

**Nghiên cứu kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng
bằng tia laser trong một số chỉ định trên bệnh
nhân thụ tinh trong ống nghiệm**

Chuyên ngành: Mô Phôi thai học Mã số: 62.72.01.03

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Liên Hương.

Người hướng dẫn: PGS. TS Nguyễn Thị Bình

Cơ sở đào tạo: Bộ môn Mô Phôi Thai học- Đại học Y Hà nội

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) hiện nay đang rất phát triển ở Việt Nam. Với kỹ thuật này, mặc dù phôi đã được nuôi cấy thành công ngoài cơ thể, nhưng khi cấy vào tử cung, khả năng bám vào niêm mạc tử cung làm tổ của phôi chỉ đạt trung bình khoảng 20%, tỷ lệ thai lâm sàng khoảng 35% và tỷ lệ em bé sinh ra còn thấp hơn nữa [66]. Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi. Trong đó, một yếu tố quyết định là phôi phải thoát ra khỏi được màng trong suốt. Năm 1989, Cohen và cộng sự đã chứng minh rằng việc tạo một lỗ thủng trên màng trong suốt sẽ giúp phôi TTTON thoát màng dễ hơn và tỉ lệ làm tổ của phôi sẽ cao hơn. Kỹ thuật này được các tác giả đặt tên là kỹ thuật “hỗ trợ thoát màng” (assisted hatching-AH) [trích dẫn 39].

Có ba cơ chế có thể giải thích hiệu quả của hỗ trợ phôi thoát màng: (1) Trong điều kiện nuôi cấy nhân tạo kéo dài hoặc đông lạnh, màng trong suốt bị cứng chắc bất thường hoặc không mỏng đi trong quá trình phôi phát triển, làm cho phôi không thể thoát ra ngoài và bám vào nội mạc tử cung để làm tổ [33], [41]. (2) Hỗ trợ phôi thoát màng giúp phôi thoát màng sớm hơn, phù hợp với “cửa sổ làm tổ” của niêm mạc tử cung sớm hơn 1-2 ngày của chu kỳ kích thích buồng trứng so với chu kỳ tự nhiên [114]. (3) Mở màng trong suốt nhân tạo có thể tạo một kênh trao đổi các chất chuyển hóa, các yếu tố tăng trưởng và các “tín hiệu dẫn truyền” giữa phôi và niêm mạc tử cung [34].

Có nhiều phương pháp hỗ trợ phôi thoát màng, có thể làm mỏng hay làm thủng màng trong suốt của phôi bằng cơ học, hóa chất hoặc bằng tia laser. Tuy nhiên, kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser hiện được nhiều trung tâm ưa chuộng vì tính tiện dụng và an toàn của nó. Mặc dù hỗ trợ phôi thoát màng có thể sử dụng rộng rãi cho nhiều trường hợp, nhưng nói chung, kỹ thuật này thường được dùng cho một số chỉ định của bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm [38], [156].

Tại Việt Nam, kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser mới được áp dụng. Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương bắt đầu thực hiện hỗ trợ phôi thoát màng vào năm 2009. Cho đến nay, có nhiều nghiên cứu trên thế giới và một số rất ít nghiên cứu trong nước đánh giá hiệu quả của kỹ thuật hỗ trợ thoát màng trong TTTON. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng hỗ trợ thoát màng nói chung giúp làm tăng tỉ lệ phôi làm tổ và tỉ lệ có thai của TTTON [38], [156]. Bên cạnh đó cũng có không ít nghiên cứu cho thấy kỹ thuật này không đem lại hiệu quả [38], [141], [163].

Nhìn chung, vẫn tồn tại một số vấn đề mà các nghiên cứu trước đây còn chưa đề cập đến hoặc còn chưa thống nhất. Đó là hỗ trợ phôi thoát màng trên

nhóm đối tượng TTTON nào sẽ có hiệu quả? Nếu có hiệu quả thì cách thức đục lỗ hay làm mỏng sẽ tốt hơn? Nếu đục lỗ hay làm mỏng thì kích thước bao nhiêu là tối ưu? Để góp phần trả lời câu hỏi này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với Đề tài “ *Nghiên cứu kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser trong một số chỉ định trên bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm*”.

