

Hiệu quả làm sụp khoang phôi nang nhân tạo trước khi thủy tinh hóa bằng phương pháp laser

Nguyễn Thị Cẩm Nhung¹, Nguyễn Thị Minh Anh¹, Huỳnh Trọng Kha¹, Phan Thị Kim Anh¹, Lưu Thị Minh Tâm¹, Trần Tú Cẩm¹
¹ IVFMD, Bệnh Viện Mỹ Đức

doi:10.46755/vjog.2022.1.1324

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Nguyễn Thị Cẩm Nhung, email: nhungntc@myduchospital.vn

Nhận bài (received): 30/11/2021 - Chấp nhận đăng (accepted): 5/1/2022

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của việc sụp khoang phôi nhân tạo bằng phương pháp laser trên nhóm phôi nang trước khi thủy tinh hóa.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đây là một nghiên cứu hồi cứu được thực hiện tại IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức, từ tháng 11 năm 2020 đến tháng 1 năm 2021. Tiêu chuẩn nhận bao gồm các bệnh nhân có độ tuổi từ 18-35; số chu kỳ TTON ≤ 2 và có ít nhất một phôi nang tốt trữ đông theo tiêu chuẩn của Gardner và Schoolcraft (1999). Tiêu chuẩn loại trừ là các chu kỳ xin cho noãn, chẩn đoán di truyền tiền làm tổ, nuôi trưởng thành noãn non và các trường hợp vợ có bất thường về tử cung. Bệnh nhân được chia thành hai nhóm: nhóm nghiên cứu với phôi nang làm sụp khoang phôi bằng phương pháp laser trước khi thủy tinh hóa và nhóm chứng bao gồm phôi nang nở rộng không sụp khoang phôi. Kết cục đánh giá chính bao gồm tỷ lệ sống của phôi sau rã đông. Các kết quả phụ: tỷ lệ thai lâm sàng, làm tổ, đa thai và sinh hóa.

Kết quả nghiên cứu: Tổng cộng có 205 bệnh nhân tham gia nghiên cứu với 96 bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu và 109 bệnh nhân trong nhóm chứng. Không có sự khác biệt về đặc điểm nền giữa hai nhóm. Tỷ lệ sống sau rã của phôi nang là 100% ở cả hai nhóm. Về kết quả lâm sàng, không có sự khác biệt thống kê giữa hai nhóm về tỷ lệ có thai lâm sàng (58,3% so với 57,8%, $p > 0,05$), tỷ lệ làm tổ (50,8% so với 50,0%, $p > 0,05$), tỷ lệ đa thai (5,2% so với 7,3%, $p > 0,05$) và tỷ lệ thai sinh hóa (11,5% so với 5,5%, $p > 0,05$).

Kết luận: Kỹ thuật làm sụp khoang phôi nang nhân tạo trước khi thủy tinh hoá bằng phương pháp laser chưa nhận thấy sự ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sau rã đông của phôi nang, tỷ lệ thai làm tổ, thai lâm sàng cũng như đa thai.

Từ khóa: Phương pháp laser, sụp khoang phôi nhân tạo, phôi nang, thủy tinh hóa.

Effects of artificial shrinkage of blastocoel using laser pulse prior to vitrification

Nguyen Thi Cam Nhung¹, Nguyen Thi Mai Anh¹, Huynh Trong Kha¹, Phan Thi Kim Anh¹, Luu Thi Minh Tam¹, Tran Tu Cam¹
¹ IVFMD, My Duc Hospital

Abstract

Objectives: The aim of this study was to evaluate the effectiveness of laser-assisted collapse of blastocyst before vitrification on clinical outcomes.

Materials and methods: This was a retrospective cohort study of FET cycles conducted at IVFMD, My Duc Hospital, HCMC, Vietnam, from November 2020 to January 2021. Patients with (i) age between 18-35; (ii) number of IVF cycles ≤ 2 and (iii) having at least one good blastocyst according to the Gardner's criterion were eligible to participate in the study. Exclusion criteria were oocyte donations, preimplantation genetic diagnosis, undergoing in vitro maturation and uterine abnormalities. Patients were divided into two groups: control group with untreated, expanded blastocysts and AS group with blastocysts were artificial laser-assisted collapse before vitrification. Primary outcome: blastocyst survival rate. Secondary outcomes: clinical pregnancy, implantation, multiple pregnancy and biochemical pregnancy rates.

