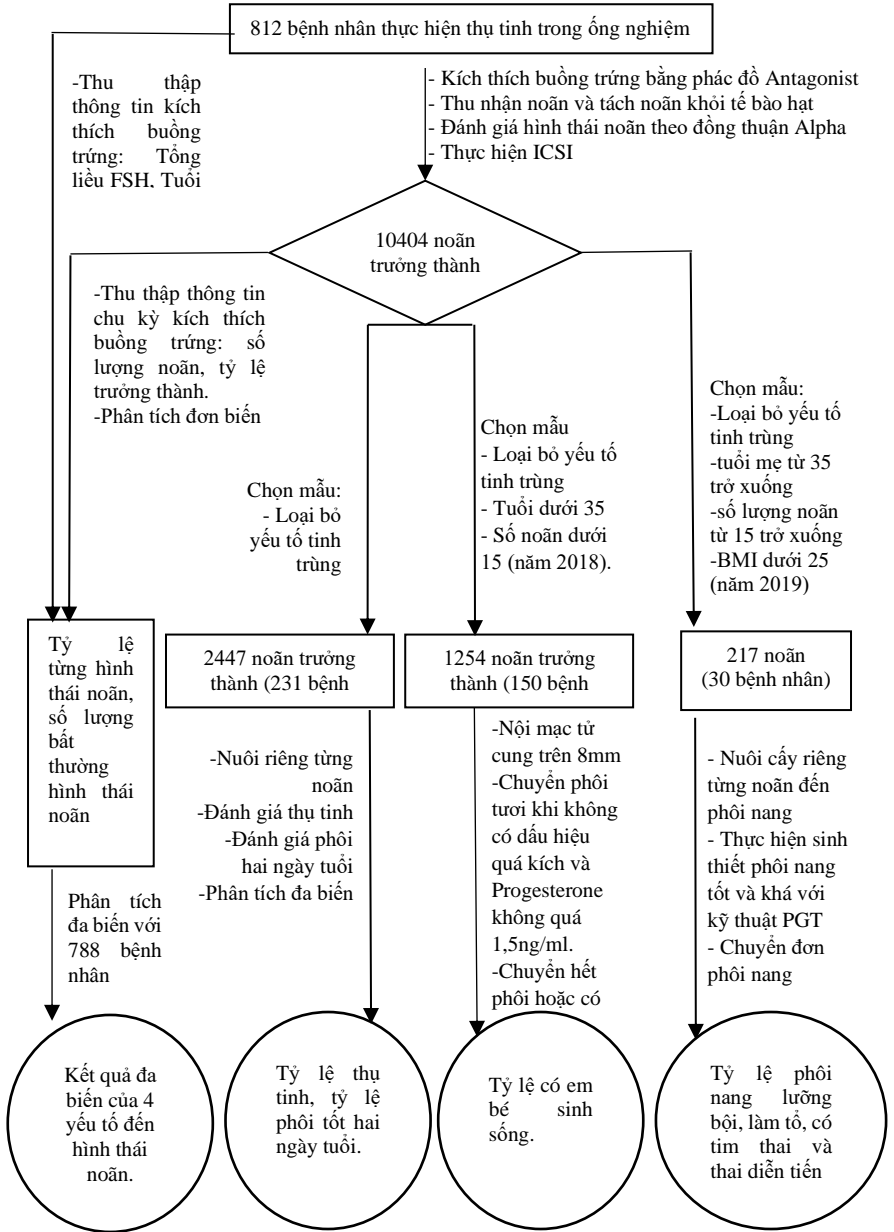
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:

Bệnh viện Chuyên khoa Nam học và Hiếm muộn Hà Nội.

2.3. Phương pháp và thiết kế nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang đối với mục tiêu số một: tại thời điểm ICSI (intracytoplasmic sperm injection), noãn được đánh giá hình thái. Phương pháp nghiên cứu mô tả tiến cứu đối với mục tiêu số hai: tại thời điểm ICSI, noãn được đánh giá tương tự như mục tiêu 1. (hình 2.10).

