

## Sinh lý hiện tượng thụ tinh

### Hợp tử trong giai đoạn từ sau thụ tinh đến trước khi làm tổ

Đỗ Thị Ngọc Mỹ, Âu Nhật Luân

#### Mục tiêu bài giảng

Sau khi học xong, sinh viên có khả năng:

1. Mô tả được các giai đoạn của quá trình thụ tinh ở loài người
2. Trình bày được sự phát triển của hợp tử từ sau thụ tinh đến trước khi làm tổ
3. Trình bày được cơ chế vận chuyển của trứng thụ tinh vào bên trong buồng tử cung
4. Trình bày được các thay đổi xảy ra ở nội mạc tử cung trước khi trứng thụ tinh đến làm tổ
5. Giải thích được cơ chế của một số ứng dụng phổ biến hay một số hiện tượng thường gặp liên quan đến hiện tượng thụ tinh

#### TỪ ÂM ĐẠO ĐẾN VỎI FALLOPE

##### Tinh trùng được tồn trữ ở dạng bất hoạt trong túi tinh.

Sau khi rời khỏi ống sinh tinh, tinh trùng được đưa đến mào tinh hoàn, rồi được vận chuyển đến túi tinh. Trong hành trình này, tinh trùng được “ngâm” vào dịch mào tinh, và hoàn thành tiến trình trưởng thành về chức năng.

Dịch mào tinh có pH kiềm, chứa các chất ức chế hoạt động của tinh trùng, có nhiệm vụ giữ tinh trùng ở trạng thái bất hoạt cho đến khi phóng tinh.

##### Tinh dịch là hỗn hợp của tinh trùng và tinh tương.

Các kích thích tinh dịch dẫn đến sự cương của dương vật.

Các cơ vòng ở phía trước và sau niệu đạo tiền liệt tuyến co thắt, đóng chặt niệu đạo và tạo nên một buồng kín. Tiền liệt tuyến đổ dịch vào buồng này, đồng thời túi tinh co bóp để hòa dịch túi tinh có chứa tinh trùng vào buồng kín. Buồng kín trở thành một buồng áp suất.

Khi đạt cực khoái, cơ vòng trước đột ngột mở ra, trong khi cơ vòng sau của niệu đạo tiền liệt tuyến vẫn đóng kín. Niệu đạo co thắt, phóng tinh vào cùng đồ sau của âm đạo.

Tinh dịch lúc này là hỗn hợp gồm tinh trùng, dịch mào tinh có tính kiềm và dịch tiền liệt tuyến có tính acid. Về mặt lý tính, tinh dịch là chất dịch đặc, mùi tanh nồng, có tính kiềm nhẹ.

Tổng tinh trùng được phóng ra trong mỗi lần xuất tinh rất thay đổi, khoảng  $40 \times 10^6$  tinh trùng.

##### Tinh trùng chỉ hoạt động trở lại sau khi tinh dịch bị ly giải.

Khi tiếp xúc với không khí hoặc với môi trường âm đạo, tinh dịch sẽ ly giải. Sau khi ly giải, tinh trùng được giải phóng khỏi chất ức chế, và chúng trở lại dạng hoạt động.

##### Quá trình đi lên ngược dòng trong kênh cổ tử cung có chức năng chọn lọc, hoạt hóa và tích trữ tinh trùng.

Tại cùng đồ sau của âm đạo, tinh dịch đã ly giải tiếp xúc trực tiếp với chất nhầy cổ tử cung. Ở giai đoạn tiền phóng noãn, chất nhầy rất nhiều, trong, loãng và dai.

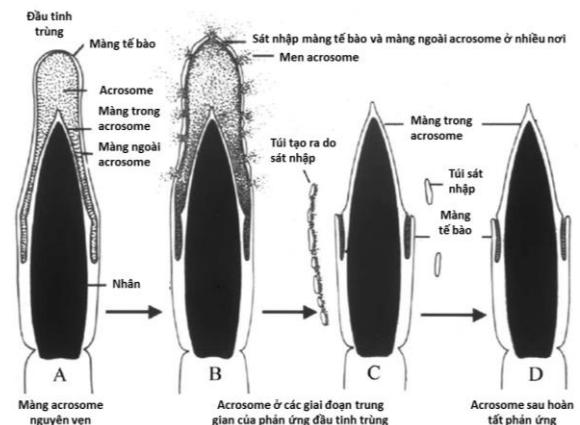
Khi tiếp xúc với chất nhầy thuận lợi, các tinh trùng sẽ bắt đầu hành trình hướng về đường sinh dục trên. Chỉ có các tinh trùng hoạt động mới có thể di chuyển ngược lên trên. Phần lớn tinh trùng sẽ ở lại trong âm đạo. Hiện tượng này giúp chọn lọc tinh trùng hoạt động nhất.

