

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Thị Hồng Ngọc

**ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI ĐIỂM ĐÔNG LẠNH
LÊN HIỆU QUẢ TRƯỞNG THÀNH NOÃN VÀ KẾT CỤC
PHÔI HỌC TẠI BỆNH VIỆN SẢN NHI QUẢNG NINH
NĂM 2021 - 2024**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Hà Nội – Năm 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Thị Hồng Ngọc

**ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI ĐIỂM ĐÔNG LẠNH LÊN
HIỆU QUẢ TRƯỞNG THÀNH NOĂN VÀ KẾT CỤC PHÔI HỌC
TẠI BỆNH VIỆN SẢN NHI QUẢNG NINH NĂM 2021 - 2024**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC :

1. TS. Nguyễn Văn Hạnh

2. PGS.TS. Đỗ Thị Thảo

Hà Nội - Năm 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn



Trần Thị Hồng Ngọc

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc nhất đến TS. Nguyễn Văn Hạnh và PGS.TS. Đỗ Thị Thảo – người đã dìu dắt và hướng dẫn tôi trong suốt quá trình tôi thực hiện luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh đã tạo những điều kiện cho tôi thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn các bác sĩ, điều dưỡng, các bạn chuyên viên phôi học tại Khoa Hỗ trợ Sinh sản, Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh đã hỗ trợ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu, thu thập số liệu. Tôi xin gửi lời cảm ơn đến Ths. Vũ Thu Hằng – trưởng Labo IVF, khoa Hỗ trợ sinh sản, bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh đã giúp đỡ, đưa ra những lời khuyên và tạo điều kiện tốt nhất để tôi hoàn thành nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Lãnh đạo, các thầy cô giáo, giảng viên, các cán bộ đang công tác tại phòng Đào tạo của Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã luôn tạo điều kiện và giúp đỡ tôi để luận văn được hoàn thành.

Cuối cùng, tôi xin tỏ lòng biết ơn chân thành tới gia đình và bạn bè đã luôn ở bên cổ vũ và động viên để tôi có thể hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận văn



Trần Thị Hồng Ngọc

MỤC LỤC

Danh mục ký hiệu, chữ cái viết tắt

Danh mục bảng

Danh mục hình

Danh mục biểu đồ

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. Thụ tinh trong ống nghiệm.....	3
1.1.1. Định nghĩa	3
1.1.2. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn	3
1.1.3. Đánh giá chất lượng phôi trong thụ tinh trong ống nghiệm	3
1.2. Quá trình hình thành và phát triển của noãn	6
1.3. Trưởng thành noãn trong ống nghiệm (IVM)	8
1.4. Trữ lạnh noãn	10
1.4.1. Chỉ định	10
1.4.2. Các phương pháp trữ noãn	10
1.5. Bảo quản lạnh noãn chưa trưởng thành	12
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	16
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	16
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn	16
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	16
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	16
2.3. Thiết kế nghiên cứu	16
2.4. Cỡ mẫu	16
2.5. Các tham số nghiên cứu	17
2.6. Phương pháp tiến hành.....	19
2.7. Khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu	24
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	25

3.1 Kết quả thu nhận mẫu nghiên cứu	25
3.2. Khả năng sống sót và trưởng thành của noãn sau trữ -rã đông.....	25
3.3. Ảnh hưởng của trữ - rã đông noãn lên kết quả phôi học.....	28
3.3.1. Ảnh hưởng trữ - rã đông noãn lên kết quả thụ tinh	28
3.3.2. Ảnh hưởng trữ - rã đông noãn đến kết quả phôi ngày 3.....	30
3.3.3. Ảnh hưởng trữ - rã đông noãn lên kết quả tạo phôi nang ngày 5	32
3.4. Chất lượng di truyền của phôi sau trữ- rã đông noãn	35
3.5. Kết quả lâm sàng từ noãn trữ - rã đông	36
3.6. Đánh giá hai thời điểm D0 và D1 trong nhóm noãn nuôi trưởng thành trước trữ lạnh	40
3.7. Dự đoán khả năng tạo phôi dựa trên số lượng noãn non ban đầu	45
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	47
KẾT LUẬN.....	47
KIẾN NGHỊ.....	47
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	49
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
GV	Germinal vesicle (prophase I)	Noãn ở giai đoạn túi mầm
GVBD	Germinal vesicle breakdown	Trứng GVBD, đang ở pha Diakinesis của kỳ trước giảm phân I
MI	Metaphase I	Noãn ở kỳ giữa giảm phân I
MII	Metaphase II	Noãn ở kỳ giữa giảm phân II
OCC	Oocyte cumulus complexes	Phức hợp tế bào noãn
PB	Polar body	Thể cực
h	Hour	Giờ
ICSI	Intracytoplasmic sperm microinjection	Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn
IVF	In vitro fertilization	Thụ tinh trong ống nghiệm
IVM	In vitro maturation	Trưởng thành noãn trong ống nghiệm
rIVM	Rescue In vitro maturation	Trưởng thành noãn trong ống nghiệm bị động
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome	Hội chứng buồng trứng đa nang
D0	Day 0	Ngày chọc hút
D1	Day 1	Một ngày sau chọc hút
MR	Maturation rate	Tỉ lệ trưởng thành
SR	Survival rate	Tỉ lệ sống sót
FR	Fertilization rate	Tỉ lệ thụ tinh

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1 Đồng thuận về hệ thống đánh giá phôi ở giai đoạn phân chia của tổ chức Alpha.....	21
Bảng 2.2 Đồng thuận về hệ thống đánh giá phôi ở giai đoạn phôi nang của tổ chức Alpha.....	22
Bảng 3.1 Kết quả thu nhận mẫu nghiên cứu	25
Bảng 3.2 So sánh tỉ lệ trưởng thành sống sót của noãn giữa hai nhóm	26
Bảng 3.3 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ trưởng thành – sống sót của noãn	27
Bảng 3.4 So sánh tỉ lệ thụ tinh giữa hai nhóm	29
Bảng 3.5 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ thụ tinh của noãn	29
Bảng 3.6. So sánh chất lượng hình thái phôi phân chia giữa hai nhóm	31
Bảng 3.7 So sánh chất lượng hình thái phôi nang giữa hai nhóm	33
Bảng 3.8 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ tạo phôi ngày 5	34
Bảng 3.9 So sánh tỉ lệ trưởng thành - sống sót giữa hai nhóm D0 và D1 tươi	40
Bảng 3.10 So sánh tỉ lệ thụ tinh sau ICSI giữa hai nhóm D0 và D1 tươi	41
Bảng 3.11 So sánh chất lượng hình thái phôi phân chia giữa hai nhóm D0 và D1 tươi	41
Bảng 3.12 So sánh chất lượng hình thái phôi nang giữa hai nhóm D0 và D1 tươi ..	42

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh các giai đoạn phát triển của phôi người (Nguồn: IVF QN)	4
Hình 1.2. Các giai đoạn phát triển của noãn (Nguồn: IVF QN)	8
Hình 2.1. Sơ đồ các bước thực hiện trong nghiên cứu.....	19
Hình 3.1 Hình ảnh noãn MII bình thường (A) và noãn thoái hóa sau rã đông	26
Hình 3.2 Hình ảnh hợp tử (Nguồn: IVF QN).....	28
Hình 3.3. Hình ảnh phôi ngày 3 theo các cấp độ (Nguồn: IVF QN)	30
Hình 3.4. Hình ảnh phôi nang ngày 5 theo các cấp độ (Nguồn: IVF QN).....	32
Hình 3.5 Hình ảnh kết quả xét nghiệm di truyền tiền làm tổ ở phôi người	36
Hình 3.6 Những thay đổi hình thái, phân tử hoạt động ở noãn bình thường và noãn già hóa	43

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1 Sự khác biệt về thoi vô sắc, nhiễm sắc thể, ty thể, CG và methyl hóa của 3 nhóm trong nghiên cứu của Liu và cộng sự, 2017 [36].....	38
Biểu đồ 3.2 Tỷ lệ tạo phôi hữu dụng giữa 2 nhóm noãn D0 tươi và D1 tươi.....	42
Biểu đồ 3.3 Biểu đồ đường cong ROC của số lượng noãn non ban đầu trong các chu kỳ IVM tươi tiên lượng khả năng có phôi ngày 3 (N = 181).....	45

MỞ ĐẦU

Kỹ thuật đông lạnh noãn đã bắt đầu từ năm 1970 và cho đến nay đã được ứng dụng rất nhiều. Trữ lạnh noãn là một kỹ thuật hỗ trợ sinh sản cho các cặp vợ chồng khi chồng không lấy được tinh trùng hay tinh trùng không đủ để thực hiện kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn, hoặc tránh những lo ngại về đạo đức và pháp lý liên quan đến việc lưu trữ phôi... Bên cạnh đó, trữ lạnh noãn còn đóng vai trò quan trọng trong việc bảo tồn khả năng sinh sản của nữ giới với nhiều lý do khác nhau: các phụ nữ mắc bệnh lý như ung thư cần xạ trị, hóa trị hay trữ noãn vì mục đích xã hội cho các phụ nữ độc thân chưa muốn lập gia đình.

Mục tiêu của một chu trình trữ - rã noãn là đông lạnh những noãn trưởng thành và noãn sau rã đông phải còn nguyên vẹn về cấu trúc và có khả năng khôi phục hoàn toàn các chức năng. Theo thống kê có khoảng 15-30% noãn non thu được sau chọc hút từ chu kỳ kích thích buồng trứng có kiểm soát [1, 2]. Tỷ lệ noãn chưa trưởng thành thậm chí vượt quá 50% ở những bệnh nhân tuổi cao, đáp ứng buồng trứng kém (POR), hoặc hội chứng buồng trứng đa nang (PCOS) [1, 3]. Tại IVF QN năm 2021 có 1253 chu kỳ trữ noãn, trong đó tỉ lệ noãn chưa trưởng thành chiếm tới 21%.

Thông thường trong quy trình tạo phôi *in vitro* thường quy, những noãn chưa trưởng thành này sẽ bị loại bỏ. Tuy nhiên, ở những trường hợp có số lượng noãn trưởng thành rất ít sau chọc trứng, có thể do tuổi mẹ cao, giảm dự trữ buồng trứng, đáp ứng buồng trứng kém, hay bảo tồn khả năng sinh sản ở phụ nữ có nguy cơ mất khả năng sinh sản do điều trị ung thư hoặc bệnh mãn tính..., thì việc bảo tồn các tế bào noãn chưa trưởng thành thu được sau chọc trứng đã trở thành mối quan tâm lớn đối với bệnh nhân khi họ cố gắng tối đa hóa khả năng sinh sản của tất cả các noãn bào thu được trong quá trình điều trị.

Trưởng thành noãn trong ống nghiệm bị động (rIVM) là một giải pháp đầy hứa hẹn để cải thiện kết quả thụ tinh trong ống nghiệm cho những trường hợp này, vì các tế bào noãn có khả năng trưởng thành trong ống nghiệm, do đó có thể trải qua trữ rã và ICSI. Các noãn này sẽ có 2 hướng tiếp cận: (1) nuôi IVM trước rồi trữ noãn MII trưởng thành, (2) trữ lạnh các noãn chưa trưởng thành, sau khi rã ra mới nuôi IVM.

Việc lựa chọn thời điểm nuôi trưởng thành hợp lý sẽ đem lại hiệu quả tốt nhất cho noãn, góp phần tối đa hóa khả năng sống sót, trưởng thành và khả năng tạo phôi của các tế bào trứng chưa trưởng thành được lấy ra trong các chu kỳ trữ lạnh noãn.

Hiện nay, trên thế giới cũng có nhiều công bố về rIVM nhưng chưa có khuyến cáo chính thức nào về thời điểm trữ rã noãn. Tại Việt Nam hiện tại chỉ có nhiều nghiên cứu về IVM chủ động [4, 5], ít nghiên cứu về IVM bị động. Và dù đã có trẻ được ra đời nhờ phương pháp này [6], nhưng việc tận dụng noãn chưa trưởng thành vẫn còn nhiều tranh cãi và các thực hành lâm sàng khác nhau giữa các trung tâm IVF do dữ liệu hiện còn hạn chế.

Vì vậy, với mong muốn làm tăng hiệu quả điều trị cho bệnh nhân, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Đánh giá ảnh hưởng của thời điểm đông lạnh lên hiệu quả trưởng thành noãn và kết cục phôi học tại Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh năm 2021 - 2024”** với mục tiêu:

- (1) Đánh giá ảnh hưởng của thời điểm đông lạnh lên hiệu quả trưởng thành noãn và kết cục phôi học.
- (2) Bước đầu đánh giá kết cục thai kỳ của phôi chuyển có nguồn gốc từ noãn non nuôi trưởng thành trong các chu kỳ đông noãn.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. THỤ TINH TRONG ống NGHIỆM

1.1.1. Định nghĩa

Thụ tinh trong ống nghiệm IVF (In Vitro Fertilization - IVF) là phương pháp được thực hiện để điều trị hiếm muộn cho các cặp vợ chồng có các chỉ định như tắc vòi trứng, bất thường tinh trùng, lạc nội mạc tử cung, chẩn đoán di truyền tiền làm tổ, hiếm muộn không rõ nguyên nhân... Cùng với sự tiến bộ của khoa học, IVF đang ngày càng phát triển và được ứng dụng rộng rãi trên toàn thế giới. Năm 1978, em bé IVF đầu tiên trên thế giới ra đời - Louise Brown, đánh dấu bước đầu cho sự phát triển mạnh mẽ của IVF trên người.

Kỹ thuật IVF gồm nhiều công đoạn. Đầu tiên là kích thích buồng trứng để có nhiều noãn phát triển. Sau đó, thực hiện chọc hút noãn dưới hướng dẫn của siêu âm đầu dò âm đạo. Noãn sau khi chọc hút được sẽ được thụ tinh với tinh trùng để tạo phôi. Phôi được nuôi cấy và theo dõi trong điều kiện bên ngoài cơ thể. Tùy theo giai đoạn phát triển của phôi, chất lượng phôi và tiên lượng thành công của bệnh nhân, bác sĩ thường quyết định cấy từ 1-3 phôi vào buồng tử cung, các phôi còn lại sẽ được bảo quản lạnh trong các bình lưu trữ phôi. Phôi có thể làm tổ và phát triển thành thai nhi sau khi cấy vào buồng tử cung. Việc theo dõi thai kỳ và sinh đẻ của thai từ IVF hoàn toàn như một thai bình thường.

1.1.2. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) là kỹ thuật hỗ trợ thụ tinh khi đưa chỉ duy nhất một tinh trùng vào bào tương của một noãn, được báo cáo thành công lần đầu tiên trên người vào năm 1992 [7]. Bên cạnh chỉ định chính là bất thường nặng về tinh trùng, kỹ thuật ICSI ngày nay còn được áp dụng rộng rãi cho nhiều chỉ định khác như các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân, vô sinh không do yếu tố nam giới, các trường hợp có chỉ định xét nghiệm di truyền tiền làm tổ và các trường hợp sử dụng noãn trữ - rã do ICSI có thể giải quyết được tình trạng màng zona pellucida (màng ZP) bị cứng lại do trữ lạnh [8]. Điều này khiến nó trở thành phương pháp thụ tinh phổ biến nhất trên thế giới [9].

1.1.3. Đánh giá chất lượng phôi trong thụ tinh trong ống nghiệm

1.1.3.1. Đánh giá hình thái phôi

Chất lượng hình thái phôi người được đánh giá vào nhiều thời điểm khác nhau theo các giai đoạn từ hợp tử đến phôi phân chia và cuối cùng là phôi nang. Thông qua đồng thuận chung về đánh giá chất lượng phôi người năm 2011 (theo Alpha Scientista in Reproductive Medicine) [10] ta có các giai đoạn đánh giá phôi và xếp loại cụ thể.



Hợp tử Phôi ngày 2 Phôi ngày 3 Phôi ngày 4 Phôi nang ngày 5

Hình 1.1. Hình ảnh các giai đoạn phát triển của phôi người (Nguồn: IVF QN)

*** Giai đoạn hợp tử:**

Giai đoạn hợp tử được hình thành khi noãn đã thụ tinh. Hợp tử gồm hai tiền nhân, một tiền nhân có nguồn gốc từ tinh trùng và tiền nhân còn lại nguồn gốc từ noãn. Thời gian cả hai tiền nhân xuất hiện cùng lúc trong khoảng 16 đến 20 giờ sau ICSI. Hai tiền nhân thường có kích thước xấp xỉ nhau. Sự thụ tinh xảy ra khi các sợi vi ống trong thể sao kéo tiền nhân cái tới gần tiền nhân đực; tiền nhân đực di chuyển đến vị trí trung tâm của noãn, do đó tiền nhân thường nằm ở vị trí trung tâm noãn hoặc chỉ trong phần bán cầu có chứa thể cực thứ hai. Ngoài ra phần tiếp xúc sát nhau giữa hai tiền nhân tạo thành một mặt phẳng đồng thời các hạt nhân di chuyển và xếp thành hàng cạnh vùng tiếp xúc hai tiền nhân.

*** Giai đoạn phôi phân chia:**

Đối với giai đoạn phôi phân chia, việc đánh giá và phân loại phôi dựa trên ba yếu tố: số lượng phôi bào, kích thước tế bào và tỉ lệ phân mảnh bào tương so với thể tích phôi.

Số lượng phôi bào:

Giai đoạn phân chia của phôi bắt đầu từ giai đoạn phôi 2 tế bào đến giai đoạn nén của phôi dâu gồm 8-16 tế bào. Ở phôi có sự phát triển bình thường, sự phân chia tế bào sẽ diễn ra cách nhau 18-20 giờ. Các phôi phân chia quá chậm hoặc quá nhanh cũng có thể dẫn đến những khiếm khuyết ở nhiễm sắc thể hoặc ở quá trình trao đổi chất.

Trong đánh giá phôi giai đoạn phân chia, các mốc thời gian quan sát tốt nhất được thông qua trong hội thảo đồng thuận Istanbul (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011)

[10]: Ngày 1 (26 ± 1 h): 2 tế bào; Ngày 2 (44 ± 1 h): 4 tế bào; Ngày 3: (68 ± 1 h): 8 tế bào.

Độ đồng đều giữa các phôi bào:

Phôi ở giai đoạn 2, 4 và 8 tế bào nên chứa những phôi bào có kích thước bằng nhau hoặc tương đối bằng nhau. Kích thước các phôi bào chỉ khác nhau khi phôi chưa hoàn tất pha phân chia. Phôi được đánh giá là có các phôi bào có kích thước không đồng đều thì đường kính giữa phôi bào lớn nhất và phôi bào nhỏ nhất khác biệt nhau từ 20% trở lên. Những phôi này thường có tỉ lệ lệch bội cao hơn so với các phôi có phôi bào đồng đều nhau [10].

Tỉ lệ phân mảnh bào tương:

Mảnh vỡ bào tương là những khối bào tương có màng bao, không nhân, nằm ngoài phôi bào. Đối với phôi ngày 2, mảnh vỡ bào tương thường có kích thước nhỏ hơn $45\mu\text{m}$, đối với phôi ngày 3 thường nhỏ hơn $40\mu\text{m}$.

Có 3 cấp độ đánh giá phân mảnh bào tương: mức độ nhẹ khi tỉ lệ phân mảnh nhỏ hơn 10%, vừa phải khi tỉ lệ phân mảnh nằm trong khoảng 10 – 25% và mức độ nặng khi tỉ lệ phân mảnh lớn hơn 25%. Giá trị % được tính dựa trên thể tích phôi bào.

*** Giai đoạn phôi nang:**

Các khía cạnh xác định của phôi nang bao gồm độ nở rộng khoang phôi, sự biệt hóa tế bào ICM và TE được coi là các tiêu chuẩn để đánh giá phôi nang.

Độ nở rộng khoang phôi

Sự hình thành khoang phôi bắt đầu thông qua sự chế tiết của các tế bào phôi dâu: khoang nhỏ được duy trì nhờ hoạt động của các kênh xuyên màng $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$, để tăng nồng độ muối bên trong tế bào và hấp phụ nước vào khoang phôi thông qua thẩm thấu. Đồng thời, lớp tế bào lá nuôi TE tiết lysine sẽ làm mỏng màng trong suốt của noãn. Việc nở rộng và màng ZP mỏng dần sẽ làm phôi thoát màng.

Độ nở rộng khoang phôi được phân loại như sau [10]: (1) phôi nang sớm (early blastocyst) khi khoang dịch chiếm dưới $\frac{1}{2}$ tổng thể tích của phôi, (2) phôi nang (blastocyst) khi khoang dịch chiếm trên $\frac{1}{2}$ tổng thể tích của phôi, (3) phôi nang đầy (full blastocyst) khi khoang dịch chiếm hầu hết thể tích của phôi, (4) phôi nang rộng (expanded blastocyst) khi khoang dịch phát triển rộng làm cho màng trong suốt bắt đầu mỏng dần, (5) phôi nang đang thoát màng (hatching blastocyst) khi tế bào lá nuôi bắt đầu thoát ra khỏi màng trong suốt, (6) phôi nang đã thoát

màng (hatched blastocyst) khi phôi nang đã hoàn toàn thoát ra khỏi màng trong suốt.

Hình thái ICM

Vào cuối ngày thứ 4 sau thụ tinh, các phôi bào bắt đầu biệt hóa và phát triển thành hai dòng tế bào. Các tế bào ở lớp ngoài cùng liên kết với nhau và tạo thành một lớp tế bào biểu mô dày gọi là lớp tế bào lá nuôi (Trophectoderm – TE), sau này sẽ phát triển thành bánh rau và các phần phụ của thai; phần tế bào còn lại ở lớp trong cùng của khoang phôi, liên kết và phát triển tạo thành khối tế bào nội mô (Inner cell mass -ICM), sau này sẽ phát triển thành phôi thai.

ICM của phôi nang được phân loại thành A khi nhiều tế bào tạo thành khối nguyên vẹn bên trong khoang phôi nang, B khi có ít tế bào hoặc gắn kết lỏng lẻo, C khi có rất ít hoặc không có tế bào.

Đánh giá TE

Tương tự như ICM, TE được xếp loại A khi nhiều tế bào kết thành một lớp biểu bì dính chặt; B khi có ít tế bào tạo thành lớp biểu mô mỏng; C khi có rất ít tế bào, các tế bào có kích thước lớn và liên kết lỏng lẻo.

1.1.3.2. Đánh giá chất lượng di truyền bằng xét nghiệm phôi di truyền tiền làm tổ

Xét nghiệm di truyền phôi giai đoạn tiền làm tổ (Preimplantation genetic testing - PGT) là kỹ thuật được phát triển từ những năm 1980s nhằm giúp phát hiện các bất thường di truyền ở phôi từ những cặp vợ chồng có nguy cơ truyền các bệnh lý di truyền cho con, giúp họ có cơ hội sinh con bình thường mà không phải chấm dứt thai kì khi phát hiện các bệnh lý thông qua chẩn đoán tiền sản. Xét nghiệm di truyền phôi giai đoạn tiền làm tổ được chia làm 3 nhóm chính, mỗi nhóm sẽ có chỉ định khác nhau, bao gồm: sàng lọc bất thường số lượng nhiễm sắc thể (PGT-A - Preimplantation genetic testing for aneuploidies), xét nghiệm bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể (PGT-SR-Preimplantation genetic test-ing for chromosome structural rearrange-ments) và xét nghiệm các bệnh lý di truyền do rối loạn đơn gene (PGT-M - Preimplantation genetic testing for monogeneic/single gene disorders).

1.2. QUÁ TRÌNH HÌNH THÀNH VÀ PHÁT TRIỂN CỦA NOÃN

Sự hình thành của noãn

Sự sinh noãn là một quá trình phức tạp, xảy ra ở buồng trứng, bao gồm sự hình thành, phát triển và trưởng thành của noãn. Quá trình này bắt đầu từ khoảng tuần

thứ 4 của giai đoạn phôi thai và chấm dứt khi mãn kinh. Ở người, các tế bào mầm nguyên thủy được hình thành vào khoảng tuần thứ 4 của bào thai trong túi noãn hoàng. Từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 6, các tế bào mầm nguyên thủy di chuyển vào gờ sinh dục, nơi hình thành cơ quan sinh dục sau này. Trong quá trình di chuyển, các tế bào mầm tiếp tục nguyên phân để gia tăng số lượng. Các tế bào mầm đang phân chia nguyên nhiễm được gọi là noãn nguyên bào. Các noãn nguyên bào chứa $2n$ nhiễm sắc thể. Quá trình nguyên phân của noãn nguyên bào kéo dài từ tháng thứ 2 đến tháng thứ 5 của phôi thai. Trong thời gian này, số lượng tế bào mầm tăng lên đến 7 triệu, sau đó giảm xuống còn 2 triệu lúc sinh do quá trình thoái hóa của các nguyên bào noãn và sự chấm dứt phân chia giảm phân của các tế bào mầm.