Mục tiêu nghiên cứu

1. **Đánh giá hiệu quả của kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser diode 1.48 μ m với hai phương pháp đục lỗ và làm mỏng màng trong suốt của phôi ở bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm trên 38 tuổi chuyển phôi tươi.**
2. **Đánh giá hiệu quả của kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng bằng tia laser diode 1.48 μ m với hai phương pháp đục lỗ và làm mỏng màng trong suốt của phôi trên các bệnh nhân chuyển phôi đông lạnh.**

CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) [39], [57]

TTTON có nghĩa là cho tinh trùng thụ tinh với noãn và nuôi cấy thành phôi trong ống nghiệm. Sau đó, một số phôi sẽ được chuyển trở lại vào buồng tử cung. Quá trình phát triển của phôi và thai sẽ diễn ra hoàn toàn bình thường trong tử cung người mẹ.

Kỹ thuật này được thực hiện thành công trên thế giới lần đầu tiên vào năm 1978 và lần đầu tiên ở Việt Nam năm 1998.

Một chu kỳ TTTON bao gồm: kích thích nang noãn, chọc hút lấy noãn ra ngoài cho kết hợp với tinh trùng trong phòng thí nghiệm, nuôi cấy thành phôi để chuyển trở lại vào buồng tử cung.

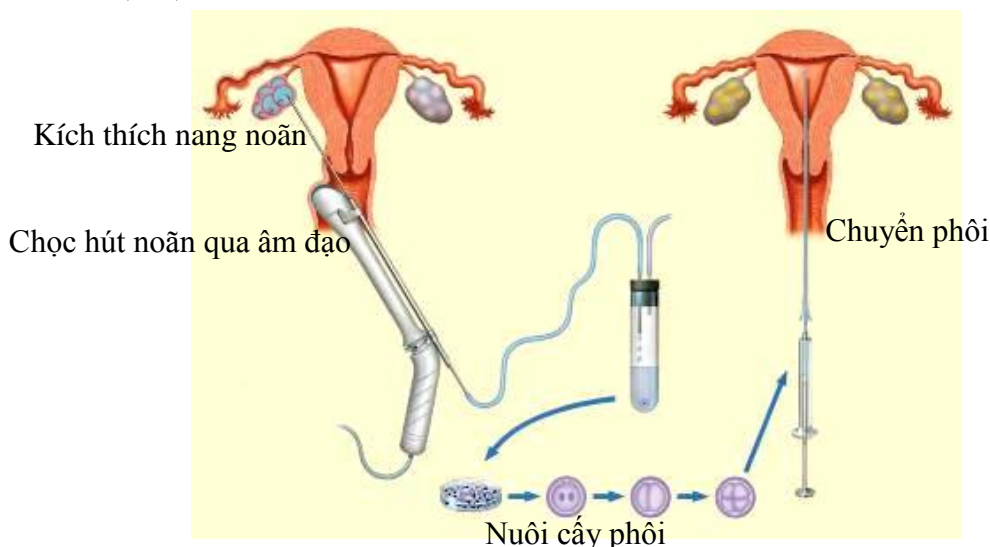
Có 3 phác đồ KTBT thường được sử dụng: *Phác đồ dài* (thường dùng trong IVF cổ điển): dùng GnRH đồng vận (GnRH a) bắt đầu từ ngày thứ nhất của chu kỳ kinh hoặc từ ngày thứ 21 của chu kỳ và liên tục trong 14 ngày. Sau đó, dùng FSH phối hợp với GnRH cho đến khi tiêm hCG. *Phác đồ ngắn*: GnRH α được tiêm cùng với FSH từ đầu chu kỳ. Phác đồ ngắn thường được chỉ định cho những phụ nữ có dự trữ buồng trứng kém. Có thể sử dụng *GnRH đối vận (GnRH-antagonis)* từ ngày 5-6 của chu kỳ để đề phòng đỉnh LH nội sinh hoặc để giảm nguy cơ quá kích buồng trứng. Từ ngày thứ 8-13 của FSH,

chỉ định cho thuốc rụng noãn (thường dùng hCG) khi siêu âm có ≥ 1 nang 18mm hoặc ≥ 3 nang noãn kích thước ≥ 16 mm.

Chọc hút noãn sau tiêm hCG 34-36 giờ. Noãn thu được sẽ ủ ấm trong tủ cấy CO₂, 37⁰C khoảng 3-6h trước khi được cấy với tinh trùng hoặc cho thụ tinh bằng kỹ thuật ICSI.