Tại thời điểm này, do tinh trùng vẫn còn được bọc bởi các chất ngăn cản khả năng thụ tinh, nên chúng vẫn chưa có khả năng thụ tinh cho noãn.

Trong quá trình bơi lên, tinh trùng va chạm với vào các cấu trúc mạng lưới của chất nhầy cổ tử cung, đồng thời cũng tiếp xúc với các hoạt chất trong đường sinh dục nữ. Các sự kiện này làm tinh trùng được khả năng hóa, gây xuất hiện những lỗ nhỏ trên chóp đầu tinh trùng, là một cấu trúc vốn không bền vững. Chỉ có các tinh trùng đã được khả năng hóa mới có khả năng xuyên thấu và phá vỡ các màng bao noãn để xâm nhập noãn bào.

Do tinh trùng di chuyển không định hướng, trong khi tuyến cổ tử cung lại có rất nhiều góc ngách nên nhiều tinh trùng sẽ bị lạc vào các tuyến cut, sau đó lại quay ra. Hiện tượng đi lạc và tồn trữ trong các tuyến đảm bảo duy trì một dòng tinh trùng đi lên liên tục, trong nhiều ngày, chỉ sau một lần giao hợp duy nhất. Lượng tinh trùng có mặt và tồn trữ ở cổ tử cung xấp xỉ  $1 \times 10^6$ .

Sau khi vượt qua chất nhầy cổ tử cung, tinh trùng đã được chọn lọc và khả năng hóa. Có khoảng  $1 \times 10^4$  tinh trùng vào đến buồng tử cung.



**Hình 1:** Khả năng hóa đầu tinh trùng

Tinh trùng được bọc bởi các chất ngăn khả năng thụ tinh.

Trong quá trình di chuyển, tinh trùng va chạm với cấu trúc lưới của chất nhầy cổ tử cung và các hoạt chất khác, dẫn đến dỡ bỏ các chất ức chế và hình thành các điểm yếu trên chóp, giúp phóng thích hyaluronidase.

Nguồn: researchgate.net

Khoảng vài trăm tinh trùng đã được hoạt hóa và tăng động đến được đoạn xa của vòi Fallope.

Có khoảng  $10^2$  tinh trùng có mặt tại mỗi ống dẫn trứng. Tuy nhiên, chỉ có vài mươi tinh trùng có mặt chung quanh noãn bào khi noãn bào được bắt vào lòng ống dẫn trứng.

Một dòng thác điện-ion lan truyền khắp bề mặt màng bào tương noãn, và kích hoạt noãn bào. Noãn bào nhanh chóng hoàn thành giai đoạn cuối cùng của phân bào thứ nhì giảm nhiễm, tổng xuất cực cầu II, và thành lập tiền nhân cái đơn bội.

The diagram illustrates the five stages of fertilization in a mammalian egg cell, labeled 1 through 5. The egg cell is shown with its internal structures: Receptor protein, Zona pellucida, Acrosome, Actin, and Nucleus. The surrounding environment is labeled 'Bào tương noãn' (Oocyte cytoplasm). The stages are as follows:

- 1 Tiếp xúc (Contact):** The sperm approaches the egg cell.
- 2 Phản ứng acrosome (Acrosome reaction):** The sperm's acrosome begins to react, releasing enzymes.
- 3 Phản ứng acrosome đang diễn tiến (Progressing acrosome reaction):** The sperm's acrosome is fully reacting, and the nucleus is visible.
- 4 Hòa nhập của màng bào tương của noãn và của tinh trùng (Fusion of the oocyte and sperm plasma membranes):** The sperm's plasma membrane fuses with the oocyte's plasma membrane, allowing the sperm's nucleus to enter the oocyte.
- 5 Phân ứng và noãn bào (Polar body reaction and oocyte maturation):** The oocyte undergoes maturation, and the polar body is released.