Vào tháng thứ 3 đến tháng thứ 5 của phôi thai, quá trình phân bào giảm nhiễm bắt đầu để tạo ra các noãn bào có n nhiễm sắc thể [11]. Các nguyên bào noãn được gọi là noãn sơ cấp khi bước vào giảm phân. Khi bước vào giảm phân, các nguyên bào noãn không còn khả năng nguyên phân nữa, do đó không thể tiếp tục gia tăng số lượng. Ngay khi kết thúc lần nguyên phân cuối cùng, nguyên bào noãn nhân đôi số lượng nhiễm sắc thể và bước vào giảm phân. Giảm phân có 2 lần phân chia: giảm phân I và giảm phân II. Kết quả của lần phân chia thứ nhất tạo ra 2 tế bào có bộ nhiễm sắc thể đơn bội kép (n kép). Lần phân chia thứ 2 tương tự như nguyên phân, tạo ra 2 tế bào có bộ nhiễm sắc thể đơn (n đơn). Kết thúc giảm phân I, 1 noãn sơ cấp tạo ra 1 noãn thứ cấp và thể cực thứ nhất.

Có hai giai đoạn nghỉ xảy ra trong quá trình giảm phân của tế bào mầm: lần thứ nhất khi tế bào mầm bước vào pha diplotene của kỳ trước của giảm phân I, tế bào mầm lúc này được gọi là noãn sơ cấp ở giai đoạn túi mầm (GV). Đến khi sinh, buồng trứng của bé gái chỉ có noãn GV. Các noãn chỉ vượt qua giai đoạn này khi có sự xuất hiện của đỉnh LH, bắt đầu vào tuổi dậy thì. Tuy nhiên, chỉ vài giờ sau đỉnh LH, noãn bước vào giai đoạn nghỉ thứ 2 ở kỳ giữa giảm phân II. Noãn trưởng thành và phóng noãn ở giai đoạn MII. Noãn chỉ vượt qua giai đoạn nghỉ thứ 2 khi có sự thụ tinh với tinh trùng tạo thành hợp tử.

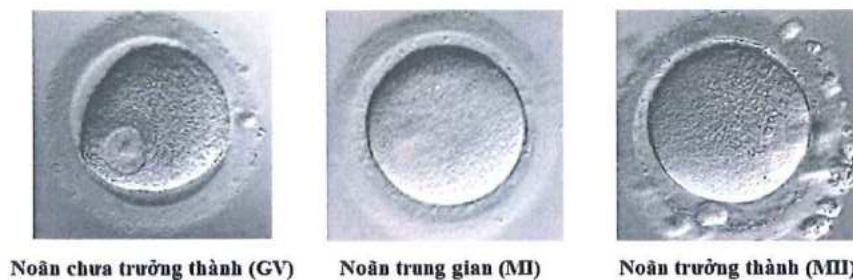
Sự trưởng thành của noãn

Khi có đỉnh LH xuất hiện, noãn GV trong nang noãn trước phóng noãn sẽ trải qua quá trình trưởng thành nhân và trưởng thành tế bào chất.

Khi mới sinh, sự phân chia nhiễm sắc thể trong nhân của noãn bị dừng ở kỳ trước giảm phân I. Giai đoạn này cấu trúc noãn được đặc trưng bởi sự hiện diện của túi nhân (noãn GV). Khi đến tuổi dậy thì, quá trình giảm phân được tái khởi động nhờ sự xuất hiện đỉnh LH, noãn GV bắt đầu chuyển sang giai đoạn GVBD, được

đặc trưng bởi sự tiêu biến túi mầm. Khoảng 15 giờ sau đỉnh LH, lớp màng nhân của noãn GV vỡ ra tạo thành noãn GVBD. Các nhiễm sắc thể tiếp tục quá trình phân chia đang bị ngưng trệ, hình thành nên 1 noãn thứ cấp chứa hầu hết bào tương và thể cực thứ nhất. Các nhiễm sắc thể của noãn thứ cấp lập tức bước vào giảm phân II và dừng lại ở kỳ giữa (noãn MII) vào khoảng 35 giờ sau đỉnh LH [12].

Cùng với sự trưởng thành nhân là sự trưởng thành về tế bào chất. Dưới tác dụng của đỉnh LH, các mối liên kết giữa noãn và tế bào hạt bị phá vỡ. Các phức hợp Golgi tổng hợp các hạt vỏ, di chuyển đến ngay bên dưới bề mặt noãn, đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa hiện tượng đa thụ tinh. Các protein cần thiết cho sự thụ tinh được tổng hợp. Số lượng ti thể tăng nhanh, trung thể của noãn biến mất. Do đó, sau thụ tinh noãn cần có trung thể của tinh trùng để tiếp tục phân bào. Vị trí các bào quan cũng được tái phân bố: phức hợp Golgi, ti thể, lưới nội chất tập trung xung quanh nhân GV của noãn. Trưởng thành nhân và trưởng thành tế bào chất luôn đồng bộ cùng với nhau. Sự trưởng thành nhân được cho là có tác động trong trưởng thành bào tương noãn. Tuy nhiên, nhiều trường hợp mặc dù noãn đã ở giai đoạn MII (đã trưởng thành nhân), nhưng vẫn chưa trưởng thành bào tương hoàn toàn, do đó, thiếu các yếu tố cần thiết cho sự thụ tinh và sự phát triển của phôi.



Hình 1.2. Các giai đoạn phát triển của noãn (Nguồn: IVF QN)

1.3. TRƯỞNG THÀNH NOÃN TRONG ỐNG NGHIỆM (IVM)

1.3.1. IVM chủ động

Kỹ thuật trưởng thành noãn non trong ống nghiệm (IVM) là một kỹ thuật trong đó noãn được chọc hút ở giai đoạn chưa trưởng thành (GV/MI) và được nuôi cấy trong các môi trường chuyên biệt cho đến khi hoàn toàn trưởng thành (MII). Các giai đoạn tiếp sau đó như tạo phôi, nuôi cấy phôi diễn ra như một chu kỳ IVF thông thường. Như vậy trong kỹ thuật IVM, không cần thiết phải kích thích buồng trứng hoặc chỉ cần kích thích nhẹ (sử dụng môi- priming) với liều thấp và trong thời gian ngắn, do đó nguy cơ quá kích buồng trứng hoàn toàn không xảy ra. Kỹ thuật IVM chủ động được chỉ định chủ yếu cho nhóm phụ nữ có nguy cơ quá kích buồng trứng như hội chứng buồng trứng đa nang hay hình ảnh buồng trứng đa nang trên

siêu âm, các phụ nữ có AFC hay AMH cao. Kỹ thuật này được đề cập đầu tiên bởi Edwards vào năm 1969 [13]. Trường hợp IVM đầu tiên được Cha và cộng sự báo cáo vào năm 1991, thực hiện IVM ở một phụ nữ tình nguyện hiến noãn [14]. Hiện nay, ước tính số lượng em bé sinh ra từ kỹ thuật này trên thế giới khoảng 2500 bé [15].

1.3.2. IVM thụ động

Em bé IVF đầu tiên ra đời nhờ thụ tinh trong ống nghiệm được tạo ra với chu kỳ thụ tinh ống nghiệm tự nhiên sau khi trưởng thành noãn trong ống nghiệm (IVM) [13]. Tuy nhiên, tỷ lệ thành công của công nghệ hỗ trợ sinh sản phụ thuộc chặt chẽ vào số lượng và chất lượng noãn thu được. Do hạn chế như vậy, việc sử dụng kích thích buồng trứng đã được phát triển, thay thế các chu kỳ tự nhiên của IVE [16].

Trong quá trình kích thích buồng trứng, phụ nữ thường được điều trị bằng thuốc chủ vận hoặc đối kháng hormone giải phóng gonadotrophin (GnRH) để ngăn chặn hoạt động của tuyến yên. Ngoài ra, kích thích buồng trứng bằng cách sử dụng gonadotrophin được thực hiện để tạo ra sự phát triển và trưởng thành của nhiều nang trứng. Sau khi kích thích, do thiếu sự đồng bộ trưởng thành, sau chọc hút có thể thu được những tế bào noãn ở các giai đoạn khác nhau. Trong những trường hợp như vậy, một số tế bào trứng chưa trưởng thành, được lấy ra ở giai đoạn túi mầm (GV) hoặc metaphase MI có khả năng trải qua quá trình trưởng thành nhân và phát triển thêm [17]. Do đó, sự trưởng thành noãn trong ống nghiệm có thể là một giải pháp thay thế để tăng số lượng phôi thu được từ các chu kỳ kích thích buồng trứng, đặc biệt trong các trường hợp bệnh nhân đáp ứng kém [18].

Trưởng thành noãn trong ống nghiệm thụ động là việc nuôi cấy những tế bào noãn chưa trưởng thành sau chọc hút đến khi trưởng thành để cho phép quá trình giảm phân của noãn được tiếp diễn [6].

Quá trình trưởng thành của noãn vẫn còn là một quá trình chưa được hiểu rõ, thường được định nghĩa là khoảng thời gian từ khi bắt đầu phá vỡ túi nhân cho đến khi tổng xuất thể cực đầu tiên. Tuy nhiên, sự tổng xuất thể cực của noãn MII không xác định được khả năng phát triển và không phản ánh sự trưởng thành về cấu trúc và phân tử của noãn.

Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo quá trình thụ tinh, phát triển phôi và mang thai thành công bằng cách sử dụng tế bào trứng chưa trưởng thành của người [19-21]. Tuy nhiên, hiệu suất của các tế bào noãn này kém, dẫn đến giảm khả năng phát triển, do các điều kiện IVM chỉ là mô phỏng *in vivo* nên không thể đảm bảo

chính xác hoàn toàn, dẫn đến sự sai lệch khi phân chia nhiễm sắc thể trong quá trình giảm phân [22, 23]. Ngoài ra, rIVM có thể chỉ giúp noãn trưởng thành về nhân mà không trưởng thành về bào tương chất, hoặc làm thay đổi sự phân bố của ty thể [24] và hình thái tế bào noãn [25]. Tuy vậy, việc sử dụng các tế bào noãn chưa trưởng thành đã qua quá trình trưởng thành trong ống nghiệm (IVM) mở ra những triển vọng thú vị cho việc bảo tồn khả năng sinh sản trong những trường hợp nguồn dự trữ buồng trứng bị ảnh hưởng do bệnh lý hoặc liệu pháp, như PCO/PCOS và bệnh nhân ung thư.

Hiện nay, trưởng thành noãn trong ống nghiệm bị động (rIVM) không phải là 1 phương pháp thường quy trong hỗ trợ sinh sản, do rIVM chỉ có kỳ vọng thành công hạn chế, nhưng đó là 1 giải pháp đầy hứa hẹn trong việc tối ưu hóa bảo tồn khả năng sinh sản.

1.4. TRỮ LẠNH NOÃN

1.4.1. Chỉ định

Kể từ khi hai em bé sinh đôi đầu tiên ra đời từ noãn đông lạnh bởi Chen và cộng sự (1986), kỹ thuật đông lạnh noãn ngày càng phát triển và ứng dụng rộng rãi.

Việc lưu trữ noãn đông lạnh giúp mở rộng khả năng lựa chọn của bệnh nhân hơn, đặc biệt trong 1 số trường hợp như: ung thư phải điều trị hóa trị hoặc xạ trị dẫn đến mất chức năng sinh sản, các trường hợp bệnh nhân buồng trứng đa nang, trường hợp mãn kinh sớm và mất chức năng buồng trứng, trữ noãn vì mục đích xã hội, ngân hàng noãn các vấn đề về đạo đức và tôn giáo liên quan đến đông lạnh phôi ở một số nước.

1.4.2. Các phương pháp trữ noãn

Hiện nay có hai phương pháp được sử dụng phổ biến trong đông lạnh noãn và phôi người là đông lạnh chậm và thủy tinh hóa.

Đông lạnh chậm

Đông lạnh chậm hay còn gọi là hạ nhiệt độ chậm trong trữ lạnh noãn được thử nghiệm và đưa vào ứng dụng trong thực tế từ những năm đầu của thập niên 80. Nguyên lý cơ bản của phương pháp này là hạ nhiệt độ từ từ, kết hợp với chất bảo quản đông lạnh để giảm sự hình thành tinh thể đá trong tế bào. Trong giai đoạn từ -5°C đến -15°C , tế bào mất nước dần do sự thẩm thấu và bắt đầu hình thành tinh thể đá nội bào. Điều này dẫn đến sự gia tăng nồng độ chất tan trong môi trường nội bào, kết quả làm tăng áp suất thẩm thấu cùng sự khử nước. Thể tích tế bào giảm và sự

khử nước tăng dần. Giai đoạn này cần kéo dài để đảm bảo hiệu quả loại nước khỏi tế bào, làm lạnh cực nhanh tế bào chất cũng như tối thiểu hóa sự hình thành tinh thể đá trong tế bào. Để vượt qua sự hình thành tinh thể đá thì lúc này noãn cần bước vào quá trình gọi là kết tinh. Từ thời điểm này, các tinh thể đá nội bào gia tăng bởi sự khử nước tế bào. Trong bước làm ấm, những phần nhỏ của của tinh thể đá nội bào có thể tái lập tạo nên những phân tử lớn hơn làm ảnh hưởng đến sức sống của noãn bào.

Trong thời gian qua, nhiều nỗ lực cải thiện hiệu quả của trữ đông noãn được thực hiện. Năm 1993, Gook bổ sung sucrose 0.1M cùng với PROH giúp cải thiện tỉ lệ sống. Các nghiên cứu sau đó cho thấy sucrose 0.3M cho tỉ lệ sống cao hơn nhưng tỉ lệ làm tổ thấp hơn. Năm 2007, Bianchi và cộng sự làm mới quy trình bằng cách sử dụng sucrose 0.2M ở bước trữ và 0.3M khi rã cho tỉ lệ sống 75.9%, tỉ lệ thụ tinh 76.2% và 86.2% phôi tốt [20]. Năm 2001, Fabbri đã chứng minh rằng khả năng sống sót sau rã đông của noãn tăng lên đáng kể khi tăng nồng độ sucrose lên 0.3M/ml và tăng thời gian tiếp xúc của noãn với môi trường đông lạnh lên 15 phút [26]. Đây được xem là 1 phát kiến quan trọng giúp cải thiện tỉ lệ thành công của đông lạnh noãn, là tiền đề cho sự ứng dụng rộng rãi của kỹ thuật này trong những năm gần đây. Hiện nay, đây là 1 phác đồ được sử dụng phổ biến nhất khi áp dụng hạ nhiệt độ chậm cho đông lạnh noãn.

Thủy tinh hóa (Vitrification)

Thủy tinh hóa là một phương pháp trữ lạnh không cân bằng, được thiết lập dựa trên nguyên lý cơ bản là không có sự hình thành tinh thể đá bên trong lẫn bên ngoài tế bào. Điều này có thể đạt được bằng cách tăng tốc độ làm lạnh và tăng nồng độ CPA. Trong phương pháp thủy tinh hóa, noãn bào được nhúng trực tiếp vào nitơ lỏng ngay sau khi trao đổi với CPA mà không qua giai đoạn hạ nhiệt độ từ từ. Toàn bộ vật chất bên trong tế bào và môi trường bên ngoài tế bào sẽ chuyển sang dạng “kính” và hoàn toàn không có sự hình thành tinh thể đá. Trường hợp có trẻ sinh sống đầu tiên từ noãn đông lạnh bằng thủy tinh hóa được báo cáo vào năm 1999 [27].

Nhìn chung, các CPA sử dụng trong phương pháp thủy tinh hóa cũng tương tự như trong phương pháp hạ nhiệt độ chậm. Để hạn chế hình thành tinh thể đá, nồng độ các chất CPA sử dụng phải rất cao, trong khi độc tính của CPA trên tế bào lại tỉ lệ thuận với thời gian tiếp xúc, do đó người ta thường phối hợp sử dụng 2 đến 3 CPA khác nhau, ưu tiên các CPA có độc tính thấp và thẩm thấu qua màng tế bào tốt. Hiện nay, hai CPA có khả năng thẩm thấu thường được sử dụng trong môi

trường thủy tinh hóa là ethylene glycol (EG) và dimethylsulfoxide (DMSO). Bên cạnh đó, succrose thường được chọn trong các loại CPA không thẩm thấu qua màng tế bào [28].

Một cách khác để hạn chế tổn thương do độc tính của CPA là cho noãn tiếp xúc lần lượt với môi trường có CPA với nồng độ tăng dần. Năm 2005, nghiên cứu của Kuwayama và cộng sự cho thấy thời gian tiếp xúc với môi trường thứ nhất nên kéo dài từ 12 phút đến 15 phút sẽ giúp bảo vệ tế bào noãn tốt hơn [29].

Ngoài ra, tốc độ làm lạnh cao là một trong những yếu tố quan trọng giúp tránh các tổn thương của noãn khi hạ nhiệt độ [30].

Hiệu quả của một chu kì đông lạnh - rã đông noãn được thể hiện ở khả năng sống sót sau rã đông của noãn, các kết quả phôi học và lâm sàng, và trong điều kiện lý tưởng là tỉ lệ trẻ sinh sống. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm đã cho thấy noãn sau đông lạnh bằng phương pháp thủy tinh hoá ít bị tổn thương cấu trúc thoi vô sắc và số lượng nhiễm sắc thể hơn so với kỹ thuật hạ nhiệt độ chậm. Tuy ra đời sau phương pháp đông lạnh chậm nhưng thủy tinh hoá lại có những ưu điểm vượt trội hơn. Tỉ lệ sống của noãn sau rã ở phương pháp đông lạnh chậm chỉ xấp xỉ 75%, trong khi tỉ lệ này ở phương pháp thủy tinh hoá là 94,5% [31]. Ưu thế của thủy tinh hóa so với hạ nhiệt độ chậm cũng được chứng minh trong một nghiên cứu ngẫu nhiên có nhóm chứng được thực hiện trên 230 bệnh nhân, cho thấy tỉ lệ noãn sống sót sau rã đông, tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ phôi phân chia ở nhóm thủy tinh hóa cao hơn nhóm sử dụng phương pháp đông lạnh chậm. Cả hai nhóm bệnh nhân đều được chuyển phôi với số lượng phôi tương đương, tỉ lệ thai lâm sàng ở hai nhóm có khác biệt có ý nghĩa thống kê (38% ở nhóm thủy tinh hóa so với 13% ở nhóm hạ nhiệt độ chậm). Trong khi đó, tỉ lệ sảy thai ở hai nhóm tương đương nhau (20% so với 18%) [32].

Ngoài ra, số liệu báo cáo gần đây nhất cho thấy tại Mỹ, với các trung tâm IVF có thực hiện kỹ thuật đông lạnh noãn, khoảng 2/3 chu kỳ đông noãn là thủy tinh hóa [18]. Như vậy, với hiệu quả cao hơn và chi phí đầu tư ban đầu thấp, thủy tinh hóa đang ngày càng được áp dụng thường quy trong trữ đông noãn.

1.5. BẢO QUẢN LẠNH NOÃN CHƯA TRƯỞNG THÀNH

Trữ lạnh noãn chưa trưởng thành (immature oocyte cryopreservation) hoặc noãn non trưởng thành invitro là một phương pháp đầy hứa hẹn để bảo tồn khả năng sinh sản đối với những trường hợp giảm dự trữ buồng trứng, đáp ứng buồng trứng kém, và bảo tồn khả năng sinh sản ở phụ nữ có nguy cơ mất khả năng sinh sản do điều trị ung thư hoặc bệnh mãn tính, hiến noãn và hoãn sinh con.

Sau chọc trứng, do sự trưởng thành không đồng bộ, sẽ thu nhận các noãn non, bao gồm noãn ở giai đoạn túi mầm (GV) và kỳ giữa của giảm phân I (MI). Các noãn này sẽ có 2 hướng tiếp cận: (1) nuôi IVM trước rồi trữ noãn trưởng thành, (2) trữ noãn non sau khi rửa ra mới nuôi IVM.

Theo giả thuyết, các noãn GV có nhân được bao bọc bởi màng và có thoi vô sắc không bị nhạy cảm với nhiệt độ và hóa chất nên sẽ ít bị tổn thương hơn sau khi trữ - rửa so với các noãn MII. Hơn nữa, việc trữ lạnh các noãn GV sẽ hạn chế nguy cơ lệch bội do trữ lạnh, nhờ việc giải nén NST trong giai đoạn diplotene của kỳ trung gian giảm phân I nên có thể ngăn cản việc sắp xếp lỗi của NST. Một nghiên cứu trên noãn người của Irene Peinado và cộng sự năm 2021 cho thấy sự phục hồi của thoi vô sắc sau khi rửa ở nhóm noãn GV được rIVM sau trữ tốt hơn so với nhóm rIVM trước trữ [33]. Ngược lại, giả thuyết khác cho rằng noãn GV sẽ bị tổn thương đặc biệt bởi trữ lạnh do mất quá trình acetyl hóa vi ống, đây là quá trình cần thiết tăng tính ổn định cho vi ống. Việc trữ lạnh noãn GV cũng có thể ảnh hưởng đến việc tái phân bố của các hạt vỏ, mạng lưới nội chất trơn và ty thể trong quá trình trưởng thành của noãn. Mặc dù, thoi vô sắc có thể phục hồi sau rửa đông, những các tổn thương trên những bào quan trên thì có thể vẫn tồn tại [6].

Theo bằng chứng khoa học, khi phân tích các noãn non người trữ - rửa bằng hệ thống kính hiển vi điện tử (Transmission electron microscopy – TEM), thấy có sự sụt giảm lớp vi nhung mao, gia tăng hình thành không bào, các phức hợp túi – ty thể (mitochondria – vesicle complexes), cụm ty thể - mạng lưới nội chất trơn. Việc thay đổi các siêu cấu trúc, có thể ảnh hưởng đến nồng độ mRNA bên trong noãn, dẫn đến tăng sự “căng thẳng” và quá trình apoptosis liên quan đến biểu hiện gen của các noãn non người trữ - rửa. Điều này, có thể lý giải một phần tại sao tỷ lệ trưởng thành sau IVM của noãn non trữ- rửa thấp [34]. Ngoài ra, noãn GV trữ - rửa sẽ bị bất thường nhiễm sắc thể và vi ống, nhưng không tác động xấu đến tập dữ liệu methyl hóa DNA [35, 36].

Hơn nữa, những noãn non đều tách tế bào cumulus trước khi trữ trong hầu hết các nghiên cứu. Tuy các noãn non tách sạch tế bào cumulus vẫn có thể trưởng thành khi nuôi IVM sau khi trữ - rửa, nhưng sự hiện diện các tế bào cumulus sẽ giữ vai trò hỗ trợ cung cấp chất dinh dưỡng giúp noãn trưởng thành trong *invivo* và *invitro*. Do đó, nếu muốn cải thiện tỉ lệ của noãn non sau IVM thì phải trữ nguyên cụm noãn non – tế bào cumulus. Tuy nhiên, khi trữ lạnh cụm noãn – tế bào cumulus bị hạn chế do không có khả năng bảo tồn các tương tác động học cao giữa noãn với tế bào cumulus, và điều này có thể ảnh hưởng đến khả năng thâm nhập của chất bảo vệ đông lạnh vào cụm noãn – tế bào cumulus. Khi phân tích các noãn GV còn nguyên

cum cumulus trũ - rã ghi nhận có sự tổn thương các cầu nối xuyên màng trong suốt (tranzonal projection – TZP) và vi ống trên mô hình noãn khi và có sự mất TZP ở các noãn chuột trũ - rã [34].

Trên thế giới hiện nay cũng có một số nghiên cứu về hiệu quả trũ lạnh noãn non trước và sau khi nuôi IVM ở cả phương pháp đông lạnh chậm và thủy tinh hóa.

