

Sự làm tổ của phôi Từ làm tổ đến thai lâm sàng

Đỗ Thị Ngọc Mỹ, Âu Nhật Luân

Mục tiêu bài giảng

Sau khi học xong, sinh viên có khả năng:

1. Trình bày được khái niệm về cửa sổ làm tổ và vai trò của progesterone trong việc mở cửa sổ làm tổ
2. Trình bày được bản chất hóa học-miễn nhiễm của hiện tượng làm tổ
3. Trình bày được vai trò của human Chorionic Gonadotropin (hCG) trong giai đoạn sớm của thai kỳ
4. Trình bày được sự phát triển của thai cho đến thời điểm xác nhận thai lâm sàng
5. Giải thích được một số hiện tượng hoặc ứng dụng thường gặp dựa trên cơ sở các hiểu biết về làm tổ của phôi

BỐI CẢNH NỀN CỦA HIỆN TƯỢNG LÀM TỔ

Progesterone là hormone thiết yếu của quá trình làm tổ của phôi đã thoát màng.

Tại nội mạc tử cung, sự hài hòa cao độ trong tác động hiệp đồng giữa estrogen và progesterone là điều kiện thiết yếu để tạo ra những thay đổi cần thiết trước làm tổ.

Trước tiên, nội mạc tử cung phải được chuẩn bị đúng mức bởi estrogen.

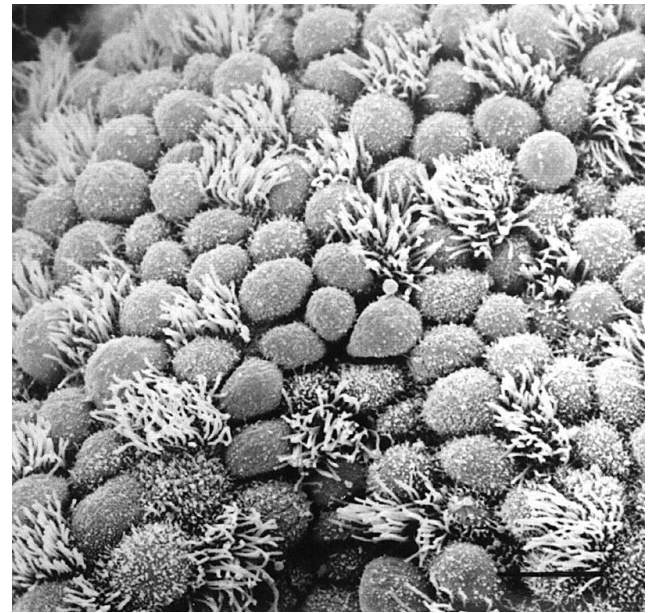
Kế đến, progesterone phải xuất hiện đúng lúc, vào thời điểm nội mạc đã sẵn sàng để chuyển sang phân tiết.

Sự có mặt và tác động đúng lúc của progesterone trên nội mạc tử cung đã được chuẩn bị đúng mức trước đó bởi estrogen, các gene của tế bào nội mạc tử cung sẽ được điều hòa lên hay điều hòa xuống.

Mối tương quan giữa estrogen và progesterone quyết định chiều hướng điều hòa các gene là lên hay xuống, từ đó quyết định khả năng tiếp nhận phôi của nội mạc tử cung.

Cửa sổ làm tổ được mở bởi progesterone.

Sau khi được chuẩn bị thích hợp với progesterone, nội mạc tử cung đạt đến trạng thái sẵn sàng để tiếp nhận phôi đến làm tổ. Cửa sổ làm tổ đã được mở ra.



Hình 2: Pinopodes

Dưới ảnh hưởng đúng lúc của progesterone trên nội mạc đã được chuẩn bị đúng mức trước đó bởi estradiol, các gene của các tế bào nội mạc được điều hòa lên hoặc xuống.

Sự hiện diện trong một khoảng thời gian rất ngắn, khoảng 5 ngày, của các tế bào pinopode biểu hiện nội mạc tử cung đã sẵn sàng cho hiện tượng làm tổ. Thời gian này gọi là cửa sổ làm tổ.