Nguồn: vcharkarn.com

Các tiền nhân biến mất.

2

Nhân tế bào mới thành lập chứa bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội vừa được khôi phục từ hai tiền nhân đơn bội. Hiện tượng thụ tinh đã hoàn tất. Tế bào mới được gọi là hợp tử.



**Hình 3:** 18 giờ sau thụ tinh, noãn bào đang ở giai đoạn 2 tiền nhân

2 tiền nhân được thành lập khoảng 18 giờ sau khi được tinh trùng xâm nhập vào bào tương noãn. Noãn bào hoàn thành tổng xuất cực cầu II. Trên hình, có thể quan sát thấy 2 tiền nhân đang tiến lại gần nhau, chuẩn bị cho hợp nhai.

Trong khoảng dưới ZP, tìm thấy được cả 2 cực cầu I và II. Hiện diện của 2 tiền nhân và 2 cực cầu là các tiêu chuẩn để xác nhận có hiện tượng thụ tinh đã xảy ra.

Nguồn: hlwe.com

#### Hợp tử bước ngay vào phân chia nguyên nhiễm.

Ngay sau khi hình thành, hợp tử bước ngay vào lần phân chia nguyên nhiễm đầu tiên.

Khi hợp tử đi vào lần phân chia đầu tiên, các gene sẽ được kích hoạt. Sự kích hoạt các gene tùy thuộc vào tiến trình khử methyl của các đảo CpG của DNA.

Về mặt thượng di truyền, ở giai đoạn này sẽ có hiện tượng khử methyl của các đảo CpG trên DNA.

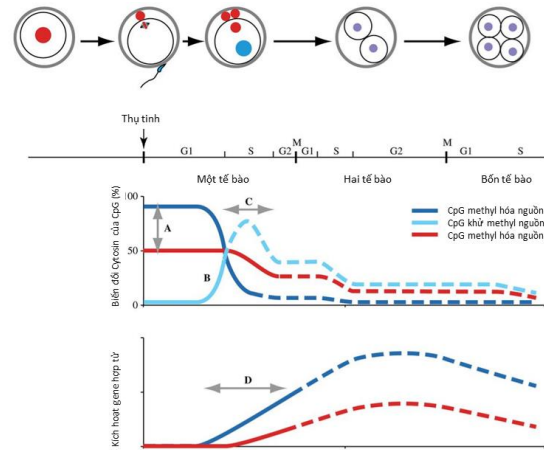
Khử methyl các đảo CpG xảy ra với mức độ khác nhau ở DNA nguồn gốc từ cha và DNA nguồn gốc từ mẹ.

Hiện tượng khử methyl của các đảo CpG trên DNA là một hiện tượng quan trọng cho mở các gene, chuẩn bị cho lần phân bào đầu tiên của tế bào sẽ được gọi là hợp tử.

Hiện tượng khử methyl không xảy ra như nhau trên các đảo CpG của DNA nguồn gốc từ cha và các đảo CpG của DNA nguồn gốc từ mẹ. Các đảo CpG của DNA nguồn gốc từ cha được khử methyl sớm và với tốc độ nhanh hơn. Các đảo CpG có nguồn gốc từ mẹ được khử methyl muộn hơn và với tốc độ chậm hơn.

Về phương diện thượng di truyền, do hệ quả của tiến trình khử methyl không đồng đều tại các đảo CpG của DNA có nguồn gốc từ cha và có nguồn gốc từ mẹ, nên các gene của hợp tử cũng được kích hoạt không đều.

Nếu tiến trình khử methyl tại phôi xảy ra một cách bất thường, thì việc mở các gene của phôi cũng sẽ xảy ra một cách bất thường.



**Hình 4:** Khử methyl tại các tiền nhân và kích hoạt gene ở hợp tử

Ghi nhận sự khác nhau về mức độ và tốc độ khử methyl ở 2 tiền nhân.

Nguồn: Takashi Kohda. The Royal Society Publishing. 2012

### CUỘC LỬ HÀNH TRONG VÒI FALLOPE CỦA PHÔI GIAI ĐOẠN PHÂN CHIA

Dưới tác động của estrogen, hợp tử được vận chuyển đến tử cung nhờ nhu động của cơ vòi Fallope và nhung mao.