Theo nghiên cứu của Josheph và cộng sự, 2013 [37], các noãn non (GV, MI) sau khi tách sạch tế bào cumulus được nuôi IVM 24 giờ trước hoặc sau khi trũ lạnh. Kết quả ghi nhận tỉ lệ trưởng thành của nhóm noãn nuôi IVM trước trũ cao hơn đáng kể so với nhóm noãn non nuôi IVM sau trũ lạnh (63,8% so với 33,3%, $p < 0,05$). Tương tự như kết quả nghiên cứu của Molina và cộng sự, 2016 [38], tỉ lệ noãn trưởng thành invitro của nhóm noãn GV nuôi IVM trước trũ lạnh là cao hơn (83,7%) khi so với nhóm noãn GV nuôi IVM sau trũ lạnh (56,6%), và tỉ lệ sống sau rã giữa 2 nhóm noãn là như nhau. Các nghiên cứu khác của Lee và cộng sự, 2014 [6]; Hao và cộng sự, 2022 [39] cũng đều cho thấy tỉ lệ trưởng thành sau IVM của noãn tươi cao hơn noãn trũ, tương tự tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ tạo phôi giai đoạn phân chia và phôi nang của noãn non nuôi IVM trước trũ cao hơn so với nhóm noãn non nuôi IVM sau trũ lạnh. Những nghiên cứu này đều khuyến nghị thủy tinh hóa ở giai đoạn trưởng thành đem lại kết quả tốt hơn ở giai đoạn chưa trưởng thành.

Mặt khác, nghiên cứu của Cao và cộng sự (2009) và nghiên cứu của Fasano G và cộng sự (2012) lại cho thấy tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ tạo phôi phân chia là tương tự nhau giữa 2 nhóm noãn được trũ lạnh trước và sau IVM [40, 41]. Bên cạnh đó, một nghiên cứu gần đây của Marteil và cộng sự (2024) khi so sánh giữa 2 nhóm noãn được thủy tinh hóa trước rIVM và sau rIVM cũng cho thấy tỉ lệ sống sót, tỉ lệ trưởng thành không có sự khác biệt giữa 2 nhóm. Khi tiến hành đánh giá định lượng các thông số hình thái thoi phân bào, độ phân cực và sự sắp xếp nhiễm sắc thể cho kết quả: bất kể thủy tinh hóa được thực hiện trước hay sau rIVM, nó đều làm thay đổi hình dạng thoi vô sắc. Bên cạnh đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ bất thường trong sắp xếp nhiễm sắc thể giữa 2 nhóm, và thời điểm thủy tinh hóa trước hay sau rIVM cũng không làm thay đổi chiều dài cũng như mật độ của sợi F-actin [42].

Điều này cho thấy, còn nhiều tranh cãi trong việc nuôi trưởng thành noãn trước hay sau trũ lạnh để không làm ảnh hưởng đến cấu trúc bên trong của noãn sau quá trình trũ rã.

Ngoài ra, do tính không đồng nhất giữa các noãn ở giai đoạn giảm phân và giai đoạn trưởng thành tế bào chất, khiến việc lựa chọn thời điểm thích hợp để đông

lạnh chúng trở nên khó khăn. Năm 2011, một nghiên cứu của Yang và cộng sự thực hiện trên 432 chu kỳ điều trị, trong đó các tế bào trứng không trưởng thành *in vivo* từ các chu kỳ ICSI được chia thành 4 nhóm theo thời gian khác nhau sau khi có sự tổng xuất thể cực đầu tiên (0-1h, 2-3h, 4-5h và 8-9h). Kết quả cho thấy tỉ lệ phát triển thành phôi và phôi nang chất lượng tốt cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm 2-3h và 4-5h so với 2 nhóm còn lại. Mặt khác, kết quả miễn dịch huỳnh quang cũng cho thấy rằng trong nhóm 0-1 giờ, khoảng 81,3% tế bào trứng cho thấy các đặc điểm của kỳ cuối giảm phân I, lúc này thể cực thứ nhất không bị tổng xuất hoàn toàn. Trong nhóm 2-3 giờ và 4-5 giờ, phần lớn tế bào trứng (tương ứng là 75,7% và 67,8%) có tổ chức nhiễm sắc thể và thoi vô sắc bình thường. Trong nhóm 8-9 giờ, tỉ lệ tế bào trứng có bộ nhiễm sắc thể ở kỳ giữa cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ba nhóm còn lại [43].

Năm 2021, một nghiên cứu của Mandelbaum và cộng sự [44] đã thực hiện phân tích trên 10.817 noãn từ 889 chu kỳ điều trị, trong đó có 3.137 noãn chưa trưởng thành sau chọc hút. Mặc dù tỉ lệ noãn trưởng thành ở thời điểm 4-6h (D0) thấp hơn tỉ lệ trưởng thành vào ngày hôm sau (D1) (13,3% so với 47,6%), nhưng kết quả lại cho thấy phôi phát triển từ noãn MII trưởng thành từ noãn MI ở ngày chọc hút có tỷ lệ phôi phân chia và phôi nang cao hơn phôi phát triển từ noãn MII trưởng thành từ noãn MI ở ngày hôm sau (tỷ lệ phôi phân chia: 75% so với 54%, $P<0,001$); tỷ lệ phôi nang: 41% so với 10%, $P<0,001$).

Tại Việt Nam hiện tại chỉ có nhiều nghiên cứu về IVM chủ động [45, 46], chưa có báo cáo nào về IVM bị động trước và sau trữ rã. Bên cạnh đó, mỗi năm có khoảng 500 chu kỳ ICSI/IVF được thực hiện tại khoa Hỗ trợ Sinh sản - bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh, trong đó tỉ lệ noãn chưa trưởng thành thu được chiếm 25-26%.

Dù trên thế giới đã có trẻ được ra đời nhờ phương pháp này [6], nhưng việc tận dụng noãn chưa trưởng thành vẫn còn nhiều tranh cãi và các thực hành lâm sàng khác nhau giữa các trung tâm IVF do dữ liệu hiện còn hạn chế.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Noãn chưa trưởng thành (bao gồm GV và MI) sau chọc hút từ các chu kỳ trữ noãn có thực hiện kỹ thuật ICSI từ 01/01/2021 đến 31/12/2024.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Trường hợp vô sinh không do yếu tố nam giới.
- Kết quả Nhiễm sắc thể đồ (karyotype) của 2 vợ chồng bình thường.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Các trường hợp xin tinh trùng, cho – nhận noãn.
- Các trường hợp vô sinh do yếu tố nam giới: Cryptozoospermia, SOAT, tinh trùng từ phẫu thuật, tinh trùng đông lạnh.
- Các trường hợp có tiền sử thất bại thụ tinh.

2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

- Địa điểm: Tại khoa Hỗ trợ sinh sản – Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh.
- Thời gian: Từ tháng 01/2021 – 12/2024.

2.3. THIẾT KẾ NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu hồi cứu: tiến hành hồi cứu trên hồ sơ theo dõi kết quả điều trị bằng thụ tinh trong ống nghiệm của bệnh nhân tại Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh từ tháng 01/2021 đến tháng 12/2024.

- Phân tích thuần tập:

Gồm 2 nhóm nghiên cứu:

+ Nhóm nghiên cứu 1: nhóm noãn GV, MI được nuôi trưởng thành trước khi trữ- rã.

+ Nhóm nghiên cứu 2: nhóm noãn GV, MI được nuôi trưởng thành sau khi trữ- rã.

Hai nhóm nghiên cứu trên được thu thập số liệu độc lập các kết quả về tỉ lệ sống sót, tỉ lệ trưởng thành, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ phôi N3, tỉ lệ phôi N5, kết cục thai kỳ.

2.4. CỖ MẪU

- ❖ Công thức tính cỡ mẫu:

$$n = \frac{\{Z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{2\bar{P}(1-\bar{P})} + Z_{1-\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}\}^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

❖ Trong đó:

n là cỡ mẫu chung

$Z_{1-\frac{\alpha}{2}}$ là giá trị từ phân bố chuẩn, được tính dựa trên xác suất sai lầm loại 1

($Z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1,96$ nếu xác suất sai lầm loại 1 = 5% và kiểm định 2 phía).

$Z_{1-\beta}$ là giá trị được tính dựa trên lực thống kê ($Z_{1-\beta} = 0,842$ nếu lực thống kê là 80%)

P1: Tỷ lệ mắc bệnh trong nhóm phơi nhiễm

P2: Tỷ lệ mắc bệnh trong nhóm không phơi nhiễm

$\bar{P} = (P_1 + P_2)/2$: Tỷ lệ trung bình của 2 nhóm

❖ Dự kiến cỡ mẫu:

$P_1 = 0,25$; $P_2 = 0,2$ (giá trị P_1 và P_2 được sử dụng là tỉ lệ thụ tinh của 2 nhóm noãn được nuôi trưởng thành trước và sau trữ rã trong nghiên cứu của Hao và cộng sự năm 2022 [39]).

$$n = \frac{\{1,96 \sqrt{2 \times 0,225 \times (1 - 0,225)} + 0,842 \sqrt{0,25(1 - 0,25) + 0,2(1 - 0,2)}\}^2}{(0,25 - 0,2)^2} = 99$$

Cỡ mẫu tối thiểu cần có cho mỗi nhóm: $n=99$

2.5. CÁC THAM SỐ NGHIÊN CỨU

2.5.1. Đặc điểm bệnh nhân

- Tuổi của người vợ

2.5.2. Đặc điểm về noãn

- Tỉ lệ noãn trưởng thành

- Tỉ lệ noãn sống sót sau trữ rã

2.5.3. Kết quả phôi

- Tỉ lệ thụ tinh (FR) = số noãn thụ tinh bình thường $\times 100\%$ / số noãn tham gia ICSI (Noãn thụ tinh bình thường có 2 tiền nhân vào thời điểm 17 ± 1 sau ICSI).

- Tỉ lệ tạo phôi N3 = số phôi N3 hữu dụng $\times 100\%$ / tổng số noãn thụ tinh bình thường.

- Tỉ lệ tạo phôi N3 tốt = số phôi N3 loại 1 và loại 2 $\times 100\%$ / tổng số noãn thụ tinh bình thường.

- Tỷ lệ tạo phôi nang = số phôi nang hữu dụng x100%/ tổng số noãn thụ tinh bình thường.

- Tỷ lệ tạo phôi nang tốt = số phôi nang loại 1 và loại 2 x100%/ tổng số noãn thụ tinh bình thường.

2.5.4. Kết quả PGT

- Tỷ lệ phôi chỉnh bội = số phôi chỉnh bội x100%/ tổng số phôi tham gia PGT.

- Tỷ lệ phôi lệch bội = số phôi lệch bội x100%/ tổng số phôi tham gia PGT.

- Tỷ lệ phôi khỏe = số phôi khỏe x100%/ tổng số phôi tham gia PGT.

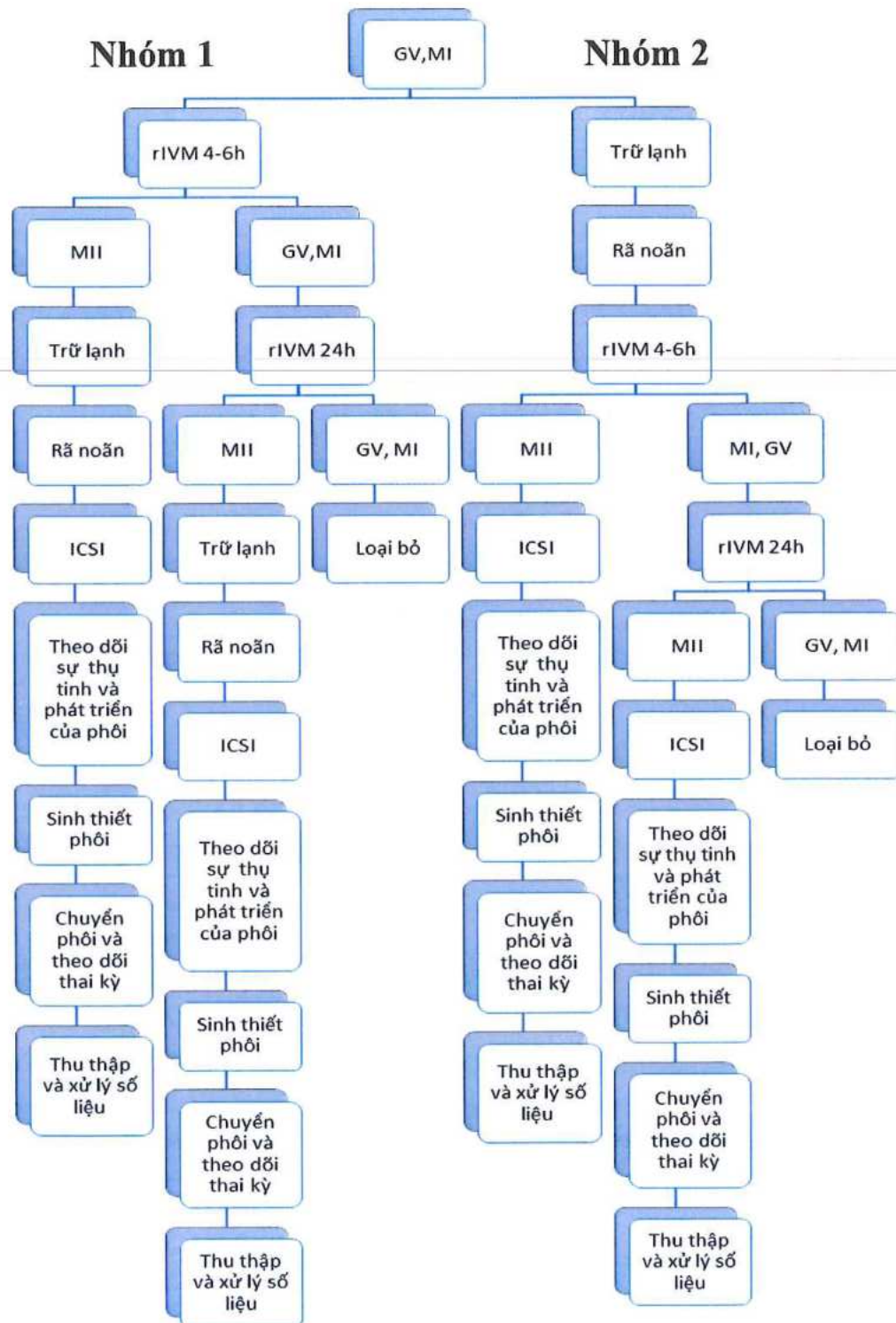
2.5.5. Kết cục thai sau chuyển phôi

- Tỷ lệ làm tổ = số túi thai siêu âm thai 7 tuần tuổi x100%/ tổng số phôi chuyển

- Tỷ lệ lưu/sảy = số ca lưu/sảy x100%/ tổng số ca chuyển phôi

- Tỷ lệ sinh sống = số có trẻ sinh sống x100%/ tổng số ca chuyển phôi

2.6. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH



Hình 2.1. Sơ đồ các bước thực hiện trong nghiên cứu

2.6.1. Thu nhận noãn và tách noãn

Thu nhận noãn: labo IVF nhận ống nghiệm chứa dịch nang noãn, bơm dịch nang noãn vào đĩa peptri, tìm và nhặt phức hợp noãn- tế bào hạt (OCC) dưới kính

hiển vi soi nổi trong tủ thao tác vô trùng. Sau đó hút chuyển khối OCC sang đĩa rửa, rửa noãn và đánh giá sơ bộ nang noãn, ủ trong 30 phút - 1 giờ.

Sau khi ủ noãn trong 30 phút – 1 giờ sẽ tách khối nang noãn bằng môi trường chứa enzyme Hyaruronidase (Vitrolife) để loại bỏ cumulus bao quanh noãn, đánh giá chất lượng noãn và sự trưởng thành noãn trên kính hiển vi quang học:

- + Noãn MII (noãn trưởng thành): có thể cực thứ nhất.
- + Noãn MI (chưa trưởng thành): không còn túi nhân, nhưng chưa tổng xuất thể cực thứ nhất.
- + Noãn GV (chưa trưởng thành): vẫn còn túi nhân.

2.6.2. Tư vấn bệnh nhân

Bệnh nhân được tư vấn lựa chọn 1 trong 2 phương pháp:

(1) Nuôi trưởng thành các noãn GV, MI thành MII; sau rIVM mới thực hiện trữ lạnh.

(2) Trữ lạnh các noãn GV, MI; sau rã đông mới thực hiện nuôi trưởng thành.

2.6.3. Rescue IVM noãn chưa trưởng thành

Nhóm 1: Thực hiện trưởng thành noãn trước trữ: Noãn chưa trưởng thành sau tách được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy phôi liên tục G-TL (Vitrolife) không bổ sung hormon, đã được cân bằng trước ở điều kiện 6% CO₂, 5% O₂ và 37°C trong 4-6h sau tách. Nếu noãn đạt MII (có sự tổng xuất thể cực), noãn sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Nếu không, các noãn non sẽ được tiếp tục nuôi cấy đến 24h sau tách.

Nhóm 2: Thực hiện trưởng thành noãn sau trữ rã: Noãn MI, GV được trữ lạnh, sau đó được nuôi trưởng thành trong ống nghiệm trong môi trường và điều kiện nuôi cấy tương tự nhóm 1. Nếu noãn đạt MII (có sự tổng xuất thể cực), noãn sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Nếu không, các noãn non sẽ được tiếp tục nuôi cấy đến 24h sau tách.

2.6.4. Trữ lạnh và rã đông noãn

Trữ lạnh:

Trữ lạnh noãn được thực hiện theo phương pháp thủy tinh hoá với môi trường đông phôi - noãn (Vitrification Kit, Cryotech): Bước cân bằng đầu tiên được thực hiện trong môi trường ES (Equilibration Solution) chứa 7% EG (ethylene glycol) và 7% DMSO (dimethyl sulfoxide) trong 12-15 phút. Sau đó, noãn được chuyển sang môi trường thủy tinh hoá VS (Vitrification Solution) chứa 14.5% EG, 14.5% DMSO và 0.5 M trehalose trong tối đa 90 giây. Cuối cùng, chuyển noãn lên cọng đông với thể tích <1μl và ngay lập tức nhúng vào nitơ lỏng. [46].

Rã đông:

Chuẩn bị môi trường rã noãn (Warming Kit, Cryotech) để cân bằng môi trường DS (dung dịch pha loãng) và WS (dung dịch rửa) ở nhiệt độ phòng và môi trường TS (dung dịch làm ấm) ở 37°C trong 2 giờ. Nhúng thật nhanh cộng phôi/noãn từ ni tơ lỏng vào TS và giữ noãn trong TS 1 phút. Sau đó chuyển noãn sang môi trường trung hoà (DS) chứa 0.5 M trehalose trong 3 phút. Cuối cùng, noãn được chuyển sang môi trường tráng (WS) trong 6 phút. Sau 6 phút, chuyển noãn vào đĩa nuôi cấy, đánh giá chất lượng hình thái noãn và nuôi cấy trong tủ cấy 37°, 6% CO₂. [46].

2.6.5. Tạo phôi trong ống nghiệm

Noãn trưởng thành sau khi nuôi trưởng thành và sống sót sau rã đông được thụ tinh với tinh trùng bằng kỹ thuật ICSI. Noãn được nuôi riêng lẻ trong các giọt môi trường G-TL (Vitrolife) trong tủ cấy 37°C, 6% CO₂, 5% O₂.

2.6.6. Theo dõi sự thụ tinh và phát triển của phôi**Đánh giá sự thụ tinh:**

- Sau ICSI khoảng 17-20 giờ, ghi nhận sự thụ tinh. Noãn thụ tinh thường có hình cầu, với 2 thể cực và 2 tiền nhân (pronuclei - PN) có màng bao riêng biệt, kích thước bằng nhau, nằm sát nhau ở vùng trung tâm của noãn.

Đánh giá phôi N3:

- Thời điểm đánh giá phôi ngày 3 vào 68±1 giờ sau ICSI. Đánh giá phôi ngày 3 theo đồng thuận năm 2011 [10].

Bảng 2.1 Đồng thuận về hệ thống đánh giá phôi ở giai đoạn phân chia của tổ chức Alpha [10]

Phân loại	Số lượng phôi bào	Độ đồng đều giữa các phôi bào	Tỉ lệ phân mảnh bào tương
I	8 phôi bào	Đều hoặc tương đối đều (lệch nhau ≤ 20%)	0 – 10%
II	<8 phôi bào hoặc > 8 phôi bào hoặc nén	Tương đối đồng đều	0 – 10%
	8 phôi bào	Không đều (lệch nhau > 20%)	0 – 10%
	8 phôi bào	Không đều (lệch nhau	15 -20%

		> 20%)	
III	< 8 phôi bào	Tương đối đều	15 – 20%
	8 phôi bào	Tương đối đều	> 20%

Đánh giá phôi ngày 5: Thời điểm đánh giá phôi ngày 5 là 116 ± 2 giờ. Đánh giá phôi ngày 5 theo đồng thuận năm 2011 [10].

Bảng 2.2 Đồng thuận về hệ thống đánh giá phôi nang của tổ chức Alpha [10]

	Độ đánh giá	Hình thái phôi
Độ nở rộng của khoang phôi	1	Phôi nang sớm (early blastocyst)
	2	Phôi nang (blastocyst)
	3	Phôi nang đã nở rộng (expanded)
	4	Phôi đang/ đã thoát màng (hatching/ hatched)
ICM	A	Chứa nhiều tế bào nén chặt và liên kết với nhau
	B	Chứa nhiều tế bào tạo thành từng nhóm liên kết lỏng lẻo
	C	Khó phân biệt, chứa ít tế bào
TE	A	Rất nhiều tế bào, hình thành lớp biểu mô bên ngoài
	B	Ít tế bào, hình thành nên lớp biểu mô lỏng lẻo
	C	Rất ít tế bào

Loại I: độ nở rộng ≥ 3 , ICM và TE : AA, AB, BA

Loại II: độ nở rộng ≥ 3 , ICM và TE : BB

Loại III: Độ nở rộng bằng 2, TE hoặc ICM độ C

2.6.7. Sinh thiết phôi và xét nghiệm di truyền tiền làm tổ

Đối với các ca có chỉ định xét nghiệm di truyền tiền làm tổ, thực hiện sinh thiết phôi. Sinh thiết phôi nang được tiến hành trên phôi nang ngày 5 hoặc ngày 6. Quy trình bao gồm:

(1) Mở màng ZP bằng lase;

(2) Đưa kim sinh thiết vào lấy 2-3 tế bào TE, sử dụng lase làm đứt các liên kết và ngắt phần tế bào TE ra khỏi phôi;

(3) Rửa tế bào với môi trường đệm trước khi đưa vào tube Eppendorf 200 μ l, bảo quản phôi bào trong 2-8°C trong 24 giờ, -25°C trên 24 giờ;

(4) Vận chuyển mẫu phôi bào tới Trung tâm xét nghiệm di truyền để tiến hành xét nghiệm di truyền phôi giai đoạn tiền làm tổ.

2.6.8. Chuyển phôi trữ đông

Chuyển phôi được thực hiện với catheter đầu mềm dưới hướng dẫn của siêu âm ngã bụng. Bệnh nhân được hỗ trợ hoàng thể và thử máu (β hCG) sau 11 ngày chuyển phôi. Nếu dương tính, bệnh nhân được siêu âm vào 3 tuần sau đó. Theo dõi thai kỳ bằng siêu âm.

- Kết cục lâm sàng được ghi nhận bởi các biến số:

Có thai: kết quả xét nghiệm beta-hCG dương tính ($>25\text{IU}$)

Thai sinh hoá: không có túi thai trên siêu âm

Thai lâm sàng: xuất hiện túi thai trên siêu âm.

Thai diễn tiến: thai phát triển đến tuần thứ 12.

Trẻ sinh sống: trẻ sinh ra có dấu hiệu của sự sống.

2.6.9. Thu thập số liệu

- Các số liệu về phôi, noãn được thu thập từ phiếu theo dõi phôi và phiếu theo dõi trữ - rã phôi trên hồ sơ của bệnh nhân sau khi bệnh nhân đã kết thúc chu kỳ điều trị.

- Các thông tin về bệnh nhân, kết quả xét nghiệm di truyền tiền làm tổ và kết quả thai được thu thập từ hồ sơ theo dõi kết quả điều trị bằng thụ tinh trong ống nghiệm của bệnh nhân tại Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh.