Nguồn: humrep.oxfordjournals.org

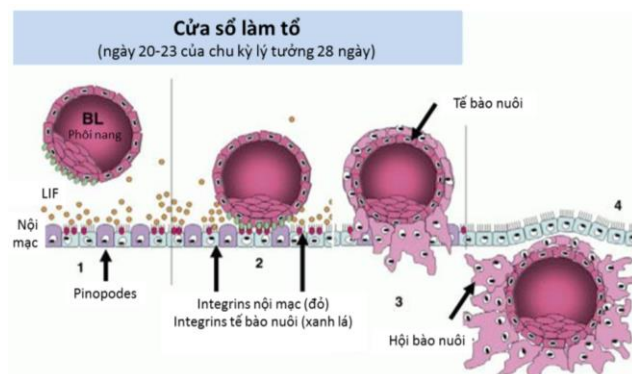
Nội mạc tử cung chỉ tiếp nhận phôi làm tổ khi và chỉ khi cửa sổ làm tổ đã mở.

Cửa sổ làm tổ được mở ra ở ngày thứ 18 và bị đóng lại ở ngày thứ 23 của chu kỳ.

Cửa sổ làm tổ là khoảng thời gian duy nhất mà nội mạc có thể tiếp nhận phôi làm tổ.

Sự lệch pha giữa thời điểm mở cửa sổ làm tổ và thời điểm phôi thoát màng sẽ dẫn đến việc phôi tiếp cận với nội mạc tử cung ngoài cửa sổ làm tổ, và hệ quả là phôi sẽ không được tiếp nhận.

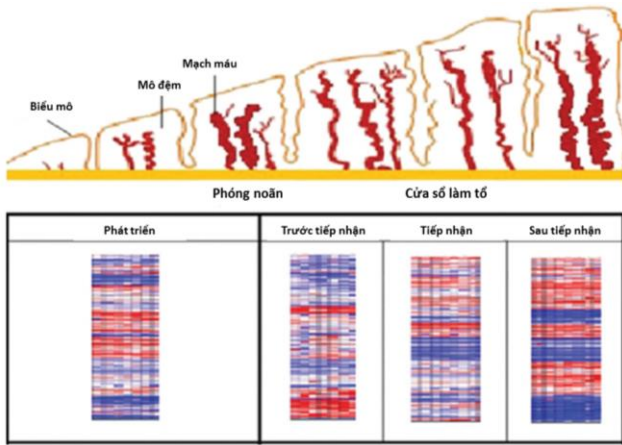
Cửa sổ làm tổ có thể bị di dời do các tác động nội sinh như hoàng thể hóa sớm gây tăng sớm progesterone nội sinh, hay tác động ngoại sinh do dùng hormone nguồn gốc ngoại lai... Cửa sổ làm tổ bị di dời sẽ làm thay đổi vị trí tương đối của nó so với thời điểm phôi thoát màng.



Hình 1: Cửa sổ làm tổ là giai đoạn duy nhất mà phôi có thể làm tổ.

Nguồn: kup.at

Tại nội mạc tử cung ở thời điểm của cửa sổ làm tổ, có sự hiện diện của các tế bào gọi là *pinopode*. Thời gian xuất hiện và tồn tại của các pinopode rất ngắn, chỉ khoảng 5 ngày. Tại bề mặt của các pinopode sẽ diễn ra các đối thoại giữa phôi và nội mạc tử cung trước làm tổ.



Hình 3: Điều hòa gene nội mạc tử cung qua các giai đoạn

Dưới tác dụng của estradiol và progesterone, các gene của các tế bào nội mạc được điều hòa lên hoặc xuống.

Điều hòa gene thay đổi đặc trưng cho từng giai đoạn.

Ghi nhận sự khác biệt rõ rệt trong thành phần các gene được điều hòa trong cửa sổ làm tổ so với ngoài cửa sổ làm tổ.

Nguồn: Garcia Gomez. Fert Steril 2013

Phôi là một mảnh bán dị ghép, nên luôn phải đối mặt với hiện tượng thải ghép.

Phôi có vốn gene không giống với vốn gene của mẹ. Nó chỉ tiếp nhận $\frac{1}{2}$ vốn di truyền của mẹ.

Hệ quả là, về mặt miễn dịch, phôi là một mảnh bán dị ghép. Mảnh ghép này không tương đồng với hệ miễn dịch mẹ. Do bất tương đồng về mặt miễn dịch, phôi phải đối mặt với hiện tượng thải ghép.