Results: A total of 205 patients were included, with 96 patients in the AS group and 109 were in the control group. Baseline characteristics were comparable between two groups. Blastocyst survival rate resulted in 100% in both groups. Regarding clinical outcomes, there was no statistical difference between two groups in terms of clinical pregnancy rate (58.3% vs 57.8%, $p > 0.05$), implantation rate (50.8% vs 50.0%, $p > 0.05$), multiple pregnancy rate (5.2% vs 7.3%, $p > 0.05$) and biochemical pregnancy rate (11.5% vs 5.5%; $p > 0.05$).

Conclusions: Our data suggests that laser-assisted collapse of blastocyst before vitrification did not improve on the clinical outcomes in FET cycles.

Keywords: Laser-assisted collapse, artificial shrinkage, blastocyst, vitrification.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, hệ thống nuôi cấy phôi ngày càng được hoàn thiện, việc nuôi phôi đến giai đoạn phôi nang đang được áp dụng rộng rãi ở nhiều trung tâm, nhằm tối ưu hóa khả năng làm tổ và tăng khả năng chọn lọc phôi cho bệnh nhân [1]. Bên cạnh đó, kỹ đông lạnh phôi ra đời giúp lưu trữ phôi dư sau một chu kỳ điều trị hay hỗ trợ cho các trường hợp không thuận lợi cho chuyển phôi tươi. Tuy nhiên, thách thức lớn nhất của quá trình đông lạnh – rã đông là sự ly giải phôi bào sau rã. Ly giải phôi bào làm giảm tỷ lệ sống, tiềm năng phát triển của phôi, từ đó làm giảm tỷ lệ thành công của chu kỳ chuyển phôi [2]. Sự ra đời của kỹ thuật thủy tinh hóa đã tạo nên một bước đột phá lớn trong ngành công nghệ hỗ trợ sinh sản khi tỷ lệ phôi sống gần như tuyệt đối sau rã đông [3]. Vì vậy, chiến lược chuyển phôi trữ giai đoạn phôi nang đang ngày càng phổ biến tại nhiều trung tâm nhằm hạn chế các nguy cơ quá kích buồng trứng cũng như tạo điều kiện tối ưu cho sự tiếp nhận của nội mạc tử cung, từ đó cải thiện cơ hội mang thai cho bệnh nhân.

Với tỷ lệ sống sau rã cao, tiết kiệm thời gian và chi phí thực hiện, kỹ thuật thủy tinh hóa đang dần được thực hiện tại hầu hết các trung tâm hỗ trợ sinh sản trên thế giới. Phương pháp này dựa trên nguyên lý cơ bản là tăng tốc độ làm lạnh và tăng nồng độ chất bảo vệ đông lạnh để hạn chế sự hình thành tinh thể đá bên trong lẫn bên ngoài tế bào, từ đó có thể hạn chế sự ly giải phôi bào sau rã đông. Tuy nhiên, thể tích dịch khoang phôi lớn có thể gây ra sự ức chế thẩm thấu của các chất bảo vệ đông lạnh làm hình thành các tinh thể đá nội bào, gây ra các tổn thương lạnh làm ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của phôi và tính toàn vẹn DNA [4]. Để khắc phục những vấn đề này, sụp khoang phôi nhân tạo (Artificial shrinkage - AS) được thực hiện nhằm loại bỏ dịch khoang phôi trước khi trữ đông. Có nhiều phương pháp được sử dụng để làm sụp khoang phôi nhân tạo bao gồm sử dụng xung laser, cơ học bằng vi kim (micro-needle) hoặc hóa học bằng dung dịch ưu trương [5]. Tuy nhiên hai phương pháp cơ học và hóa học phụ thuộc rất nhiều vào quy trình, kỹ thuật và tay nghề của chuyên viên phôi học vì vậy phương pháp laser với ưu điểm đơn giản, hiệu quả và chính xác được sử dụng phổ biến hơn trong ngành hỗ trợ sinh sản [6].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh AS giúp cải thiện tỷ lệ sống và kết cục lâm sàng của các chu kỳ chuyển phôi trữ giai đoạn phôi nang [7-9]. Tuy nhiên một số nghiên cứu khác cho thấy AS không cải thiện tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ thai lâm sàng, nhưng có cải thiện tỷ lệ sống của phôi sau rã đông [10, 11]. Vì vậy, hiện nay vẫn không đủ bằng chứng chứng minh có nên áp dụng AS