- Các biến số nghiên cứu chính gồm: tuổi của người vợ, số lượng noãn trưởng thành, số lượng noãn sống sót sau trữ - rã, số lượng noãn thụ tinh, số lượng phôi hữu dụng, kết quả PGT-A, kết cục thai sau chuyển phôi.

2.6.10. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu được phân tích và xử lý theo các phương pháp thống kê trong y sinh học bằng phần mềm SPSS 20.0. Sử dụng test Wilcoxon-Mann-Whitney để so sánh tuổi bệnh nhân nữ giữa hai nhóm noãn rIVM tươi và rIVM trữ. Sử dụng phép thống kê χ^2 (Chi Square) để so sánh tỉ lệ noãn trưởng thành sống sót sau trữ - rã, tỉ lệ thụ tinh, tỉ lệ tạo phôi ngày 3, tỉ lệ tạo phôi ngày 3 tốt, tỉ lệ tạo phôi ngày 5, tỉ lệ tạo phôi ngày 5 tốt. Mô hình hồi quy logistic được dùng để đánh giá thời điểm trữ rã trưởng thành noãn non có ảnh hưởng đến các tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ tạo phôi. Biểu đồ

đường cong ROC dùng để đánh giá tiềm năng của số lượng noãn non ban đầu trong tiên lượng khả năng có phôi ngày 3. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. KHÍA CẠNH ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu tuân thủ nghiêm ngặt các quy định, nguyên tắc về đạo đức nghiên cứu y sinh học của Việt Nam.

Các thủ tục hành chính trong nghiên cứu phải tuân thủ theo qui định và luật pháp Việt Nam đã ban hành trong lĩnh vực HTSS.

Nghiên cứu này phục vụ cho sức khỏe cộng đồng chứ không ngoài mục đích nào khác.

Những người bệnh tham gia nghiên cứu đều được giải thích về nghiên cứu, tự nguyện tham gia cung cấp thông tin cho nghiên cứu.

Các thông tin cá nhân và số liệu y học được giữ theo nguyên tắc bí mật.

Nghiên cứu được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Viện nghiên cứu hệ gen chấp thuận theo quyết định số 03-2025/ NCHG-HĐĐĐ.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nghiên cứu được tiến hành tại khoa Hỗ trợ Sinh sản, bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh trong thời gian từ 01/2021 – 12/2024, thực hiện thu thập trên 827 noãn từ 348 chu kì IVF/ICSI có noãn chưa trưởng thành đủ điều kiện đưa vào nghiên cứu.

3.1. KẾT QUẢ THU NHẬN MẪU NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1 Kết quả thu nhận mẫu nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm 1 rIVM tươi	Nhóm 2 rIVM trữ	Giá trị <i>P</i>
Tổng số noãn nghiên cứu	577	250	--
Số chu kì	181	167	-
Tuổi vợ (tuổi)	35,50 ± 5,18	36,50 ± 4,88	<i>P</i> = 0,137

Từ tháng 01/2021 đến tháng 12/2024, có tổng 827 noãn chưa trưởng thành từ 348 chu kỳ thỏa mãn tiêu chuẩn nhận được đưa vào nghiên cứu. Trong đó tổng số noãn tham gia nghiên cứu trong nhóm 1 (rIVM tươi) là 577 noãn từ 181 chu kì, đối với nhóm 2 (rIVM trữ) là 250 noãn từ 167 chu kì. Độ tuổi trung bình của người mẹ ở 2 nhóm lần lượt là $35,5 \pm 5,18$ và $36,5 \pm 4,88$ ($p > 0,05$), cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về yếu tố nền là độ tuổi của người mẹ giữa 2 nhóm nghiên cứu.

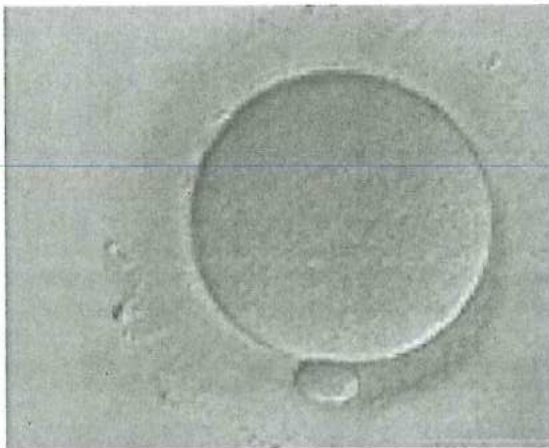
3.2. KHẢ NĂNG SỐNG SÓT VÀ TRƯỞNG THÀNH CỦA NOÃN SAU TRỮ - RÃ ĐÔNG

Sự trưởng thành của noãn được đánh giá thông qua sự hiện diện của thể cực thứ nhất. Tuy nhiên, sự tổng xuất thể cực của noãn MII chỉ xác định được sự trưởng thành về nhân, không xác định được sự trưởng thành về tế bào chất, do đó không phản ánh được khả năng phát triển cũng như sự trưởng thành về cấu trúc và phân tử của noãn.

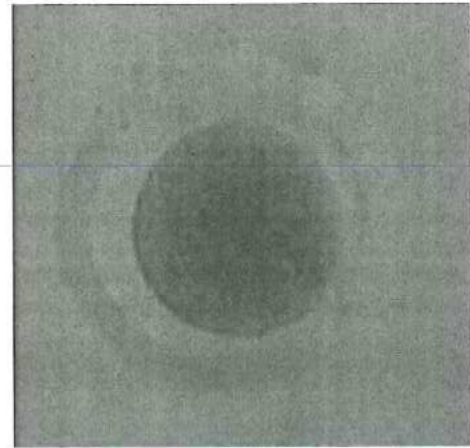
Đối với nhóm 1, đánh giá sự trưởng thành của noãn được thực hiện sau khi nuôi cấy 4-6 giờ và đánh giá lại vào 24 giờ (đối với các noãn bào không trưởng thành tại thời điểm 4-6 giờ) sau tách noãn, trước khi tiến hành thụ tinh hóa. Đối

với nhóm 2, sự trưởng thành của noãn được đánh giá tại thời điểm 4-6 giờ và 24 giờ sau rã noãn, trước khi tiến hành ICSI.

Khi quan sát dưới kính hiển vi quang học, noãn trưởng thành - sống sót sau rã đông là những noãn có 1 thể cực, bào tương noãn chiết quang sáng, đều, màu vàng nhạt. Ngược lại, noãn thoái hóa sau rã đông có bào tương không nguyên vẹn, méo mó, tế bào chất xạm màu hoặc co lại (xem hình 3.1)



A. Noãn MII bình thường



B. Noãn thoái hóa

Hình 3.1. Hình ảnh noãn MII bình thường (A) và noãn thoái hóa sau rã đông (B)
(Nguồn: IVF QN)

Kết quả phân tích khả năng trưởng thành – sống sót được thể hiện trong bảng 3.2.

Bảng 3.2 So sánh tỉ lệ trưởng thành sống sót của noãn giữa hai nhóm

Đặc điểm	Nhóm 1 rIVM tươi	Nhóm 2 rIVM trữ	Giá trị <i>P</i>
Số noãn tham gia nghiên cứu	577	250	-
Số noãn trưởng thành sống sót	454	101	-
Tỉ lệ noãn trưởng thành sống sót (%)	78,68	40,40	$P < 0,0001$

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỉ lệ noãn trưởng thành sống sót cao hơn nhóm 2 có ý nghĩa thống kê với tỉ lệ lần lượt là 78,68% và 40,40% ($P < 0,0001$).

Bảng 3.3 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ trưởng thành – sống sót của noãn

Nhóm noãn non	OR hiệu chỉnh	Khoảng tin cậy 95%	Giá trị <i>P</i>
Nhóm 2	1	-	-
Nhóm 1	5,45	3,95 – 7,51	< 0,0001

Phân tích hồi quy Logistic kiểm soát khả năng trưởng thành - sống sót ở noãn non đối với thời điểm trưởng thành và đông rã noãn được thể hiện ở bảng 3.3, xác định được nhóm noãn 1 có khả năng trưởng thành và sống sót nhiều hơn 5,45 lần (khoảng tin cậy 95%: 3,95 - 7,51) so với nhóm 2, mức ý nghĩa thống kê $P < 0,0001$.

Kết quả trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả của một số công bố trước đây [37-39, 41, 47]. Trong nghiên cứu của Giovanna Fasano và cộng sự (2012) [41], tỉ lệ trưởng thành - sống sót cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm noãn được nuôi trưởng thành trước trữ (rIVM tươi) so với nhóm noãn được nuôi trưởng thành sau trữ (rIVM trữ) (40% so với 23,8%, $p < 0,05$). Năm 2017, nghiên cứu của Evangelia Kasapi và cộng sự [47] cũng cho thấy không có sự khác biệt nào về tỉ lệ sống sót giữa 2 nhóm noãn trưởng thành trước và sau trữ lạnh (93,5% và 90,8%, $p > 0,05$), nhưng tỉ lệ trưởng thành lại cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm noãn trưởng thành trước trữ (tỉ lệ trưởng thành là 82,9% ở nhóm rIVM tươi so với 51% ở nhóm rIVM trữ).

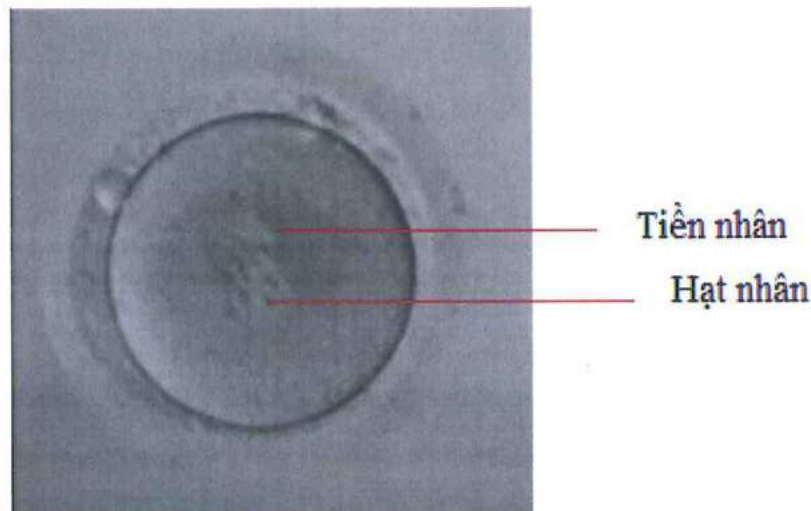
Tuy nhiên, gần đây, một nghiên cứu của Marteil và cộng sự (2024) [42] khi so sánh giữa 2 nhóm noãn rIVM tươi và rIVM trữ lại cho thấy tỉ lệ sống sót, tỉ lệ trưởng thành không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm (Tỉ lệ sống sót: 95,00% so với 82,05%, $p > 0,05$. Tỉ lệ trưởng thành: 63,16% so với 59,38%, $p > 0,05$).

Mặc dù, theo giả thuyết, ở giai đoạn GV, nhiễm sắc thể được khuếch tán trong trạng thái diplotene của kỳ đầu giảm phân I và được màng nhân bảo vệ tốt, sẽ ít bị tổn thương hơn trong quá trình trữ - rã, nhưng kết quả nghiên cứu của tôi lại cho thấy quá trình thủy tinh hóa noãn tại giai đoạn GV và MI làm giảm đáng kể tỉ lệ trưởng thành - sống sót sau trữ rã. Điều này đã đặt ra giả thiết rằng có thể quá trình thủy tinh hóa noãn ở giai đoạn chưa trưởng thành đã tác động tiêu cực đến tiến trình phát triển bình thường của noãn. Giải thích cho vấn đề này, một nghiên cứu của Samuel và cộng sự (2014) khi nghiên cứu tác động của quá trình thủy tinh hóa lên chu kỳ tế bào noãn chưa trưởng thành ở chuột cho thấy các noãn bào chưa trưởng

thành trải qua trũ - rã có sự ngưng tụ bất thường ở nhiễm sắc thể; trải qua sự kích hoạt phục hồi giảm phân sớm hơn bình thường dẫn đến mất đồng bộ giữa trường thành nhân và trường thành tế bào chất; ngoài ra quá trình thủy tinh hóa ở noãn chưa trưởng thành còn tác động tiêu cực đến độ ổn định của bộ khung tế bào actin dẫn đến mất f-actin ở vùng vỏ và quanh nhân của noãn, phá vỡ nghiêm trọng các cầu nối xuyên màng trong suốt (tranzonal projection – TZP), trong khi các cầu nối này đóng vai trò lớn trong việc hỗ trợ cung cấp chất dinh dưỡng giúp noãn trưởng thành [48]. Như vậy, quá trình thủy tinh hóa noãn ở giai đoạn chưa trưởng thành đã tác động tiêu cực đến tính toàn vẹn của nhiễm sắc thể và bộ khung xương tế bào, sự phục hồi giảm phân, làm ảnh hưởng đến sự tiến triển bình thường của quá trình trưởng thành nhân và trường thành tế bào chất.

3.3. ẢNH HƯỞNG CỦA TRỮ - RÃ ĐÔNG NOÃN LÊN KẾT QUẢ PHÔI HỌC

3.3.1. Ảnh hưởng trũ - rã đông noãn lên kết quả thụ tinh



Hình 3.2 Hình ảnh hợp tử (Nguồn: IVF QN).

Sau khi thực hiện nuôi trường thành noãn trước hoặc sau khi trũ rã, mọi noãn trưởng thành trong IVM thu được đều được thụ tinh qua ICSI và nuôi cấy cho đến giai đoạn phôi nang để đánh giá khả năng phát triển của chúng.

Thời điểm tiến hành kiểm tra thụ tinh vào khoảng 17 ± 1 giờ sau khi thực hiện ICSI. Noãn thụ tinh thường có hình cầu, với 2 thể cực và 2 tiền nhân (pronuclei - PN) có màng bao riêng biệt, kích thước bằng nhau, nằm sát nhau ở vùng trung tâm của noãn. PN có chứa các hạt nhân NPB (Nucleolar Precursor Body) với số lượng và kích thước tương đương nhau, sắp xếp thẳng hàng tại vùng giao nhau của màng 2 PN (xem hình 3.2).

Kết quả thụ tinh giữa hai nhóm noãn được thể hiện trong bảng 3.4.

Bảng 3.4 So sánh tỉ lệ thụ tinh giữa hai nhóm

Đặc điểm	Nhóm 1 rIVM tươi	Nhóm 2 rIVM trữ	Giá trị <i>P</i>
Số noãn trưởng thành sống sót tham gia ICSI	454	101	-
Số noãn thụ tinh bình thường	294	51	-
Tỉ lệ thụ tinh (%)	64,76	50,50	$P = 0,01$

Kết quả của tôi cho thấy, trong 454 noãn trưởng thành sống sót tham gia ICSI có 294 noãn thụ tinh bình thường, cho tỉ lệ thụ tinh là 64,76%. Tương tự như vậy, 101 noãn trưởng thành sống sót tham gia thụ tinh ở nhóm 2 có 51 noãn thụ tinh bình thường, cho tỉ lệ thụ tinh của nhóm 2 là 50,5%. Kết quả phân tích thống kê so sánh tỉ lệ thụ tinh giữa hai nhóm noãn cho thấy nhóm 1 có tỉ lệ thụ tinh cao hơn nhóm 2 với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Ngoài ra, phân tích hồi quy Logistic kiểm soát khả năng thụ tinh của noãn đối với thời điểm trưởng thành và đông rã noãn (bảng 3.5) xác định được nhóm noãn 1 có khả năng thụ tinh cao hơn 1,80 lần (khoảng tin cậy 95%: 1,17 – 2,78) so với nhóm 2, mức ý nghĩa thống kê $P < 0,05$. Kết quả này cho thấy, việc thủy tinh hóa noãn trước khi nuôi trưởng thành làm giảm khả năng thụ tinh của noãn hơn so với phương pháp nuôi trưởng thành trước rồi mới tiến hành thủy tinh hóa.

Bảng 3.5 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ thụ tinh của noãn

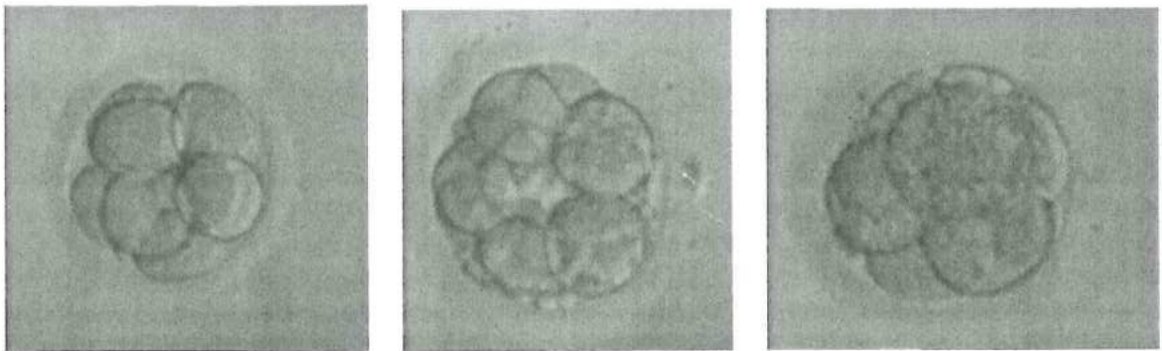
Nhóm noãn non	OR hiệu chỉnh	Khoảng tin cậy 95%	Giá trị <i>P</i>
Nhóm 2	1	-	-
Nhóm 1	1,80	1,17– 2,78	0,008

Kết quả tương tự được tìm thấy trong một nghiên cứu trước đó của Hao và cộng sự năm 2022 [39]. Nghiên cứu của Hao là 1 thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng, thực hiện với 102 noãn chưa trưởng thành cho tỉ lệ thụ tinh của nhóm rIVM

tươi và nhóm rIVM trữ lần lượt là 25% và 20%, $p < 0,05$ [39]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của Hao và cộng sự (2022) cũng cho thấy tỉ lệ thụ tinh có xu hướng cao hơn ở nhóm noãn được nuôi trưởng thành trước khi trữ, tuy nhiên tỉ lệ thụ tinh ở cả 2 nhóm noãn trong nghiên cứu này đều thấp hơn tỉ lệ thụ tinh của hai nhóm noãn trong nghiên cứu của tôi, điều này có thể do nghiên cứu của Hao sử dụng tinh trùng hiến tặng đã trải qua trữ rã, do đó làm giảm khả năng của tinh trùng khi thực hiện thụ tinh với noãn, trong khi nghiên cứu của tôi sử dụng tinh trùng tươi từ người chồng.

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của tôi cũng có sự khác biệt với một vài nghiên cứu trước đó như nghiên cứu của Song và cộng sự [49], 2016 Cao năm 2009 [40] và nghiên cứu của Fasano G [41] năm 2012, các nghiên cứu này cho thấy tỉ lệ thụ tinh là tương tự nhau giữa 2 nhóm noãn được trữ lạnh trước và sau IVM.

3.3.2. Ảnh hưởng trữ - rã đông noãn đến kết quả phôi ngày 3



A. Phôi ngày 3 loại I

B. Phôi ngày 3 loại II

C. Phôi ngày 3 loại III

Hình 3.3. Hình ảnh phôi ngày 3 theo các cấp độ (Nguồn: IVF QN)

Thời điểm đánh giá phôi ngày 3 là 68 ± 1 giờ sau ICSI. Chất lượng phôi ngày 3 được chia thành 3 cấp độ tốt, trung bình và xấu (tương ứng với loại I, loại II, loại III) (xem hình 3.3), tiêu chuẩn đánh giá dựa vào các tiêu chí như số lượng và kích thước của các phôi bào, tỉ lệ phân mảnh bào tương, ngoài ra nếu phôi được nuôi trong tủ nuôi cấy phôi liên tục Time-lapse thì còn đánh giá dựa trên các thông số động lực học của phôi. Các phôi có tốc độ phân chia chậm hơn bình thường có thể có khả năng làm tổ thấp. Ngoài ra, những phôi có tốc độ phân chia nhanh có thể có bất thường về nhiễm sắc thể kèm theo, do đó, khả năng làm tổ cũng bị ảnh hưởng [10].

Các phôi có khả năng chuyển hoặc đông phôi được gọi là phôi khả dụng. Các phôi xếp loại I và loại II được coi là phôi chất lượng tốt.

Các kết quả về phôi phân chia ngày 3 và phôi tốt ngày 3 trong nghiên cứu của tôi được thể hiện trong bảng 3.6.

Bảng 3.6. So sánh chất lượng hình thái phôi phân chia giữa hai nhóm

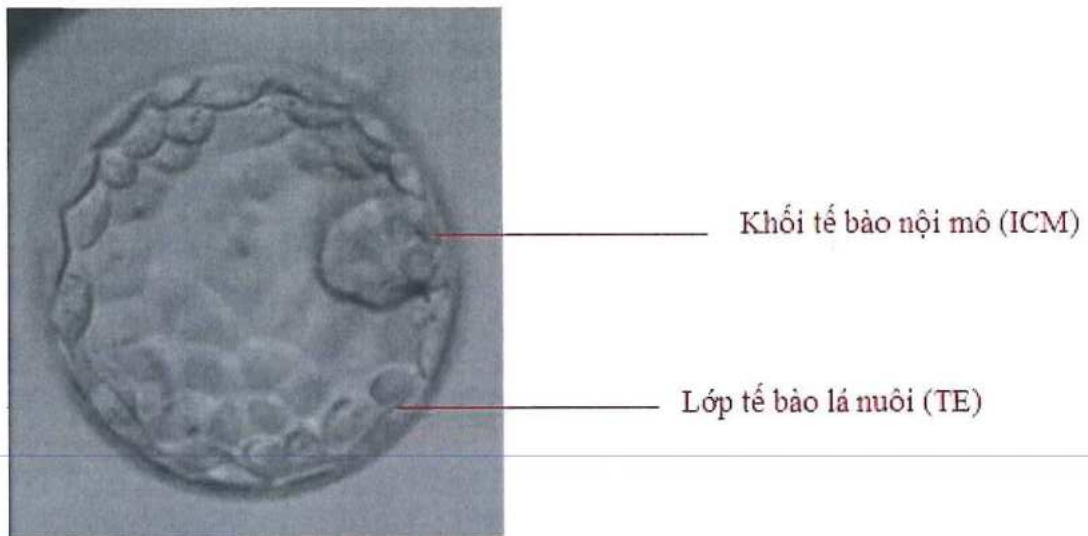
Đặc điểm	Nhóm 1 rIVM tươi	Nhóm 2 rIVM trữ	Giá trị <i>P</i>
Số noãn thụ tinh	294	51	-
Số phôi khả dụng ngày 3	163	27	-
Số phôi tốt ngày 3	64	5	-
Tỉ lệ phôi khả dụng ngày 3 (%)	55,44	52,94	<i>P</i> = 0,858
Tỉ lệ phôi tốt ngày 3 (%)	21,77	9,80	<i>P</i> = 0,075

Từ bảng 3.6 cho thấy tỉ lệ tạo phôi khả dụng ngày 3 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm noãn được thủy tinh hóa trước và sau IVM, lần lượt là 55,94% và 55,44%, $p > 0,05$. Tỉ lệ tạo phôi tốt ngày 3 của nhóm 1 có xu hướng cao hơn nhóm 2, tuy nhiên các so sánh này không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

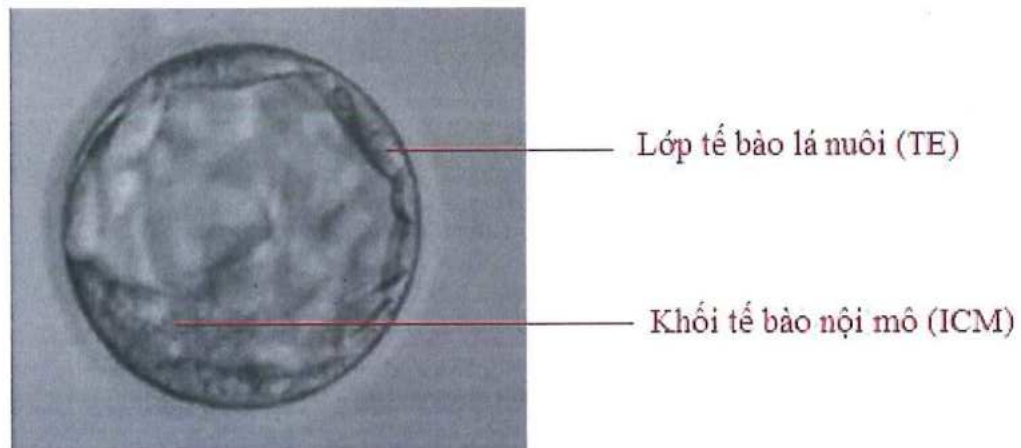
Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Fasano (2012) và nghiên cứu của Cao (2009) [40, 41] cũng không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê nào về tỉ lệ tạo phôi ngày 3 giữa hai nhóm noãn được thủy tinh hóa trước hoặc sau rIVM.