Nói một cách khác, để phôi làm tổ thành công, điều kiện cần và đủ là nó phải khởi phát được một tiến trình đáp ứng và ức chế miễn nhiễm, nhằm ngăn cản việc cơ thể người mẹ loại bỏ mảnh bán dị ghép.

Phản hồi âm trên LH của đỉnh cao progesterone gây ly giải hoàng thể chu kỳ.

Vào ngày thứ 7 sau phóng noãn, dưới tác dụng của LH, hoạt động chế tiết progesterone của hoàng thể chu kỳ đạt đến đỉnh cao nhất, hoàn thành sứ mạng mở cửa sổ làm tổ để đón nhận phôi thai.

Tuy nhiên, nồng độ cao progesterone sẽ gây phản hồi âm trên hạ đồi-yên, làm giảm nhịp điệu các xung GnRH hạ đồi, làm tuyến yên giảm hay ngưng phóng thích LH. LH tuyến yên bị sút giảm, hoàng thể sẽ bị ly giải.

Sự ly giải hoàng thể dẫn đến hệ quả là sự sụt giảm sản xuất các steroid sinh dục, trong đó có progesterone, hormone có nguồn gốc chủ yếu từ hoàng thể. Mất nguồn cung cấp chủ yếu của steroid sinh dục, nội mạc tử cung sẽ sụp đổ.

Lúc này, cần có một cơ chế khác để giúp hoàng thể khỏi bị ly giải, nếu không thì sẽ không thể có sự thụ thai.

THOÁT KHỎI ZP, XÂM NHẬP NỘI MẠC TỬ CUNG VÀ TIẾN VỀ CÁC MẠCH MÁU

Ngày thứ 6 sau thụ tinh, phôi thoát khỏi ZP, chu du trong môi trường buồng tử cung và tiếp cận với nội mạc tử cung.

Vào ngày thứ 6 sau thụ tinh, trao đổi khí và dinh dưỡng giữa phôi nang và mẹ thông qua ZP đã không còn thích

hợp. Phôi phải thoát khỏi ZP để tìm các nguồn cung cấp oxygen phù hợp hơn với nhu cầu ngày càng cao của nó, đồng thời có thể tiếp cận trực tiếp với các nguồn cung cấp dưỡng chất từ mẹ.

Màng ZP bị mỏng dần ở một vị trí, để rồi cuối cùng bị phá vỡ. Phôi nang sẽ thoát qua lỗ hổng này để đi vào buồng tử cung và chuẩn bị cho tiến trình làm tổ.

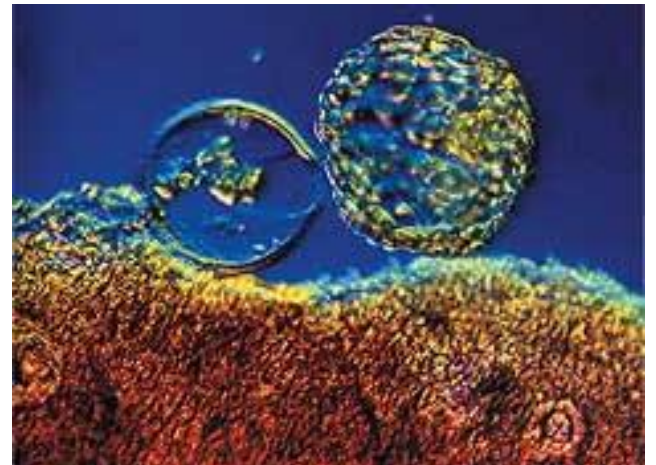
Hiện tượng này được gọi là hiện tượng thoát màng.

Đổi thoại hóa học kích hoạt các biến đổi trên bề mặt nội mạc và của giao diện phôi-nội mạc.

Phôi đã thoát màng thực hiện trao đổi tín hiệu hóa học với nội mạc tử cung.

Growth Factor và các cytokins từ phôi thúc đẩy những biến đổi ở nội mạc tử cung.

Tại giao diện giữa vi nhung mao của nguyên bào nuôi và pinopode, các tín hiệu tế bào gồm LIF và EGF thúc đẩy tương tác giữa 2 loại tế bào này.



Hình 3: Phôi ngày thứ 6 hoàn tất tiến trình thoát khỏi Zona Pellucida

Vào ngày thứ sáu sau thụ tinh, ZP bị mỏng dần ở một vị trí, và bị phá vỡ. Hiện tượng phôi thoát màng xảy ra.