trước khi trữ đông hay không? Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hiệu quả của việc sụp khoang phôi nhân tạo bằng phương pháp laser trên nhóm phôi nang trước khi thủy tinh hóa.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đây là nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu trên 205 cặp vợ chồng vô sinh thực hiện chuyển phôi nang đông lạnh tại Bệnh viện Mỹ Đức từ 16/11/2020 đến 31/01/2021. Tiêu chuẩn nhận bao gồm các trường hợp: tuổi vợ từ 18 – 35 tuổi, số chu kỳ thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm ≤ 2 chu kỳ; bệnh nhân trữ phôi toàn bộ; có ít nhất một phôi giai đoạn phôi nang có chất lượng ICM và TE là AA, AB, BA, BB với độ nở rộng ≥ 4 . Tiêu chuẩn loại trừ là các chu kỳ cho-nhận noãn, nuôi trưởng thành noãn non, vợ có bất thường tử cung, có chỉ định xét nghiệm di truyền phôi tiền làm tổ (Preimplantation Genetic Testing - PGT) và tình trùng từ thủ thuật. Các bệnh nhân đủ điều kiện nhận vào nghiên cứu được chia làm hai nhóm:

- **Nhóm nghiên cứu:** Thực hiện sụp khoang phôi nhân tạo những phôi có độ nở rộng ≥ 4 trước khi thủy tinh hóa.

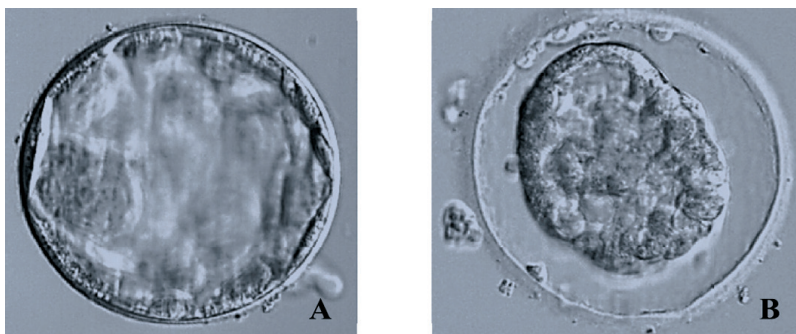
- **Nhóm đối chứng:** Tất cả phôi được thủy tinh hóa mà không thực hiện sụp khoang phôi nhân tạo.

2.2. Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị giao tử: Noãn được chọc hút trong khoảng 36 - 38 giờ sau tiêm hCG. Sau khi chọc hút, noãn được nuôi cấy trong môi trường Universal IVF Medium trong khoảng 2 giờ ở 37°C, 6% CO₂ và 5% O₂. Tinh trùng được lọc rửa bằng phương pháp thang nồng độ. Sau đó, noãn được tách ra khỏi tế bào xung quanh noãn và tiêm tinh trùng vào bào tương noãn được thực hiện khoảng 39 - 41 giờ sau khi tiêm hCG.

Thụ tinh và nuôi cấy phôi: Noãn sau khi ICSI sẽ được nuôi cấy trong môi trường Sage-1 Step ở 37°C, 6% CO₂ và 5% O₂. Kiểm tra thụ tinh được tiến hành ở 16 - 18 giờ sau ICSI. Vào ngày 3, các phôi được đánh giá vào thời điểm 66 - 68 giờ sau ICSI, sau đó phôi phân chia sẽ được nuôi cấy tiếp tục đến giai đoạn phôi nang trong môi trường Sage-1 step thay mới. Các phôi nang đủ điều kiện trữ lạnh sẽ được thủy tinh hóa. Trước khi trữ, phôi nang thuộc nhóm AS được làm sụp khoang phôi bằng laser. Phôi thuộc nhóm đối chứng được thủy tinh hóa mà không xử lý laser.