Ngược lại, Song và cộng sự [49] đã chỉ ra tỉ lệ phôi phân chia cao hơn đáng kể ở nhóm noãn được thủy tinh hóa sau IVM, đồng thời khả năng phục hồi thoi phân bào sau trữ - rã ở nhóm noãn được thủy tinh hóa sau IVM cũng tốt hơn so với nhóm noãn thủy tinh hóa trước IVM, đây là nền tảng cho sự thụ tinh và tiềm năng phát triển của phôi, đặc biệt là giai đoạn phôi phân chia, do thoi vô sắc rất nhạy cảm với sự thay đổi nhiệt độ trong quá trình thủy tinh hóa bởi sự khử polyme nhanh chóng khi tiếp xúc với nhiệt độ dưới mức sinh lý [50], việc tổn thương thoi vô sắc sau quá trình trữ - rã có thể làm sai lệch sự phân chia nhiễm sắc thể chính xác trong quá trình phân bào, dẫn đến sự phân chia bất thường (phân chia trực tiếp, phân chia hỗn loạn, phân chia ngược...) và tăng khả năng lệch bội [51].

3.3.3. Ảnh hưởng trữ - rã đông noãn lên kết quả tạo phôi nang ngày 5



A. Phôi ngày 5 loại I



B. Phôi ngày 5 loại II



C. Phôi ngày 5 loại III

Hình 3.4. Hình ảnh phôi nang ngày 5 theo các cấp độ (Nguồn: IVF QN)

Thời điểm đánh giá phôi ngày 5 được thực hiện vào thời điểm 116 ± 2 giờ sau ICSI. Phôi ngày 5 được đánh giá chất lượng dựa vào sự tạo nang và độ nở rộng của phôi, hình ảnh khối tế bào nội mô (ICM) và lớp tế bào lá nuôi (TE). Một phôi ngày 5 vào thời điểm 116 ± 2 giờ sau ICSI được xem là có chất lượng tốt khi có độ nở rộng tối đa hay đã phát triển đến giai đoạn thoát màng; có khối ICM nổi bật, thấy rõ giới hạn, bên trong có chứa nhiều tế bào và các tế bào phải liên kết chặt với nhau. Ngoài ra, các tế bào lá nuôi phải có nhiều, ép dẹt vào ZP và dính liên tục với nhau (xem hình 3.4). Các tiêu chuẩn đánh giá của khối tế bào ICM và TE chỉ được đánh giá chính xác khi phôi đã phát triển đến giai đoạn nở rộng [10].

Các phôi có khả năng chuyển hoặc đông phôi được gọi là phôi khả dụng. Các phôi xếp loại I và loại II được coi là phôi chất lượng tốt.

Các kết quả phôi ngày 5 và phôi tốt ngày 5 trong nghiên cứu được thể hiện trong bảng 3.7.

Bảng 3.7 So sánh chất lượng hình thái phôi nang giữa hai nhóm

Đặc điểm	Nhóm 1 rIVM tươi	Nhóm 2 rIVM trữ	Giá trị <i>P</i>
Số noãn thụ tinh	294	51	-
Số phôi khả dụng ngày 5	85	7	-
Số phôi tốt ngày 5	23	0	-
Tỉ lệ phôi khả dụng ngày 5 (%)	28,91	13,73	<i>P</i> = 0,036
Tỉ lệ phôi tốt ngày 5 (%)	7,82	0,00	<i>P</i> = 0,033

Khi tiếp tục nuôi cấy và theo dõi phôi đến giai đoạn phôi nang, kết quả nghiên cứu của tôi cho thấy từ 294 noãn thụ tinh ở nhóm 1 sau nuôi cấy tạo thành 85 phôi ngày 5, trong đó có 23 phôi loại 1 và loại 2, cho tỉ lệ tạo phôi nang ngày 5 là 28,91% và tỉ lệ tạo phôi tốt ngày 5 là 7,82%. Ở nhóm 2 có 7 phôi ngày 5 được tạo thành từ 51 hợp tử, cho tỉ lệ tạo phôi ngày 5 là 13,73%, thấp hơn đáng kể so với tỉ lệ tạo phôi ngày 5 ở nhóm 1 ($p < 0,05$), ngoài ra ở nhóm 2 không có phôi tốt ngày 5 nào được tạo thành. Như vậy, cả tỉ lệ tạo phôi ngày 5 và phôi tốt ngày 5 đều cao hơn ở nhóm 1 so với nhóm 2, các so sánh này đều có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$.

Bảng 3.8 Mô hình hồi quy Logistic cho thời điểm trữ rã noãn trưởng thành ảnh hưởng đến tỉ lệ tạo phôi ngày 5

Nhóm noãn non	OR hiệu chỉnh	Khoảng tin cậy 95%	Giá trị <i>P</i>
Nhóm 2	1	-	-
Nhóm 1	2,56	1,11 – 5,90	0,028

Phân tích hồi quy Logistic kiểm soát khả năng tạo phôi ngày 5 (bảng 3.8) đối với thời điểm trưởng thành và đông rã noãn, chúng tôi xác định được nhóm 1 có khả năng tạo phôi ngày 5 cao hơn 2,56 lần (khoảng tin cậy 95%: 1,11 – 5,90) so với nhóm 2, mức ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.

Chưa có nhiều nghiên cứu so sánh tỉ lệ tạo phôi nang giữa 2 nhóm noãn thủy tinh hóa trước và sau IVM. Tỉ lệ phôi nang không được báo cáo trong hai nghiên cứu [6, 52]. Năm 2014, Lee và cộng sự [6] đã thực hiện một nghiên cứu thực nghiệm để đánh giá tiềm năng của các tế bào trứng được thủy tinh hóa trước và sau IVM, nhưng kết quả mới chỉ dừng lại ở việc đánh giá tỉ lệ trưởng thành – sống sót, chưa đánh giá được kết quả phôi học. Một nghiên cứu khác của Wang và cộng sự, 2012 [52] cũng chỉ nghiên cứu đến giai đoạn phôi phân chia, không thực hiện nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang. Mặt khác, nghiên cứu của Fasano và cộng sự, 2012 [41] cho tỉ lệ thụ tinh và phôi ngày 3 tương tự nhau giữa 2 nhóm nhưng không có phôi nang nào được tạo thành ở cả 2 nhóm noãn thủy tinh hóa trước và sau IVM.

Năm 2022, một nghiên cứu thực nghiệm của Hao và cộng sự [39] thực hiện trên 102 noãn GV cho kết quả: trong nhóm thủy tinh hóa trước IVM, không có phôi nang nào được tạo thành trên tổng số 2 thụ tinh; đối với nhóm thủy tinh hóa sau IVM chỉ tạo thành 1 phôi nang duy nhất từ 4 hợp tử; do số lượng mẫu ít nên không có sự khác biệt đáng kể nào được quan sát thấy. Tương tự như nghiên cứu của Song và cộng sự, 2016 [49] cũng cho thấy, dù tỉ lệ tạo phôi nang có xu hướng cao hơn ở nhóm thủy tinh hóa trước IVM (21,4% so với 8,3%), nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Trong nghiên cứu của tôi, tỉ lệ tạo phôi nang ngày 5 ở 2 nhóm lần lượt là 21,91% và 13,73%, các tỉ lệ này đều cao hơn so với tỉ lệ tạo phôi nang trong các nghiên cứu của Hao, 2022 [39] và nghiên cứu của Song, 2016 [49]. Kết quả nghiên cứu của tôi cho thấy, tuy rằng các noãn bào chưa trưởng thành ban đầu có tiềm năng phát triển thấp, cho các kết quả phôi học vẫn còn thấp hơn nhiều so với tiêu chuẩn

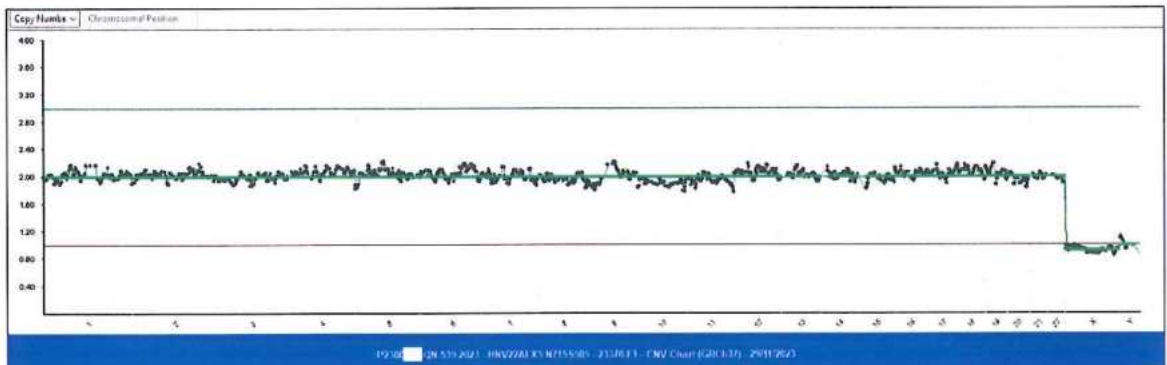
từ noãn MII *in vivo* [53], nhưng chúng vẫn có thể mang lại cơ hội có thêm phôi chuyển cho bệnh nhân.

3.4. CHẤT LƯỢNG DI TRUYỀN CỦA PHÔI SAU TRỮ - RÃ ĐÔNG NOÃN

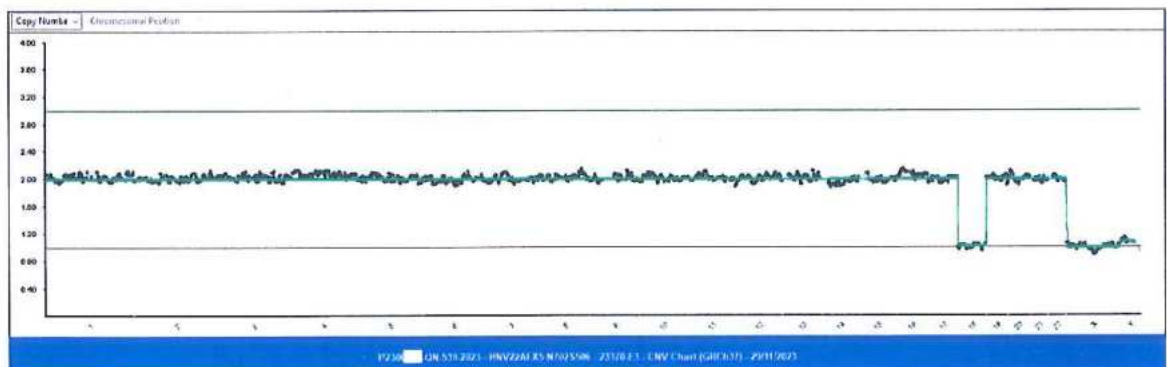
Đánh giá chất lượng phôi về mặt di truyền thông qua xét nghiệm sàng lọc phôi bất thường nhiễm sắc thể PGT-A (Preimplantation genetic testing for aneuploidies) trên tổng số 30 phôi của 27 cặp vợ chồng có chỉ định chẩn đoán phôi tiền làm tổ. Có tổng 30 phôi nhóm 1 được sàng lọc di truyền, trong đó có 15 phôi nguyên bội chiếm tỉ lệ 50%, 9 phôi lệch bội (30%) và 6 phôi khảm (20%). Trong khi đó, không có phôi nang nào trong nhóm 2 được sàng lọc di truyền. Do trong nhóm 2 không có phôi nang nào được sinh thiết và xét nghiệm di truyền tiền làm tổ nên nghiên cứu của tôi không thể thực hiện so sánh các tỉ lệ về phôi sàng lọc.

Xét riêng chất lượng di truyền của nhóm 1, kết quả của tôi cho thấy số lượng phôi nguyên bội chiếm 50% số lượng phôi sinh thiết. Mặc dù các noãn trưởng thành trong ống nghiệm có tiềm năng phát triển thấp hơn nhiều so với các noãn trưởng thành ban đầu thu được sau chọc hút [54, 55], nhưng vẫn có khả năng tạo ra phôi nguyên bội, điều này đã cổ vũ rất lớn và góp phần tạo thêm niềm tin cho việc tận dụng các noãn chưa trưởng thành sau chọc hút.

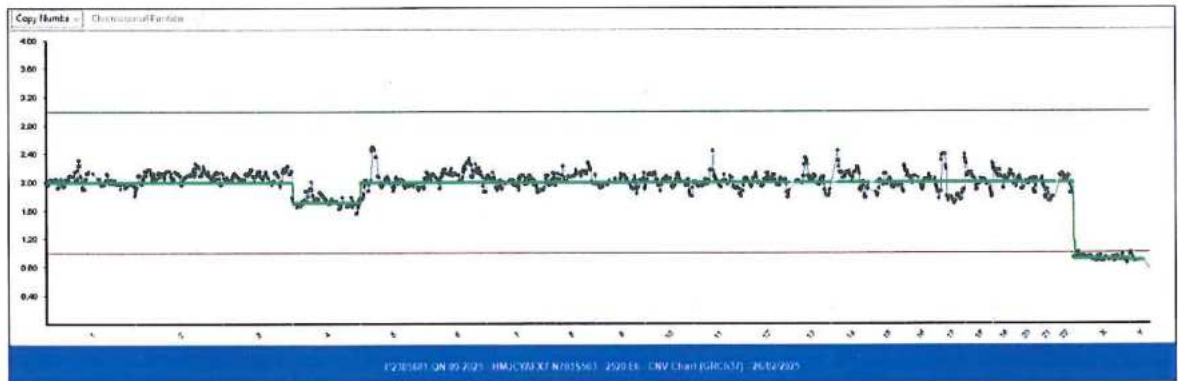
a1,



a2,



a3,



Hình 3.5 Hình ảnh kết quả xét nghiệm di truyền tiền làm tổ ở phôi người

- a1. Không phát hiện bất thường lệch bội 24 nhiễm sắc thể.
- a2. Phát hiện lệch bội nhiễm sắc thể -18.
- a3. Phát hiện khảm bất thường lệch bội nhiễm sắc thể (Tỉ lệ khảm 40%): -4.

3.5. KẾT QUẢ LÂM SÀNG TỪ NOÃN TRỮ - RÃ ĐÔNG

Sau chuyển phôi, các kết quả như số phôi đã làm tổ (số túi thai 7 tuần tuổi), lưu/ sảy, sinh sống được ghi nhận và theo dõi trên từng ca.

Từ giai đoạn 2021 đến 2024, có 15 phôi trong nhóm 1 được chuyển từ 11 bệnh nhân, bao gồm 5 phôi ngày 3 và 10 phôi ngày 5, không có phôi nào trong nhóm 2 được chuyển. Có 6 ca có thai được ghi nhận, trong đó có 1 trường hợp thai lưu, 2 trường hợp thai sinh hóa và đặc biệt là 3 trường hợp trẻ sinh sống. Trong nghiên cứu của tôi, có 19 trường hợp đông cùng cọng với phôi không trong nghiên cứu và 1 trường hợp chuyển phôi cùng 1 phôi khác không trong nghiên cứu, vì thế không thể theo dõi kết quả sau chuyển phôi.

Việc sử dụng lâm sàng các noãn bào chưa trưởng thành thu được trong chu kỳ IVF tươi được kích thích vẫn còn gây tranh cãi ngay cả khi không có quá trình thụ tinh hóa. Nhiều nghiên cứu cho rằng, các noãn bào GV và MI trưởng thành trong ống nghiệm không có khả năng cải thiện thai kỳ lâm sàng [54-56]. Mặc dù tỷ lệ thụ tinh tương tự đã được quan sát thấy giữa các noãn bào trưởng thành trong cơ thể sống và trong ống nghiệm, Shu và cộng sự đã kết luận rằng tỷ lệ thai kỳ lâm sàng và tỷ lệ sinh sống của các phôi chuyển có nguồn gốc từ các noãn bào trưởng thành trong ống nghiệm là không đạt yêu cầu [56]. Một nghiên cứu năm 2010 cũng đã chỉ ra hiệu quả không rõ ràng của việc sử dụng các noãn bào chưa trưởng thành có nguồn gốc từ các chu kỳ IVF được kích thích. Hai trăm sáu mươi ba noãn bào chưa trưởng thành trải qua IVM đã được so sánh với các noãn bào trưởng thành trong cơ thể sống cùng loại (n = 234). Mặc dù cả hai nhóm đều đạt được tỷ lệ

thụ tinh tương đương, nhưng chất lượng phát triển của giai đoạn phân cắt ngày 2 ở nhóm noãn bào chưa trưởng thành thấp hơn về số lượng và tính đối xứng của phôi bào. Hơn nữa, không có phôi nào trong số 17 phôi được chuyển từ các tế bào trứng trưởng thành trong ống nghiệm được cấy ghép thành công [54]. Một nghiên cứu khác cũng quan sát thấy hiệu quả lâm sàng thấp của các tế bào trứng trưởng thành trong ống nghiệm, không dẫn đến một thai kỳ lâm sàng nào trong năm trường hợp chuyển phôi [55].

Năm 2009, Chian và cộng sự đã báo cáo trường hợp trẻ sinh sống đầu tiên có nguồn gốc từ noãn được thụ tinh hóa sau khi trưởng thành trong ống nghiệm [57]. Tuy nhiên, cho đến nay, có rất ít nghiên cứu về việc nuôi trưởng thành noãn trước hay sau trữ lạnh theo dõi đến kết quả lâm sàng. Trong nghiên cứu của tôi, 3 trường hợp trẻ sinh sống được ghi nhận có ý nghĩa rất lớn, bởi điều này đã giúp làm tăng ý nghĩa lâm sàng của việc sử dụng noãn chưa trưởng thành từ các chu kỳ kích thích buồng trứng.

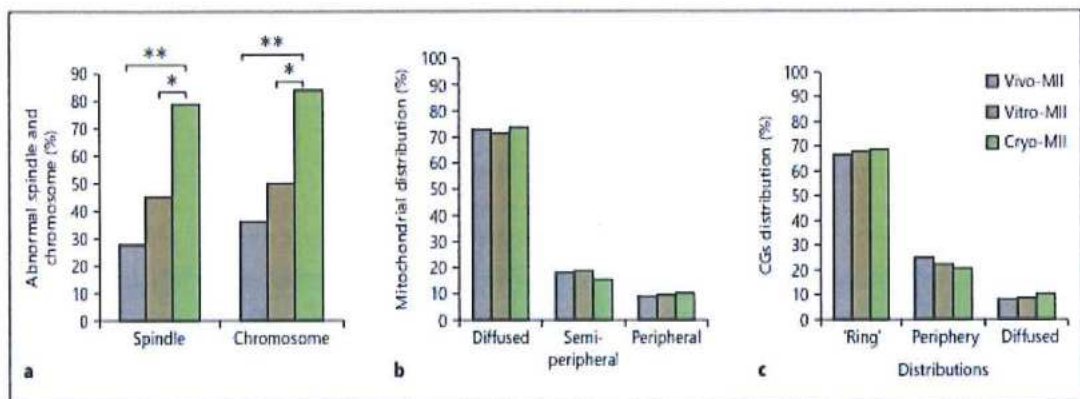
Từ những kết luận ban đầu có thể thấy, thụ tinh hóa noãn sau khi nuôi trưởng thành thực sự đem lại hiệu quả cao hơn so với phương pháp thụ tinh hóa trước khi nuôi trưởng thành ở cả tỉ lệ trưởng thành – sống sót của noãn cũng như các kết quả phôi học. Kết quả này có thể được giải thích bởi các tác động của quá trình thụ tinh hóa đến siêu cấu trúc của noãn bào tại các giai đoạn. Có vẻ như quá trình thụ tinh hóa đã có những tác động nghiêm trọng hơn đối với noãn tại giai đoạn GV hơn so với giai đoạn MII. Trong phức hợp cumulus-noãn ở tế bào trứng lợn (COC), những thay đổi về siêu cấu trúc đã được tìm thấy sau quá trình thụ tinh hóa, nhưng trầm trọng hơn ở giai đoạn GV, được thấy bởi sự tách biệt của tế bào cumulus khỏi noãn, màng trong suốt bị phá vỡ, các mối nối khe hở bị gián đoạn, giảm vi nhung mao và mật độ ty thể. Trong khi quá trình thụ tinh hóa xảy ra ở giai đoạn MII, hình thái của ty thể có vẻ bình thường, với các hạt vỏ vẫn được lót dưới màng bào tương [58]. Do bản chất nhạy cảm với nhiệt độ của thai vô sắc, việc bảo quản đông lạnh các noãn chưa trưởng thành của có thể mang lại lợi thế về mặt lý thuyết, do không có thai phân bào và nhân được bảo quản trong túi mầm. Tuy nhiên, nghiên cứu của Song và cộng sự [49] đã chỉ ra khả năng phục hồi thai phân bào sau trữ - rã ở nhóm noãn được thụ tinh hóa sau IVM tốt hơn so với nhóm noãn thụ tinh hóa trước IVM.

Versieren và cộng sự [59] đã báo cáo sự giảm trưởng thành của các tế bào noãn được thụ tinh hóa trước IVM (69,7 so với 70,5%). Tỷ lệ trưởng thành sau IVM thấp hơn ở các tế bào noãn đông lạnh ở giai đoạn GV so với các tế bào trưởng thành sau đó đông lạnh (51,3 so với 75,7%) hoặc không đông lạnh (75,4%). Các tế

bào trứng GV đông lạnh chậm cũng cho thấy tỷ lệ hoạt hóa tự phát cao hơn - không duy trì được sự dừng lại ở kỳ giữa giảm phân II bình thường hoặc tiến triển bình thường qua kỳ giữa giảm phân I. Cấu hình thoi vô sắc và nhiễm sắc thể bị phá vỡ ở mức độ tương tự trong cả 2 nhóm noãn được thủy tinh hóa trước và sau khi nuôi trưởng thành. Tuy nhiên, các tác giả lại phát hiện thấy các tế bào trứng đông lạnh ở giai đoạn chưa trưởng thành có thể tích vi ống giảm trong cấu trúc thoi vô sắc, điều này có thể phản ánh sự rối loạn trong quá trình trưởng thành của tế bào chất sau khi đông lạnh-rã đông ở các tế bào trứng non [52].

Tương tự, một nghiên cứu của Liu và cộng sự, 2016 [36] đã phát hiện cấu hình bất thường của thoi phân bào và nhiễm sắc thể cao hơn đáng kể ở nhóm noãn được thủy tinh hóa trước rIVM (cry-MII) (78,9 và 84,2%) so với nhóm thủy tinh hóa sau rIVM (intro-IVM) (45,0 và 50,0%, $p < 0,05$) và nhóm đối chứng là nhóm thủy tinh hóa noãn MII thu được sau chọc hút (vivo-MII) (27,3 và 36,4%, $p < 0,05$), từ đó đưa ra kết luận quá trình thủy tinh hóa noãn GV kết hợp với quá trình trưởng thành trong ống nghiệm có thể ảnh hưởng đến tổ chức của thoi phân bào và nhiễm sắc thể (Xem biểu đồ 3.1)

Biểu đồ 3.1 Sự khác biệt về thoi vô sắc, nhiễm sắc thể, ty thể, hạt vỏ (CG) và methyl hóa của 3 nhóm trong nghiên cứu của Liu và cộng sự, 2017 [36].



a Tỷ lệ thoi vô sắc và nhiễm sắc thể bất thường rất cao ở nhóm cryo-MII (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

b Phân bố ty thể ở 3 nhóm nghiên cứu và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p > 0,05$).

c Phân bố CG ở 3 nhóm và không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p > 0,05$).