Phôi nang sẽ thoát qua lỗ hổng này để đi vào buồng tử cung và chuẩn bị cho tiến trình làm tổ.

Trên hình chụp, ta thấy màng ZP bị phá thủng ở vị trí 3 giờ, qua đó phôi nang thoát ra và tiếp cận với nội mạc tử cung.

Nguồn: Science

Thoạt tiên phôi bị nhận diện bởi các tế bào của miễn dịch bẩm sinh.

Cần nhớ lại rằng nội mạc tử cung ở giai đoạn phân tiết có rất nhiều các tế bào miễn dịch bẩm sinh là các đại thực bào, các tế bào giết tự nhiên (uNK) và tế bào răng (DC).

Khi phôi tiếp cận với nội mạc tử cung, nó sẽ sớm bị nhận diện. Chính các tế bào của đáp ứng miễn dịch bẩm sinh sẽ được kích hoạt trước tiên.

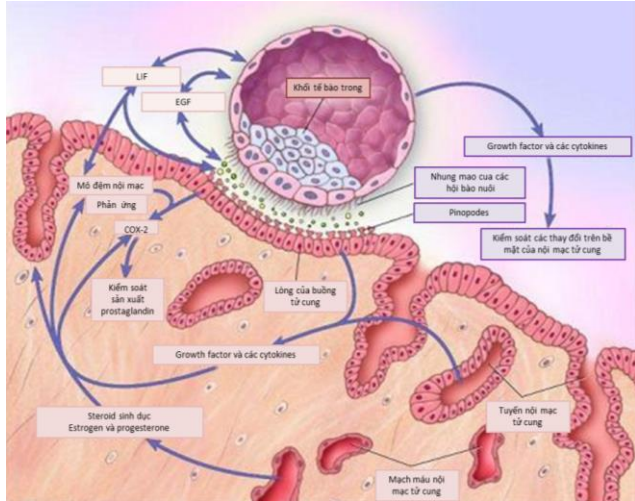
Sau khi hệ thống miễn dịch bẩm sinh được kích hoạt thì đến lượt các cơ chế điều hòa hệ thống miễn dịch tế bào được kích hoạt.

Hệ thống miễn dịch tế bào đóng vai trò quan trọng trong tiếp nhận hay thải trừ mảnh bán dị ghép.

Các đáp ứng miễn dịch này dẫn đến đáp ứng chuyển đổi các tế bào nguyên khởi thành các tế bào T điều hòa (Treg).

Treg đến lượt nó sẽ can thiệp trên cân bằng giữa các tế bào thuộc nhánh T helper 1 (Th1) và T helper 2 (Th2). Như vậy, song hành xảy ra 2 chiều hướng đáp ứng miễn dịch, một theo chiều hướng thái trừ thông qua Th1 và một còn lại theo chiều hướng tiếp nhận thông qua Th2.

Progesterone, bằng tác động không qua gene của nó trên hệ thống miễn nhiễm¹, làm cơ chế miễn dịch tế bào đi theo hướng ưu thế Th2, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiếp nhận mảnh bán dị ghép.

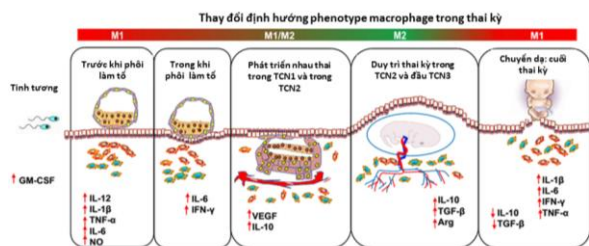


Hình 4: Bản chất hóa học-miễn nhiễm của đối thoại trước làm tổ giữa phôi và nội mạc tử cung

Phôi đã thoát màng trao đổi tín hiệu hóa học với nội mạc tử cung. Đối thoại này thúc đẩy những biến đổi ở nội mạc tử cung, đồng thời ảnh hưởng đến giao diện giữa vi nhung mao của nguyên bào nuôi và tế bào pinopode.

Nguồn: abortionpills.ca

Đáp ứng miễn dịch thiên Th2 được duy trì cho đến cuối thai kỳ.



Hình 5: Thay đổi định hướng phenotype macrophage trong thai kỳ

Trong thai kỳ, định hướng phenotype của macrophage thay đổi theo chiều hướng dung nạp.