Hiện tượng thụ tinh xảy ra ở đoạn bóng vòi Fallope. Lúc này, dưới tác dụng của estrogen, vòi Fallope co thắt và đẩy hợp tử đi dần về phía trong.

Cùng tham gia vào việc vận chuyển hợp tử còn có các nhung mao của niêm mạc vòi Fallope và luồng dịch đi từ ổ bụng về phía buồng tử cung.

Tiến trình vận chuyển hợp tử được duy trì cho đến khi co thắt của vòi Fallope bị ức chế bởi sự hiện diện của một độ đủ cao progesterone.

Như vậy, để vận chuyển hợp tử đúng nhịp độ, cần phải có tác động hài hòa và đồng bộ của cả hai steroid sinh dục, sự toàn vẹn của hệ thống nhung mao niêm mạc và sự toàn vẹn của lớp cơ trơn vòi Fallope.

Hai lần phân bào đầu tiên của phôi ở giai đoạn phân chia tạo ra các tế bào giống hệt nhau về mặt chức năng.



**Hình 5:** Phôi ngày 2

Phôi là kết quả của 2 lần phân bào đầu tiên.

Các tế bào giống hệt nhau về cấu trúc và chức năng.

Nguồn: dallasfertility.com



2 ngày sau thụ tinh, phôi đã hoàn tất 2 lần phân bào đầu tiên. Lúc này, phôi được gọi là phôi ở giai đoạn phân chia. Các tế bào ở ngày 2 giống hệt nhau về hình thái và chức năng, hoàn toàn có thể thay cho nhau.

Ngày thứ 3 sau thụ tinh, tại các tế bào của phôi đang phân chia, xảy ra các khác biệt về kích hoạt gene quan trọng.

Lần phân chia thứ 3 là một mốc rất quan trọng của phát triển phôi. Các tế bào không còn hoàn toàn đẳng lập.

Ở ngày 3, các tế bào không còn phân chia theo phương kinh tuyến và vĩ tuyến nữa, mà theo đường chéo.

Kèm theo đó, tại các tế bào, tiến trình khử methyl các đảo CpG và acetyl hóa histone của DNA quyết định chiều hướng điều hòa gene. Tiến trình này xảy ra không như nhau ở các tế bào khác nhau, làm cho các gen được điều hòa lên hay điều hòa xuống khác nhau, gây phân hóa về chức năng và khả năng phát triển của phôi.

Nhiều phôi ở giai đoạn phân chia bị dừng lại ở thời kỳ này do tiến trình điều hòa gen không thích hợp. Nếu vượt qua được ngày thứ ba, phôi có nhiều khả năng phát triển đến các giai đoạn kế tiếp.

Cho đến ngày thứ ba, do vẫn nằm trong ZP nên phôi đang phân chia không tăng về kích thước.

Trong thời gian được vận chuyển trong vòi Fallope, phôi được bảo vệ và dinh dưỡng thông qua ZP.

Trong sáu ngày đầu sau thụ tinh, khi đang được vận chuyển trong lòng vòi Fallope để vào đến buồng tử cung, phôi ở giai đoạn phân chia được bảo vệ bởi ZP.

Mọi trao đổi chất với dịch vòi Fallope được thực hiện bằng thẩm thấu qua ZP. Môi trường nghèo oxy của vòi Fallope có vai trò quyết định trong phát triển của phôi.

Phôi đang phân chia đến cửa ngõ tử cung khi đang ở giai đoạn phôi dâu.

Ngày thứ tư sau thụ tinh, phôi đã đạt đến tình trạng phôi dâu. Phôi dâu là khối các phôi bào ken đầy, chặt.

Khi phôi dâu đến đoạn kẽ của vòi Fallope, nồng độ progesterone vẫn còn chưa đủ cao, do đó đoạn kẽ vẫn co thắt, cửa vào tử cung vẫn còn đóng chặt. Phôi dâu dừng lại và chờ đến khi cửa vào tử cung mở ra dưới tác dụng của progesterone.

Nồng độ thích hợp của progesterone đảm trách việc chuẩn bị cửa sổ làm tổ và mở cửa vào tử cung cho phôi dâu.

Vào ngày thứ năm sau phóng noãn, hoàng thể đã có thể chế tiết một lượng lớn progesterone.