2.4. Biến số và chỉ số trong nghiên cứu



Hình 2.10. Sơ đồ nghiên cứu

Mục tiêu 1: biến số là 9 loại hình thái: ZP (sậm và bất thường hình dạng), PVS (hẹp, có hạt, và rộng), PB (kích thước lớn, phân mảnh, có hình dạng bất thường), CG (CLCG và HG), RF, SER, VAC, bất thường hình dạng ngoài của noãn, và noãn bình thường với biến nhị phân. Chỉ số bao gồm: tỷ lệ từng loại hình thái noãn. Xem xét yếu tố ảnh hưởng đến hình thái noãn, gồm tuổi mẹ, số lượng noãn, tỷ lệ trưởng thành và tổng liều FSH trung bình. Phân tích đa biến với các biến số tuổi mẹ, số lượng noãn, tỷ lệ trưởng thành, và tổng liều FSH đến các tỷ lệ hình thái noãn bất thường. Mục tiêu 2: Biến số là 9 loại hình thái noãn và số lượng bất thường trong một noãn đi kèm. Chỉ số là tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt ngày 2 của từng loại. Chỉ số khác theo dõi đến giai đoạn chuyển phôi và PGT để xác định ảnh hưởng của hình thái noãn đến tỷ lệ em bé sinh sống và phôi nang lưỡng bội.

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ noãn với từng hình thái

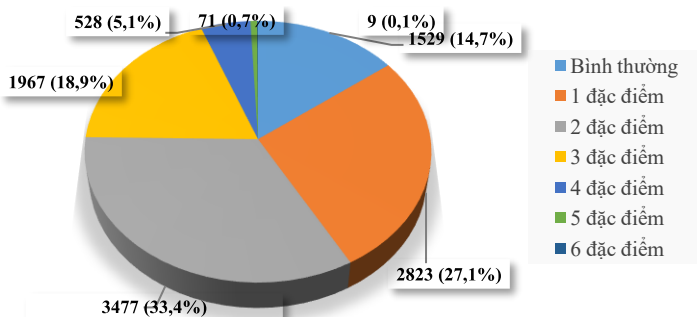
3.1.1. Tỷ lệ hình thái noãn phân chia theo từng hình thái trong tổng số noãn thu thập: Thông tin về từng loại hình thái noãn thống kê trong bảng 3.1, trong đó số lượng noãn bất thường về bào tương có hạt là lớn nhất chiếm 49,94% và số lượng noãn PVS hẹp chiếm tỷ lệ nhỏ nhất 0,56%. Như vậy, có đến 85,30% (8875/10404) noãn có ít nhất một trong những bất thường kể trên.

3.1.2. Tỷ lệ hình thái noãn theo số lượng bất thường: Hình 3.1 biểu diễn tỷ lệ noãn theo số lượng đặc điểm bất thường, một noãn có tối đa 06 điểm bất thường nhưng chiếm số lượng rất ít (9/10404 noãn). Tỷ lệ theo số lượng noãn bất thường như sau:

Noãn chiếm tỷ lệ cao nhất là noãn có 02 đặc điểm bất thường:
3477 noãn (chiếm 33,4%).

Bảng 3.1. Tỷ lệ từng hình thái noãn

TT	Đặc điểm hình thái noãn		Số lượng (noãn)	Tỷ lệ%
1	Hình dạng noãn bất thường		261	2,51
2	ZP	Sậm màu	487	4,68
		Hình dạng bất thường	1044	10,03
		Tổng số	1273	12,24
3	PVS	Không có	58	0,56
		rộng	2863	27,52
		hạt	3138	30,16
		Tổng số	3930	37,77
4	PB	Phân mảnh	3014	28,97
		lớn	275	2,64
		Hình dạng bất thường	1184	11,38
		Tổng số	4016	38,60
5	CG	CLCG	1463	14,06
		HG	3733	35,88
		Tổng số	5196	49,94
6	VAC		284	2,73
7	SER		1739	16,71
8	RF		1500	14,42
9	Noãn bình thường		1529	14,70
	Tổng số noãn		10404	



Hình 3.1. Tỷ lệ hình thái noãn theo số lượng bất thường

3.1.3. Tỷ lệ hình thái noãn có đúng một bất thường

3.1.4. Tỷ lệ hình thái noãn chỉ có hai và ba bất thường.

3.1.5. Đặc điểm hình thái noãn và tuổi mẹ: Tuổi mẹ trung bình của nhóm có đặc điểm hình dạng noãn bất thường, ZP hình dạng bất thường, PB phân mảnh, PB lớn, PB hình dạng bất thường, PVS hẹp, SER, và VAC nhỏ hơn tuổi mẹ của nhóm không có đặc điểm hình thái đó với $p < 0,05$.

3.1.6. Đặc điểm hình thái noãn và số lượng noãn: Số lượng noãn trung bình theo các đặc điểm hình thái của nhóm noãn bất thường đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm noãn không bất thường với $p < 0,05$.