Ưu thế của phenotype M1 vào thời điểm xâm nhập của nguyên bào nuôi sẽ chuyển dần sang ưu thế của phenotype M2 trong suốt thai kỳ.

Ưu thế M2 sẽ giúp thai kỳ tồn tại và phát triển.

Vào cuối thai kỳ, ghi nhận sự trở lại của ưu thế của phenotype M1, dẫn đến việc phát khởi chuyển dạ.

Nguồn: Yong-Hong Zhang. Front. Immunol., 09 February 2017

Dưới đáp ứng miễn dịch theo chiều hướng Th2, phôi thai sẽ làm tổ thành công, sự xâm nhập và phát triển của nguyên bào nuôi được đảm bảo.

¹ Thông qua tế bào T CD8+ I và PIBF.

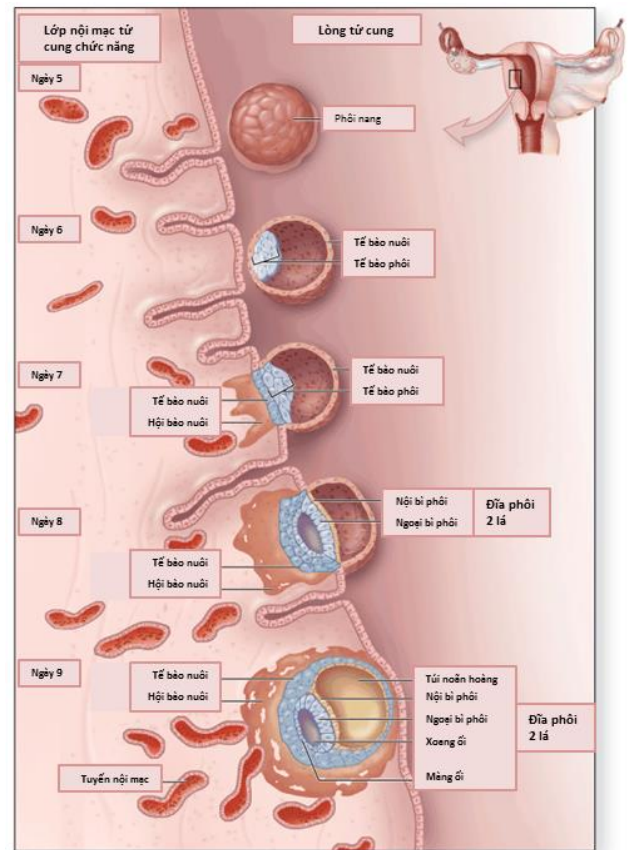
Ưu thế đáp ứng miễn dịch bất thường theo chiều hướng Th1 (Th1 và Th17) sẽ dẫn đến thất bại trong xâm nhập của nguyên bào nuôi, dẫn đến các kết cục xấu của thai kỳ.

Đến cuối thai kỳ, sự chuyển đổi từ thiên hướng Th2 sang Th1 sẽ dẫn đến hàng loạt các thay đổi về miễn dịch và nội tiết học, dẫn đến chuyển dạ.

Chỉ đến ngày thứ 9 sau thụ tinh, các hội bào nuôi mới tiếp cận được các mạch máu xoắn ốc của nội mạc tử cung.

Ngày thứ 7, sau khi tiếp cận thành công với nội mạc tử cung, các hội bào nuôi phát triển từ khối nguyên bào nuôi sẽ bắt đầu tiến trình tách rời các tế bào nội mạc tử cung, làm cho phôi chìm dần vào nội mạc tử cung.

Tiến trình tách rời tế bào nội mạc được thực hiện qua các men gây ly giải cầu nối giữa các tế bào nội mạc. Đồng thời, các tế bào có nguồn gốc lá nuôi cũng phóng thích VEGF, là tác nhân quan trọng cho tái cấu trúc và phân bố mạch máu nội mạc phù hợp với sự hiện diện của phôi.



Hình 6: Từ N7 đến N9, phôi chìm dần vào nội mạc tử cung

N7, sau khi tiếp cận nội mạc tử cung thành công, hội bào nuôi bắt đầu tách rời các tế bào nội mạc tử cung, làm phôi chìm dần vào nội mạc.

N8, hội bào nuôi phát triển mạnh, tạo ra các hốc bên trong. Lúc này do chưa tiếp cận với mạch máu nội mạc tử cung nên phôi vẫn chưa có trao đổi chất trực tiếp với máu mẹ.