Đánh giá thụ tinh được tiến hành 18-20h sau cấy với tinh trùng trong kỹ thuật IVF cổ điển, 14-16h sau tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. Đánh giá thụ tinh bình thường khi thấy hai tiền nhân.

Hiện nay, các trung tâm hỗ trợ sinh sản trên thế giới đánh giá chất lượng phôi chủ yếu dựa vào hình thái và tốc độ phân chia của phôi. Hình thái của phôi được theo dõi và đánh giá từ hình thái noãn, hợp tử rồi đến phôi phân chia. Đánh giá hình thái phôi giai đoạn phân chia sớm (ngày 2, 3) dựa vào các chỉ tiêu chính là số lượng phôi bào, độ đồng đều giữa các phôi bào, tỷ lệ các mảnh vỡ (fragment). Các chỉ tiêu phụ gồm có sự phân chia phôi bào đồng thời (synchronise - phân chia 2-4-8), mật độ hạt trong bào tương, số lượng hạt nhân, không bào trong phôi bào. Đánh giá hình thái phôi nang dựa vào độ nở rộng của phôi, hình thái của khối tế bào nội phôi (ICM) và nguyên bào lá nuôi (TE).



Hình 1.1. Quy trình thụ tinh ống nghiệm.

(Nguồn <http://www.kjivf.com/ivf.php>).

Các phôi tốt nhất sẽ được chọn để chuyển phôi. Hiện nay đa số các trung tâm lớn ở Mỹ và Châu Âu thường chuyển 1-2 phôi ngày 5 (phôi nang).

Hai tuần sau khi chuyển phôi, người phụ nữ được lấy máu để thử thai. Nếu kết quả thử thai dương tính (β hCG ≥ 50 IU/l), 2-3 tuần sau, sản phụ sẽ được siêu âm để xác định túi ối và tìm thai trong buồng tử cung.

Tỉ lệ thành công của mỗi chu kỳ điều trị TTTON trung bình trên thế giới hiện nay khoảng 25%-70%. Tỉ lệ này phụ thuộc vào tuổi bệnh nhân, chỉ định điều trị và phác đồ điều trị của từng trung tâm.

1.2. Một số kỹ thuật hỗ trợ sinh sản thông dụng kèm theo TTTON

1.2.1. Đông lạnh phôi

Đây là kỹ thuật phổ biến ở hầu hết các trung tâm làm thụ tinh trong ống nghiệm. Nguồn phôi đông lạnh chủ yếu từ các phôi thừa sau chu kỳ chuyển phôi tươi, hoặc từ phôi của các bệnh nhân vì một số lý do không chuyển được phôi tươi hay từ phôi của người hiến tặng. Phôi có thể được đông lạnh ở các giai đoạn phát triển khác nhau của phôi và bằng các phương pháp đông lạnh khác nhau như đông lạnh chậm, đông phôi thủy tinh hoá. Trong đó, phương pháp đông phôi thủy tinh hóa là phổ biến nhất hiện nay.

1.2.2. Đông tinh trùng

Kỹ thuật này được chỉ định cho các trường hợp chồng khó lấy tinh trùng hoặc trước khi đi xa hay điều trị tia xạ, hoá chất. Tuy nhiên, cần phân tích chất lượng tinh trùng trước đông để khi rã đông sẽ có những chỉ định thích hợp cho mẫu tinh trùng đó.

1.2.3. Đông noãn

Đông noãn thường được chỉ định cho các trường hợp: Chồng không lấy được tinh trùng trong ngày vợ chọc hút noãn mà không muốn xin tinh trùng của người khác; Các trường hợp xin noãn mà chưa chuẩn bị niêm mạc tử cung phù hợp; trước khi điều trị tia xạ, hoá chất; Bảo tồn khả năng sinh sản.

Noãn sau khi rã đông muốn thụ tinh được phải làm ICSI để khắc phục khả năng thụ tinh thấp do thay đổi cấu trúc màng trong suốt khi đông lạnh. Tỷ lệ thai lâm sàng từ các chu kỳ đông noãn còn thấp.

1.2.4. Xin, cho phôi, noãn, tinh trùng

Có nhiều trường hợp không có tinh trùng hoặc không có noãn, do vậy cần phải dùng noãn hoặc tinh trùng của người cho. Một số trường hợp không có phôi của chính mình mà muốn có con có thể xin phôi hiến.