3.1.7. Đặc điểm hình thái noãn và tỷ lệ trưởng thành noãn: Tỷ lệ trưởng thành noãn ở nhóm ZP sậm màu và PVS hạt thấp hơn so với nhóm không có đặc điểm này với $p < 0,05$. Nhóm hình dạng noãn bất thường, SER và RF có tỷ lệ trưởng thành cao hơn so với nhóm không có lưới nội bào với $p < 0,05$.

3.1.8. Đặc điểm hình thái noãn và tổng liều FSH: Tổng liều FSH trung bình của nhóm PVS hạt (2381 IU), PB phân mảnh

(2352 IU), PB bất thường (2314 IU), HG (2394 IU), VAC (2279 IU) và RF (2366 IU) thấp hơn so với nhóm không có cùng đặc điểm bất thường với $p < 0,05$. Tổng liều FSH trung bình của nhóm CLCG (2492 IU) cao hơn so với nhóm không cùng đặc điểm bất thường với $p < 0,05$.

3.1.9. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến tỷ lệ noãn theo từng

hình thái: Phân tích hồi quy logistic đa biến cho kết quả: trừ PB bất thường và HG, còn lại, các mô hình hồi quy đều phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Tuổi mẹ lớn làm gia tăng noãn với PVS rộng và PVS hạt, nhưng lại làm giảm noãn với PVS hẹp. Tỷ lệ noãn trưởng thành cao làm tỷ lệ xuất hiện VAC và SER càng lớn. Số lượng noãn tăng sẽ làm tăng các hình thái bất thường nhưng không ảnh hưởng đến PVS hẹp. Tổng liều FSH làm tăng số lượng noãn ZP hình dạng bất thường và CLCG nhưng làm giảm số lượng noãn PB phân mảnh và PVS hạt.

3.2. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi theo hình thái noãn

3.2.1. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình dạng

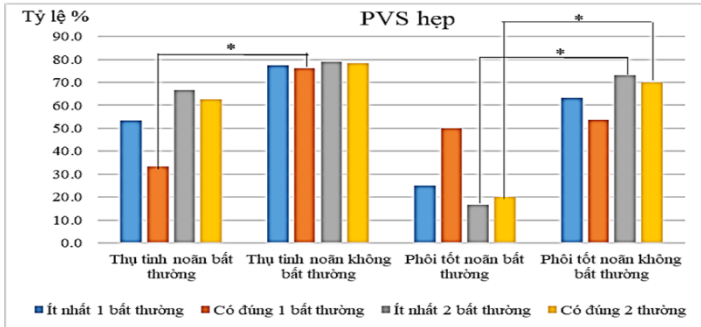
bất thường: Tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi không khác biệt so với nhóm không cùng đặc điểm với toàn bộ giá trị $p > 0,05$.

3.2.2. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có ZP bất

thường: Noãn có hình thái ZP sậm có tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi không khác biệt so với nhóm không cùng đặc điểm với toàn bộ giá trị $p > 0,05$. Noãn có hình thái ZP hình dạng bất thường có tỷ lệ thụ tinh của noãn ZP hình dạng bất thường ở nhóm có ít nhất một bất thường (83,3%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm với $p < 0,05$. Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi không có khác biệt ($p > 0,05$).

3.2.3. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình thái

PVS bất thường: Noãn PVS hẹp (hình 3.4) có tỷ lệ thụ tinh từ 33,3% đến 66,7% và phôi tốt hai ngày tuổi từ 16,7% đến 50,0%.



Hình 3.4. Đồ thị biểu diễn tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của noãn có và không có PVS hẹp. *: tỷ lệ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong kiểm định Fisher Exact, $p < 0,05$.



