

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN ĐỘ DÀY MÀNG ZONA PELLUCIDA Ở TRỨNG BỆNH NHÂN TTTON TẠI BỆNH VIỆN TỪ DŨ

Trần thị Hạnh Dung, Vũ Bích Thủy

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Màng zona pellucida (ZP) ở trứng của động vật hữu nhũ là lớp ngoại bào bên ngoài bảo vệ cho phần noãn bên trong. Về mặt cấu tạo, màng zona pellucida thật ra là một phức hợp gồm 3 lớp glycoprotein gọi là ZP1, ZP2, ZP3 được tổng hợp, chế tiết và bổ sung theo từng giai đoạn phát triển của trứng trong suốt quá trình sinh trứng (Keefe và cs, 1997; Qi và cs, 2002; Pelletier và cs, 2004). Về mặt sinh lý, màng zona pellucida đóng vai trò quan trọng trong quá trình thụ tinh của trứng và sự phát triển của phôi. Ở người, màng zona của trứng và phôi ở giai đoạn sớm thường có độ dày khoảng 13 – 15 μ m. Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến độ dày và tính chất của màng ZP, làm cho màng ZP ở phôi có thể bị dày lên hay rần chần hơn. Điều đó ảnh hưởng đến khả năng thoát màng để làm tổ của phôi và ảnh hưởng đến khả năng có thai.

Theo thư viện Cochrane 2010 đã công bố, tỉ lệ thai lâm sàng có tăng lên sau khi áp dụng các kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng, đặc biệt ở nhóm phụ nữ đã từng thất bại với những chu kỳ hỗ trợ sinh sản trước đó và nhóm có tiên lượng xấu. Điều đó cho thấy một số yếu tố tác động trong quá trình điều trị có thể ảnh hưởng đến tính chất của màng ZP ở trứng hoặc phôi.

Mặt khác, các trung tâm hỗ trợ sinh sản khác tại Việt Nam hiện nay thường tập trung vào nghiên cứu hiệu quả của các kỹ thuật hỗ trợ phôi thoát màng mà chưa đi sâu vào nghiên cứu các yếu tố tác động trong quá trình điều trị đến độ dày màng ZP của trứng hoặc phôi.

Từ những nhận định trên, nghiên cứu này được thiết kế nhằm mục đích tìm hiểu một số yếu tố trong quá trình điều trị hỗ trợ sinh sản có thể ảnh hưởng đến độ dày màng ZP của trứng hoặc phôi trong điều kiện ở Việt Nam. Từ đó, có thể cung cấp một số thông tin cần thiết cho các bác sĩ lâm sàng trong quá trình điều trị để các bác sĩ có thể tư vấn cho bệnh nhân một cách chủ động hoặc điều chỉnh quá trình điều trị nếu có thể.

II. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Bệnh nhân điều trị hiếm muộn bằng kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI) tại bệnh viện Từ Dũ

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: cắt ngang mô tả

Cỡ mẫu: 163 bệnh nhân.

Địa điểm nghiên cứu : Khoa Hiếm muộn Bệnh viện Từ Dũ

Thời gian nghiên cứu từ tháng 5/2011 đến tháng 7/2011

Các bước thực hiện nghiên cứu

Về mặt lâm sàng:

Bệnh nhân đến điều trị được tư vấn và thực hiện quy trình kích thích buồng trứng. Ta thu nhập số liệu về:

- Tuổi
- Nồng độ FSH, LH, E2 cơ bản
- Tổng liều FSH được sử dụng để kích thích buồng trứng
- Thời gian kích thích buồng trứng
- Độ dày của niêm mạc tử cung vào ngày chọc hút trứng.

Về mặt labo

- Tất cả trứng của mỗi bệnh nhân sau khi chọc hút được sẽ được tách khỏi phức hợp OCC bằng enzyme Hyaluronidase 80 IU (FertiPro,Belgium)
- Chỉ thu nhận trứng có khả năng thụ tinh (MII).
- Chụp hình tất cả các trứng sau khi tách, sử dụng bằng hệ thống kính ZILOS-tkTM của hãng Hamilton Thorne (USA).
- Sử dụng phần mềm của hệ thống này để đo độ dày màng ZP của trứng.