1.2.5. Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI)

ICSI (intra-cytoplasmic sperm injection) là kỹ thuật dùng hệ thống vi thao tác xử lý tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. Kỹ thuật này giúp kiểm soát được tỷ lệ thụ tinh, đảm bảo khả năng có phôi. Do vậy, ICSI góp phần trong sự ổn định và gia tăng hiệu quả của một chu kỳ TTTON.

1.2.6. Kỹ thuật lấy tinh trùng từ tinh hoàn và mào tinh

Các kỹ thuật này thực hiện cho các bệnh nhân vô sinh nam xuất tinh không có tinh trùng (azoospermia) do tắc hoặc không tắc ống dẫn tinh. Tinh

trùng thu được chưa trưởng thành hoàn toàn, do vậy phải tiến hành ICSI để thụ tinh với noãn.

1.2.7. Hỗ trợ phôi thoát màng (AH)

Kỹ thuật này giúp phôi dễ thoát màng nhằm tăng tỷ lệ có thai và làm tổ của phôi. Đến nay, trên thế giới đã có 4 phương pháp được áp dụng để hỗ trợ phôi thoát màng: Làm mỏng hoặc làm thủng màng trong suốt bằng cơ học, bằng men pronase, bằng axit Tyrode và bằng tia laser. Có nhiều tranh cãi xung quanh chỉ định của kỹ thuật cho đối tượng TTTON nào thì hiệu quả.

1.2.8. Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD)

Chẩn đoán di truyền trước làm tổ được tiến hành nhằm sàng lọc phôi không có bất thường về di truyền trước khi chuyển phôi, đôi khi có thể thực hiện trên noãn trước khi cho thụ tinh. Kỹ thuật này cho phép các cặp vợ chồng có nguy cơ truyền bệnh di truyền cho con có cơ hội sinh con không mắc bệnh, không phải bỏ thai khi thai đã lớn, tránh được những hậu quả xấu ảnh hưởng lên tâm lý của người mẹ và gia đình.

1.2.9. Nuôi cấy noãn non (IVM)

Trưởng thành noãn non là kỹ thuật nuôi noãn non đến giai đoạn trưởng thành ở môi trường nuôi cấy chuyên biệt ngoài cơ thể. Noãn sau khi đã trưởng thành sẽ được thụ tinh bằng phương pháp IVF/ICSI và nuôi cấy tiếp như các trường hợp TTTON thông thường.

1.3. Quá trình phát triển của phôi tiền làm tổ

1.3.1. Quá trình phát triển của phôi tiền làm tổ tự nhiên

Thụ thai là kết quả của quá trình làm tổ của noãn đã thụ tinh. Noãn thụ tinh hay còn gọi là phôi tiền nhân (phôi ngày 1) sẽ trải qua ba giai đoạn trong suốt quá trình làm tổ:

* Giai đoạn 1: Di chuyển đến buồng tử cung

- Các yếu tố tác động đến quá trình di chuyển là dịch ổ bụng, hoạt động cơ trơn của vòi tử cung và hoạt động của nhung mao vòi tử cung.

- Ngoài ra, noãn cũng sẽ thực hiện tuần tự quá trình phân bào và biệt hoá tế bào trong suốt quá trình di chuyển này:

+ Ngày 0: Noãn thụ tinh với tinh trùng, hiện tượng này thường xảy ra ở một phần ba ngoài của vòi tử cung.

+ Ngày 1: Phôi ngày 1 (hợp tử có hai tiền nhân) trong suốt quá trình di chuyển được bảo vệ bởi màng trong suốt (zona pellucida) và được dinh dưỡng nhờ cơ chế thẩm thấu.

+ Ngày 2: Phôi phân chia có từ 2-4 tế bào.

+ Ngày 3: Phôi phân chia có từ 6-8 tế bào, lúc này phôi nằm ở khoảng eo của vòi tử cung.

+ Ngày 4: Phôi tiếp tục phân bào và trở thành phôi dâu, có từ 15-50 tế bào. Phôi nằm ở đoạn kẽ vòi tử cung.

+ Ngày 5: Hình thành phôi nang (blastocyst), biệt hoá thành hai nhóm tế bào phôi (nguyên bào lá nuôi và khối tế bào nội phôi). Phôi đã đến buồng tử cung.

+ Ngày 6 (hatching): Phôi thoát khỏi màng trong suốt.

* Giai đoạn 2: Tương tác giữa các nguyên bào lá nuôi của phôi nang và niêm mạc tử cung và thương lượng miễn nhiễm để niêm mạc tử cung chấp nhận phôi làm tổ.