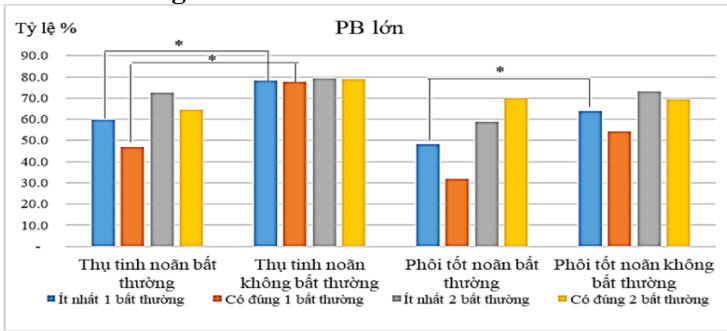
Hình 3.4. Noãn PVS hẹp

A. Noãn PVS hẹp, mũi tên chỉ PVS hẹp. B. Hợp tử hai tiền nhân

Nhóm noãn PVS hẹp được so sánh ở hình 3.4. Noãn có PVS rộng có tỷ lệ thụ tinh của noãn PVS rộng ở nhóm có đúng một bất thường (89,8%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm với $p < 0,05$. Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi không có khác biệt ($p > 0,05$). Noãn có PVS hạt có tỷ lệ thụ tinh của noãn PVS hạt ở nhóm có ít nhất một bất thường (84,2%) và có ít nhất hai bất thường (84,3%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm

($p < 0,001$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi của noãn có PVS hạt ở nhóm có ít nhất một bất thường (74,7%) và có ít nhất hai bất thường (76,4%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm với $p < 0,01$

3.2.4. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình thái PB bất thường:



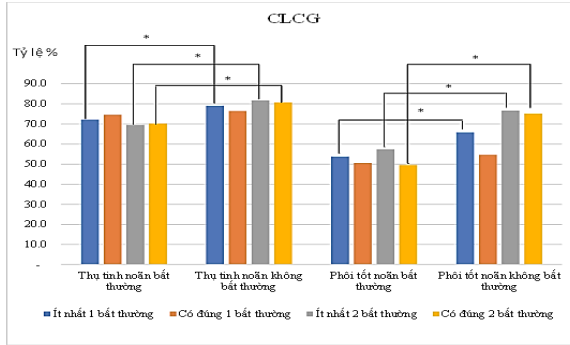
Hình 3.10. Đồ thị biểu diễn tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của noãn có và không có PB lớn.

*: kiểm định χ^2 cho kết quả khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

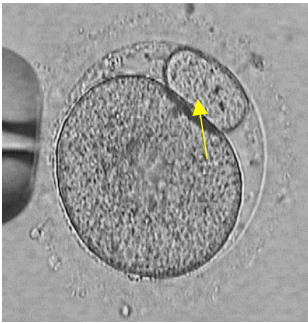
Noãn có hình thái PB phân mảnh có tỷ lệ thụ tinh của noãn PB phân mảnh ở nhóm có ít nhất một bất thường (82,0%) và ít nhất hai bất thường (83,1%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm ($p < 0,01$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi của noãn PB phân mảnh ở nhóm có ít nhất một bất thường (73,2%) và ít nhất hai bất thường (76,8%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm với $p < 0,01$. Noãn có hình thái PB lớn có tỷ lệ thụ tinh từ 46,8% đến 72,3% và chất lượng phôi tốt hai ngày tuổi từ 31,8% đến 70,0%. Nhóm noãn PB lớn được so sánh ở hình 3.10. Noãn PB bất thường hình dạng có tỷ lệ thụ tinh của noãn PB bất thường hình dạng ở nhóm có đúng hai bất thường (66,7%) thấp hơn so

với các noãn không cùng đặc điểm ($p < 0,05$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi của noãn PB bất thường hình dạng không có sự khác biệt với $p > 0,05$.

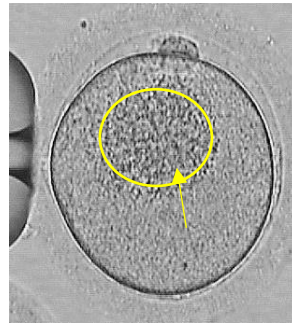
3.2.5. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn CG:



Hình 3.12. Đồ thị biểu diễn tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của noãn có và không có đặc điểm CLCG. *: kiểm định χ^2 cho kết quả khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.



Hình 3.8. Noãn PB lớn



Hình 3.10. Noãn CLCG

(mũi tên chỉ điểm bất thường)

Hình 3.12. Biểu diễn các khác biệt của nhóm noãn CLCG. Noãn HG có tỷ lệ thụ tinh ở nhóm có ít nhất một bất thường (80,3%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm ($p < 0,05$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi ở nhóm có ít nhất một bất thường (67,4%),

nhóm có ít nhất hai bất thường (76,3%) và nhóm có đúng hai bất thường (75,3%) cao hơn so với các noãn không cùng đặc điểm ($p < 0,01$).

3.2.6. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn VAC: Noãn VAC có tỷ lệ thụ tinh ở nhóm có ít nhất một bất thường (66,1%) và nhóm có ít nhất hai bất thường (64,2%) thấp hơn so với noãn không có đặc điểm ($p < 0,05$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi của noãn VAC không có sự khác biệt ($p > 0,05$).