Ngoài ra, một nghiên cứu gần đây của Haowei và cộng sự, 2023 [60] đã phát hiện ra rằng quá trình thủy tinh hóa noãn GV làm giảm tỷ lệ tổng xuất thể cực đầu

tiên ($90,51 \pm 1,04\%$ so với $63,89 \pm 1,39\%$, $p < 0,05$) và làm tăng tỷ lệ lệch bội ($2,50\%$ so với $20,00\%$, $p < 0,05$), đi kèm với một loạt các khiếm khuyết trong quá trình trưởng thành giảm phân, bao gồm hình thái thoi phân bào bất thường, mất cân bằng nhiễm sắc thể, các liên kết Kinetochore-Microtubule (KT-MT) không chính xác và chức năng phức hợp protein điểm kiểm tra lắp ráp thoi phân bào (SAC) bị suy yếu. Nghiên cứu này cũng cho thấy quá trình thủy tinh hóa tại giai đoạn GV làm gián đoạn chức năng ty thể bằng cách tăng nồng độ Ca^{2+} ty thể, là nguyên nhân gây ra các khiếm khuyết giảm phân ở các tế bào trứng chưa trưởng thành đã thủy tinh hóa, điều này đã làm sáng tỏ các cơ chế phân tử của các tác dụng phụ do quá trình thủy tinh hóa tế bào trứng gây ra đối với quá trình trưởng thành giảm phân ở trứng chưa trưởng thành.

Do các noãn bào chưa trưởng thành ban đầu có hiệu quả lâm sàng thấp hơn các noãn bào trưởng thành cùng loại được lấy ra sau chọc hút [54, 55], mặt khác, phương pháp trưởng thành noãn trong ống nghiệm kết hợp thủy tinh hóa mới được coi là thử nghiệm chứ chưa phải phương pháp thường quy, do đó chúng tôi không ưu tiên sàng lọc và chuyển các phôi có nguồn gốc từ noãn chưa trưởng thành. Vì thế, số lượng phôi trong nghiên cứu tham gia sàng lọc và chuyển phôi rất thấp nên không thể thực hiện so sánh các tỉ lệ về chất lượng di truyền cũng như kết cục thai kỳ.

Tóm lại, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, nuôi trưởng thành noãn rồi mới trữ lạnh bằng phương pháp thủy tinh hóa sẽ gia tăng khả năng trưởng thành – sống sót cũng như khả năng tạo phôi và tạo phôi tốt của noãn hơn so với việc trữ lạnh GV, MI rồi mới nuôi trưởng thành.

Ngoài ra, nghiên cứu này còn củng cố thêm niềm tin cho việc tận dụng các noãn chưa trưởng thành thu được sau chọc hút, được nuôi trưởng thành trước khi thủy tinh hóa, tuy rằng chúng có tiềm năng phát triển thấp, nhưng vẫn có thể mang lại cơ hội có thêm phôi chuyển cho bệnh nhân, cơ hội có phôi bình thường về di truyền và cơ hội có trẻ sinh sống. Điều này rất quan trọng đối với những trường hợp có ít noãn trưởng thành sau chọc trứng, đặc biệt là các bệnh nhân tuổi cao và đáp ứng buồng trứng kém.

Nghiên cứu cung cấp những chỉ định có thể giúp tối ưu hóa khả năng sử dụng của noãn chưa trưởng thành trong các chu kỳ đông noãn. Bất chấp kết quả phát triển kém của các tế bào trứng thủy tinh hóa sau rIVM, có thể kết luận rằng các noãn bào chưa trưởng thành được lấy ra sau chọc hút sẽ có tiềm năng phát triển tốt hơn khi quá trình thủy tinh hóa được thực hiện sau khi nuôi trưởng thành. Ngoài ra, việc chỉ

đông lại những noãn đã trưởng thành sau khi nuôi cấy thay vì đông lạnh tất cả noãn chưa trưởng thành sau chọc hút cũng làm giảm số lượng cộng đồng mà bệnh nhân phải chi trả, từ đó góp phần giảm chi phí điều trị.

3.6. ĐÁNH GIÁ HAI THỜI ĐIỂM D0 VÀ D1 TRONG NHÓM NOÃN NUÔI TRƯỞNG THÀNH TRƯỚC TRỮ LẠNH

Việc sử dụng các noãn chưa trưởng thành trải qua quá trình trưởng thành trong ống nghiệm (rIVM) kết hợp thủy tinh hóa mở ra những triển vọng thú vị cho việc bảo tồn khả năng sinh sản. Nghiên cứu của tôi được thực hiện với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của quá trình thủy tinh hóa đến hiệu quả trưởng thành noãn và kết quả phôi học trước và sau khi nuôi trưởng thành, kết quả cho thấy việc nuôi trưởng thành noãn trước khi thủy tinh hóa sẽ đem lại hiệu quả tốt hơn cả về khả năng trưởng thành và khả năng tạo phôi hữu dụng.

Trong quá trình nuôi trưởng thành noãn trước trữ lạnh, có hai khoảng thời gian nuôi cấy noãn là 4-6 giờ sau chọc hút (nhóm noãn D0) và 24 giờ sau chọc hút (nhóm noãn D1). Để làm rõ hơn khoảng thời gian nuôi trưởng thành tối ưu trước khi tiến hành thủy tinh hóa, chúng tôi tiếp tục phân tích dữ liệu trong nhóm 1, chia nhóm 1 thành 2 nhóm nhỏ như sau: (1) nhóm D0 tươi: bao gồm các noãn rIVM tươi được thủy tinh hóa vào thời 4 giờ sau chọc hút; (2) nhóm D1 tươi: bao gồm các noãn rIVM tươi được thủy tinh hóa vào thời điểm 24 giờ sau chọc hút. Sau đó tiến hành phân tích so sánh các kết quả về khả năng trưởng thành-sống sót của noãn và các kết quả phôi học giữa 2 nhóm noãn D0 tươi và D1 tươi. Kết quả thu được như sau:

❖ Tỷ lệ noãn trưởng thành:

Bảng 3.9 So sánh tỷ lệ trưởng thành - sống sót giữa hai nhóm D0 và D1 tươi

Đặc điểm	D0 tươi	D1 tươi	Giá trị <i>P</i>
Số noãn tham gia nghiên cứu	575	378	-
Số noãn trưởng thành sống sót	197	303	-
Tỷ lệ noãn trưởng thành sống sót (%)	34,26	80,16	$P < 0,0001$

Kết quả phân tích khả năng trưởng thành sống sót được thể hiện trong bảng 3.9, ta thấy tỷ lệ noãn trưởng thành sống sót các nhóm noãn tươi D1 (80,16%) cao hơn nhóm noãn tươi D0 (34,26%) ($P < 0,0001$). Như vậy có thể thấy, nuôi cấy noãn chưa trưởng thành đến ngày hôm sau (D1) làm tăng tỷ lệ noãn trưởng thành.

❖ **Tỉ lệ noãn thụ tinh:**

Bảng 3.10 So sánh tỉ lệ thụ tinh sau ICSI giữa hai nhóm D0 và D1 tươi

Đặc điểm	D0 tươi	D1 tươi	Giá trị <i>P</i>
Số noãn trưởng thành sống sót tham gia ICSI	181	273	-
Số noãn thụ tinh bình thường	121	173	-
Tỉ lệ thụ tinh (%)	66,85	63,37	$P = 0,509$

Khi so sánh về tỉ lệ thụ tinh cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm noãn tươi D0 và noãn tươi D1, lần lượt là 66,85% và 63,37%; $p > 0,05$ (bảng 3.10).

❖ **Tỉ lệ hình thành phôi hữu dụng và phôi tốt:**

Bảng 3.11 So sánh chất lượng hình thái phôi phân chia giữa hai nhóm D0 và D1 tươi

Đặc điểm	D0 tươi	D1 tươi	Giá trị <i>P</i>
Số noãn thụ tinh	121	173	-
Số phôi ngày 3 hữu dụng	87	56	-
Số phôi tốt ngày 3	38	26	-
Tỉ lệ phôi ngày 3 hữu dụng (%)	71,90	32,37	$P < 0,0001$
Tỉ lệ phôi tốt ngày 3 (%)	31,40	15,03	$P = 0,01$

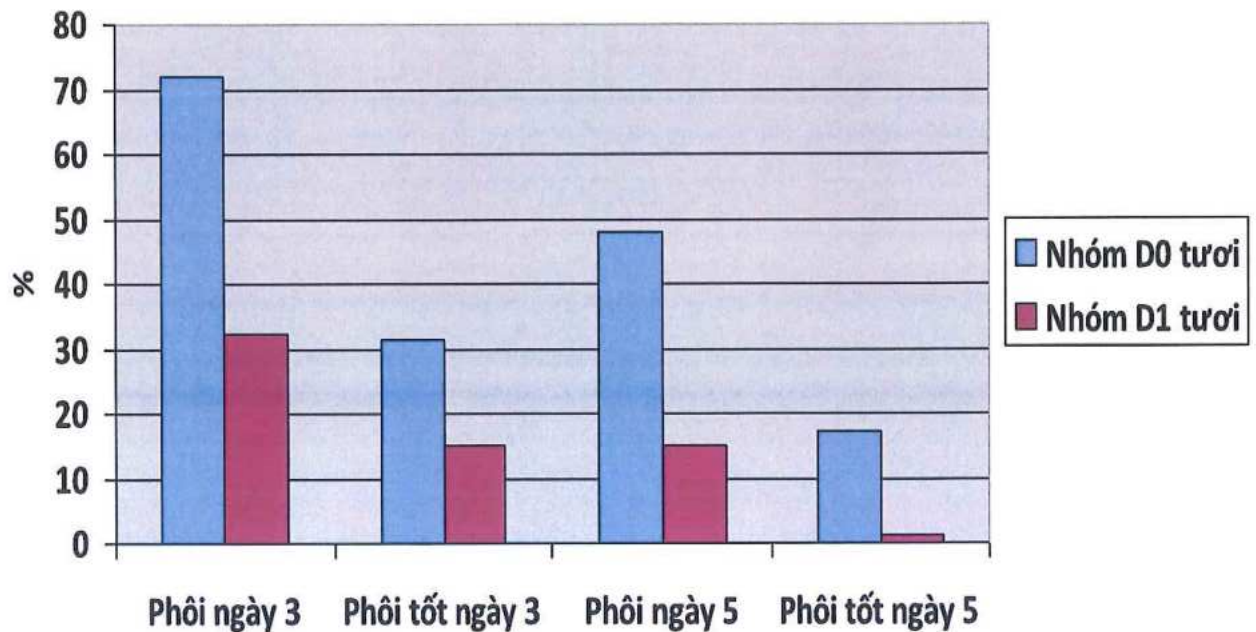
Kết quả phân tích tỉ lệ tạo phôi hữu dụng và phôi tốt ngày 3 được thể hiện trong bảng 3.11 cho thấy, sau ICSI, nhóm noãn tươi D0 có tỉ lệ tạo phôi hữu dụng ngày 3 và tỉ lệ tạo phôi tốt ngày 3 đều cao hơn nhóm còn lại với các tỉ lệ lần lượt là 71,9% so với 32,37%, $P < 0,0001$ và 31,4% so với 15,03%, $P = 0,01$.

Bảng 3.12 So sánh chất lượng hình thái phôi nang giữa hai nhóm D0 và D1 tươi

Đặc điểm	D0 tươi	D1 tươi	Giá trị <i>P</i>
Số noãn thụ tinh	121	173	-
Số phôi ngày 5 hữu dụng	58	26	-
Số phôi tốt ngày 5	21	2	-
Tỉ lệ phôi ngày 5 hữu dụng (%)	47,93	15,03	$P < 0,0001$
Tỉ lệ phôi tốt ngày 5 (%)	17,36	1,16	$P < 0,0001$

Khi đánh giá về tỉ lệ hình thành phôi hữu dụng trong bảng 3.12, sau ICSI, nhóm noãn tươi D0 có tỉ lệ tạo phôi hữu dụng ngày 5 và tỉ lệ tạo phôi tốt ngày 5 đều cao hơn nhóm tươi D1 và có ý nghĩa thống kê ($P < 0,0001$).

Biểu đồ 3.2 Tỉ lệ tạo phôi hữu dụng giữa 2 nhóm noãn D0 tươi và D1 tươi

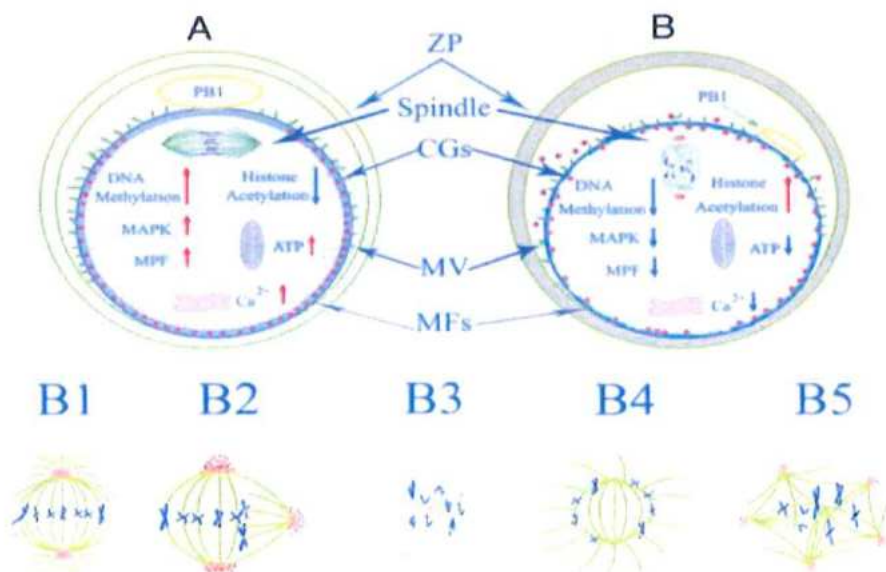


Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, mặc dù thời gian nuôi cấy dài hơn cho tỉ lệ trưởng thành cao hơn, nhưng các kết quả về phôi lại kém hơn (xem biểu đồ 3.2).

Kết quả này có sự tương đồng với kết quả trong nghiên cứu của Mandelbaum & cs (2021) [44]. Nghiên cứu của Mandelbaum và cộng sự [44] thực hiện phân tích

trên 10.817 noãn từ 889 chu kỳ điều trị, trong đó có 3.137 noãn chưa trưởng thành sau chọc hút. Có 414 noãn (13,3%) phát triển đến giai đoạn MII sau 4-6h sau tách noãn (D0), 1.493 noãn (47,6%) phát triển đến giai đoạn MII vào ngày hôm sau (D1). Mặc dù tỉ lệ noãn trưởng thành ở thời điểm 4-6h thấp hơn, nhưng kết quả lại cho thấy phôi phát triển từ noãn MII trưởng thành từ noãn MI ở ngày chọc hút có tỷ lệ phôi phân chia và phôi nang cao hơn phôi phát triển từ noãn MII trưởng thành từ noãn MI ở ngày hôm sau (tỷ lệ phôi phân chia: 75% so với 54%, $P < 0,001$); tỷ lệ phôi nang: 41% so với 10%, $P < 0,001$). Đồng thời, những noãn MII trưởng thành từ noãn MI ở ngày hôm sau cũng cho tỷ lệ thụ tinh thấp, phôi phát triển bất thường hoặc dị bội, chất lượng phôi kém.

Tiềm năng phát triển của noãn D1 kém hơn có thể được giải thích bởi sự già hóa của noãn khi nuôi cấy trong thời gian dài. Thời gian ủ và nuôi cấy trong ống nghiệm tăng lên giữa thời điểm chọc hút trứng đến khi trưởng thành thành MII và được thụ tinh hóa, đặc biệt là hơn 8h, có thể dẫn đến kết quả kém hơn do noãn bị già hóa [61, 62]. Ở noãn già hóa, có những sự biến đổi về khía cạnh tế bào, phân tử và chức năng, bao gồm sự ảnh hưởng đến hoạt động sản xuất Ca^{++} trong quá trình thụ tinh làm giảm khả năng thụ tinh của noãn, quá trình apoptosis, sự tiết độc tố của hạt vỏ (cortical granules), sự cứng lại của màng zona, trong đó sự phân mảnh, đứt gãy thoi phân bào (xem hình 3.6) và sự ngưng tụ nhiễm sắc thể được cho là những yếu tố góp phần lớn nhất vào sự phát triển của phôi bị suy yếu, tỷ lệ lệch bội cao và kết quả mang thai kém [63-65].



Hình. Những thay đổi hình thái, phân tử hoạt động ở noãn bình thường và noãn già hóa. A: noãn bình thường. B: noãn già hóa, (B1-B5) hình thái bất thường của spindle ở noãn già hóa

Hình 3.6 Những thay đổi hình thái, phân tử hoạt động ở noãn bình thường và noãn già hóa [66].

(A) Noãn bình thường

(B) Noãn già hóa

(B1-B5) Hình thái bất thường của thoi vô sắc ở noãn già hóa

(B1) Thoi phân bào tròn lớn với các vi ống phát ra từ hầu hết bề mặt của nó.

(B2) Thoi phân bào ba cực.

(B3) Thoi phân bào mất tổ chức cao với các trung thể và nhiễm sắc thể phân tán.

(B4) Thoi phân bào không đều lớn trong chế độ xem ngang cho thấy sự nhuộm màu dày đặc cho tubulin với chất nhuộm sắc gắn vào các cạnh ngoài của thoi phân bào theo sự hình thành hoa thị.

(B5) Thoi phân bào đa cực.

❖ **Chất lượng di truyền:**

Có tổng 30 phôi từ nhóm 1 được sàng lọc di truyền, trong đó có 27 phôi từ nhóm noãn D0 tươi và 3 phôi từ nhóm noãn D1 tươi. Trong 27 phôi sàng lọc của nhóm D0 tươi, có 13 phôi nguyên bội, 5 phôi khảm và 9 phôi lệch bội. Nhóm D1 tươi có 2 phôi nguyên bội và 1 phôi khảm.

❖ **Kết quả lâm sàng:**

Có 6 phôi từ noãn D0 tươi được chuyển, trong đó có 2 trường hợp có thai và đều sinh em bé. Với nhóm noãn D1 có 9 phôi từ noãn D1 được chuyển, trong đó có 3 lần chuyển phôi âm, 2 trường hợp thai sinh hóa, 1 trường hợp thai lưu và 1 trường hợp trẻ sinh sống được ghi nhận.

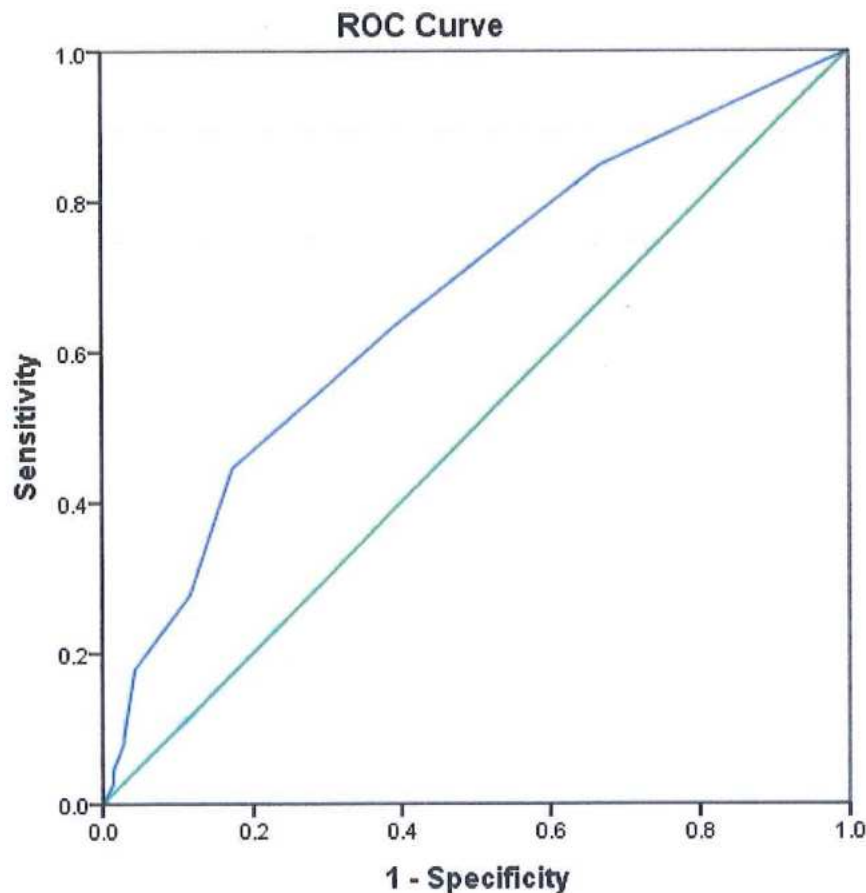
Như vậy, khi thực hiện thủy tinh hóa noãn tại 2 thời điểm D0 và D1, các noãn bào trưởng thành được thủy tinh hóa vào ngày 0 cho thấy tiềm năng phát triển cao hơn các noãn bào được thủy tinh hóa vào ngày 1. Do đó, nghiên cứu này ủng hộ việc đánh giá lại sự trưởng thành noãn vào thời điểm 4-6h (D0) để tiến hành thủy tinh hóa, không khuyến khích nuôi cấy noãn đến ngày hôm sau. Tuy nhiên, trong một số trường hợp có số lượng noãn trưởng thành rất ít thì có thể xem xét nuôi cấy những noãn chưa trưởng thành ở D0 đến ngày D1 để tối đa hóa nhóm phôi có thể sử dụng.

Những hạn chế trong nghiên cứu của tôi bao gồm số lượng mẫu còn ít, chưa so sánh được các kết quả về chất lượng di truyền của và kết quả lâm sàng sau chuyển phôi của các nhóm nghiên cứu do số lượng nhỏ các phôi này được sàng lọc và

chuyển. Mặc dù còn nhiều hạn chế, tuy nhiên, kết luận của nghiên cứu này vẫn mang tính hướng dẫn cho ứng dụng lâm sàng cũng như cho các nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo. Cần có nhiều nghiên cứu trong tương lai hơn để tối ưu hóa quy trình, làm tăng hiệu quả điều trị và khả năng thành công của phương pháp này, đồng thời cũng làm sáng tỏ hơn tiềm năng cũng như kết cục lâm sàng của phôi có nguồn gốc từ các tế bào trứng ban đầu chưa trưởng thành này, vì dữ liệu hiện tại bị hạn chế do quy mô mẫu nhỏ.

3.7. DỰ ĐOÁN KHẢ NĂNG TẠO PHÔI DỰA TRÊN SỐ LƯỢNG NOĂN NON BAN ĐẦU

Biểu đồ 3.3 Biểu đồ đường cong ROC của số lượng noãn non ban đầu trong các chu kỳ IVF tươi tiên lượng khả năng có phôi ngày 3 (N = 181)



Theo biểu đồ đường cong ROC (biểu đồ 3.3), trong các chu kỳ bệnh nhân sử dụng noãn IVF tươi thì số lượng noãn ban đầu là giá trị có thể tiên lượng khả năng có phôi ngày 3, (AUC = 67,0%; $P < 0,0001$; khoảng tin cậy 95% = 0,59 – 0,75). Ngưỡng cắt là 4 noãn với độ nhạy là 44,6% và độ đặc hiệu là 82,6% (xem biểu đồ 3.3).

Tuy nhiên, khi xét khả năng tiên lượng tạo phôi ngày 3 tốt, phôi ngày 5 và phôi ngày 5 tốt dựa trên số lượng noãn ban đầu trong các chu kỳ IVM tươi đều không có giá trị. Bên cạnh đó, số lượng noãn ban đầu trong các chu kỳ IVM trữ cũng không có giá trị tiên lượng khả năng tạo phôi.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Qua khảo sát bước đầu, thực hiện thu thập và phân tích số liệu trên 827 noãn chưa trưởng thành từ 348 chu kỳ thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm tại Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2024 cho một số kết luận như sau:

1. Tỷ lệ noãn trưởng thành sống sót ở nhóm noãn được thủy tinh hóa trước khi nuôi trưởng thành (nhóm 1) cao hơn nhóm thủy tinh hóa sau khi nuôi trưởng thành (nhóm 2) có ý nghĩa thống kê (78,68% so với 40,40%, $p < 0,0001$). Nhóm noãn được thủy tinh hóa trước khi nuôi trưởng thành có khả năng trưởng thành và sống sót nhiều hơn 5,45 lần (khoảng tin cậy 95%: 3,95 - 7,51) so với nhóm noãn được thủy tinh hóa sau khi nuôi trưởng thành ($P < 0,0001$).