Quy trình sụp khoang phôi nang: Khoang phôi được làm sụp bằng một xung laser (374 μ s) tại điểm nối giữa các tế bào TE cách xa khối ICM. Mất khoảng 1-5 phút để khoang phôi có thể sụp hoàn toàn. Sau đó, quy trình thủy tinh hóa được thực hiện.



Hình 1. Phôi nang trước (A) và sau (B) khi sụp khoang phôi bằng laser

Quy trình thủy tinh hóa: phôi được thủy tinh hóa bằng môi trường Cryotech theo quy trình của tác giả Kuwayama và cộng sự [12]. Phôi được đặt trong môi trường cân bằng (ES) trong vòng 10-15 phút. Sau khi phôi đạt trạng thái cân bằng, phôi được chuyển qua môi trường thủy tinh hóa (VS1 và VS2). Sau đó, tiến hành đưa phôi lên dụng cụ chứa và lưu trữ trong nito. Thời gian cho phôi trong môi trường VS1 và VS2 lần lượt là 30-40 giây và 10-20 giây.

Quy trình rã phôi: Sau khi lấy Cryotec ra khỏi nitor lỏng, nhúng trực tiếp đầu Cryotec vào môi trường TS (giữ ấm 37°C) trong 1 phút. Kết thúc 1 phút chuyển phôi vào môi trường DS trong 3 phút. Sau đó, chuyển phôi lần lượt qua các môi trường WS1, WS2 với thời gian lần lượt là 5 phút và 1 phút

Nuôi cấy phôi sau rã đông: Phôi sau rã sẽ được nuôi cấy trong môi trường Sage-1 step ở 37°C, 6% CO₂ và 5%

O₂ trong vòng hai đến ba tiếng trước khi chuyển phôi cho bệnh nhân.

Đánh giá phôi sau rã đông và chuyển phôi: Phôi đủ điều kiện chuyển phôi khi >50% phôi bào còn nguyên vẹn và nở rộng trong vòng một giờ sau rã đông. Những phôi bị tổn thương nghiêm trọng >50% phôi bào bị thoái hóa hoặc không có dấu hiệu nở rộng sau rã đông, bệnh nhân sẽ được tư vấn rã thêm một phôi khác để chuyển [11]. Phôi được chuyển vào tử cung dưới hướng dẫn của siêu âm nhờ catheter chuyên dụng.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các biến liên tục được trình bày dưới dạng trung bình +/- SD; sự khác biệt giữa các nhóm được kiểm tra bằng cách sử dụng kiểm định t. Dữ liệu phân loại được thể hiện dưới dạng số tuyệt đối và phần trăm, được so sánh bằng kiểm định Fisher. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi P<0,05. Kết quả được phân tích bằng phần mềm R.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm nền của bệnh nhân ở hai nhóm

	Nhóm nghiên cứu (n=96)	Nhóm chứng (n=109)	p
Tuổi vợ	30,2 ± 3,1	30,4 ± 2,8	0,76
Số chu kỳ TTTON - n (%)			
1	81 (84,4)	97 (89,0)	0,44
2	15 (15,6)	12 (11,0)	
Chỉ định TTTON - n (%)			
1. Do nam	29 (30,2)	43 (39,4)	0,06
2. Tai vôi	11 (11,5)	23 (21,1)	
3. Chưa rõ nguyên nhân	19 (19,8)	16 (14,7)	
4. RLPN	2 (2,1)	4 (3,7)	
5. Giảm dự trữ buồng trứng	10 (10,4)	4 (3,7)	
6. Khác	25 (26,0)	19 (17,4)	
E2 ngày trigger (pmol/L)	3659,4 ± 3270,1	3065,3 ± 3005,5	0,38
P4 ngày trigger (pmol/L)	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,7	0,73

Trong 205 bệnh nhân thoả điều kiện tham gia vào nghiên cứu có 96 bệnh nhân được thực hiện sụp khoang phôi nhân tạo bằng laser (nhóm nghiên cứu) và 109 bệnh nhân thuộc nhóm đối chứng. Các chỉ số nền của bệnh nhân tương đương giữa hai nhóm.