3.2.7. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn SER: Noãn SER có tỷ lệ thụ tinh ở nhóm có đúng hai bất thường (69,4%) và có ít nhất hai bất thường (73,2%) thấp hơn so với noãn không có đặc điểm ($p < 0,05$). Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.8. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn RF: Noãn RF có tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm không cùng đặc điểm ($p > 0,05$).

3.2.9. Tổng hợp ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi (bảng 3.25).

3.2.10. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn theo từng số lượng hình thái: Tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của nhóm có một bất thường (53,6%), hai bất thường (69,4%) và ba bất thường (79,1%) cao hơn so với nhóm noãn bình thường (47,1%) với $p < 0,05$. Thực hiện phân tích hồi quy logistic đa biến đã thu được các hệ số hồi quy tương ứng với từng hình thái noãn với khả năng thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi, các mô hình hồi quy đều phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Một số hình thái ảnh hưởng đến khả năng thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi.

Bảng 3.25. Tổng hợp ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi

S T T	Hình ảnh	Đặc điểm hình thái noãn	ít nhất 1 bất thường	Có đúng 1 bất thường	Ít nhất 2 bất thường	Có đúng 2 bất thường
1		Hình dạng bất thường	0	0	0	0
2		ZP sẫm màu	0	0	0	0
3		ZP hình dạng bất thường	F(+)	0	0	0
4		PVS hẹp	0	F(-)	E(-)	E(-)
5		PVS rộng	0	F(+)	0	0
6		PVS hạt	F(+)	0	F(+),E(+)	0
7		PB phân mảnh	F(+), E(+)	0	F(+),E(+)	0
8		PB lớn	F(-), E(-)	F(-)	0	0
9		PB bất thường	0	0	0	F(-)
10		CLCG	F(-), E(-)	0	F(-), E(-)	F(-), E(-)
11		HG	F(+),E(+)	0	E(+)	E(+)
12		VAC	F(-)	0	F(-)	0
13		SER	0	0	0	F(-)
14		RF	0	0	0	0

Ghi chú: 0: không ảnh hưởng, (+): làm tăng tỷ lệ, (-): làm giảm tỷ lệ. F: tỷ lệ thụ tinh.
E: tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi.

3.3. Hình thái noãn và mối liên quan với kết cục TTTN

3.3.1. Tỷ lệ em bé sinh sống: Bảng 3.28: noãn có PVS rộng làm giảm tỷ lệ có em bé, noãn bình thường làm tăng tỷ lệ có em bé.

Bảng 3.28. Tỷ lệ em bé sinh sống với tuổi mẹ dưới 35 và số noãn chọc hút được ít hơn 15

Đặc điểm hình thái noãn	Chu kỳ có em bé/ Số chu kỳ có đặc điểm hình thái		Chu kỳ có em bé/ số chu kỳ không có đặc điểm hình thái		p
	Số lượng/ tổng số	Trung bình/ tỷ lệ %	Số lượng/ tổng số	Trung bình/ tỷ lệ %	
Tuổi mẹ	-	29,85	-	29,75	0,838
Số noãn chọc hút	-	10,48	-	10,51	0,961
Hình dạng bất thường	6/16	37,5%	69/134	51,5%	0,304
ZP sậm	59/118	50,0%	16/32	50,0%	1,000
ZP bất thường	47/93	50,9%	28/57	49,5%	0,868
Không có PVS	0/2	0,0%	75/148	50,7%	0,497*
PVS rộng	48/108	44,4%	27/42	64,3%	0,029
PVS hạt	49/103	47,6%	26/47	55,3%	0,382
PB phân mảnh	56/111	50,5%	19/39	48,7%	0,854
PB lớn	10/24	41,7%	65/126	51,6%	0,376
PB bất thường	34/69	49,3%	41/81	50,6%	0,871
CLCG	38/66	57,6%	37/84	44,0%	0,101
HG	48/99	48,5%	27/51	52,9%	0,608
VAC	13/28	46,4%	62/122	50,8%	0,678
SER	44/81	54,3%	31/69	44,9%	0,254
RF	30/69	43,5%	45/81	55,6%	0,142
Noãn bình thường	45/77	58,4%	30/73	41,1%	0,034

Ghi chú: so sánh tỷ lệ có em bé sinh sống của nhóm có đặc điểm hình thái noãn và không có đặc điểm hình thái noãn bằng kiểm định χ^2 . *: sử dụng kiểm định Fisher Exact.