Xử lý số liệu

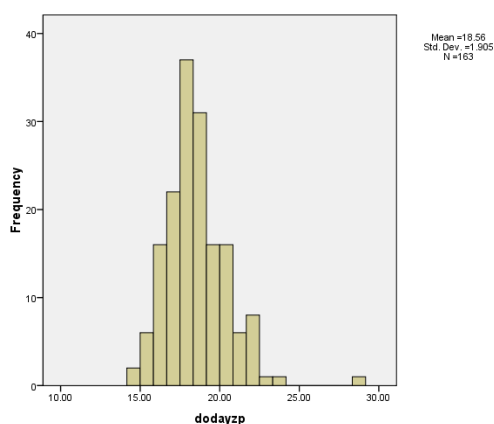
Tất cả số liệu có được về bệnh nhân và độ dày màng ZP sẽ được phân tích bằng phần mềm xử lý số liệu SPSS (16.0) và R (2.11.1) để tìm sự tương quan.

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Có tổng cộng 163 bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu với tổng số 2140 trứng được khảo sát. Độ dày màng zona trung bình là $18.56\mu\text{m} \pm 1.904$. Các dữ liệu của bệnh nhân và của đặc điểm của trứng khảo sát được tóm tắt ở Bảng 1. Xét phân bố của độ dày màng zona (Hình 1) cho thấy đây là phân bố chuẩn và chỉ có một điểm có thể là giá trị bất thường.

Bảng 1: Tóm tắt đặc điểm đối tượng nghiên cứu

	Minimum	Maximum	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Tuổi	26	45	34.02	4.125
Thời gian vô sinh	1	20	5.10	3.117
FSH ngày 2	1	11	6.72	1.682
LH ngày 2	1.01	68.87	6.78	7.001
E2 ngày 2	11.00	7383.00	1.20	638.785
Tổng liều FSH sử dụng	100	4200	2668.40	751.341
Thời gian kích thích buồng trứng	9	14	11.07	1.086
Số lượng nang 14 mm vào ngày tiêm HCG	2	42	13.74	7.142
Độ dày NMTC	8.0	19.0	10.97	1.326
Số lượng trứng chọc hút được	2	38	13.13	7.187
Độ dày màng zona	14.41	28.49	18.56	1.904



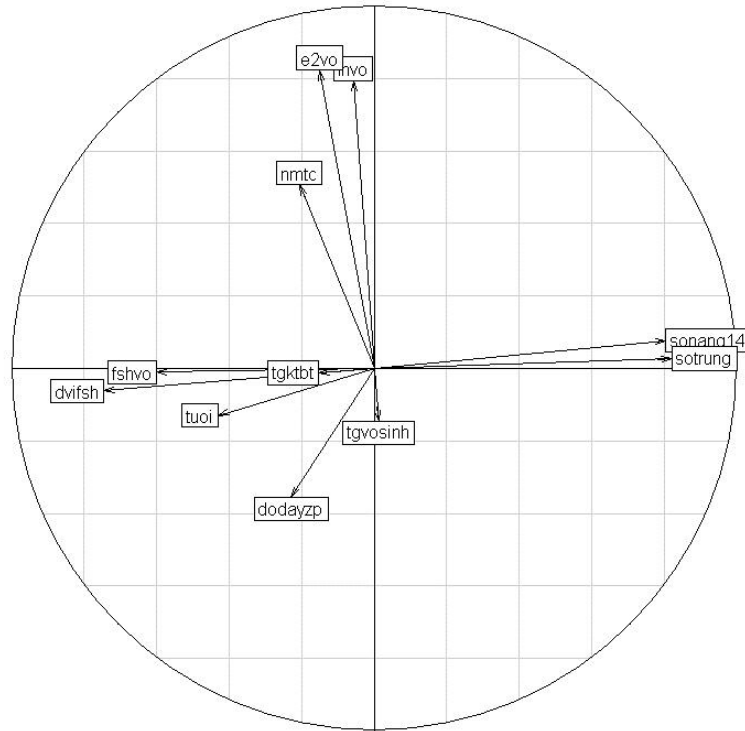
Hình 1: Phân bố của độ dày màng zona

Khi xét các yếu tố tương quan độ dày màng zona, kết quả được tổng hợp ở Bảng 2 và Hình 2. Kết quả cho thấy có sự tương quan nghịch giữa độ dày màng zona với nồng độ LH máu bệnh nhân vào ngày 2 của chu kỳ kinh ($p < 0.05$, $r = - 0.168$), với số lượng nang có kích thước 14mm đếm được trên siêu âm vào ngày tiêm HCG ($p < 0.05$, $r = - 0.17$) và với số lượng trứng chọc hút được ($p < 0.05$, $r = - 0.158$).