Bảng 2. Kết quả phôi học của bệnh nhân ở hai nhóm

	Nhóm nghiên cứu (n=96)	Nhóm chứng (n=109)	p
Số noãn thụ tinh 2PN trung bình	12,2 ± 5,4	11,6 ± 5,5	0,46
Số phôi phân chia trung bình	11,1 ± 4,8	10,3 ± 5,3	0,28
Số phôi phân chia tốt trung bình	9,1 ± 4,4	8,2 ± 4,8	0,18
Số phôi nang trung bình	6,6 ± 4,1	6,3 ± 4,1	0,59
Số phôi nang tốt trung bình	3,4 ± 2,9	3,2 ± 2,7	0,54
Số phôi trữ lạnh trung bình	6,0 ± 3,0	5,4 ± 2,7	0,17

Kết quả của nghiên cứu từ bảng 1 và 2 cho thấy không có sự khác biệt về đặc điểm nền của bệnh nhân cũng như số noãn thụ tinh, số phôi phân chia chất lượng tốt, số phôi nang chất lượng tốt và số phôi đông lạnh giữa hai nhóm ($p > 0,05$).

Bảng 3. Kết quả lâm sàng sau lần chuyển phôi trữ đầu tiên ở hai nhóm

	Nhóm nghiên cứu (n=96)	Nhóm chứng (n=109)	p
Số phôi rã đông	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4	0,10
Số phôi sống nguyên trung bình	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4	0,10
Tỷ lệ phôi sống nguyên (%)	100,0	100,0	-
Số phôi chuyển trung bình	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4	0,10
Số phôi tốt chuyển trung bình	1,0 ± 0,5	0,9 ± 0,4	0,38
Tỷ lệ beta dương - n (%)	67 (69,8)	69 (63,3)	0,41
Tỷ lệ thai sinh hóa - n (%)	11 (11,5)	6 (5,5)	0,20
Tỷ lệ đa thai - n (%)	5 (5,2)	8 (7,3)	0,74
Tỷ lệ thai lâm sàng - n (%)	56 (58,3)	63 (57,8)	0,95
Tỷ lệ làm tổ - n (%)	61 (50,8)	63 (50,0)	0,6

Kết quả từ bảng 3 cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ sống và sống nguyên sau rã (cả hai nhóm đều đạt tỷ lệ 100%). Kết quả cũng không ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thai lâm sàng (58,3% so với 57,8%), tỷ lệ làm tổ (50,8% so với 50,0%), tỷ lệ đa thai (5,2% so với 7,3%), tỷ lệ thai sinh hóa (11,5% so với 5,5%) ở cả 2 nhóm ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

Hiện nay có nhiều phương pháp được sử dụng làm sụp khoang phôi, nhưng laser là phương pháp được sử dụng phổ biến nhất vì những ưu điểm như đơn giản, hiệu quả, nhanh chóng và ít tác động đến phôi. Trong nghiên cứu này, một xung laser được bắn tại điểm nối giữa các tế bào TE, dịch khoang phôi sẽ thoát ra ngoài, giảm áp suất bên trong phôi, từ đó làm sụp khoang phôi. Trong quá trình thực hiện, chùm tia laser có thể tạo ra hiệu ứng nhiệt và có thể gây ra tổn thương cục bộ hay trực tiếp lên phôi bào [13]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã chứng minh tính an toàn và hiệu quả của xung laser với mức năng lượng từ 300 - 500 μ s khi được ứng dụng trong kỹ thuật AS trước khi thủy tinh hóa [9, 14-16]. Dữ liệu nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy quá trình AS bằng laser không ảnh hưởng đến sức sống của phôi khi tỷ lệ sống sau rã đông và hiệu quả lâm sàng không khác

biệt giữa hai nhóm. Nghiên cứu này của chúng tôi cũng chứng minh thêm cho sự an toàn của quá trình AS phôi nang bằng laser khi tỷ lệ phôi sống sau rã đông ở nhóm AS là 100%.