3.3.2. Hình thái noãn và mối liên quan với phôi nang

Do số lượng phôi nang thực hiện sinh thiết chưa đủ lớn, các tỷ lệ phôi nang lưỡng bội đều không khác nhau có ý nghĩa thống kê $p > 0,05$.

Bảng 3.31. Kết quả khảo sát bước đầu hình thái noãn và mối liên quan đến chất lượng phôi nang

Hình thái noãn	Số noãn	Số phôi nang (tỷ lệ %)	Số phôi nang sinh thiết	Số phôi nang lưỡng bội	Tỷ lệ phôi nang lưỡng bội (%)	P	
ZP sậm màu	1	0	-	-	-		
Không PVS	1	0	-	-	-		
PVS rộng	76	47 (61,8)	33	20	60,6	0,41	
PVS hạt	21	11 (52,4)	8	3	37,5	0,46*	
PB phân mảnh	44	26 (59,1)	16	8	50,0	0,68	
PB lớn	5	3 (60,0)	2	0	0,0	0,20*	
PB bất thường	9	6 (66,7)	5	4	80,0	0,37*	
CLCG	42	23 (54,8)	18	10	55,6	0,94	
HG	UG	59	21 (35,6)	28	15	53,6	0,89
	DG	23	8 (34,8)	4	3	75,0	1,00*
VAC	6	1 (16,7)	1	1	100,0	1,00*	
SER	8	5 (62,5)	4	2	50,0	1,00*	
RF	38	21 (55,3)	13	4	30,8	0,07	
Noãn bình thường	24	19 (79,2)	19	10	52,6	0,84	
Tổng số	217	129 (59,4)	95	52	54,7		

Ghi chú: so sánh tỷ lệ phôi nang lưỡng bội của nhóm có đặc điểm hình thái noãn và không có đặc điểm hình thái noãn với kiểm định χ^2 . UG: noãn HG rìa. DG: noãn HG phân tán toàn bộ. *: sử dụng kiểm định Fisher Exact.

CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ hình thái noãn

Kết quả ban đầu cung cấp thông tin về các tỷ lệ hình thái noãn dựa vào từng nhóm có số lượng bất thường khác nhau từ nhóm có duy nhất một bất thường, nhóm có ít nhất một bất thường, nhóm có đúng hai bất thường và nhóm có từ hai bất thường trở lên. Đây có thể coi là một trong những dữ liệu đủ cho việc phân tích nhóm theo từng số lượng bất thường với 10404 noãn. Nhóm có một bất thường duy nhất thì tỷ lệ thấp nhất về bất thường noãn thuộc về hình thái noãn PVS hẹp là 0,3%, tiếp đó là

không bào 0,8%. Phân bố của hình thái noãn không thực sự đồng đều và không phải hình thái noãn nào cũng dàn trải trên khắp các số lượng bất thường. Ở những số lượng lớn về bất thường, sự tập trung về 4 nhóm chính là PB phân mảnh, bào tương hạt phân tán, PVS rộng và hạt. Tỷ lệ hình thái noãn rất khác nhau theo từng nghiên cứu.

4.2. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của từng hình thái noãn

4.2.1. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình dạng bất thường: ít được nghiên cứu, chủ yếu nghiên cứu noãn không lồ.

4.2.2. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình thái ZP bất thường: Có đến 7 nghiên cứu đưa ra kết luận là noãn ZP sậm không ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh hay chất lượng, các ZP bất thường hình dạng ít được chú ý. Điều này có thể lý giải một phần do ZP là rào cản thụ tinh với cơ chế tự nhiên, các trường hợp thụ tinh tự nhiên và nhân tạo nếu gặp vấn đề với ZP là lý do dễ bệnh nhân thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm. Nhưng rào cản này không còn khi thực hiện kỹ thuật ICSI và tinh trùng được tiêm trực tiếp vào bào tương.

4.2.3. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình thái PVS bất thường: Có ba nghiên cứu trên tổng 13 nghiên cứu về PVS hạt cho rằng có ảnh hưởng từ hình thái noãn này đến các kết cục về phôi hoặc kết cục sản khoa như có thai. Đặc điểm PVS rộng được chú ý hơn cả với số lượng nghiên cứu trải rộng từ khi bắt đầu thực hiện ICSI cho đến nay. Trong 15 bài báo đề cập đến PVS rộng, có 10 nghiên cứu cho rằng PVS rộng không ảnh hưởng đến hiệu quả thụ tinh và chất lượng phôi, 5 nghiên cứu cho rằng ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh, chất lượng phôi hoặc tỷ lệ có thai,

làm tổ sau này. Như vậy rất ít nghiên cứu cho rằng tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi bị ảnh hưởng.