N9, phôi chìm hẳn vào nội mạc tử cung. Hội bào nuôi phát triển tạo các hốc rỗng, tiền thân của các hồ máu. Hội bào nuôi cũng tiếp cận với mạch máu nội mạc, nhưng vẫn chưa phá vỡ chúng ở thời điểm này.

Nguồn: Junqueira's basic histology. Text and atlas. Via: histonano.com

Ngày thứ 8, các hội bào nuôi vẫn tiếp tục phát triển mạnh, bắt đầu tạo ra các hốc bên trong lòng của khối hội bào nuôi. Tuy nhiên, cho đến tận thời điểm này, phôi vẫn chưa

có các trao đổi trực tiếp với máu mẹ, do chưa tiếp cận với mạch máu nội mạc tử cung.

Ngày thứ 9, phôi đã chìm hẳn vào nội mạc tử cung. Hội bào nuôi phát triển tạo nên các hốc rỗng, tiền thân của hồ máu sau này. Hội bào nuôi cũng đã tiếp cận với mạch máu nội mạc, nhưng vẫn chưa phá vỡ chúng ở thời điểm này.

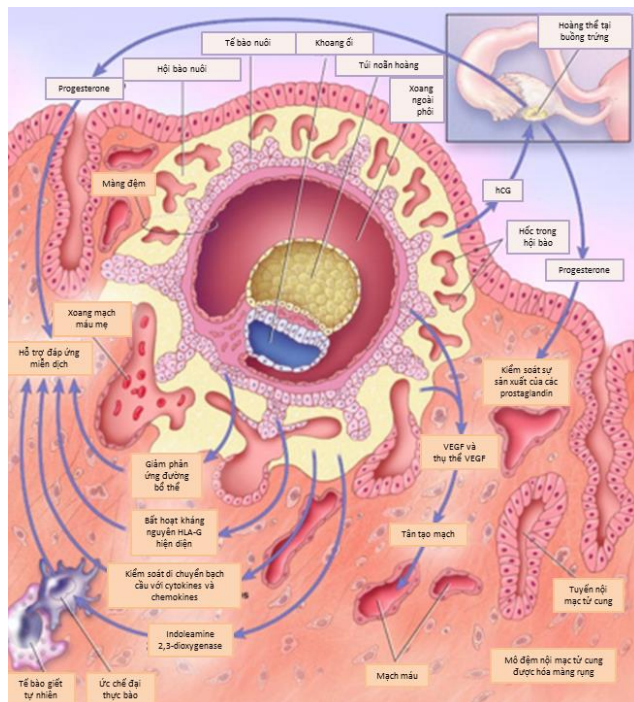
hCG THAY VAI TRÒ CỦA LH, CHUYÊN HOÀNG THỂ CHU KỲ THÀNH HOÀNG THỂ THAI KỲ

Phá hủy các mạch máu xoắn ốc và thành lập các hồ máu sơ khai cho phép phối trao đổi chất trực tiếp với máu mẹ.

Ngày thứ 10, các hội bào nuôi phá vỡ thành công các mạch máu xoắn ốc của nội mạc tử cung. Máu từ các mạch máu bị vỡ lấp đầy khoảng trống tạo bởi các hội bào nuôi, tạo ra các hồ máu sơ khai.

Kể từ thời điểm này, phôi trực tiếp nhận dưỡng chất và trực tiếp thực hiện trao đổi khí với máu mẹ thông qua hồ máu sơ khai.

Ngược lại, hội bào nuôi phóng thích human Chorionic Gonadotropin (hCG) vào máu mẹ.



Hình 7: N₁₀, các hội bào nuôi xâm thực các mạch máu nội mạc N₁₀, phản hồi âm của P₄ đã gây giảm mạnh nguồn LH từ tuyến yên. Hoàng thể chuẩn bị đi vào tiến trình tự tiêu vong. Cần có nguồn LH bổ sung để cứu hoàng thể khỏi tiêu vong, từ đó cứu được nội mạc tử cung.

Nguồn: laboratoriumwiezi.pl

Do có cấu trúc tương tự LH, hCG từ hội bào nuôi có hoạt tính LH, chuyển hoàng thể chu kỳ thành hoàng thể thai kỳ.