Progesterone tăng cao tác động trên nội mạc tử cung làm cho nội mạc tử cung chứa đầy glycogen, dồi dào mạch máu và dồi dào tế bào của hệ thống miễn dịch bẩm sinh<sup>2</sup>, để sẵn sàng đón trứng thụ tinh làm tổ.

Giai đoạn sẵn sàng đón nhận trứng thụ tinh đến làm tổ này được gọi là cửa sổ làm tổ.

Cửa sổ làm tổ có độ dài rất ngắn, chỉ khoảng 72 giờ. Nếu phôi đến nội mạc tử cung trước khi cửa sổ làm tổ được mở ra (nội mạc tử cung chưa có progesterone) hay sau khi cửa

sổ làm tổ đã đóng lại (nội mạc tử cung tiếp xúc quá lâu với progesterone) thì sẽ không có hiện tượng làm tổ.

Trong giai đoạn cửa sổ làm tổ, tại nội mạc tử cung, xảy ra các điều hòa gene quan trọng chi phối nội mạc, làm cho nội mạc có thể tiếp nhận phôi. Lệnh lạc trong điều hòa gene có thể dẫn đến việc phôi không thể làm tổ được.

Khi cửa sổ làm tổ đã mở, thì cũng chính nồng độ cao progesterone đối kháng lại tác dụng co thắt của estrogen trên vòi Fallope và cửa vào tử cung. Lối vào buồng tử cung được mở ra và phôi lọt vào buồng tử cung.

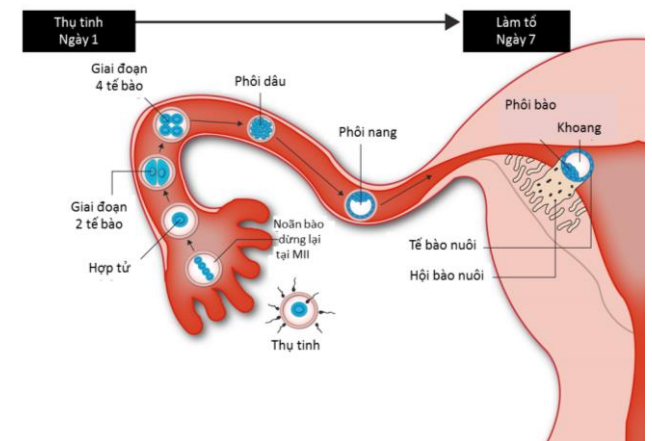
Lúc này phôi đã đạt đến giai đoạn phôi nang.



Hình 6: Phôi ngày 4: Phôi dâu

Các tế bào giống nhau về cấu trúc nhưng đã phân biệt về chức năng.

Nguồn: blogs.discovermagazine.com



Hình 7: Cuộc lữ hành của hợp tử từ vòi Fallope vào buồng tử cung. Hiện tượng thụ tinh xảy ra tại đoạn xa của vòi Fallope.

Trong suốt 5 ngày đầu sau thụ tinh, phôi ở giai đoạn trước làm tổ, với kích thước không đổi, được bảo vệ bởi ZP và dinh dưỡng thông qua ZP, được vận chuyển vào phía trong nhờ co thắt của vòi Fallope và hoạt động của nhung mao.

Estrogen đảm nhận một vai trò quan trọng trong vận chuyển. Lúc này, chưa có sự tác động của progesterone.

Phôi dâu, khi đến cửa ngõ vào tử cung sẽ dừng lại, chờ tác động mở cửa buồng tử cung của progesterone. Cửa vào tử cung chỉ được mở khi nồng độ progesterone đủ cao, chuẩn bị nội mạc tử cung cho làm tổ. Cửa sổ làm tổ được mở để đón phôi.

Nguồn: liberalvaluesblog.com

<sup>2</sup> Uterine Natural Killer cell (uNK), tế bào răng (DC)