Bảng 2: Giá trị tương quan giữa các yếu tố được xét với độ dày màng zona

	Tuổi	Thời gian vô sinh	FSH ngày 2	LH ngày 2	E2 ngày 2	Tổng liều FSH sử dụng	Thời gian kích thích BT	Số lượng nang 14 mm vào ngày tiêm HCG	Độ dày NMT C	Số lượng trứng chọc hút được	Độ dày màng zona	P value
Tuổi	1	0.271	0.07	0.007	-0.003	0.286	-0.072	-0.25	-0.023	-0.286	0.011	0.8924
Thời gian vô sinh	0.271	1	-0.099	-0.023	-0.063	-0.066	-0.07	0.015	-0.006	-0.004	0.018	0.8192
FSH ngày 2	0.07	-0.099	1	0.11	0.002	0.354	0.102	-0.342	-0.001	-0.398	0.116	0.1419
LH ngày 2	0.007	-0.023	0.11	1	0.518	-0.044	-0.05	0.047	0.188	-0.023	-0.168	0.03209
E2 ngày 2	-0.003	-0.063	0.002	0.518	1	0.053	-0.009	-0.054	0.302	-0.116	-0.135	0.08682
Tổng liều FSH sử dụng	0.286	-0.066	0.354	-0.044	0.053	1	0.409	-0.464	0.101	-0.436	0.061	0.4366
Thời gian kích thích buồng trứng	-0.072	-0.07	0.102	-0.05	-0.009	0.409	1	0.104	0.073	0.029	-0.001	0.993
Số lượng nang 14 mm vào ngày tiêm HCG	-0.25	0.015	-0.342	0.047	-0.054	-0.464	0.104	1	-0.148	0.667	-0.17	0.03011
Độ dày NMTC	-0.023	-0.006	-0.001	0.188	0.302	0.101	0.073	-0.148	1	-0.083	0.015	0.8493
Số lượng trứng chọc hút được	-0.286	-0.004	-0.398	-0.023	-0.116	-0.436	0.029	0.667	-0.083	1	-0.158	0.04408
Độ dày màng zona	0.011	0.018	0.116	-0.168	-0.135	0.061	-0.001	-0.17	0.015	-0.158	1	

Hình 2: Tóm tắt mối tương quan giữa các yếu tố được thể hiện trên vòng tròn tương quan



V BÀN LUẬN

Cấu trúc và độ dày màng ZP là yếu tố bị tác động bởi nhiều yếu tố khác mà yếu tố chính yếu hiện nay vẫn chưa xác định rõ ràng. Một vài nghiên cứu báo cáo tỉ lệ có thai ở nhóm phụ nữ có ZP trứng mỏng cao hơn ở nhóm phụ nữ có ZP trứng dày (Cohen J 1991, Garside WT và cs 1997). Nguyên nhân có thể do tình trạng “khó xuyên qua” màng ZP trứng dày hơn và ZP dày được xem là dấu hiệu của trứng có chức năng bất thường. Theo nghiên cứu của Loret de Mola và cs (1997) bệnh nhân vô sinh không rõ nguyên nhân có màng ZP trứng đo được vào ngày chọc hút là $19.4 \pm 2.7 \mu\text{m}$, bệnh nhân vô sinh do nguyên nhân tai vôi có màng ZP trứng dày trung bình $17.5 \pm 2.4 \mu\text{m}$, bệnh nhân lạc nội mạc tử cung có ZP trứng dày trung bình $17.7 \pm 2.2 \mu\text{m}$, đặc biệt cặp vợ chồng vô sinh do nguyên nhân phía người nam, ZP trứng vợ có độ dày trung bình $16.4 \pm 2.7 \mu\text{m}$. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy độ dày màng ZP trung bình là $18.56 \pm 1.90 \mu\text{m}$ cho thấy độ dày màng zp trứng là một yếu tố rất thay đổi. Do vậy, yếu tố nội tại của mỗi cá thể dường như là nguyên nhân tác động đến độ dày màng ZP hơn là một nguyên nhân cụ thể nào đó được xác định chung cho cộng đồng.