Như vậy, kể từ ngày thứ 10 trở đi, từ hồ máu sơ khai, hCG sẽ đi vào máu mẹ.

hCG là một hormone được sản xuất từ hội bào nuôi và có hoạt tính hướng tuyến sinh dục.

Phân tử LH và phân tử hCG có cấu tạo rất giống nhau, ngoại trừ phân tử hCG dài hơn do có thêm đoạn C-terminal.

Cấu tạo giống LH giúp hCG có thể thay thế hoàn toàn LH và đảm trách nhiệm vụ của LH².

Đoạn C-terminal làm hCG có thời gian bán hủy rất dài so với LH. T_{1/2} dài đảm bảo hCG duy trì được hoạt tính LH một cách hiệu quả trong thời gian dài.

Trong một chu kỳ không có thai, sự ly giải hoàng thể sẽ bắt đầu xảy ra từ ngày thứ 11 sau phóng noãn.

Trong chu kỳ có thai, sự có mặt đúng lúc của hCG vào thời điểm LH tuyến yên bị sút giảm sẽ giúp hoàng thể tiếp tục tồn tại và phát triển thành hoàng thể thai kỳ.

Hoàng thể thai kỳ tiếp tục hoạt động sản xuất steroid sinh dục để duy trì thai kỳ.

Hiện diện của hCG trong máu mẹ là bằng chứng của hiện tượng làm tổ.

Từ khi có hiện diện hCG trong máu, người phụ nữ được xem là có thai về mặt sinh hóa.

Những phân tử hCG đầu tiên xuất hiện trong máu mẹ kể từ ngày thứ 10 sau thụ tinh, khi hội bào nuôi đã phá vỡ được các mạch máu xoắn ốc của nội mạc, tiếp xúc trực tiếp với máu mẹ.

Hiện diện của hCG là bằng chứng của hiện diện của nguyên bào nuôi, là bằng chứng của hoạt động làm tổ của trứng thụ tinh. hCG là bằng chứng sinh hóa của thai kỳ.

TỪ THAI SINH HÓA ĐẾN THAI LÂM SÀNG

Ở loài người, có sự chênh lệch rất lớn giữa tỉ lệ có thai sinh hóa và tỉ lệ có thai lâm sàng.

Ở loài người, tỉ lệ làm tổ thất bại của trứng đã thụ tinh rất cao. Chỉ có khoảng chưa đến 30% số chu kỳ có phóng noãn và thụ tinh là đi đến thai lâm sàng.

Có 3 nhóm lý do chủ yếu để giải thích hiện tượng này:

1. Lệnh bội ở phôi
2. Đáp ứng miễn dịch thiên lệch Th1
3. Bất thường kiểm soát thương di truyền

Lệch bội ở phôi là hiện tượng thường gặp.

Lý do thứ nhất khiến tỉ lệ làm tổ thành công thấp là các bất thường kiểu lệch bội ở bào thai.

Khảo sát tiền làm tổ thực hiện trên các phôi có được từ thụ tinh trong ống nghiệm xác nhận tính phổ biến của lệch bội ở phôi tiền làm tổ.

Bất thường di truyền ở các mức độ khác nhau có thể ảnh hưởng lên tiến trình điều hòa các gene quan trọng của phôi, làm ngưng tiến trình phát triển phôi.

Miễn dịch tế bào có ảnh hưởng quan trọng lên giai đoạn trước thai lâm sàng.

Về mặt miễn nhiễm, sau làm tổ, tương quan Th1:Th2 có ý nghĩa quan trọng trong thành công hay thất bại của thai kỳ.

Ưu thế Th1 (pro-inflammatory) thường dẫn đến một thai kỳ thất bại, hoặc dẫn đến các thai kỳ với kết cục sản khoa xấu như phát triển bào thai bất thường, tăng huyết áp trong thai kỳ...

² Thật ra thì có những khác biệt quan trọng trong chức năng của hCG và LH, do các pathway của chúng không hoàn toàn như nhau (xem thêm bài hCG và tài liệu tham khảo).

Ưu thể Th2 (anti-inflammatory) liên quan đến một thai kỳ thành công. Ưu thể Th2 sẽ được duy trì trong suốt thai kỳ bình thường.

Bất thường thượng di truyền của nội mạc tử cung hay của phôi ảnh hưởng đến khả năng phát triển của phôi.