* Giai đoạn 3: Làm tổ tại niêm mạc tử cung.

+ Ngày 8: Phôi thoát màng chìm vào niêm mạc tử cung, hình thành phôi hai lá, chưa tiếp xúc với mạch máu của mẹ.

+ Ngày 9: Phôi chìm hoàn toàn vào niêm mạc tử cung, tạo các hốc giữa các hợp bào nuôi, chưa tiếp xúc với mạch máu mẹ.

+ Ngày 10: Tiếp xúc với mạch máu mẹ nên hiện diện hCG trong máu mẹ.

1.3.2. Quá trình phát triển của phôi tiền làm tổ trong TTTON

+ Ngày 0: Noãn sau chọc hút được các chuyên viên phôi học thu nhặt và đánh giá chất lượng noãn dựa vào hình thái trưởng thành của các tế bào hạt bao quanh noãn, bào tương noãn, cực cầu và nhân của noãn. Cho noãn thụ tinh với tinh trùng sau chọc hút 3- 6h.

+ Ngày 1: Kiểm tra thụ tinh. Hình thái hai tiền nhân có thể tiên lượng được khả năng phát triển của phôi [140], [154], [155]. Đánh giá hình thái dựa vào kích cỡ, vị trí hai tiền nhân và các hạt nhân.

+ Ngày 2, 3: Giai đoạn phôi phân chia sớm: Đánh giá chất lượng phôi dựa vào hình thái: số lượng (ngày 2: 4 tế bào; ngày 3: 8 tế bào) và độ đồng đều của phôi bào, sự phân chia đồng bộ (2-4-8) của phôi bào, độ chiết quang, mật độ hạt của bào tương phôi bào,... Đánh giá chất lượng phôi ngày 2 rất quan trọng để quyết định ngày chuyển phôi. Có thể chuyển phôi ngày 2, ngày 3 hoặc ngày 5 (tùy trung tâm). Thông thường, nếu có ít nhất 2-3 phôi ngày 3 chất lượng tốt thì sẽ nuôi cấy tiếp để chuyển phôi ngày 5.

+ Ngày 4: Phôi dâu, bắt đầu xuất hiện các hốc dịch nhỏ.

+ Ngày 5: Phôi nang nở rộng, dịch nang lấp đầy thể tích phôi, khối tế bào nội phôi có nhiều tế bào nhỏ, liên kết chặt, các nguyên bào lá nuôi có nhiều tế bào, liên tục.

+ Ngày 6: Phôi thoát màng.

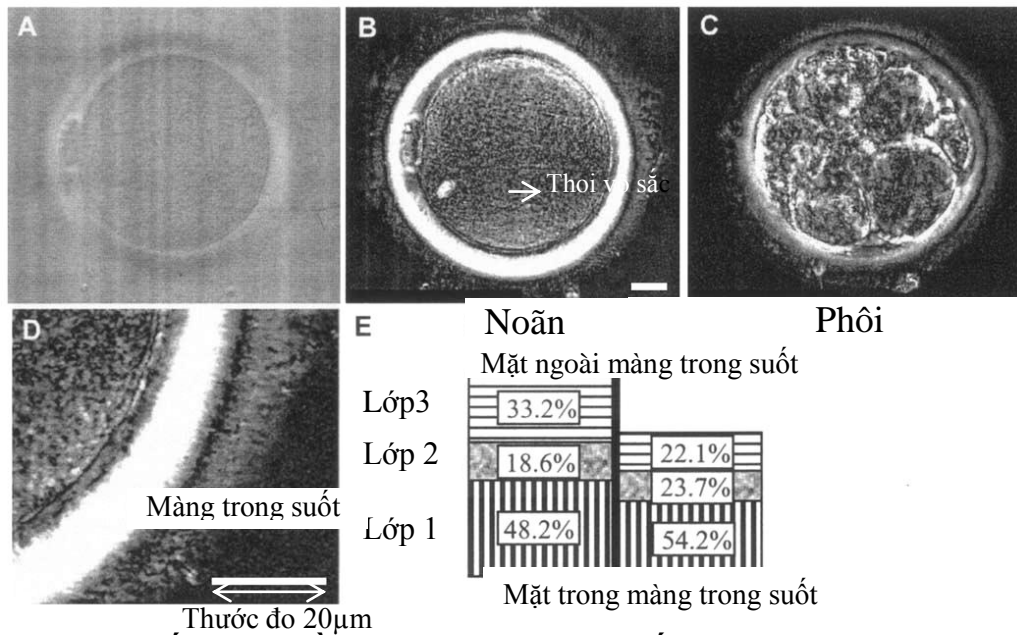
Kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng được thực hiện trên phôi ngày 2, ngày 3 hoặc ngày 5 (tùy trung tâm). Khi tiến hành AH trên phôi ngày 2, ngày 3, thường đến ngày 5 phôi sẽ thoát màng (sớm hơn tự nhiên một ngày), giúp cho phôi làm tổ sớm hơn, dễ đồng bộ với niêm mạc tử cung hơn [100].