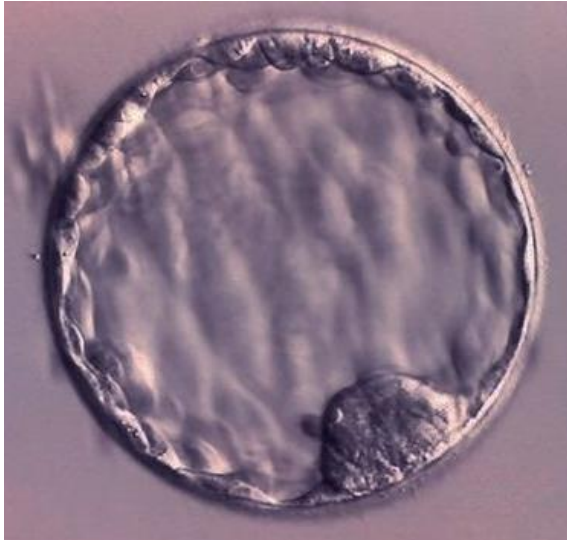
## THOÁT KHỎI ZONA PELLUCIDA

Khi đến buồng tử cung, phôi đã ở giai đoạn phôi nang gồm 2 khối tế bào: khối tế bào trong và ngoại bì lá nuôi.

Phôi nang gồm 2 khối tế bào:

1. Một khối tế bào trung tâm, đậm đặc, sau này sẽ trở thành phôi thai.
2. Một lớp tế bào trắng bên trong lòng ZP gọi là ngoại bì lá nuôi, là tiền thân của nhau thai và các cấu trúc ngoài phôi.

Các khối tế bào này có hoạt động rất khác nhau.



**Hình 8:** Phôi nang.

Phôi gồm 2 khối tế bào: khối tế bào trong (ICM) và ngoại bì lá nuôi (trophoblast)

ICM sẽ trở thành phôi thai sau này.

Trophoblast sẽ trở thành các phần phụ của thai.

Nguồn: 4.bp.blogspot.com

Ngày thứ sáu sau thụ tinh, phôi nang thoát khỏi zona pellucida và chuẩn bị làm tổ.

## TÀI LIỆU ĐỌC THÊM

1. Yen & Jaffe's reproductive endocrinology, 8<sup>th</sup> edition. Tác giả Jerome F. Strauss III và Robert L. Barbieri. Nhà xuất bản Saunders Elsevier 2018.
2. Obstetrics and gynecology 8<sup>th</sup> edition. Tác giả Beckmann. Hợp tác xuất bản với ACOG. Nhà xuất bản Wolters Kluwer Health 2019.

Sáu ngày sau thụ tinh. Lúc này phôi đã ở hẳn trong buồng tử cung, cửa sổ làm tổ đã mở, tử cung đã ở trong trạng thái thư giãn, ZP trở nên quá chật chội so với phôi và cung cấp dinh dưỡng thông qua ZP trở nên không còn thích hợp nữa.

Phôi cần phải làm tổ.

Màng ZP bị mỏng đi tại một vị trí, và qua đó, phôi nang thoát ra ngoài, trở nên tự do trong buồng tử cung, sẵn sàng cho tiến trình làm tổ. Hiện tượng này được gọi là hiện tượng phôi thoát màng.

Các tế bào trích xuất từ lớp ngoại bì lá nuôi của phôi nang có thể được dùng để khảo sát di truyền của phôi.

Phôi bào của lớp ngoại bì lá nuôi của phôi nang có thể được dùng để khảo sát các bệnh lý di truyền của phôi. Khảo sát này được gọi là khảo sát di truyền tiền làm tổ.

Do sinh thiết được tiến hành trên các phôi bào từ khối ngoại bì lá nuôi nên khảo sát này không ảnh hưởng đến phát triển sau này của bào thai.

Sinh thiết phôi có thể được thực hiện phục vụ cho mục tiêu tầm soát hay phục vụ cho mục tiêu chẩn đoán.

Tùy theo mục tiêu khảo sát là tầm soát hay là chẩn đoán mà các blastomere sinh thiết được sẽ được khảo sát bằng các phương tiện khác nhau, từ đơn giản (BOBS, GWAS) cho đến phức tạp (như giải trình tự gene).

Từ khảo sát các phôi bào sinh thiết được, người ta có thể có được kết luận đáng tin cậy về các bất thường di truyền học của phôi, bao gồm lệch bội và các bệnh lý di truyền như thalassemia, di truyền liên kết với nhiễm sắc thể X...

Cũng do sinh thiết được thực hiện trên các phôi bào thuộc khối ngoại bì lá nuôi, nên có thể xảy ra sự khác biệt giữa kết quả có được và thực trạng của khối tế bào trong<sup>3</sup>.

<sup>3</sup> Thường nhất là do dạng khảm, rất thường thấy trên các tế bào thuộc ngoại bì lá nuôi.