4.2.4. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có hình thái PB bất thường: PB được miêu tả trong 18 nghiên cứu và có đến 8 nghiên cứu cho rằng có ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi, có duy nhất một nghiên cứu cho rằng có ảnh hưởng tích cực hoặc phải xác định đúng thời điểm đánh giá. Đặc điểm PB lớn là dấu hiệu của quá trình giảm phân bất thường khi tham chiếu trên kính hiển vi phân cực và sự bất thường trong quá trình phân chia của noãn. Kết luận về hình thái noãn PB, chỉ có noãn có PB lớn có thể được xem là ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi trong điều trị.

4.2.5. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có bào tương hạt: Phân tích hình thái bào tương noãn có hạt là một trong số những nghiên cứu được thực hiện nhiều nhất với 24 nghiên cứu. Trong đó, có những nghiên cứu được thực hiện đến cả tỷ lệ có em bé sinh sống, hoặc các nghiên cứu với số lượng noãn rất lớn trên 6000 noãn. Kết luận chung khi so sánh với tỷ lệ thụ tinh, chất lượng phôi đều dẫn đến tỷ lệ noãn có hạt trung tâm là yếu tố tiên lượng không tốt, còn noãn có bào tương hạt rải rác một phần được xem như không ảnh hưởng với tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi.

4.2.6. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có không bào: Trong số 14 nghiên cứu về noãn VAC, hầu hết đều cho rằng noãn VAC ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi đặc biệt noãn có không bào lớn trên 14 μm hoặc có nhiều không bào nhỏ. Chất lượng phôi của noãn có không bào cũng được chú ý nhưng ít có ghi nhận là ảnh hưởng đến chất lượng phôi.

4.2.7. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có lưới nội chất co cụm (SER): Trong 21 nghiên cứu về noãn SER, một số nghiên cứu là ảnh hưởng của noãn SER làm giảm tỷ lệ thụ tinh và chưa có nghiên cứu nào đưa ra giảm chất lượng phôi.

4.2.8. Tỷ lệ thụ tinh và chất lượng phôi của noãn có thể cản quang RF: Takahashi (2020) thực hiện nghiên cứu với 272 bệnh nhân có 3185 noãn được nghiên cứu. Tỷ lệ làm tổ của phôi nang từ noãn có RF cũng thấp hơn, ngay cả khi chuyển cùng chất lượng phôi nang thì tỷ lệ làm tổ này cũng vẫn thấp hơn.

4.2.9. Số lượng bất thường hình thái trên cùng một noãn và phân tích đa biến: Tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt/khá của noãn có đúng hai bất thường ở nghiên cứu Balaban (1998) và Ebner (2008) đều tương đương với nghiên cứu của chúng tôi.

4.3. Kết quả lâm sàng của một số hình thái noãn

Hiệu quả chuyển phôi nang rất rõ rệt so với phôi phân cắt và PGT-A góp phần tăng hiệu quả điều trị nhất định trong nhóm bệnh nhân có chỉ định rõ ràng. Trong nhóm đơn phôi nang, kết quả của chúng tôi là 66,7% tỷ lệ làm tổ và có thai lâm sàng. Công bố của Wang (2023) về sử dụng cùng lúc nuôi phôi nang bằng hệ thống timelapse – theo dõi phôi tự động, PGT-A kết hợp với đánh giá hình thái noãn trên 64 bệnh nhân. Nghiên cứu đã đưa ra tỷ lệ hình thái noãn CLCG ở mức độ 3 sẽ ảnh hưởng đến tỷ lệ chuẩn bội của phôi. So sánh của nghiên cứu chỉ nhằm vào nhóm có hình thái bào tương vì số lượng chiếm tỷ lệ lớn.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu về hình thái noãn và phôi người trong thụ tinh ống nghiệm, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Tỷ lệ hình thái noãn và một số yếu tố ảnh hưởng

- Đã xác định được được 8 nhóm đặc điểm bất thường của hình thái noãn (màng trong suốt, khoang quanh noãn, PB thứ nhất, hình dạng noãn, các hạt trong bào tương, không bào, lưới nội chất co cụm và thể cản quang) trên 10404 noãn trưởng thành được thu thập từ 812 bệnh nhân. Các hình thái noãn chiếm tỷ lệ cao bao gồm PVS (37,77%), PB thứ nhất (38,60%) và các hạt trong bào tương (49,94%). Trong đó, noãn có ít nhất một hình thái bất thường là 85,30%.