Kết quả của chúng tôi cho thấy các yếu tố như tuổi, thời gian vô sinh, nồng độ FSH trong máu vào ngày 2 của chu kỳ kinh, tổng liều FSH sử dụng trong kích thích buồng trứng và thời gian kích thích buồng trứng có tác động tổng hợp tương quan thuận đến độ dày màng ZP trứng vì các yếu tố này cũng nằm trong ¼ vòng tròn tương quan (Hình 2) kết quả này trái ngược với kết quả nghiên cứu của Schiewe MC và cs (1995). Trong đó, thời gian vô sinh dường như là yếu tố tác động mạnh hơn các yếu tố khác. Kết quả còn cho thấy tác động tương quan riêng lẻ của từng yếu tố đến độ dày màng zp trứng như: nồng độ LH máu bệnh nhân vào ngày 2 của chu kỳ kinh càng cao số lượng nang có kích thước 14mm đếm được trên siêu âm vào ngày tiêm HCG càng nhiều, và với số lượng trứng chọc hút được càng nhiều thì màng ZP trứng chọc hút được càng mỏng ($p < 0.05$, $r = - 0.168$, $p < 0.05$, $r = - 0.17$ và $p < 0.05$, $r = - 0.158$ tương ứng) (Bảng 1).

VI. KẾT LUẬN

Có nhiều yếu tố tác động đến độ dày màng ZP trứng thu nhận được của BN điều trị TTTON. Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 2 nhóm yếu tố tương quan thuận và tương quan nghịch đến độ dày màng ZP trứng. Đây là nghiên cứu đầu tiên về độ dày màng ZP trứng với số lượng mẫu thu nhận được rất lớn (2140 trứng). Nghiên cứu có thể làm cơ sở cho các nhà chuyên môn đánh giá khả năng thành công và chất lượng điều trị TTTON.

VII. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cohen J (1991) Assisted hatching of human embryos. *J in Vitro Fertil Embryo Transfer* 8: 179-190
2. Garside WT, Loret de Mola JR, Buccu JA, Turerck RW, Heyner S (1997) Sequential analysis of zona thickness: Correlation with embryo quality, age, and implantation. *Mol Reprod Dev* 47:99-104
3. Keefe D, Tran P, Pellegrini C, Oldenbourg R (1997). Polarized light microscopy and digital image processing identify a multilaminar structure of the hamster zona pellucida. *Hum Reprod.* 12, 1250– 1252.
4. Loret de Mola JR, Garside WT, Bucci J, Tureck RW, Heyner S (1997) Analysis of human zona pellucida during culture: Correlation with diagnosis and preovulatory hormonal environment. *J Assist Reprod Genet*; 14: 332-336

5. Pelletier C, Keefe D. L, and Trimarchi J. R (2004). *Noninvasive polarized light microscopy quantitatively distinguishes the multilaminar structure of the zona pellucida of living human eggs and embryos. Fertil. Steril.* **81**, 850- 56.
6. Qi H, Williams Z, Wassarman PM (2002). *Secretion and assembly of zona pellucida glycoproteins by growing mouse oocytes microinjected with epitope-tagged cDNAs for mZP2 and mZP3. Mol Biol Cell.* **13**, 530–41.
7. Schiew MC, Araujo E, Asch RH, Balmaceda JP (1995). *Enzymatic characterization of zona pellucida hardening in human eggs and embryos. J Assist Reprod Genet.* **12**, 2-7.
8. Shiloh H., LahavBaratz S., Koifman M, Ishai D, Bidder D, Weiner-Meganzi Z. and Dirnfeld M. (2004). *The impact of cigarette smoking on zona pellucida thickness of oocytes and embryos prior to transfer into the uterine cavity. Human Reprod.* **19**, 157- 59.
9. Tao J, Tamis R (1997). *Application of assisted hatching for 2-day-old, frozen–thawed embryo transfer in a poor-prognosis population. J Assist Reprod Genet.* **14**, 128–30.