1.4. Hỗ trợ phôi thoát màng

1.4.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự thoát màng của phôi

- Màng trong suốt

Một trong các yếu tố chính quyết định khả năng thoát màng của phôi là màng trong suốt. Phôi thoát màng được hay không còn phụ thuộc vào độ dày màng trong suốt và tính đàn hồi của màng này. Ở người, màng trong suốt dày khoảng 13-15 μm . Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy màng trong suốt của các đối tượng bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm có độ dày trung bình vào khoảng 16-19 μm [16], [72], [112], [118], [124]. Màng trong suốt có bản chất glycoprotein và có nhiều chức năng quan trọng. Cấu trúc màng trong suốt người gồm bốn loại glycoprotein (ZP1, ZP2, ZP3, ZPB) [92]. Người ta xác định được ba gen mã hóa các loại protein này [143]. Ở một số loài protein tổng hợp nên màng trong suốt được sản xuất tại gan, trong khi ở động vật có vú, protein đó được sản xuất ngay tại buồng trứng [94]. Các protein này được hoạt tiết trong quá trình nang noãn phát triển để hình thành màng trong suốt [64], [143]. Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhưng cấu trúc của màng trong suốt noãn và phôi người cho đến nay vẫn chưa được biết rõ. Các mô hình cấu trúc hiện nay được xây dựng dựa trên phân tích màng trong suốt của động vật có vú. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy màng trong suốt là màng kép có ba lớp đồng tâm [36], [174]. Các sợi của lớp trong cùng (lớp 1) tỏa tròn hình vành tia. Các sợi của lớp ngoài cùng (lớp 3) xếp theo hướng tiếp tuyến. Các sợi lớp giữa xếp ngẫu nhiên. Dưới kính hiển vi (KHV) phân cực, các lớp này lưỡng chiết, phân biệt rõ 3 lớp với lớp giữa chiết quang ít nhất (hình 1.2) [36].



Hình 1.2. Cấu trúc nhiều lớp của màng trong suốt chụp dưới KHV phân cực (PolScope). A: noãn người chụp KHV đảo ngược bình thường. B: noãn người chụp KHV phân cực. C: Phôi ngày 3 chụp phân cực. D: Các lớp của màng trong suốt phân biệt dưới KHV phân cực. E: Các lớp của màng trong suốt noãn và phôi.

(Nguồn: Pelletier. *PolScope views lamina zona. Fertil Steril* 2004 [36]).

Trong nang noãn, màng trong suốt đóng vai trò như một hàng rào sinh lý ngăn giữa noãn và các tế bào nang. Khi thụ tinh, tinh trùng gắn với các thụ thể trên bề mặt màng trong suốt. Những thay đổi về sinh hoá của màng trong suốt xảy ra sau khi thụ tinh làm màng này cứng lại và ngăn chặn hiện tượng đa thụ tinh [44]. Trong quá trình phát triển của phôi giai đoạn tiền làm tổ, màng trong suốt bảo vệ sự toàn vẹn của phôi [17]. Khi di chuyển từ vòi trứng về tử cung, màng trong suốt rất cần thiết để đảm bảo cấu trúc của phôi vì liên kết giữa các tế bào của phôi rất yếu. Ngoài ra, nếu tách bỏ toàn bộ hoặc một phần màng trong suốt của phôi cừu thì phôi có thể bị thoái hoá khi gặp một số kháng thể trong tử cung [158]. Khi làm thụ tinh trong ống nghiệm, màng trong suốt của phôi có thể bị cứng lại do ảnh hưởng của quá trình nuôi cấy kéo dài hoặc phải trải qua đông lạnh và rã đông... [33], [41].

Bên cạnh đó, màng trong suốt còn có thể chịu ảnh hưởng của một số yếu tố khác. Môi trường nội tiết do dùng thuốc kích thích rụng trứng cũng là một yếu tố liên quan đến độ dày màng trong suốt [23].