AS giúp loại bỏ đáng kể lượng dịch khoang phôi từ đó hạn chế các nguy cơ tổn thương tế bào, cải thiện sự thẩm thấu của các chất bảo vệ đông lạnh, hạn chế sự hình thành tinh thể đá, từ đó làm giảm quá trình ly giải phôi bào trong quá trình trữ rã. Vì vậy, kỹ thuật này có thể làm tăng tỷ lệ sống của phôi nang sau rã đông từ đó giúp cải thiện kết quả lâm sàng của các chu kỳ chuyển phôi trữ. Tuy nhiên hiệu quả lâm sàng của việc ứng dụng kỹ thuật sụp khoang phôi nhân tạo bằng laser trước khi thủy tinh hóa vẫn khác biệt giữa các nghiên cứu.

Theo nghiên cứu của Mukaida và cộng sự [6], tỷ lệ sống và thai lâm sàng của 40 phôi nang được AS bằng laser trước khi thủy tinh hóa cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng. Bên cạnh đó kết quả của nhóm tác giả Iwayama và cộng sự [8] cũng cho thấy tỷ lệ làm tổ tăng đáng kể từ 34,2 lên 59,7% khi áp dụng AS bằng xung laser trước thủy tinh hóa. Tuy nhiên dữ liệu nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc có hay không thực hiện sụp khoang phôi nhân tạo trước khi thủy tinh hóa bằng phương pháp laser đều mang lại hiệu quả đông lạnh phôi và kết cục lâm sàng như nhau. Kết quả của chúng tôi

tương tự như kết quả của hai nhóm tác giả Gala và cộng sự [10] và Van Landuyt và cộng sự [11]. Hai nghiên cứu RCT này cho thấy AS không cải thiện tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ thai lâm sàng, mặc dù có cải thiện tỷ lệ sống của phôi sau rã đông. Bên cạnh đó, theo một nghiên cứu tổng quan hệ thống và phân tích tổng hợp về hiệu quả của AS trong các chu kỳ chuyển phôi trữ đã cho thấy AS giúp tăng tỷ lệ sống và tỷ lệ thai lâm sàng nhưng không cải thiện tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ trẻ sinh sống [17].

Hầu hết những nghiên cứu đánh giá hiệu quả của AS trên các chu kỳ chuyển phôi trữ hiện nay đều là nghiên cứu hồi cứu, đối tượng bệnh nhân không được làm mù và phân ngẫu nhiên. Các nghiên cứu có cỡ mẫu không đồng nhất, sử dụng các phương pháp đông lạnh và AS khác nhau. Bên cạnh đó, vẫn chưa có phương pháp cụ thể của việc đánh giá phôi nang sống sau rã đông, việc đánh giá số lượng phôi bào bị thoái hóa và thời gian nở rộng sau rã đông không phản ánh chính xác khả năng sống của phôi. Do đó có thể dẫn đến sự khác nhau trong kết quả giữa các nghiên cứu. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành đánh giá hồi cứu hiệu quả của AS trên nhóm bệnh nhân trẻ tuổi (18-35 tuổi) có ít nhất một phôi nang chất lượng tốt, vì vậy hiệu quả của AS trên kết quả lâm sàng không có sự khác biệt trên nhóm bệnh nhân tiên lượng tốt.

Nghiên cứu của chúng tôi đã chứng minh không có khác biệt về tỷ lệ sống nguyên sau rã đông, tỷ lệ làm tổ, thai lâm sàng cũng như tỷ lệ đa thai giữa hai nhóm. Tuy nhiên, đây là một nghiên cứu hồi cứu với cỡ mẫu nhỏ, được thực hiện trên nhóm bệnh nhân tiên lượng tốt, vì vậy cần có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn, đa dạng đối tượng bệnh nhân để đưa ra những bằng chứng rõ ràng hơn về việc có nên sử dụng AS trước khi đông lạnh phôi bằng phương pháp thủy tinh hoá.