2. Các kết quả phôi học cho thấy noãn được thủy tinh hóa trước khi nuôi trưởng thành (nhóm 1) cho tiềm năng phát triển thành phôi tốt hơn noãn được thủy tinh hóa sau khi nuôi trưởng thành (nhóm 2):

+ Tỷ lệ thụ tinh của nhóm 1 cao hơn nhóm 2 có ý nghĩa thống kê với khả năng thụ tinh của noãn từ nhóm 1 cao hơn 1,80 lần (khoảng tin cậy 95%: 1,17 - 2,78) so với nhóm 2 ($P < 0,05$).

+ Tỷ lệ tạo phôi phân chia ngày 3 và phôi tốt ngày 3 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm noãn được thủy tinh hóa trước và sau rIVM (55,94% so với 55,44% và 21,77% so với 9,80%, $p > 0,05$).

+ Tỷ lệ tạo phôi nang ngày 5 và phôi nang tốt ngày 5 đều cao hơn ở nhóm 1 so với nhóm 2 ở mức có ý nghĩa thống kê (28,91% so với 13,73% và 7,82% so với 0,00%, $p < 0,05$).

Hạn chế của nghiên cứu bao gồm số lượng mẫu còn ít, chưa so sánh được các kết quả về chất lượng di truyền của và kết quả lâm sàng sau chuyển phôi của các nhóm nghiên cứu do số lượng nhỏ các phôi này được sàng lọc và chuyển.

KIẾN NGHỊ

- Cần tiếp tục theo dõi và thực hiện nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để có kết luận chính xác về hiệu quả lâm sàng.

- Nghiên cứu thêm các nhân tố tác động khác để tối ưu hóa quy trình, đem lại hiệu quả tốt nhất cho phương pháp rescue IVM kết hợp thủy tinh hóa.

- Theo dõi sức khỏe và sự phát triển của trẻ sinh ra sau chuyển phôi có nguồn gốc từ noãn non trưởng thành trước đông rã.

- Khuyến cáo nên tiến hành đánh giá lại sự trưởng thành noãn vào thời điểm 4-6h (D0) và tiến hành thủy tinh hóa những noãn non đã trưởng thành; không khuyến khích nuôi cấy noãn đến thời điểm ngày hôm sau (D1). Trong một số trường hợp bệnh nhân có quá ít noãn trưởng thành thì có thể cân nhắc nuôi cấy tiếp những noãn chưa trưởng thành tại thời điểm 4-6h sau chọc hút (D0) sang ngày hôm sau (D1) để tối đa hóa nhóm phôi có thể sử dụng.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lee H.J., Jee B.C., Suh C.S., Kim S.H., Moon S.Y., 2012, Oocyte maturity in relation to woman's age in in vitro fertilization cycles stimulated by single regimen, *Yonsei medical journal*, 53(1), pp. 181-185.
2. Álvarez C., García-Garrido C., Taronger R., de Merlo G.G., 2013, In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles, *The Indian journal of medical research*, 137(2), pp. 331.
3. Lee H.J., Barad D.H., Kushnir V.A., Shohat-Tal A., Lazzaroni-Tealdi E., Wu Y.G., Gleicher N., 2016, Rescue in vitro maturation (IVM) of immature oocytes in stimulated cycles in women with low functional ovarian reserve (LFOR), *Endocrine*, 52(1), pp. 165-171.
4. Vuong L.N., Le A.H., Ho V.N., Pham T.D., Sanchez F., Romero S., De Vos M., Ho T.M., Gilchrist R.B., Smitz J., 2020, Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(2), pp. 347-357.
5. Sanchez F., Le A.H., Ho V.N., Romero S., Van Ranst H., De Vos M., Gilchrist R.B., Ho T.M., Vuong L.N., Smitz J., 2019, Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles, *Journal of assisted reproduction and genetics*, 36(10), pp. 2135-2144.
6. Lee J.A., Sekhon L., Grunfeld L., Copperman A., 2014, In-vitro maturation of germinal vesicle and metaphase I eggs prior to cryopreservation optimizes reproductive potential in patients undergoing fertility preservation, *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 26(3), pp. 168-173.
7. Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A., 1992, Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte, *The Lancet*, 340(8810), pp. 17-18.
8. Fabbri R., Porcu E., Marsella T., Primavera M., Seracchioli R., Ciotti P., Magrini O., Venturoli S., Flamigni C., 1998, Oocyte cryopreservation, *Human Reproduction*, 13(suppl_4), pp. 98-108.

9. O'Neill C., Chow S., Rosenwaks Z., Palermo G., 2018, Development of ICSI, *Reproduction*, 156(1), pp. F51-F58.
10. Balaban B., Brison D., Calderon G., Catt J., Conaghan J., Cowan L., Ebner T., Gardner D., Hardarson T., Lundin K., 2011, Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting, *Reproductive biomedicine online*, 22(6), pp. 632-646.
11. Strauss III J.F., Williams C.J., 2019, Ovarian life cycle, *Yen and Jaffe's reproductive endocrinology*, pp. 167-205. e169.
12. Swain J.E., Smith G.D., 2007, Mechanism of oocyte maturation, *In Vitro Maturation of Human Oocytes: Basic Science to Clinical Application: Infoma Healthcare Abingdon*, pp. 83-102.
13. Edwards R.G., Steptoe P.C., 1978, Birth after the reimplantation of a human embryo, *Lancet*, 2(8085), pp. 366.
14. Cha K.Y., Koo J.J., Ko J.J., Choi D.H., Han S.Y., Yoon T.K., 1991, Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program, *Fertility and sterility*, 55(1), pp. 109-113.
15. Chang E.M., Song H.S., Lee D.R., Lee W.S., Yoon T.K., 2014, In vitro maturation of human oocytes: Its role in infertility treatment and new possibilities, *Clinical and experimental reproductive medicine*, 41(2), pp. 41.
16. Tường H.M., Vinh Đ.Q., Lan V.T.N., 2020, *Thụ tinh trong ống nghiệm*, NXB Tổng hợp Thành phố Hồ Chí Minh.
17. Magli M.C., Ferraretti A.P., Crippa A., Lappi M., Feliciani E., Gianaroli L., 2006, First meiosis errors in immature oocytes generated by stimulated cycles, *Fertility and sterility*, 86(3), pp. 629-635.
18. Strassburger D., Friedler S., Raziel A., Kasterstein E., Schachter M., Ron-El R., 2004, The outcome of ICSI of immature MI oocytes and rescued in vitro matured MII oocytes, *Human Reproduction*, 19(7), pp. 1587-1590.
19. Chian R.C., Buckett W.M., Tan S.L.: In-vitro maturation of human oocytes, 2004, *Reproductive biomedicine online*, 8(2), pp. 148-166.
20. Lim J.H., Yang S.H., Chian R.C., 2007, New alternative to infertility treatment for women without ovarian stimulation, *Reproductive biomedicine online*, 14(5), pp. 547-549.

21. Papanikolaou E., Platteau P., Albano C., Nogueira D., Cortvrindt R., Devroey P., Smitz J., 2005, Immature oocyte in-vitro maturation: clinical aspects, *Reproductive biomedicine online*, 10(5), pp. 587-592.
22. Coticchio G., Dal-Canto M., Guglielmo M.C., Mignini-Renzini M., Fadini R., 2013, Human oocyte maturation in vitro, *International Journal of Developmental Biology*, 56(10-11-12), pp. 909-918.
23. Smitz J.E., Thompson J.G., Gilchrist R.B., 2011, The promise of in vitro maturation in assisted reproduction and fertility preservation, *Seminars in reproductive medicine*, © Thieme Medical Publishers, pp. 024-037.
24. Liu Y., Chapple V., Roberts P., Matson P., 2014, Prevalence, consequence, and significance of reverse cleavage by human embryos viewed with the use of the Embryoscope time-lapse video system, *Fertility and sterility*, 102(5), pp. 1295-1300. e1292.
25. Shahedi A., Khalili M.A., Soleimani M., Morshedizad S., 2013, Ultrastructure of in vitro matured human oocytes, *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 15(12).
26. Fabbri R., Porcu E., Marsella T., Rocchetta G., Venturoli S., Flamigni C., 2001, Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival, *Human reproduction*, 16(3), pp. 411-416.
27. Kuleshova L., Gianaroli L., Magli C., Ferraretti A., Trounson A., 1999, Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report, *Human Reproduction*, 14(12), pp. 3077-3079.
28. Vajta G., Nagy Z.P., 2006, Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification, *Reproductive biomedicine online*, 12(6), pp. 779-796.
29. Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P., 2005, Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes, *Reproductive biomedicine online*, 11(3), pp. 300-308.
30. Shaw J., Jones G.J., 2003, Terminology associated with vitrification and other cryopreservation procedures for oocytes and embryos, *Human reproduction update*, 9(6), pp. 583-605.
31. Pujol A., Zamora M., Obradors A., Garcia D., Rodriguez A., Vassena R., 2019, Comparison of two different oocyte vitrification methods: a

- prospective, paired study on the same genetic background and stimulation protocol, *Human Reproduction*, 34(6), pp. 989-997.
32. Smith G.D., Serafini P.C., Fioravanti J., Yadid I., Coslovsky M., Hassun P., Alegretti J.R., Motta E.L., 2010, Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification, *Fertility and sterility*, 94(6), pp. 2088-2095.
 33. Peinado I., Moya I., Sáez-Espinosa P., Barrera M., García-Valverde L., Francés R., Torres P., Gómez-Torres M.J., 2021, Impact of maturation and vitrification time of human GV oocytes on the metaphase plate configuration, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), pp. 1125.
 34. Khalili M.A., Shahedi A., Ashourzadeh S., Nottola S.A., Macchiarelli G., Palmerini M.G., 2017, Vitrification of human immature oocytes before and after in vitro maturation: a review, *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(11), pp. 1413-1426.
 35. Al-Khtib M., Perret A., Khoueiry R., Ibala-Romdhane S., Blachère T., Greze C., Lornage J., Lefèvre A., 2011, Vitrification at the germinal vesicle stage does not affect the methylation profile of H19 and KCNQ1OT1 imprinting centers in human oocytes subsequently matured in vitro, *Fertility and sterility*, 95(6), pp. 1955-1960.
 36. Liu M.H., Zhou W.H., Chu D.P., Fu L., Sha W., Li Y., 2017, Ultrastructural changes and methylation of human oocytes vitrified at the germinal vesicle stage and matured in vitro after thawing, *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 82(3), pp. 252-261.
 37. Lee J.A., Barritt J., Moschini R.M., Slifkin R.E., Copperman A.B., 2013, Optimizing human oocyte cryopreservation for fertility preservation patients: should we mature then freeze or freeze then mature?, *Fertility and sterility*, 99(5), pp. 1356-1362.
 38. Molina I., Gómez J., Balasch S., Pellicer N., Novella-Maestre E., 2016, Osmotic-shock produced by vitrification solutions improves immature human oocytes in vitro maturation, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14, pp. 1-9.
 39. Hao X., Phoon J., Barbunopulos L., Sheikhi M., Palomares A.R., Rodriguez-Wallberg K.A., 2022, Exploring the Developmental Potential of Human Germinal Vesicle Oocytes Aiming at Fertility Preservation: Can We Increase

- the Yields of Competent Oocytes through IVM Combined with Vitricification?, *Journal of Clinical Medicine*, 11(6), pp. 1703.
40. Cao Y., Xing Q., Zhang Z.G., Wei Z.L., Zhou P., Cong L.J., 2009, Cryopreservation of immature and in-vitro matured human oocytes by vitricification, *Reproductive biomedicine online*, 19(3), pp. 369-373.
 41. Fasano G., Demeestere I., Englert Y.J., In-vitro maturation of human oocytes: before or after vitricification? *Journal of assisted reproductive and genetics*, 29, pp. 507-512.
 42. Marteil G., Metchat A., Dollet S., Cugnot C., Chaput L., Pereira B., Gremeau A.S., Brugnon F.J., 2024, Vitricification of human oocytes before or after rescue-IVM does not impair maturation kinetics but induces meiotic spindle alterations, *Reproductive Sciences*, 31(9), pp. 2625-2636.
 43. Yu Y., Yan J., Liu Z.C., Yan L.Y., Li M., Zhou Q., Qiao J., 2011, Optimal timing of oocyte maturation and its relationship with the spindle assembly and developmental competence of in vitro matured human oocytes, *Fertility and sterility*, 96(1), pp. 73-78. e71.
 44. Mandelbaum R.S., Awadalla M.S., Smith M.B., Violette C.J., Klooster B.L., Danis R.B., McGinnis L.K., Ho J.R., Bendikson K.A., Paulson R.J., 2021, Developmental potential of immature human oocytes aspirated after controlled ovarian stimulation, *Reproduction and Genetics*, 38(9), pp. 2291-2299.
 45. Vuong L.N., Le A.H., Ho V.N., Pham T.D., Sanchez F., Romero S., De Vos M., Hø T.M., Gilchrist R.B., Smitz J.J., 2020, Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome, *Journal of assisted reproduction and genetics*, 37, pp. 347-357.
 46. Sanchez F., Le A.H., Ho V.N., Romero S., Van Ranst H., De Vos M., Gilchrist R.B., Ho T.M., Vuong L.N., Smitz J.J., 2019, Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles, *Journal of assisted reproduction and genetics*, 36, pp. 2135-2144.
 47. Kasapi E., Asimakopoulos B., Chatzimeletiou K., Petousis S., Panagiotidis Y., Prapas N., Nikolettos N.J., 2017, Vitricification of human germinal vesicle oocytes: before or after in vitro maturation?, *International Journal of Fertility & Sterility*, 11(2), pp. 85.

48. Kim S.S., Olsen R., Kim D.D., Albertini D.F., 2014, The impact of vitrification on immature oocyte cell cycle and cytoskeletal integrity in a rat model, *Journal of assisted reproduction and genetics*, 31, pp. 739-747.
49. Song W.Y, Peng Z.F, Chen X.M, Jin H.X, Yao G.D, Shi S.L, Yang H.Y, Zhang X.Y, Sun Y., 2016, Effects of Vitrification on outcomes of in VivoMature, in vitro-mature and immature human oocytes, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 38(5), pp. 2053-2062.
50. Pickering S.J., Johnson M.H., 1987, The influence of cooling on the organization of meiotic spindle of the mouse oocyte, *Human Reproduction*, 2(3), pp. 207-216.
51. Martínez-Burgos M., Herrero L., Megías D., Salvanes R., Montoya M.C., Cobo A.C., Garcia-Velasco J.A., 2011, Vitrification versus slow freezing of oocytes: effects on morphologic appearance, meiotic spindle configuration, and DNA damage, *Fertility and sterility*, 95(1), pp. 374-377.
52. Wang H., Racowsky C., Combelles C., 2012, Is it best to cryopreserve human cumulus-free immature oocytes before or after in vitro maturation?, *Cryobiology*, 65(2), pp. 79-87.
53. of Embryology E.S.I.G., 2017, The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators, *Reproductive BioMedicine Online*, 35(5), pp. 494-510.
54. Reichman D.E., Politch J., Ginsburg E.S., Racowsky C.J., 2010, Extended in vitro maturation of immature oocytes from stimulated cycles: an analysis of fertilization potential, embryo development, and reproductive outcomes, *Reproduction and Genetics*, 27, pp. 347-356.
55. Shin S.B., Cho J.W., Lee S.H., Yang K.M., Lim C.K., Lee S.H., 2013, Fertilization and pregnancy potential of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles, *Clinical and experimental reproductive medicine*, 40(1), pp. 7.
56. Shu Y., Gebhardt J., Watt J., Lyon J., Dasig D., Behr B., 2007, Fertilization, embryo development, and clinical outcome of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles, *Fertility and sterility*, 87(5), pp. 1022-1027.

57. Chian R.C., Gilbert L., Huang J.Y., Demirtas E., Holzer H., Benjamin A., Buckett W.M., Tulandi T., Tan S.L., Live birth after vitrification of in vitro matured human oocytes, *Fertility and sterility*, 91(2), pp. 372-376.
58. Wu C., Rui R., Dai J., Zhang C., Ju S., Xie B., Lu X., Zheng X.J., 2006, Effects of cryopreservation on the developmental competence, ultrastructure and cytoskeletal structure of porcine oocytes, *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 73(11), pp. 1454-1462.
59. Versieren K., Heindryckx B., O'Leary T., De Croo I., Van den Abbeel E., Gerris J., De Sutter P., 2011, Slow controlled-rate freezing of human in vitro matured oocytes: effects on maturation rate and kinetics and parthenogenetic activation, *Fertility and sterility*, 96(3), pp. 624-628.
60. Sun H., Guo Y., Yu R., Wang J., Liu Y., Chen H., Pang W., Yang G., Chu G., Gao L., 2023, Ru360 protects against vitrification-induced oocyte meiotic defects by restoring mitochondrial function, *Theriogenology*, 204, pp. 40-49.
61. Pujol A., García D., Obradors A., Rodríguez A., Vassena R.J., 2018, Is there a relation between the time to ICSI and the reproductive outcomes?, 33(5), pp. 797-806.
62. Xiong F., Sun Q., Li G., Yao Z., Chen P., Wan C., Zhong H., Zeng Y.J., 2020, Perinatal and neonatal outcomes of pregnancies after early rescue intracytoplasmic sperm injection in women with primary infertility compared with conventional intracytoplasmic sperm injection: a retrospective 6-year study, *BMC pregnancy and childbirth*, 20, pp. 1-10.
63. Emery B.R., Wilcox A.L., Aoki V.W., Peterson C.M., Carrell D.T., 2005, In vitro oocyte maturation and subsequent delayed fertilization is associated with increased embryo aneuploidy, *Fertility and sterility*, 84(4), pp. 1027-1029.
64. Kuczyński W., Dhont M., Grygoruk C., Pietrewicz P., Redzko S., Szamatowicz M.J., 2002, Rescue ICSI of unfertilized oocytes after IVF, *Human reproduction*, 17(9), pp. 2423-2427.
65. Strassburger D., Goldstein A., Friedler S., Raziel A., Kasterstein E., Mashevich M., Schachter M., Ron-El R., Reish O., 2010, The cytogenetic constitution of embryos derived from immature (metaphase I) oocytes

obtained after ovarian hyperstimulation, *Fertility and sterility*, 94(3), pp. 971-978.

66. Miao Y.L., Kikuchi K., Sun Q.Y., 2009, Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility, *Human reproduction update*, 15(5), pp. 573-585.

PHỤ LỤC 1

PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU ĐỀ TÀI

Phiếu số:

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI ĐIỂM ĐÔNG LẠNH LÊN HIỆU QUẢ TRƯỞNG THÀNH NOÃN VÀ KẾT CỤC PHÔI HỌC TẠI BỆNH VIỆN SẢN NHI QUẢNG NINH NĂM 2021 - 2024

Nhóm 1 ☐

Nhóm 2 ☐

1. Ngày ICSI:

Ngày OR gốc:

2. Họ tên vợ:

3. Tuổi vợ:

Mã hồ sơ IVF:

4. Tổng số noãn non ban đầu:

5. Số noãn trưởng thành:

D0:

D1:

6. Số noãn sống sót sau rã đông:

D0:

D1:

7. Số noãn tham gia ICSI:

D0:

D1:

8. Tổng số thụ tinh bình thường:

D0:

D1:

9. Số phôi ngày 3:

Chất lượng phôi N3	Loại 1	Loại 2	Loại 3
D0			
D1			

10. Số phôi ngày 5:

Chất lượng phôi N5	Loại 1	Loại 2	Loại 3
D0			
D1			

11. Số phôi có sàng lọc PGT-A:

Kết quả PGT-A	Nguyên bội	Lệch bội	Khảm
D0			
D1			

12. Đặc điểm phôi chuyển:

A. Phôi từ noãn D0:

Số lượng phôi chuyển:

Tuổi phôi: Phôi N3 ☐

Phôi N5 ☐

Hình thái phôi: Loại 1 ☐

Loại 2 ☐

Loại 3 ☐

B. Phôi từ noãn D1:

Số lượng phôi chuyển:

Tuổi phôi: Phôi N3 ☐

Phôi N5 ☐

Hình thái phôi: Loại 1 ☐

Loại 2 ☐

Loại 3 ☐

13. Kết quả lâm sàng:

A. Phôi từ noãn D0:

(1) Không có thai ☐

(4) Thai lâm sàng ☐

(2) Có thai ☐

(5) Thai diễn tiến ☐

(3) Thai sinh hóa ☐

(6) Trẻ sinh sống ☐

B. Phôi từ noãn D1:

(1) Không có thai ☐

(4) Thai lâm sàng ☐

(2) Có thai ☐

(5) Thai diễn tiến ☐

(3) Thai sinh hóa ☐

(6) Trẻ sinh sống ☐

PHỤ LỤC 2

CÁC MÔI TRƯỜNG SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU

Tên môi trường	Hãng sản xuất	Công dụng	Thành phần môi trường
G-TL	Vitrolife – Thụy Điển	Nuôi cấy phôi/ noãn	Hệ đệm Bicarbonate, có chứa albumin người tái tổ hợp (rHA), hyaluronan và gentamicin.
G-GAMETE	Vitrolife – Thụy Điển	Thao tác với noãn và phôi ở môi trường ngoài tử cung	Hệ đệm MOPS và Bicarbonate, có gentamicin và albumin huyết thanh người (HSA)
ICSI	Vitrolife – Thụy Điển	Cố định và phân lập tinh trùng trong ICSI	Chứa polyvinylpyrrolidone (PVP) và albumin người tái tổ hợp (rHA)
HYASE-10X	Vitrolife – Thụy Điển	Sử dụng để loại bỏ tế bào cumulus trong giai đoạn tách trứng	Môi trường đệm bằng muối sinh lý, có chứa enzyme hyaluronidase, albumin huyết thanh người và gentamicin

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU HỆ GEN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – tự do – hạnh phúc

Số: 03-2025/ NCHG-HĐĐĐ
Vv: Chấp thuận ĐĐNCYSH

Hà Nội, ngày 18 tháng 01 năm 2025

CHỨNG NHẬN CHẤP THUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC

Căn cứ Quyết định số 115/QĐ-NCHG ngày 04 tháng 06 năm 2021 của Viện trưởng Viện Nghiên cứu hệ gen về việc thành lập Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học cấp cơ sở.

Căn cứ biên bản họp ngày 18 tháng 01 năm 2025 của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Viện Nghiên cứu hệ gen (IGR IBR) và kiến nghị phê duyệt của chủ nhiệm đề tài về các vấn đề đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học.

HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC VIỆN NGHIÊN CỨU HỆ GEN

Chấp thuận về các khía cạnh đạo đức đối với đề tài:

Tên đề tài: Đánh giá ảnh hưởng của thời điểm đông lạnh lên hiệu quả trưởng thành noãn và kết cục phôi tại Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh năm 2021-2024

Chủ nhiệm đề tài: HVCH. Trần Thị Hồng Ngọc

Cơ quan: Học viên Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Thời gian nghiên cứu: 01/09/2024 – 30/04/2025

Ngày chấp thuận: Ngày 18 tháng 1 năm 2025

PHÓ CHỦ TỊCH



GS. TS. Nguyễn Duy Bắc

**VIỆN TRƯỞNG
VIỆN NGHIÊN CỨU HỆ GEN**



GS. TS. Nguyễn Huy Hoàng

No: 03-2025/NCHG-HĐĐĐ
Issue: Approval of IGR IRB

Ha Noi, January 18, 2025

CERTIFICATE OF APPROVAL

Basing on the Decision No.115/QĐ-NCHG dated June 04, 2021 by the Director of Institute of Genome Research about the foundation and mandates of the Institute of Genome Research Institutional Review Board for reviewing the ethical issue in Bio-medical research.

Basing on the Agreed Minutes dated 18 January, 2025 of the Institute of Genome Research Institutional Review Board (IGR IRB) and petition for the approval of project's principal investigator.