Đã có những nghiên cứu cho thấy độ dày và hình dạng của màng trong suốt có liên quan đến chất lượng phôi, sự phát triển của phôi và tỷ lệ có thai [58], [78]. Đặc biệt là quá trình mỏng đi của màng trong khi phôi phát triển. Trong tự nhiên, khi phôi ngày 5 (phôi nang-blastocyst), di chuyển đến tử cung, phôi sẽ tự thoát màng và hiện tượng làm tổ sẽ xảy ra. Trước khi thoát màng, phôi nang nở to, màng trong suốt giãn ra và mỏng đi. Trong quá trình

thoát màng, màng trong suốt mỏng đi do hai yếu tố: (1) Xuất hiện các chu kỳ co thắt và dẫn ra của phôi; (2) Vai trò của chất lysins do các nguyên bào lá nuôi và niêm mạc tử cung tiết ra làm ly giải màng trong suốt. Khi không có chất này sẽ dẫn tới việc làm tổ thất bại [62]. Chu kỳ co giãn của màng trong suốt được theo dõi trên thực nghiệm ở phôi nang của chuột, cừu, bò và người. Kết quả là sau vài chu kỳ như vậy, màng trong suốt sẽ mỏng đi. Tương tự như vậy, chu kỳ co giãn xảy ra trên các nguyên bào lá nuôi của phôi nang người, hiện tượng này cũng giúp cho phôi thoát màng xảy ra trong điều kiện nuôi cấy. Tuy vậy, ở điều kiện tự nhiên, chưa rõ sự co giãn này có làm phôi thoát màng tốt hơn hay không, nhưng dường như nó cũng giúp cho phôi tiếp xúc và làm tổ trên niêm mạc tử cung [63].

Người ta nhận thấy rằng quá trình mỏng đi này không chỉ thường thấy rõ ở giai đoạn phôi nang nở ra, mà còn thấy được từ giai đoạn hợp tử cũng như giai đoạn phân chia của phôi. Những phôi tốt nhất thường có sự thay đổi độ dày mỏng của màng trong suốt. Theo Gabrielsen và cộng sự (2000), khi màng trong suốt mỏng đi hơn 25%, tỷ lệ có thai là 40% (24/60). Ngược lại, với những phôi có màng mỏng đi ít hơn 10% thì không ghi nhận được trường hợp nào có thai (0/21). Ngoài ra, sự mỏng đi của màng trong suốt không những liên quan đến tỷ lệ có thai cao mà còn liên quan đến hình thái phôi tốt [55], [56].

- *Men lysins*

Nghiên cứu của Schiewe và cộng sự (1995) trên chuột cho thấy, cơ chế khởi phát của sự làm tổ dường như không phải do lysins của màng trong suốt và các chu kỳ co giãn của phôi nang. Các tác giả cho rằng lá nuôi của phôi (TE) chịu trách nhiệm chế tiết lysins cần thiết cho sự làm tổ [135].

- *Sự phát triển của phôi*

Các số liệu nghiên cứu trên phôi nang chuột gần đây cho thấy phôi thoát màng khi nuôi cấy nhân tạo phụ thuộc vào số lượng tế bào đầy đủ để cấu thành phôi đó. Đối với các phôi ngừng phát triển (có thể do nhiều yếu tố: Chất lượng noãn, chất lượng tinh trùng, chất lượng phôi không tốt do các nguyên nhân di truyền, do phác đồ KTBT... hoặc do các yếu tố khách quan: môi trường nuôi cấy, chất lượng lab thụ tinh ống nghiệm không đảm bảo...), hiện tượng thoát màng không thể xảy ra. Phôi không có đủ số lượng tế bào, áp lực nội phôi không đủ làm cho phôi không nở ra được để thoát màng [trích dẫn 39, 76].

- *Một số yếu tố khác*

Phôi thoát màng trong tự nhiên không giống như phôi nuôi cấy. Phôi nuôi cấy (in vitro) thường tự thoát màng chậm hơn so với phôi tự nhiên (in vivo) khoảng 1-2 ngày [62]. Sự khác biệt này liên quan đến tử cung và các yếu tố gây ly giải lá nuôi phôi (TE) của niêm mạc tử cung [88].

1.4.2. Hỗ trợ phôi thoát màng: khái niệm, chỉ định, các phương pháp