- Đánh giá hình thái noãn được phân chia theo số lượng bất thường hình thái trong một noãn. Các hình thái noãn thường không xuất hiện đơn lẻ, noãn có đúng hai hình thái bất thường chiếm 33,4% (tỷ trọng lớn nhất), nhưng noãn có từ hai hình thái bất thường trở lên chiếm hơn một nửa (58,2%).

- Hình thái noãn bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như tuổi mẹ, tổng liều FSH, số lượng noãn, và tỷ lệ trưởng thành noãn. Tuổi mẹ ảnh hưởng đến nhóm đặc điểm PVS. Số lượng noãn ảnh hưởng đến toàn bộ 14 đặc điểm hình thái noãn. Tỷ lệ trưởng thành noãn ảnh hưởng đến noãn SER và RF. Tổng liều FSH ảnh hưởng đến noãn ZP hình dạng bất thường, PB phân mảnh, PVS hạt và CLCG.

2. Tỷ lệ thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi của các loại hình thái noãn

- Tỷ lệ thụ tinh của noãn và phôi tốt hai ngày tuổi bị ảnh hưởng bởi số lượng hình thái noãn bất thường, những bất thường có đúng một hình thái làm giảm tỷ lệ thụ tinh của noãn hơn là các đa bất thường.

- Tỷ lệ thụ tinh của noãn thấp hơn với noãn có hình thái PB lớn, CLCG, SER và VAC. Ngược lại, tỷ lệ thụ tinh của noãn cao hơn với noãn có hình thái ZP hình dạng bất thường, PVS rộng, PVS hạt, PB phân mảnh, PB hình dạng bất thường và HG.

- Tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi thấp hơn với hình thái noãn CLCG. Ngược lại, tỷ lệ phôi tốt hai ngày tuổi cao hơn với hình thái noãn PB phân mảnh, PVS hạt và HG.

- Khả năng thụ tinh và phôi tốt hai ngày tuổi bị ảnh hưởng bởi hình thái noãn bất thường: hình thái PB lớn và CLCG làm giảm khả năng thụ tinh, ngược lại, hình thái PVS hạt làm tăng khả năng thụ tinh. Hình thái PB lớn làm giảm khả năng tạo phôi tốt; ngược lại, ZP hình dạng bất thường, PVS hạt, PB phân mảnh và HG làm tăng khả năng tạo phôi tốt hai ngày tuổi.

- Trong nhóm bệnh nhân dưới 35 tuổi và số noãn chọc hút dưới 15 noãn, chu kỳ có PVS rộng làm giảm tỷ lệ có em bé sinh sống, ngược lại, chu kỳ có noãn bình thường làm tăng tỷ lệ có trẻ sinh sống. Tuy nhiên, không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê của hình thái noãn và phôi nang.

KIẾN NGHỊ

Theo dõi phôi đến giai đoạn phôi nang kết hợp với chuyển đơn phôi để thấy rõ ảnh hưởng của từng hình thái noãn.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.

[1]. **Nguyễn Minh Đức**, Trịnh Hồng Thái, Nguyễn Đình Tảo (2019), “Ảnh hưởng của hình thái noãn có mạng lưới nội chất SER – smooth endoplasmic reticulum đến kết quả của thụ tinh trong ống nghiệm”. *Hội nghị Hasar tại Hà Nội*.

[2]. Mai AD, Harton GL, Quang VN, Van HN, Thi NH, Thuy NP, Le Thi TH, **Minh DN**, Quoc QT. (2011), “Development and clinical application of a preimplantation genetic testing for monogenic disease (PGT-M) for beta thalassemia in Vietnam”, *J. Assist. Reprod. Genet.* Vol 38(2) p.365-374. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33216308; PMCID: PMC7884556

[3]. **Nguyễn Minh Đức**, Đặng Tiên Trường, Nguyễn Thanh Tùng (2022), “Ảnh hưởng của lưới nội chất trơn (SERs - smooth endoplasmic reticulum aggregates) đối với noãn trưởng thành đến kết quả của chu kỳ IVF”, *Tạp chí Y học Việt Nam* (518), tr. 143 - 146.