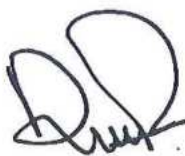
INSTITUTE OF GENOME RESEARCH INSTITUTIONAL REVIEW BOARD IN BIO-MEDICAL RESEARCH

Approve the ethical issues of the following research proposal

Research title: Evaluation of the impact of cryopreservation time point on oocyte maturation efficiency and embryo outcomes at Quang Ninh Obstetrics and Pediatrics Hospital in the period 2021-2024

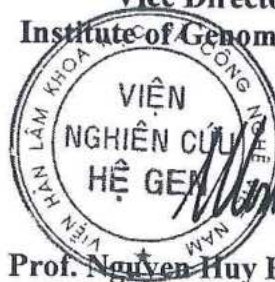
- **Principal investigator:** BSc. Tran Thi Hong Ngoc
- **Research Institution:** Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology
- **Research period:** 01/09/2024 – 30/04/2025
- **Date of approval:** 18 January, 2025

IRB Vice President



Prof. Nguyen Duy Bac, PhD

**Vice Director of
Institute of Genome Research**



Prof. Nguyen Huy Hoang, PhD

Hạ Long, ngày 12 tháng 02 năm 2025

**ĐƠN XIN XÁC NHẬN NGHIÊN CỨU
CHO PHÉP THỰC HIỆN TRÊN BỆNH NHÂN KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ**

Kính gửi: Ban lãnh đạo Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh

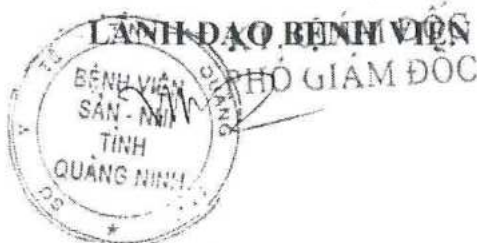
Khoa Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh

Tôi tên là: Trần Thị Hồng Ngọc

Sinh ngày: 11 tháng 02 năm 1994

Hiện tại tôi đang công tác tại Khoa Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh. Trong quá trình công tác, tôi có tiến hành nghiên cứu đề tài: “Đánh giá ảnh hưởng của thời điểm đông lạnh lên hiệu quả trưởng thành noãn và kết cục phôi tại bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh năm 2021 - 2024”. Thời gian nghiên cứu từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2024.

Đối tượng nghiên cứu trong đề tài này là: kết quả trưởng thành noãn, kết quả phôi học về hình thái, kết quả sàng lọc bất thường số lượng nhiễm sắc thể ở phôi giai đoạn tiền làm tổ (PGT-A) và kết quả lâm sàng sau chuyển phôi của các cặp vợ chồng hiếm muộn đến thăm khám tại Khoa Hỗ trợ Sinh sản – Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 12 năm 2024. Các kết quả nghiên cứu không ảnh hưởng tới kết quả điều trị của bệnh nhân và đảm bảo vấn đề đạo đức trong nghiên cứu.



Đỗ Duy Long

PHỤ TRÁCH KHOA

NGHIÊN CỨU VIÊN

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
1	Nguyễn Thị T. P.	1991	29	Quách T. H.	1981
2	Nguyễn T. P.	1978	30	Trần Thị T. H.	1975
3	Trần Thị T. T.	1983	31	Kiều T. N.	1980
4	Trần B. T.	1985	32	Lê T. N.	1987
5	Đỗ Thị H. N.	1984	33	Lê T. D.	1980
6	Trần Thị T. N.	1986	34	Hoàng Thị H. T.	1981
7	Lê Thị T. H.	1981	35	Nguyễn T. N.	1991
8	Nguyễn T. H.	1981	36	Phạm T. D.	1978
9	Phạm T. G.	1984	37	Nguyễn T. N.	1985
10	Nguyễn Thị K. H.	1982	38	Mạc T. H.	1985
11	Trương Thị T. N.	1983	39	Nguyễn T. X.	1981
12	Cồ T. B.	1990	40	Hoàng T. H.	1993
13	Hoàng T. N.	1972	41	Phạm T. N.	1996
14	Lê T. H.	1983	42	Lê Thị T. H.	1990
15	Vũ Thị H. H.	1984	43	Lê T. H.	1986
16	Lê T. T.	1984	44	Bùi T. D.	1983
17	Phạm T. T.	1994	45	Trần Thị M. H.	1977
18	Nguyễn T. D.	1984	46	Nguyễn Thị B. G.	1986
19	Đỗ M. T.	1986	47	Lê Thị T. H.	1981
20	Tạ T. P.	1991	48	Lư T. H.	1980
21	Bùi T. H.	1979	49	Lê Thị H. T.	1986
22	Trần T. P.	1994	50	Nguyễn T. H.	1983
23	Phạm Thị H. N.	1991	51	Phạm T. N.	1982
24	Phùng T. K.	1990	52	Vi T. N.	1983
25	Trần T. D.	1987	53	Hồ Thị T. H.	1978
26	Hà T. T.	1988	54	Nguyễn T. L.	1977
27	Phạm D. N.	1983	55	Phạm M. H.	1982
28	Lê T. V.	1991	56	Khổng Thị T. N.	1991

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
57	Hà T. T.	1993	85	Nguyễn H. N.	1990
58	Nguyễn P. T.	1982	86	Nguyễn L. A.	1980
59	Nguyễn Thị T. T.	1981	87	Nguyễn T. H.	1983
60	Lê T. T.	1988	88	Ngô T. V.	1984
61	Nguyễn P. C.	1984	89	Đào T. H.	1984
62	Mai T. T.	1993	90	Trần T. T.	1982
63	Hoàng T. T.	1988	91	Nguyễn T. N.	1983
64	Đỗ T. L.	1990	92	Hoàng L. M.	1989
65	Trần Thị T. L.	1984	93	Cao T. H.	1986
66	Lê Thị T. T.	1985	94	Lưu T. H.	1989
67	Nguyễn Thị M. K.	1993	95	Nguyễn T. T.	1985
68	Dương Thị H. Q.	1985	96	Nguyễn Thị T. H.	1981
69	Nguyễn V. A.	1984	97	Phạm T. T.	1988
70	Bùi Thị H. Đ.	1985	98	Trần T. P.	1989
71	Trần T. T.	1990	99	Dương T. P.	1976
72	Lê H. K.	1991	100	Phạm Thị M. T.	1976
73	Trần Thị T. H.	1991	101	Khúc T. C.	1993
74	Nguyễn T. G.	1982	102	Đỗ T. N.	1985
75	Vi T. N.	1983	103	Đỗ T. H.	1978
76	Vũ T. H.	1988	104	Lưu T. H.	1984
77	Vũ T. T.	1981	105	Lê T. T.	1983
78	Cao H. G.	1975	106	Phạm T. N.	1976
79	Giản Thị T. T.	1982	107	Lưu T. H.	1989
80	Bùi Thị T. T.	1985	108	Nguyễn T. D.	1980
81	Đoàn Thị T. H.	1983	109	Ngô T. M.	1984
82	Nguyễn T. T.	1981	110	Nguyễn T. K.	1990
83	Nguyễn T. B.	1986	111	Hoàng T. N.	1981
84	Vũ Thị T. V.	1988	112	Trần Thị T. D.	1995

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
113	Phạm Thị H. T.	1995	141	Hoàng T. L.	1978
114	Nguyễn Thị V. N.	1990	142	Đổng T. Q.	1982
115	Luyện N. T.	1989	143	Nguyễn T. H.	1983
116	Vũ T. T.	1989	144	Nguyễn T. T.	1982
117	Vũ T. H.	1994	145	Khương T. H.	1981
118	Bùi T. N.	1992	146	Trần Thị T. T.	1995
119	Hoàng T. H.	1983	147	Bùi T. L.	1980
120	Chu Thị T. H.	1992	148	Nguyễn N. T.	1991
121	Nguyễn T. H.	1976	149	Lê T. H.	1992
122	Lê Thị H. Q.	1987	150	Nguyễn T. G.	1993
123	Trần H. C.	1985	151	Nguyễn T. M.	1980
124	Nguyễn T. L.	1989	152	Trương Thị H. N.	1993
125	Nguyễn M. H.	1979	153	Nguyễn T. L.	1989
126	Vũ T. H.	1986	154	Nguyễn T. A.	1992
127	Đàm Thị T. H.	1981	155	Nguyễn T. T.	1983
128	Nguyễn Thị H. N.	1983	156	Phạm T. L.	1987
129	Nguyễn T. P.	1983	157	Đinh T. H.	1983
130	Phạm T. H.	1993	158	Nguyễn T. T.	1993
131	Trần T. H.	1989	159	Nguyễn T. T.	1979
132	Nguyễn Thị T. D.	1986	160	Trương T. L.	1990
133	Lê Thị T. T.	1985	161	Vũ T. T.	1982
134	Cao T. X.	1988	162	Phạm Thị M. L.	1984
135	Nguyễn Thị T. N.	1986	163	Nguyễn T. T.	1990
136	Lê T. M.	1992	164	Nguyễn T. H.	1982
137	Đặng T. Y.	1999	165	Trần T. H.	1984
138	Hoàng T. D.	1983	166	Vũ Thị M. T.	1998
139	Tăng T. M.	1986	167	Nguyễn Thị T. M.	1984
140	Đặng T. T.	1985	168	Đinh Thị T. Q.	1992

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
169	Nguyễn T. H.	1984	197	Trần Thị H. N.	1994
170	Lê Thị T. L.	1988	198	Nguyễn T. D.	1984
171	Trần T. H.	1988	199	Nguyễn Thị M. A.	1990
172	Hà T. M.	1991	200	Nguyễn T. M.	1981
173	Mai Thị B. H.	1982	201	Mạc Thị T. H.	1984
174	Phạm T. T.	1981	202	Vũ T. H.	1988
175	Dương T. T.	1989	203	Lương Thị N. A.	1993
176	Phạm T. S.	1987	204	Phạm T. A.	1994
177	Hoàng Thị T. D.	1983	205	Lý T. H.	1986
178	Chiu T. T.	1999	206	Hồ Thị L. Q.	1988
179	Trần Thị T. H.	1984	207	Nguyễn Thị T. H.	1986
180	Nguyễn T. T.	1983	208	Đoàn Thị N. H.	1990
181	Nguyễn Thị T. D.	1987	209	Cao T. D.	1991
182	Bùi Thị L. P.	1984	210	Phạm T. H.	1989
183	Phương H. T.	1986	211	Trần H. T.	1989
184	Đặng T. V.	1984	212	Vũ H. T.	2000
185	Vũ T. P.	1984	213	Vũ V. H.	1982
186	Trần Thị N. L.	1996	214	Nguyễn T. H.	1989
187	Tạ T. S.	1985	215	Nguyễn C. C.	1985
188	Nguyễn Thị T. T.	1989	216	Lê T. G.	1983
189	Ngô Thị B. N.	1993	217	Vũ Thị K. Y.	1985
190	Vũ Thị H. L.	1998	218	Cao T. N.	1988
191	Nguyễn T. Q.	1979	219	Đoàn V. K.	1993
192	Trần M. L.	1989	220	Phạm T. S.	1990
193	Lê Thị T. T.	1985	221	Bùi T. N.	1986
194	Phạm L. A.	1995	222	Bùi Thị P. C.	1989
195	Đổng T. L.	1988	223	Lê T. T.	1993
196	Phạm T. D.	1978	224	Hoàng T. G.	1988

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
225	Hoàng Thị T. A.	1993	253	Hoàng T. L.	1982
226	Nguyễn Thị M. T.	1987	254	Nguyễn Thị C. D.	1986
227	Phạm Thị T. T.	1990	255	Nguyễn T. H.	1996
228	Hoàng Thị C. L.	1989	256	Nguyễn Thị T. H.	1986
229	Đoàn T. L.	1986	257	Hà T. D.	1984
230	Nguyễn T. T.	1992	258	Nguyễn T. Y.	1993
231	Nguyễn T. G.	1990	259	Lê Thị N. L.	1986
232	Phạm Thị V. A.	1989	260	Đinh T. L.	1987
233	Bùi P. H.	1989	261	Phạm T. H.	1991
234	Phạm T. M.	1994	262	Tô H. L.	1996
235	Đặng T. V.	1979	263	Hoàng T. H.	1991
236	Vũ Thị K. L.	1996	264	Đào Thị N. T.	1985
237	Nguyễn T. N.	1993	265	Hồ T. N.	1987
238	Nguyễn T. L.	1989	266	Vi T. O.	1991
239	Trần T. Đ.	1990	267	Lê Thị N. Q.	1992
240	Vũ T. T.	1986	268	Phạm Thị K. N.	1980
241	Phạm Thị T. H.	1979	269	Nguyễn T. N.	1983
242	Nông T. V.	1994	270	Nguyễn X. T.	1985
243	Hoàng T. G.	1988	271	Nguyễn T. L.	1989
244	Phạm T. L.	1991	272	Nguyễn T. H.	1987
245	Vũ T. H.	1982	273	Bùi T. T.	1992
246	Bùi Thị T. H.	1995	274	Ngô T. H.	1987
247	Nguyễn T. C.	1985	275	Phạm T. C.	1989
248	Ngô A. N.	1988	276	Tường T. H.	1993
249	Hà T. X.	1990	277	Nguyễn X. V.	1988
250	Nguyễn T. H.	1987	278	Nguyễn Thị T. H.	1990
251	Nguyễn T. H.	1985	279	Đặng T. S.	1985
252	Bùi Thị P. T.	1995	280	Nguyễn Thị T. X.	1982

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
281	Trần T. L.	1988	308	Nguyễn T. Q.	1979
282	Vũ T. H.	1980	309	Hoàng D. K.	1991
283	Nguyễn Thị P. T.	1983	310	Bùi Thị B. D.	1982
284	Trần T. N.	1987	311	Phạm T. H.	1990
285	Nguyễn Thị N. H.	1996	312	Nguyễn T. D.	1979
286	Đỗ T. P.	1989	313	Nguyễn Thị T. H.	1984
287	Nguyễn Thị T. H.	1996	314	Nguyễn Thị M. C.	1990
288	Vũ T. N.	1993	315	Nguyễn T. T.	1984
289	Nguyễn Thị P. Y.	1987	316	Nguyễn Thị T. T.	1983
290	Mai H. N.	1987	317	Đỗ Thị T. L.	1986
291	Đinh T. H.	1997	318	Nguyễn T. T.	1990
292	Phạm Thị K. G.	1985	319	Bùi Thị Q. M.	1992
293	Nguyễn T. H.	1980	320	Đinh N. U.	1991
294	Hoàng Thị H. T.	1981	321	Hứa T. P.	1986
295	Vũ T. M.	1989	322	Nguyễn T. T.	1985
296	Đinh T. H.	1986	323	Nguyễn Thị P. L.	1984
297	Dương T. T.	1988	324	Phạm T. T.	1987
298	Vương T. H.	1984	325	Lưu T. M.	1982
299	Vũ T. V.	1988	326	Nguyễn Thị P. T.	1989
300	Trần T. T.	1985	327	Lê T. H.	1994
301	Đặng T. N.	1985	328	Mạc T. P.	1984
302	Cồ T. B.	1990	329	Nguyễn T. H.	1983
303	Vù T. G.	2000	330	Đặng T. H.	1983
304	Hoàng T. H.	1994	331	Thẩm H. V.	1982
305	Trịnh T. D.	1989	332	Hồ Thị T. N.	1981
306	Trương T. T.	1990	333	Võ Thị M. T.	1996
307	Phạm K. A.	1984	334	Đinh T. H.	1984

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	Họ tên	Năm sinh	STT	Họ tên	Năm sinh
335	Nguyễn Thị Đ. T.	1990	337	Vũ Thị T. T.	2000
336	Nguyễn T. Q.	1999	338	Đinh Thị T. T.	1985

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

ĐƠN ĐỀ NGHỊ
THỰC HIỆN KỸ THUẬT THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM

Kính gửi: KHOA HỖ TRỢ SINH SẢN – BỆNH VIỆN SẢN NHI TỈNH QUẢNG NINH

Họ và tên vợ: (VIẾT IN HOA)

Năm sinh: dd/mm/yy

Số CMND/CCCD/Hộ chiếu:

Ngày cấp:

Nơi cấp:

Số điện thoại:

Hộ khẩu thường trú:

Nơi ở hiện tại:

Tình trạng hôn nhân: ☐ Đã kết hôn

☐ Độc thân

Họ và tên chồng: (VIẾT IN HOA)

Năm sinh: dd/mm/yy

Số CMND/CCCD/Hộ chiếu:

Ngày cấp:

Nơi cấp:

Số điện thoại:

Hộ khẩu thường trú:

Nơi ở hiện tại:

Tôi/Chúng tôi **đã đọc bản cung cấp thông tin**, đồng thời đã được nhân viên y tế giải thích cụ thể các quy trình thực hiện, các rủi ro có thể xảy ra, tỉ lệ thành công và chi phí ước tính khi thực hiện kỹ thuật.

Tôi/Chúng tôi tự nguyện làm đơn này đề nghị Khoa Hỗ trợ sinh sản thực hiện kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm cho tôi/chúng tôi. Trong quá trình thực hiện, tôi/chúng tôi cam kết thực hiện đúng theo các hướng dẫn và yêu cầu của Khoa.

Quảng Ninh, ngày tháng năm

Nhân viên y tế

Chồng

Vợ

(Ký tên, ghi rõ họ tên)

(Ký tên, ghi rõ họ tên)

(Ký tên, ghi rõ họ tên)



PHIẾU YÊU CẦU PHÂN TÍCH DI TRUYỀN version 2.0
(Dành cho phôi tiền làm tổ PGT-A/ PGT-M/ PGT-SR)

THÔNG TIN KHÁCH HÀNG		Mã hồ sơ:
Thông tin người nữ (vợ):		Năm sinh (hoặc tuổi):
Thông tin người Nam(chồng):		Năm sinh (hoặc tuổi):
Địa chỉ:		
Điện thoại:	Email:	
Ngày sinh thiết:	Sinh thiết phôi: Ngày 3 ☐ Ngày 5 ☐	
Loại xét nghiệm yêu cầu phân tích	☐ PGT-A ☐ PGT-M ☐ PGT-SR	
Lý do yêu cầu phân tích PGS/PGD:		
☐ Tuổi mẹ cao ☐ IVF thất bại nhiều lần ☐ Sảy thai liên tiếp		
☐ Tiền sử gia đình bị bệnh di truyền (kể cả đứa con trước từng bị bệnh liên quan đến bất thường NST)		
Lý do khác:		

THÔNG TIN MẪU			
SỐ PHÔI KHÁCH HÀNG MUỐN THỰC HIỆN PHÂN TÍCH: ☐ ☐			
<i>Trong trường hợp khách hàng không muốn phân tích tất cả các phôi hiện có thì chúng tôi sẽ tiến hành sinh thiết và phân tích phôi bất kỳ theo số lượng phôi khách hàng yêu cầu.. Việc lựa chọn phôi sinh thiết sẽ hoàn toàn do chuyên viên phôi học quyết định.</i>			
STT	Mã/ Tên mẫu phôi	Số lượng tế bào lấy được	Ghi chú
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Tôi đã đọc và chấp nhận các điều khoản, điều kiện và hoàn toàn chịu trách nhiệm với các mẫu trên.

Ký tên: _____ Ngày: / /20



THÔNG TIN CẦN BIẾT VÀ CÁC ĐIỀU KHOẢN

Mục đích: Phân tích di truyền ADN của tế bào phôi, giúp phát hiện những bất thường về số lượng của toàn bộ 23 cặp nhiễm sắc thể.

Phương pháp: Tách chiết ADN tế bào phôi và khuếch đại ADN bằng bộ kit Veriseq PGS. Giải trình tự ADN bằng máy giải trình tự Miseq Dx – Illumina và phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm BlueFuse Multi để xác định lệch bội toàn bộ 23 cặp NST.

Hạn chế:

Phương pháp này chỉ giúp sàng lọc lệch bội của 23 cặp nhiễm sắc thể, không thể phát hiện những bất thường về cấu trúc nhiễm sắc thể như chuyển đoạn nhiễm sắc thể cân bằng hoặc chuyển đoạn nhiễm sắc thể không cân bằng dưới độ phân giải của kit xét nghiệm Veriseq PGS. Xét nghiệm này cũng không phát hiện được các trường hợp đa bội nhiễm sắc thể trừ một số trường hợp đặc biệt. Một kết quả âm tính không hoàn toàn đảm bảo một thai kỳ khỏe mạnh. Ngoài ra, xét nghiệm này giống như tất cả các xét nghiệm, đều có tỷ lệ âm tính giả và dương tính giả. Điều này có nghĩa rằng các bất thường nhiễm sắc thể vẫn có thể có ngay cả khi bạn nhận được một kết quả âm tính (được gọi là “âm tính giả”). Bạn cũng có thể nhận được một kết quả dương tính đối với các bất thường nhiễm sắc thể mặc dù thật sự không có những bất thường này (được gọi là “dương tính giả”). Những xét nghiệm bổ sung (ví dụ như siêu âm, double test, triple test, NIPT để sàng lọc, chọc ối hoặc sinh thiết gai rau để chẩn đoán) có thể cần thiết để xác nhận kết quả xét nghiệm của bạn là chính xác.

Bạn cũng cần biết nguy cơ sẽ không có phôi chuyển nếu tất cả các phôi của bạn sau xét nghiệm đều có bất thường. Chuyển phôi bình thường về mặt di truyền cũng không thể đảm bảo 100% cơ hội có thai. Tham khảo ý kiến bác sĩ của bạn để biết thêm thông tin chi tiết về những hạn chế của thử nghiệm này.

Cam đoan: Bạn cần hiểu rõ và cam đoan không làm xét nghiệm này để sàng lọc giới tính hoặc vì những mục đích khác trái với quy định của pháp luật.

Quy định nhận mẫu: Chúng tôi chỉ tiến hành phân tích các mẫu phôi theo yêu cầu của bác sĩ với “Phiếu yêu cầu phân tích ADN cho phôi tiền làm tổ PGT-A/ PGT-M/ PGT-SR” với đầy đủ chữ ký của khách hàng, bác sĩ và nhận được thanh toán đủ số tiền lệ phí tương ứng với yêu cầu dịch vụ phân tích.

Quy định trả kết quả:

Kết quả xét nghiệm sẽ được trả qua email hoặc trực tiếp theo thông tin ở “Phiếu yêu cầu phân tích ADN”.

Chúng tôi sẽ chịu mọi trách nhiệm để đảm bảo thời gian trả mẫu theo đúng yêu cầu dịch vụ, nhưng không chấp nhận bất kỳ trách nhiệm nào về sự chậm trễ gây ra bởi một bên thứ ba.

Tất cả các mẫu sẽ được hủy sau 3 tháng kể từ khi kết quả xét nghiệm đã được cung cấp cho khách hàng.

Bảo mật: Chúng tôi cam kết giữ bí mật về mọi kết quả xét nghiệm. Kết quả chỉ được thông báo cho đơn vị cung cấp dịch vụ, bác sĩ của thai phụ hoặc người đại diện được chỉ định, và người được ủy quyền hợp pháp của bạn bằng văn bản, theo yêu cầu và cho phép của luật hiện hành.

Sử dụng thông tin và mẫu dư: Căn cứ vào các quy định đã được tối ưu hóa và các tiêu chuẩn phòng thí nghiệm lâm sàng, các mẫu phôi dư (theo đúng quy định của pháp luật) và các thông tin khác từ xét nghiệm có thể được chúng tôi sử dụng hoặc người đại diện cho các mục đích kiểm tra chất lượng, quy trình phòng thí nghiệm và các thử nghiệm trong việc phát triển và cải thiện sản phẩm và quy trình xét nghiệm. Việc sử dụng nêu trên được luật pháp hiện hành cho phép.

Nghiên cứu: Chúng tôi có thể sử dụng mẫu dư và các thông tin sức khỏe của bạn, bao gồm các thông tin di truyền, dưới hình thức bảo mật thông tin cá nhân (theo đúng các quy định của pháp luật) cho các mục đích nghiên cứu. Những ứng dụng này có thể được sử dụng trong phát triển các sản phẩm thương mại và dịch vụ. Bạn sẽ không nhận được thông báo của bất cứ mục đích sử dụng nào cũng như bất kỳ hình thức bồi thường nào cho các mục đích trên.

Trách nhiệm tài chính: Khách hàng phải chịu mọi chi phí phát sinh trong quá trình chuyển tiền đến cho bệnh viện như lệ phí chuyển tiền của ngân hàng.

Ký tên:

Ngày: / /20

Phiếu yêu cầu này được in thành 03 bản (01 bản lưu hồ sơ, 01 bản cho labo thụ tinh ống nghiệm, 01 bản cho labo di truyền)