Các bất thường của các yếu tố nội tại hay ngoại lai có thể ảnh hưởng đến các cơ chế kiểm soát thượng di truyền của cả nội mạc tử cung lẫn phôi thai.

Bất thường kiểm soát thượng di truyền trên nội mạc tử cung có thể có nguyên nhân nội sinh (như rối loạn phóng noãn) hay ngoại sinh (dùng thuốc ngoại lai) làm thay đổi tiến trình điều hòa gene của nội mạc tử cung, di dời vị trí của cửa sổ làm tổ, qua đó ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi.

Bất thường thượng di truyền của phôi có thể ảnh hưởng đến chương trình hóa điều hòa gene, làm phôi thất bại trong phát triển.

Diễn biến hCG phản ánh hoạt động lá nuôi.

Phân ly chức năng giữa lá nuôi và khối tế bào trong của phôi ngày càng rõ.

Phôi càng phát triển, sự phân ly giữa phôi và lá nuôi càng trở nên rõ hơn.

Hoạt động của lá nuôi là sản xuất hCG để duy trì thai kỳ. Biến thiên của hCG thể hiện tình trạng lành mạnh của hoạt động lá nuôi.

Hoạt động xâm thực và chế tiết hCG của lá nuôi không liên quan và không phản ánh những gì xảy ra tại đĩa phôi.

Trong khi đó, tại đĩa phôi, quá trình điều hòa gene, phân chia, biệt hóa thành tạo cơ quan là các sự kiện chính. Hoạt động của phôi không song hành, cũng không được thể hiện qua hoạt động của lá nuôi.

TÀI LIỆU ĐỌC THÊM

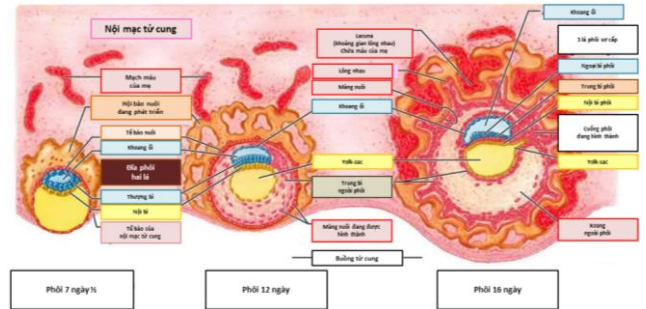
1. Yen & Jaffe's reproductive endocrinology, 8th edition. Tác giả Jerome F. Strauss III và Robert L. Barbieri. Nhà xuất bản Saunders Elsevier 2018.
2. Obstetrics and gynecology 8th edition. Tác giả Beckmann. Hợp tác xuất bản với ACOG. Nhà xuất bản Wolters Kluwer Health 2019.

Ở thời điểm 3 tuần sau thụ tinh, thai kỳ được xác nhận trên lâm sàng bằng siêu âm.

Phôi hoàn tất tiến trình làm tổ vào ngày thứ 14.

Lông nhau và các cấu trúc màng đệm đã hình thành, tiếp cận với các hồ máu sơ khai.

Ở phôi, đã hình thành đĩa phôi 2 lá, túi ối và túi noãn hoàng.



Hình 7: Từ ngày thứ 10 đến ngày thứ 14

N₁₀, hội bào nuôi bắt đầu phá vỡ thành công mạch máu của nội mạc. Máu từ các mạch máu bị vỡ lấp đầy khoảng trống tạo bởi các hội bào nuôi, cho phép diễn ra trao đổi chất trực tiếp giữa mẹ và phôi. Kể từ thời điểm này, phôi trực tiếp nhận dưỡng chất và thực hiện trao đổi khí với máu mẹ qua các hồ máu sơ khai. Mặt khác, hCG từ hội bào nuôi sẽ thông qua hồ máu để đi vào máu mẹ.

N₁₄, phôi hoàn tất tiến trình làm tổ. Lông nhau nguyên thủy và cấu trúc màng đệm đã hình thành, tiếp cận với hồ máu sơ khai. Trên phôi, hình thành đĩa phôi 2 lá, túi ối và yolk-sac.

Nguồn: apsubiology.org

Khoảng một tuần sau thời điểm này, tức 3 tuần sau thụ tinh, thai kỳ có thể nhìn thấy được qua siêu âm.

Kể từ khi nhìn thấy được trên siêu âm, ta gọi là người phụ nữ có thai lâm sàng.