5. KẾT LUẬN

Kỹ thuật làm sụp khoang phôi nang nhân tạo trước khi thủy tinh hoá bằng phương pháp laser chưa nhận thấy sự ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sau rã đông của phôi nang, tỷ lệ thai lâm sàng, thai lâm sàng cũng như đa thai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Glujovsky D, Farquhar C, Retamar AMQ, Sedo CRA, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane database of systematic reviews*. 2016(6).
2. Edgar D, Bourne H, Speirs A, McBain. A quantitative analysis of the impact of cryopreservation on the implantation potential of human early cleavage stage embryos. *Human Reproduction*. 2000;15(1):175-9.
3. Argyle CE, Harper JC, Davies M. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Human reproduction update* 2016;22(4):440-9.
4. Darwish E, Magdi Y. Artificial shrinkage of blastocoele using a laser pulse prior to vitrification improves clinical outcome. *Journal of assisted reproduction genetics*. 2016;33(4):467-71.
5. Desai N, Szeptycki J, Scott M, AbdelHafez FF,

Goldfarb J. Artificial collapse of blastocysts before vitrification: mechanical vs. laser technique and effect on survival, cell number, and cell death in early and expanded blastocysts. *Cell Preservation Technology* 2008;6(3):181-90.

6. Mukaida T, Oka C, Goto T, Takahashi. Artificial shrinkage of blastocoeles using either a micro-needle or a laser pulse prior to the cooling steps of vitrification improves survival rate and pregnancy outcome of vitrified human blastocysts. *Human Reproduction*. 2006;21(12):3246-52.

7. Hiraoka K, Hiraoka K, Kinutani M, Kinutani K. Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. *Human Reproduction*. 2004;19(12):2884-8.

8. Iwayama H, Hochi S, Yamashita M. In vitro and in vivo viability of human blastocysts collapsed by laser pulse or osmotic shock prior to vitrification. *Journal of assisted reproduction genetics*. 2011;28(4):355-61.

9. Son WY, Yoon SH, Yoon HJ, Lee SM, Lim JH. Pregnancy outcome following transfer of human blastocysts vitrified on electron microscopy grids after induced collapse of the blastocoele. *Human Reproduction*. 2003;18(1):137-9.

10. Gala A, Ferrières A, Assou S, Monforte M, Bringer-Deutsch S, Vintejoux E, et al. Effets de la réduction artificielle du blastocèle avant vitrification en système fermé: étude contrôlée randomisée. *Gynécologie Obstétrique Fertilité*. 2014;42(11):772-8.

11. Van Landuyt L, Polyzos N, De Munck N, Blockeel C, Van de Velde H, Verheyen. A prospective randomized controlled trial investigating the effect of artificial shrinkage (collapse) on the implantation potential of vitrified blastocysts. *Human reproduction*. 2015;30(11):2509-18.

12. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology*. 2007;67(1):73-80.

13. Cao S, Zhao C, Zhang J, Wu X, Guo X, Ling X. Retrospective clinical analysis of two artificial shrinkage methods applied prior to blastocyst vitrification on the outcome of frozen embryo transfer. *Journal of assisted reproduction genetics*. 2014;31(5):577-81.

14. Nathan DG, Oski FA. *Hematology of infancy and childhood*. 1987.

15. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche C, Standaert V, Van Roosendaal E, Vandervorst M, et al. Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effect of artificial reduction of the blastocoele cavity before vitrification. *Human Reproduction*. 2002;17(3):744-51.

16. Kader A, Sharma RK, Falcone T, Agarwal A. Mouse blastocyst pre vitrification interventions and DNA integrity. *Fertility and sterility*. 2010;93(5):1518-25.

17. Boyard J, Reignier A, Chtourou S, Lefebvre T, Barrière P, Fréour T. Should artificial shrinkage be performed prior to blastocyst vitrification? A systematic review of the literature and meta-analysis. *Human Fertility*. 2020:1-9.